



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Joana Rodrigues Zaroni

Síntese e caracterização do bioglass (45S5) obtido via processo sol-gel usando forno convencional e comparação com forno de micro-ondas

Araraquara
2023



UNESP - Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Joana Rodrigues Zaroni

Síntese e caracterização do bioglass (45S5) obtido via processo sol-gel usando forno convencional e comparação com forno de micro-ondas

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista, para a obtenção do grau de Cirurgião-dentista.

Orientador: Prof. Dr. Luís Geraldo Vaz

Araraquara
2023

Z38s

Zaroni, Joana Rodrigues

Síntese e caracterização do bioglass (45S5) obtido via processo sol-gel usando forno convencional e comparação com forno de micro-ondas / Joana Rodrigues Zaroni. -- Araraquara, 2023

32 f. : il., tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Odontologia) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara

Orientador: Luís Geraldo Vaz

1. Materiais dentários. 2. Tratamento térmico. 3. Transplante ósseo.

I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**UNESP - Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara**

Joana Rodrigues Zaroni

Síntese e caracterização do bioglass (45S5) obtido via processo sol-gel usando forno convencional e comparação com forno de micro-ondas

Orientador: Prof. Dr. Luís Geraldo Vaz

Assinatura Orientador (a):

Assinatura Aluno (a):

Araraquara, 05 de janeiro de 2023.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer, primeiramente, aos meus pais Guilherme e Márcia que não mediram esforços para me ver feliz e realizando os meus sonhos e as minhas irmãs que mesmo de longe são as minhas maiores apoiadoras.

Aos meus orientadores Prof. Dr Luís Geraldo Vaz e Leandro Fernandes que me acolheram como orientada de iniciação científica e de TCC.

Não posso deixar de agradecer o meu grupo de amigas: Bárbara, Beatriz, Giovana, Isadora, João Pedro e Kamilla por terem sido a minha segunda família em Araraquara e por terem me dado suporte durante esses 5 anos e meio de graduação.

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2021/05778-6) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

Zaroni JR. Síntese e caracterização do bioglass (45S5) obtido via processo sol-gel usando forno convencional e comparação com forno de micro-ondas [Trabalho de Conclusão de Curso – Graduação em Odontologia]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

RESUMO

O Bioglass 45S5 foi o primeiro biovidro sintético utilizado como enxerto ósseo e com resultados clínicos comprovados durante os mais de 45 anos de sua existência. No Brasil tal material ainda é pouco explorado. O trabalho visou a comparação de um bioglass 45S5 produzido por um método chamado de sol-gel, onde se tem a mistura dos componentes em nível atômico (sais dissolvidos) e possui grande vantagem de formar a fase estudada em baixa temperatura (700-800°C), diferente do método de fusão tradicional (1300°C), gerando economia de energia. Além dessa preparação, o trabalho visou estudar a síntese de bioglass 45S5 utilizando um forno de micro-ondas para o tratamento térmico, com isso foi possível reduzir, em 21 vezes, o tempo do processo. Foi estudado as fases formadas pela Difractometria de raios X (DRX), área superficial específica (ASE; m². g⁻¹), porosidade das partículas via porosimetria de mercúrio, determinação da bioatividade e microscopia de varredura com canhão de emissão de campo (MEV-FEG) dos dois processos de obtenção do bioglass. Os resultados indicaram a possibilidade de obter o biovidro 45S5 com as modificações propostas, neste caso utilizando a sílica coloidal como fonte geradora do biovidro além da utilização do ácido fosfórico como fonte de fósforo.

Palavras – chave: Materiais dentários. Tratamento térmico. Transplante ósseo.

Zaroni JR. Synthesis and characterization of bioglass (45S5) obtained by sol-gel process using conventional oven and comparison with microwave oven [Trabalho de Conclusão de Curso – Graduação em Odontologia]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

ABSTRACT

Bioglass 45S5 was the first synthetic bioglass used as a bone graft and with proven clinical results during the more than 45 years of its existence. In Brazil, such material is still little explored. The project aims to compare a 45S5 bioglass produced by a method called sol-gel, where we have the mixture of components at the atomic level (dissolved salts) and has the great advantage of forming the studied phase at low temperature (700-800°C), different from the traditional melting method (1300°C), generating energy savings. In addition to this preparation, the project aims to study the synthesis of 45S5 bioglass using a microwave oven for heat treatment, with this it will be possible to reduce the process time by 21 times. The phases formed by X-ray diffraction (DRX), specific surface area (ASE; m². g⁻¹), particle porosity via mercury porosimetry, determination of bioactivity and scanning microscopy with field emission cathode of the two processes for obtaining bioglass. The results indicated the possibility of obtaining the 45S5 bioglass with the proposed modifications, in this case using colloidal silica as source of bioglass in addition to the use of phosphoric acid as a source of phosphorus.

Keywords: Dental materials. Thermal treatment. Bone transplantation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	09
2 PROPOSIÇÃO	12
3 REVISÃO DE LITERATURA	13
4 MATERIAIS E MÉTODOS	16
4.1 Síntese do Bioglass Obtido pelo Método Sol-Gel em Forno Resistivo Convencional	16
4.1.1 Síntese de bioglass 45S5 via processo sol-gel e tratamento térmico em forno de micro-ondas	17
4.2 Caracterizações	17
4.2.1 Difratometria de raios X (DRX)	17
4.2.2 Ensaio para a determinação da bioatividade in vitro (SBF)...	18
4.2.3 Microscopia eletrônica de varredura com canhão de emissão de campo (MEV-FEG).....	18
4.2.4 Espectroscopia por fluorescência de raios X (FRX)	18
4.2.5 Ensaio de porosimetria por intrusão de mercúrio (n=3).....	18
5 RESULTADOS.....	19
5.1 Difratometria de Raios X (DRX)	19
5.2 Ensaio de Bioatividade	20
5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura com Canhão de Emissão de Campo (MEV-FEG)	21
5.4 Espectroscopia por Fluorescência de Raios X (FRX)	25
5.5 Ensaio de Porosimetria por Intrusão de Mercúrio	26
6 DISCUSSÃO	27
7 CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS.....	31
ANEXO A	32

1 INTRODUÇÃO

Esse Trabalho de Conclusão de Curso foi baseado no Relatório Final 2 do Processo nº 2021/05778-6, financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Anexo A):

O processo de regeneração óssea é muito aplicado em ortopedia, periodontia e cirurgia maxilofacial, sendo que o melhor material para o uso é o enxerto autógeno, ou seja, do próprio paciente, devido à habilidade de ser osteoindutivo pela presença de sangue, células, fatores de crescimento e proteínas que estimulam e facilitam a cicatrização¹. Uma desvantagem do enxerto autógeno é a quantidade limitada que pode ser retirada e a necessidade de uma segunda cirurgia, causando prejuízo ao paciente.

Para ter uma alternativa ao enxerto autógeno, foram desenvolvidos os enxertos ósseos extraídos de animais como os bovinos e suínos, que são os mais utilizados. O material líder neste mercado é o chamado Bio-Oss® produzido pela empresa Geistlich Pharma AG². Outro biomaterial criado para a utilização como enxerto ósseo foi obtido de forma sintética e chamado de biovidro ou do seu nome original o Bioglass®, que foi uma marca registrada pela Universidade da Flórida com a composição 45S5 e completou no ano de 2016, exatos 45 anos de sua descoberta por Larry Hench^{3,4}, seus resultados somam impressionantes 1000 publicações que descrevem a sua performance tanto in vitro quanto in vivo, além do sucesso e aprovação pelas agências regulatórias da sua aplicação clínica nos últimos 20 anos.

O mecanismo de atuação do bioglass consiste na formação de uma camada de hidroxapatita carbonatada, conforme mecanismo detalhado por Jones⁵.

I) Troca rápida dos cátions de Sódio (Na⁺) e ou cálcio (Ca²⁺) com solução contendo íons H⁺, criando assim ligações silanóis (Si-OH) na superfície do vidro, conforme representado na equação I:



O pH da solução aumenta e um produto rico em sílica (sem cátions) é formado na região próxima da superfície do vidro.

II) O aumento do pH local leva ao ataque da rede vítrea pelo OH⁻, quebrando as ligações Si-O-Si. A sílica solúvel é perdida na forma de Si(OH)₄ para a solução,

deixando mais Si-OH (silanóis) na interface solução vidro, conforme representado na equação II:



III) Condensação dos grupos Si-OH próximo da superfície do vidro: repolimerização da camada rica em sílica.

IV) Migração dos grupos cálcio (Ca^{2+}) e fosfato (PO_4^{3-}) para a superfície através da camada rica em sílica, formando um filme rico em $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ amorfo na camada rica em sílica;

V) Incorporação das hidroxilas e carbonatos a partir da solução e cristalização do filme de CaOP_2O_5 em hidroxicarbonato-apatita.

Uma das vantagens desse trabalho foi obter um material de elevada pureza, uma vez que foi obtido utilizando reagentes com pureza analítica. Aumento da velocidade de tratamento térmico, uma vez que o processo convencional utiliza forno resistivo necessita de 134 minutos para atingir a temperatura de 700°C (taxa de aquecimento de $5^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$) e outros 180 minutos para o patamar, totalizando 314 minutos (5 h e 14 min), além do tempo adicional para a refrigeração a temperatura ambiente de cerca de 8 horas (em forno sem sistema de refrigeração por ar forçado), o que totaliza para o processo total cerca de 13 horas e 14 minutos. Utilizando um forno de micro-ondas o tempo para atingir a temperatura de 700°C foi de aproximadamente 7 minutos e o tempo para a refrigeração do sistema de cerca de 30 minutos, ou seja, é possível fazer o mesmo tratamento térmico em 37 minutos cerca de 21 vezes mais rápida e com menor consumo de energia elétrica, devido ao menor tempo de trabalho.

Mesmo de posse de toda a comprovação científica e clínica do enxerto ósseo de biovidro, no Brasil esse material continua sem nenhuma marca comercial em venda, provavelmente devido à falta de interesse comercial das empresas de biotecnologia, aliada à grande burocracia para a colocação de um produto médico no mercado. O Brasil possui centro com capacidade para síntese de bioglass e o seu estudo sistemático para a utilização em regeneração óssea.

Em síntese o trabalho visou a produção do bioglass (45S5) formada pelos seguintes componentes em porcentagens em massa ($45\%\text{SiO}_2$: $24,5\%\text{Na}_2\text{O}$: $24,5\%\text{CaO}$: $6\%\text{P}_2\text{O}_5$), e obtido via método sol-gel, que possui a vantagem de formar o bioglass em temperatura de tratamento térmico para a faixa de ($700\text{-}800^\circ\text{C}$), menor que o método de fusão tradicional que necessita de 1300°C . Outra comparação

proposta nesse trabalho foi em relação ao tratamento térmico utilizando um forno de micro-ondas e o método que utiliza forno resistivo, com isso será possível a redução de energia elétrica, gerando maior velocidade de síntese, estimada para 21 vezes superior ao método que utiliza forno resistivo convencional.

2 PROPOSIÇÃO

Síntese e caracterização físico-química de um bioglass sintetizado pelo processo sol-gel em forno resistivo convencional e comparar com a síntese em forno de micro-ondas.

- Síntese de bioglass 45S5 via processo sol-gel e tratamento térmico em forno resistivo convencional;
- Caracterização físico-química do bioglass 45S5 pelas técnicas de difratometria de raios X (DRX), espectroscopia de fluorescência de raios X (FRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG), ensaio de bioatividade com imersão em SBF e porosimetria de intrusão de mercúrio.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Um trabalho da literatura⁶ intitulado “*Microestruturas e propriedades do Biovidro 45S5 & Scaffolds biocerâmicos BCP fabricados por processamento de luz digital*”, o Biovidro 45S5® & scaffolds biocerâmicos de fosfato de cálcio bifásico (BCP) com estrutura de treliça de diamante (porosidade de 70%) foram fabricados com precisão por processamento de luz digital (DLP). Após otimizar a carga sólida da suspensão biocerâmica para 40% em volume, scaffolds com tamanho mínimo de poro de 400 µm foram fabricados com sucesso sob energia de exposição de 12,54 mJ/cm². Na fase inicial de sinterização, a cristalização ocorreu apenas no biovidro 45S5®. Por si só, o biovidro também promoveu a decomposição da hidroxiapatita (HA) em fosfato tricálcico (TCP). Com a extensão do tempo de espera para 4 h, o biovidro 45S5® difundido em TCP produziu Ca₅(PO₄)₂SiO₄, o que poderia aumentar a resistência à compressão de scaffolds biocerâmicos. Enquanto isso, o biovidro ajudaria no crescimento e rugosidade dos grãos cerâmicos devido à difusão de íons do biovidro para o BCP. No entanto, à medida que o tempo de espera se estendeu para 6 h, ocorreu crescimento anormal de grãos e trincas, o que diminuiria a resistência à compressão. O melhor valor de resistência à compressão é de 1,735 MPa no tempo de espera de 4 h. O biovidro 45S5® também acelerou a troca iônica entre a solução biocerâmica e SBF. Este tipo de biocerâmica pode ser usado como scaffolds bioativos com estruturas finas personalizáveis e fornecem aplicações potenciais na engenharia de tecidos ósseos.

Outra referência sobre o biovidro 45S5⁷ que apesar de ser bastante presente na literatura ainda geram publicações inovadoras, este trabalho realizou a síntese utilizando o método sol-gel uma das estratégias utilizada foi o estudo da modificação do catalizador da hidrólise dos alcóxidos de fósforo e silício onde em sua grande maioria é usado o ácido nítrico e este foi substituído pelo ácido cítrico. Após 4 horas de exposição em SBF, já foi possível observar a bioatividade inclusive superior aos resultados do biovidro comercial. O autor atribui esse efeito ao aumento da porosidade e área superficial específica do biovidro aumentando a atividade e houve compatibilidade do novo catalisador.

Em um terceiro trabalho foi feita a síntese de bioglass puro (45S5) e um dopado com nitrato de prata (45S5-Ag)⁸. O bioglass foi obtido a partir do método sol-gel e o desenvolvimento do biocomposto quitosana/45S5-Ag, seguido por sua avaliação

desempenho como candidatos a biomateriais eficazes. O bioglass foi sintetizado a partir dos precursores de ortosilicato de tetraetil (TEOS), trietil fosfato (TEP), tetrahidrato de nitrato de cálcio e carbonato de cálcio. Nitrato de prata nas concentrações de 5 e 10% foram usados como agentes dopantes. A produção do gel foi seguida por um processo de secagem em 60°C por 24 horas, e então, um tratamento térmico à 700°C foi realizado por 2 horas. Em seguida, o pó de bioglass foi adicionado na solução de quitosana em uma concentração de 80%. As soluções foram liofilizadas antes e depois da neutralização. As amostras foram caracterizadas via TG/DTA/DSC, DRX, FTIR, SEM, OM, biodegradação, citotoxicidade e atividade antibacteriana. Por TG, o aumento da porcentagem de prata no bioglass resultou em menor perda de massa de biocompostos, enquanto para DSC maior estabilidade térmica da fase polimérica foi observada para as amostras dopadas.

Os ensaios biológicos demonstram que as amostras de CB5 e CB10 apresentam atividade de inibição em bactérias gram-positivas e gram-negativas. Tanto CB5 quanto CB10 podem ser quase inteiramente degradados por soro fisiológico tamponado por fosfato em 28 dias e não são citotóxicos, o que demonstra que essas amostras podem ser usadas para regeneração tecidual.

Uma das vantagens dessa pesquisa, comparada aos artigos citados anteriormente, é o aumento da velocidade do tratamento térmico, uma vez que o processo convencional utiliza forno resistivo necessitando de 134 minutos para atingir a temperatura de 700°C (taxa de aquecimento de 5°C.min⁻¹) e outros 180 para o patamar, totalizando 314 minutos (5 h e 14 min), além do tempo adicional para refrigeração a temperatura ambiente de cerca de 8 horas (em forno sem sistema de refrigeração por ar forçado), o que totaliza para o processo total cerca de 13 horas e 14 minutos. Utilizando um forno de micro-ondas o tempo para atingir a temperatura de 700°C seria de aproximadamente 7 minutos e o tempo para a refrigeração de cerca de 30 minutos, ou seja, é possível fazer o mesmo tratamento térmico em 37 minutos, cerca de 21 vezes mais rápida e com menor consumo de energia elétrica, devido ao menor tempo de trabalho.

A síntese convencional do biovidro 45S5, utiliza como precursores o tetraetilortosilicato - [TEOS; Si(OC₂H₅)₄] para a geração *in situ* da sílica via método adaptado de Stober⁹, no projeto a proposta é substituir pela sílica coloidal que já se apresenta na forma manométrica¹⁰ e altamente dispersa (Levasil, Nouryon, Brasil) e com menor toxicidade do que o TEOS, além de custo reduzido, favorecendo a escala

de síntese desse material. Outros reagentes utilizados foram o nitrato de cálcio tetrahidratado - $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, o nitrato de sódio (NaNO_3), foram mantidos e como fonte de fosfato o processo convencional utiliza o trietil fosfato - (TEP; Sigma-Aldrich) e nesse projeto também substituímos pelo ácido fosfórico pelo fato de possuir menor custo relativo e possuir pureza adequada.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Síntese do Bioglass Obtido pelo Método Sol-Gel em Forno Resistivo Convencional

Inicialmente pesou-se 200 gramas de água destilada e adicionou em chapa aquecedora com agitação magnética e controle da temperatura para 50°C. Em seguida foi adicionado aos poucos os reagentes nitrato de cálcio até total dissolução e nitrato de sódio. A solução permaneceu durante 1 hora em agitação para total homogeneização.

O próximo reagente adicionado foi o ácido fosfórico (H_3PO_4 ; Neon, PA, Brasil) e a solução permaneceu em agitação, finalmente, adicionou-se lentamente durante 120 minutos a sílica coloidal 30% (Levasil, Nouryon, Brasil), após a sua adição a solução permaneceu em agitação com aquecimento de 50°C durante 4 horas.

As quantidades dos reagentes atendeu as proporções conforme a Tabela 1, com o objetivo de formação do biovidro 45S5.

Após a agitação a solução foi levada para ser secada em estufa a 60°C por 12 horas, e finalmente secada em 120°C por 24 horas. A última etapa dessa preparação foi o tratamento térmico em forno resistivo convencional em 600°C, 700°C e 800°C com patamar de 3 horas e taxa de aquecimento de 5°C.min⁻¹.

Tabela 1 - Proporção entre os componentes para a formação do bioglass 45S5 e tempo de permanência na solução SBF

Componente	PM (%)	Tratamento Térmico		SBF	Nomenclatura
		TT (°C)	TP (horas)		
Sílica-(SiO2)	45 24,5 24,5 6	700	3	Sem	45S5-700/3
Óxido de sódio-(Na2O)				8 horas	45S5-700/3-8 h SBF
Óxido de cálcio-(CaO)				5 dias	45S5-700/3-5d SBF
Óxido de fósforo-(P2O5)					
TT : Temperatura do tratamento térmico, PM: Porcentagem em massa e TP é o tempo de permanência ou patamar.					

Fonte: Elaboração própria.

4.1.1 Síntese de bioglass 45S5 via processo sol-gel e tratamento térmico em forno de micro-ondas

O processo de síntese foi idêntico ao realizado no item 4.1, apenas com diferença no tratamento térmico que foi realizado em forno de micro-ondas convencional acoplado a um reator construído de material chamado de suscepter a base de carbeto de silício (SiC) e para acompanhar a temperatura foi utilizado um sistema de pirômetro infravermelho que possui uma sensibilidade elevada e apropriada para esta aplicação.

O parâmetro principal de controle da temperatura foi o tempo submetido a radiação eletromagnética na faixa do micro-ondas (2,45 GHz) e por tempo de permanência de 1 até 10 minutos, conforme Tabela 2, acompanhada pelas medições do pirômetro.

Tabela 2 - Proporção entre os componentes para a formação do bioglass 45S5 e tempo/temperatura do tratamento térmico

Componente	Porcentagem em massa (%)	Temperatura de tratamento térmico (°C)	Tempo de permanência (minutos)
Sílica-(SiO ₂)	45	700°C	1-10 minutos
Óxido de sódio-(Na ₂ O)	24,5		
Óxido de cálcio-(CaO)	24,5		
Óxido de fósforo-(P ₂ O ₅)	6		
Sílica-(SiO ₂)	45	800°C	1-10 minutos
Óxido de sódio-(Na ₂ O)	24,5		
Óxido de cálcio-(CaO)	24,5		
Óxido de fósforo-(P ₂ O ₅)	6		

Fonte: Elaboração própria.

4.2 Caracterizações

4.2.1 Difractometria de raios X (DRX)

A difratometria de raios X (DRX) foi realizada para as amostras de biovidro sintetizadas e que serão usadas como referência de comparação e tratadas termicamente em forno convencional nas temperaturas de 600, 700 e 800 °C com patamar de 3 horas e com taxa de aquecimento de 5°C.min⁻¹. A análise por difração de raios X foi utilizada para a identificação das fases cristalinas e sua quantificação.

4.2.2 Ensaio para a determinação da bioatividade in vitro (SBF)

A bioatividade dos bioglass sintetizado foi investigada por até 5 dias em solução de SBF (Simulated Body Fluid), as alterações na massa inicial serão monitoradas pela variação de massa utilizando uma balança analítica, onde a amostras após tempos de 0 e 8 horas, 5 dias serão medidos após secagem em estufa. Além da perda de massa, o monitoramento da variação do pH (potencial hidrogeniônico) da solução SBF e da saliva artificial contendo o compósito será fundamental para verificar se está havendo dissolução rápida de compostos que possam alterar o pH da solução.

4.2.3 Microscopia eletrônica de varredura com canhão de emissão de campo (MEV-FEG)

A morfologia das partículas sintetizadas pelo método sol-gel usando forno resistivo convencional foram comparadas, para estudar se o processo proposto influenciou na morfologia das partículas de bioglass, sendo possível avaliar a presença de poros na superfície bem como o tamanho e distribuição das partículas.

4.2.4 Espectroscopia por fluorescência de raios X (FRX)

A fluorescência de raios X é um método de análise química que permitiu a determinação da composição química do bioglass sintetizado, para observar se a sua composição em massa é similar ao bioglass 45S5 clássico.

4.2.5 Ensaio de porosimetria por intrusão de mercúrio (n=3)

O termo porosimetria está relacionado com a medida do tamanho de poros, volume, distribuição e densidade. A porosidade afeta as propriedades físicas dos materiais, principalmente em relação a resistência mecânica, e principalmente, importante nesse projeto, a permeabilidade, uma vez que quanto maior for a possibilidade do fluido percolar, maior será a possibilidade de crescimento celular.

5 RESULTADOS

5.1 Difractometria de Raios X (DRX)

Foi realizado o DRX da amostra de biovidro bioativo sintetizados via método usando forno resistivo convencional nas temperaturas de 600, 700 e 800°C com 3 horas de patamar e taxa de aquecimento de 5°C.min⁻¹ e resfriamento até temperatura ambiente e do biovidro com tratamento térmico em forno de micro-ondas durante 11 minutos de permanência.

Foi utilizado a técnica do pó, com varredura normal usando tubo selado de cobre, em equipamento Rigaku última IV, modelo Ultima IV, com varredura de 4° a 100°, passo de 0,02º. s⁻¹ e velocidade de 2°. min⁻¹ com tensão de 40 kv e 30 mA.

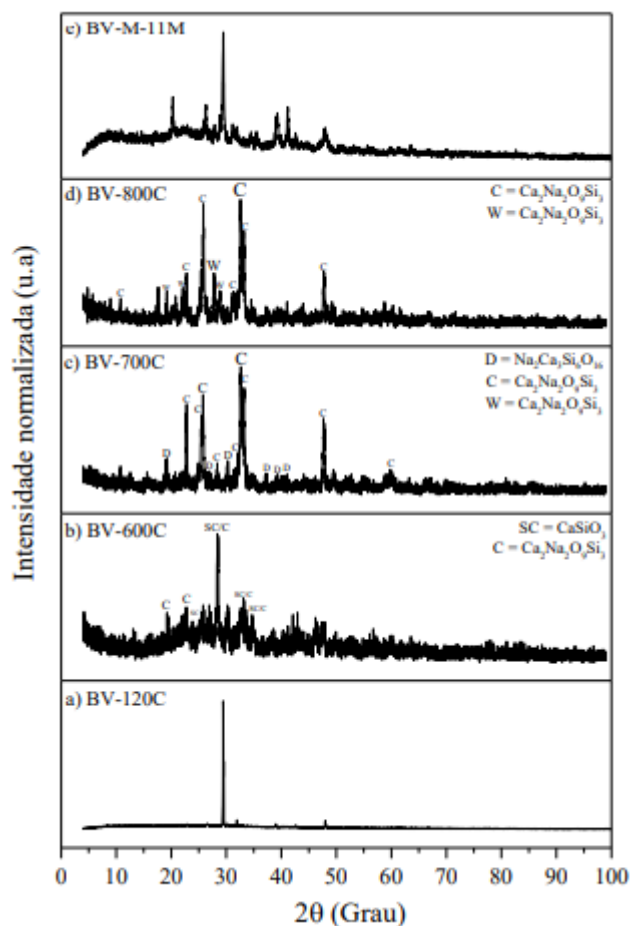
A Tabela 3 indica o refinamento via método de Rietveld usando um software chamado de Match! Versão 3.0, Crystal impact, Bohn, Alemanha.

Tabela 3 - Quantificação das fases cristalinas

Composição	TT (°C)	Fases formadas			
		(I)	(II)	(III)	(IV)
Biovidro bioativo 45S5-Forno convencional	600-3 h	0,00	76,2	23,8	0,00
	700-3 h	18,2	0,0	55,8	26,0
	800-3 h	85	15	0,00	0,00
Biovidro bioativo em forno de micro-ondas	300-400-11 minutos				
(I) Combeita, fórmula molecular $\text{Ca}_2\text{Na}_2\text{O}_9\text{Si}_3$, ficha ICDD: 96-900-7718 (II) Silicato de cálcio, fórmula molecular CaSiO_3 , ficha ICDD: 96-900-8183, Referência (11) (III) Devitrita, fórmula molecular $\text{Ca}_4\text{Na}_4\text{O}_{18}\text{Si}_6$, ficha ICDD: 96-153-5731, Referência(12); (IV) Clinifosnaita, Fórmula $\text{Ca}_2\text{Na}_6\text{O}_{14}\text{P}_2\text{Si}_2$, ficha ICDD: 96-901-1878 (V) Calcite, TT: Temperatura do tratamento térmico em °C					

Fonte: Elaboração própria.

Figura 1 - Difratometria de raios X (DRX) das amostras de biovidro sobre tratamento térmico em a) 120oC (BV-120C), b) 600 oC (BV-600C), c) 700 oC (BV-700C) e d) 800oC (BV-800C) com patamar de 3 horas e e) biovidro em forno de micro-ondas por 11 minutos (BV-M-11M)



Fonte: Elaboração própria.

5.2 Ensaio de Bioatividade

A bioatividade foi realizada pela imersão do pó em solução de SBF conforme descrito por Kokubo¹¹, a escolha das amostras foram de acordo com os resultados do DRX.

Tabela 4 - Proporção entre os componentes para a síntese do biovidro bioativo e tempo de permanência em forno de micro-ondas e tratamento em solução de SBF

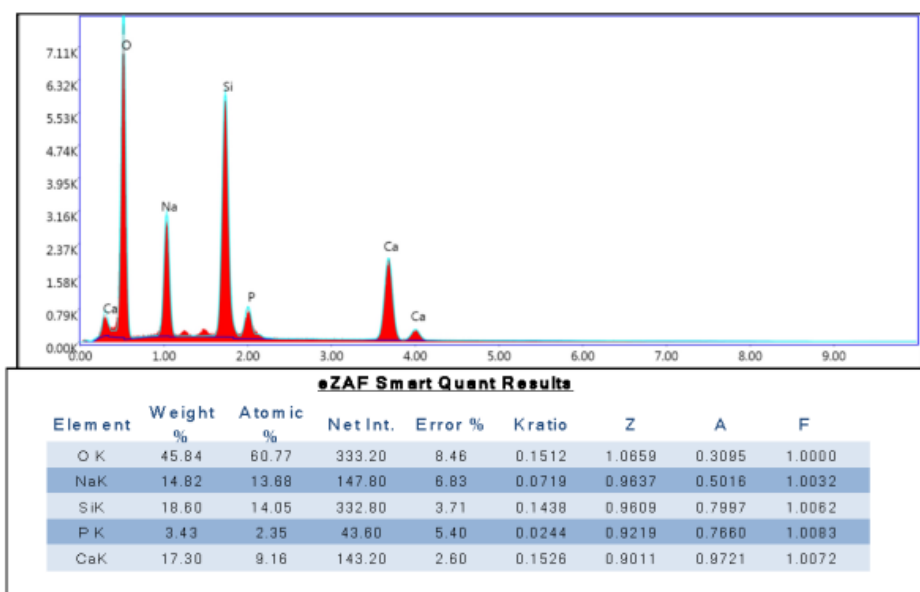
Formulação teórica (% massa)	(%; m)	Tratamento térmico		SBF	Nomenclatura
		TT (°C)	TP		
Sílica-(SiO ₂) Óxido de sódio-(Na ₂ O) Óxido de cálcio-(CaO) Óxido de fósforo (P ₂ O ₅)	45 24,5 24,5 6	700	3 horas	Sem	BV-700
			3 horas	8 horas	BV-700-8H-SBF
			3 horas	5 dias	BV-700-5D-SBF
			3 horas	15 dias	BV-700-15D-SBF
		300-400	11 min.	8 horas	BV-MO-11-8H-SBF
			11 min.	5 dias	BV-MO-11-5D-SBF
			11 min.	15 dias	BV-MO-11-15D-SBF
TT : tratamento térmico; PM: Porcentagem em massa e TP é o tempo de permanência ou patamar.					

Fonte: Elaboração própria.

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura com Canhão de Emissão de Campo (MEV-FEG)

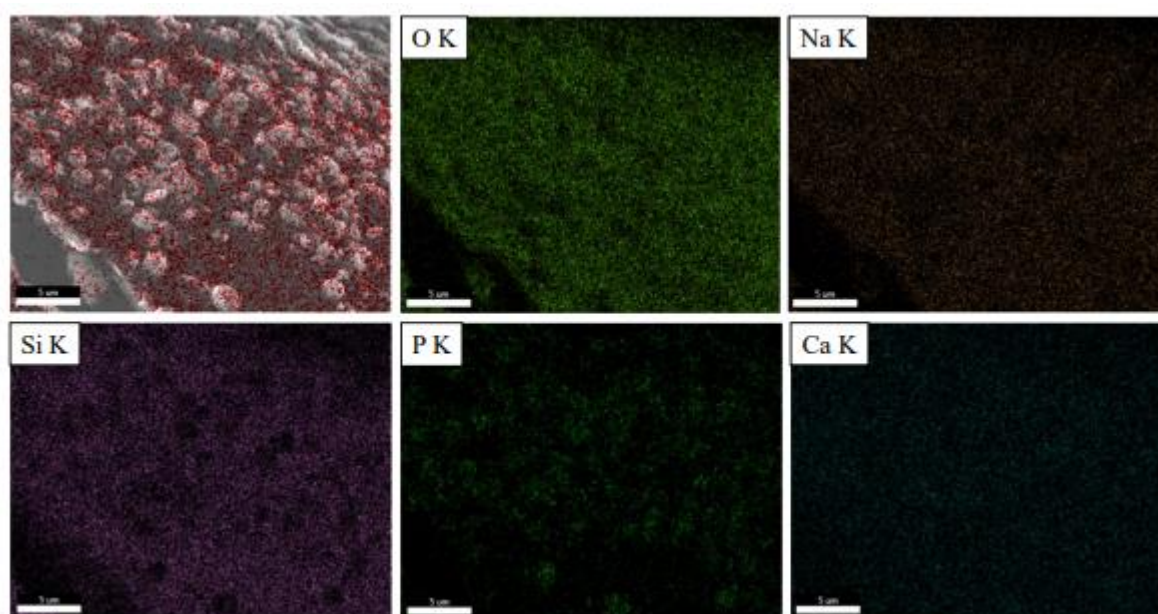
Realizou-se as análises de MEV-FEG em equipamento FEI Inspect F50, Holanda. A preparação da amostra foi realizada com uma pequena quantidade de pó previamente secada em estufa. O pó foi colocado sobre uma fita de carbono condutor e em seguida foi realizado o recobrimento com um filme nanométrico de prata em equipamento de sputtering.

Figura 3 - Mapeamento realizado pela técnica de EDX (Espectroscopia dispersiva de raios X) em microscópio eletrônico de varredura para a composição BV700-8H-SBF



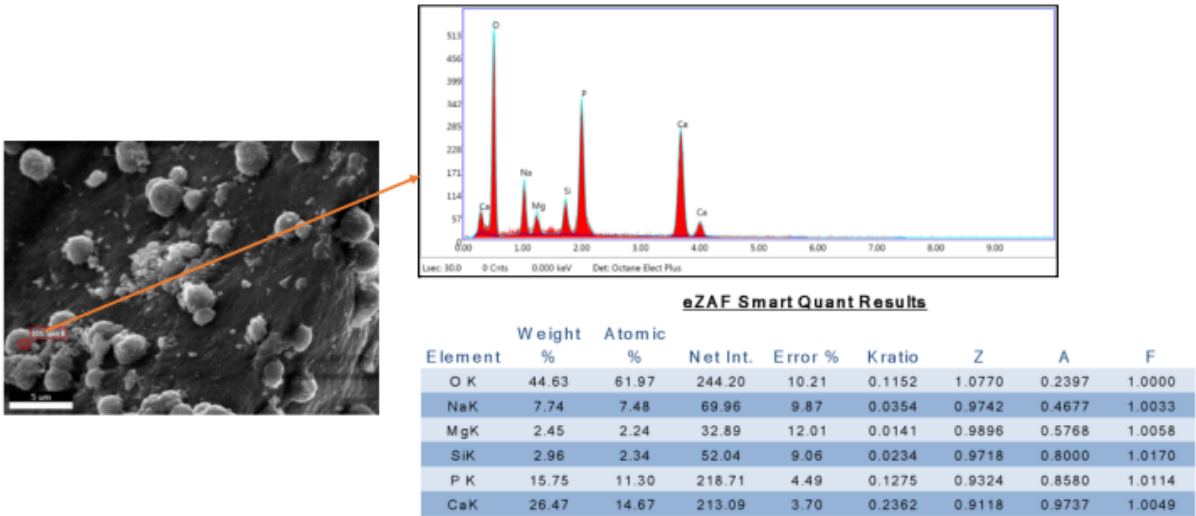
Fonte: Elaboração própria.

Figura 4 - Espectro de EDX da amostra BV700-8H-SBF



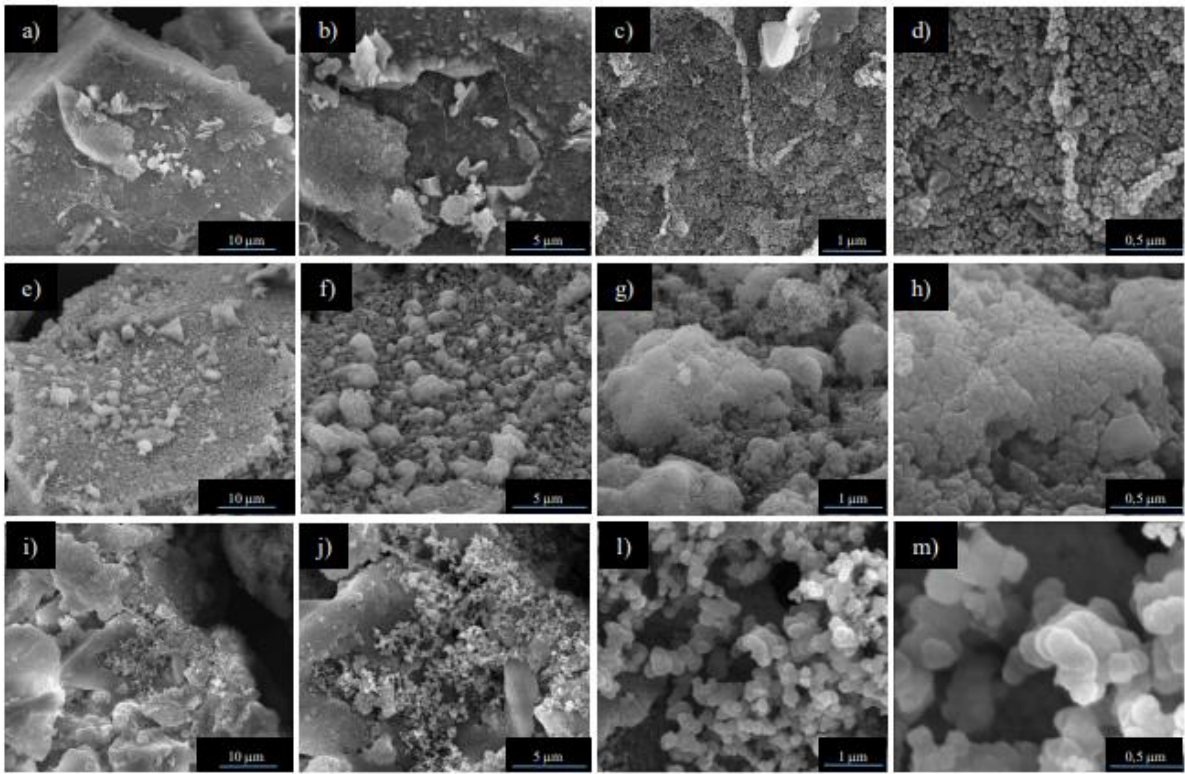
Fonte: Arquivo pessoal da autora.

Figura 5 - Espectro de EDX da amostra BV700-5D-SBF



Fonte: Arquivo pessoal da autora.

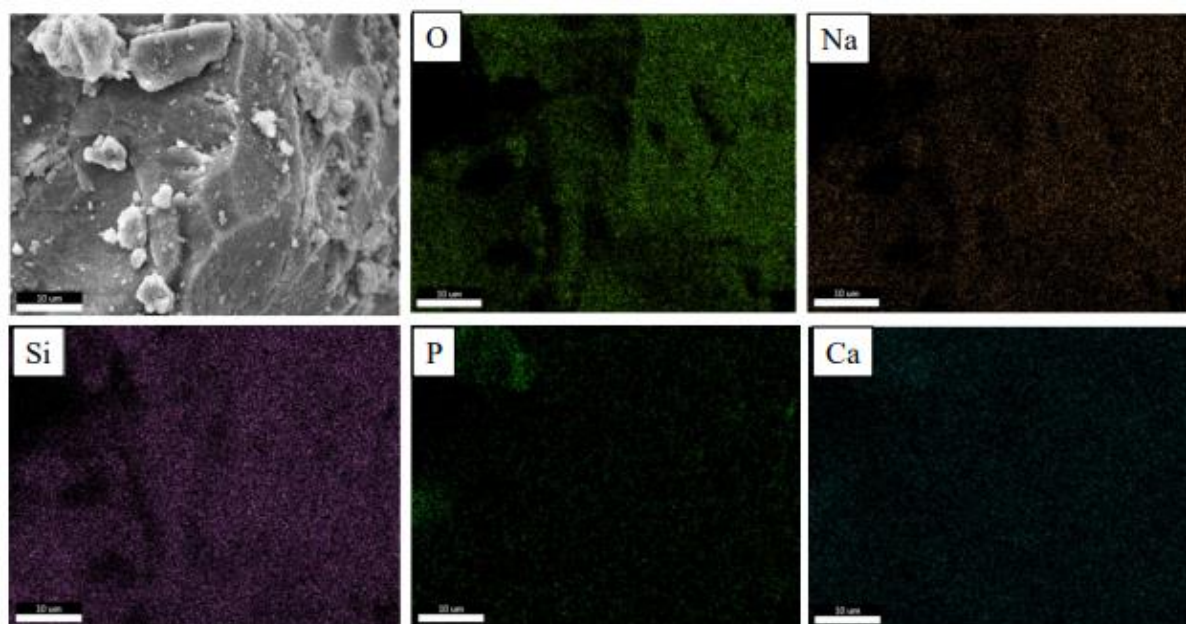
Figura 6 - Estudo de bioatividade de biovidro obtido via rota sol-gel e tratado termicamente com forno de micro-ondas



a, b,c,d) BV-11-8H-SBF; e,f,g,h) BV-MO11- 5D-SBF; e i,j,l,m) BV-MO11-15D-SBF.

Fonte: Arquivo pessoal da autora.

Figura 7 - Mapeamento por energia dispersiva de raios X da amostra submetida ao tratamento térmico em micro-ondas



Fonte: Arquivo pessoal da autora.

Tabela 5 - Componentes avaliados pela técnica de EDX da amostra com diferentes tempos de exposição a solução de SBF

Composição	Cálcio (% massa)	Fósforo (% massa)	Silício (% massa)	Sódio (% massa)
BV-MO11-SEM-SBF	16,22	2,47	26,69	12,04
BV-MO11-8H-SBF	20,70	3,34	40,10	0,36
BV-MO11-5D-SBF	29,67	4,85	21,04	5,21
BV-MO11-15D-SBF	29,49	7,49	11,53	8,53

Fonte: Elaboração própria.

5.4 Espectroscopia por Fluorescência de Raios X (FRX)

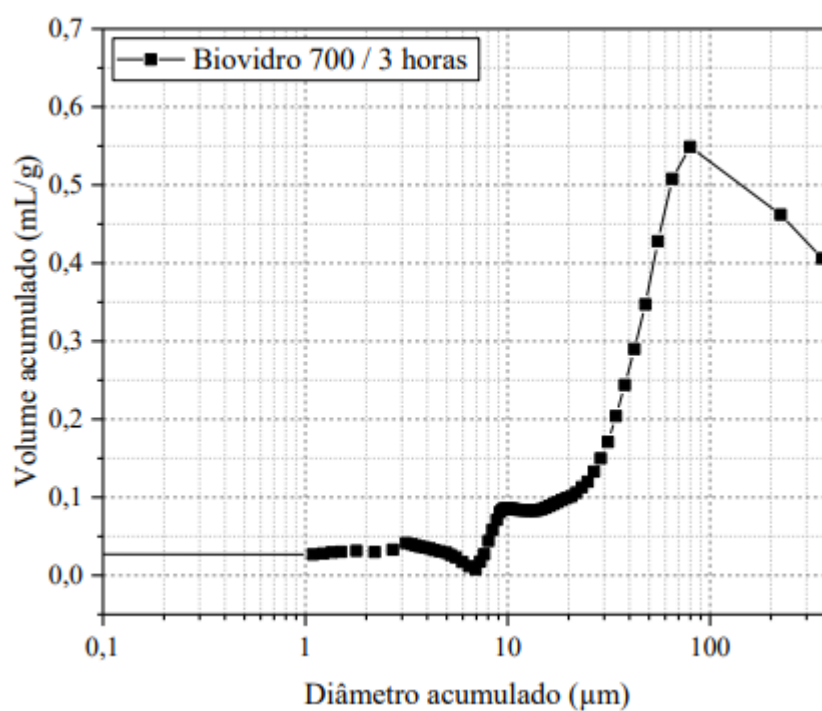
Os ensaios de FRX foram realizados em equipamento da marca Shimadzu EDX720, do Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) da UFSCar, a partir do pó das duas amostras de biovidro, e os seus resultados estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6 - Comparação das quantidades em massa dos elementos do biovidro

Elementos	Biovidro 700 °C-3horas	Biovidro após 11 min. em microondas
	(% massa)	(% massa)
Na ₂ O	15,1	12,3
SiO ₂	41,2	47,5
P ₂ O ₅	9,88	8,53
CaO	33,8	31,7

Fonte: Elaboração própria.

5.5 Ensaio de Porosimetria por Intrusão de Mercúrio

Figura 8 - Porosimetria por Intrusão de Mercúrio da Amostra BV700-3H

Fonte: Elaboração própria.

6 DISCUSSÃO

No ensaio de difratometria de raios X (DRX) foi possível quantificar as fases cristalinas presentes e dentre elas pode-se inferir que em 600°C foi possível observar a presença da fase de silicato de cálcio devido as quantidades expressivas em massa desses dois elementos favorecendo termodinamicamente a sua formação e a fase devitrificada, composta dos elementos usados no processo de síntese.

Em 700°C foi possível identificar a presença das fases cristalinas combeita e devitrificada conforme descrito na literatura¹⁰, ocorreu também a formação de uma nova fase cristalina identificada no software e chamada de clinifosnaita com uma porcentagem em massa de 26%, e que possui em sua estrutura todos os elementos usados na síntese do biovidro inclusive com a presença do fósforo ligado em sua estrutura, diferentemente das outras fases cristalinas, vale ressaltar que o DRX apresenta um limite de quantificação de 5%, ou seja, mesmo assim esse elemento foi quantificado.

Na temperatura de tratamento térmico de 800°C identificou-se a presença da fase majoritária formada combeita com 85% em massa e silicato de cálcio com 15 em massa.

No ensaio de bioatividade a amostra submetida a tratamento térmico em 700°C em forno convencional apresentou fases cristalinas adequadas e não apresentou citotoxicidade. A outra amostra escolhida para o ensaio de bioatividade foi a amostra com tempo de permanência de 11 minutos no forno de micro-ondas, uma vez que tempos menores não chegaram a um aumento de temperatura local representativo, a amostra com 11 minutos obteve uma temperatura média entre 300-400°C que seria adequada para iniciar o processo de formações de fases cristalinas, conforme observou-se na Figura 1.

As Figuras 2a, 2b e 2c são as imagens das partículas do biovidro tratado termicamente em forno resistivo convencional a 700°C com patamar de 3 horas e taxa de aquecimento de 5°C.min⁻¹. Observa-se a presença de grandes aglomerados com tamanho entre 50 e 150 microns, formado por partículas primárias na escala nanométrica uma vez que o método sol-gel apresenta a característica de formar partículas nesta escala.

Após a imersão do pó em solução de SBF da composição BV700 durante 8 horas, foi possível observar o início da precipitação de compostos contendo elementos

a base de fósforo e cálcio na superfície do biovidro, conforme as Figuras 2d, 2e e 2f. Conforme houve aumento no tempo de imersão na solução de SBF ocorreu um aumento da precipitação na superfície do biovidro, como no tempo de 5 dias indicado nas Figuras 2g, 2h e 2i, e com 15 dias além de ocorrer o aumento da quantidade de precipitados, ocorreram a formação de cristais com formato de agulhas característicos da formação da hidroxiapatita, que podem ser observados nas Figuras 2j, 2l e 2m.

A caracterização feita pela espectroscopia dispersiva de raios X (EDX) indicou que a relação entre os elementos cálcio e fósforo (Ca/P) foi de 5,04 referente a amostra BV700-8H-SBF, isso indica que houve um início da formação de fosfatos de cálcio característicos da hidroxiapatita, contudo devido ao pouco tempo a reação não foi completa, mas este resultado indica a elevada bioatividade do biovidro sintetizado.

As imagens de microscopia (MEV-FEG) da Figura 6, indicam que a amostra submetida ao forno de micro-ondas durante um tempo de 11 minutos e submetida ao ensaio de bioatividade indicaram que houve recobrimento da superfície com compostos precipitados a partir da solução de SBF, formando inicialmente esferas contendo elementos a base de cálcio.

A Figura 7 indica a distribuição dos elementos do biovidro submetido a tratamento térmico em forno de micro-ondas, além da realização de uma análise semiquantitativa dos componentes presentes no biovidro. Pode-se observar que o elemento cálcio-Ca apresentou 16,22% em massa elementar, transformando em óxido de cálcio corresponde a 18,29%, o elemento silício apresentou 26,69% em massa após transformação obtém 46,02% de SiO_2 e finalmente o composto de fósforo apresentou 2,47% e transformando em óxido de fósforo- P_2O_5 , obteve 9,13% em massa, comparando com a técnica de fluorescência de raios X, conforme Tabela 5, a sílica apresentou valores próximos, assim como o óxido de fósforo, contudo ressaltamos as diferenças técnicas entre as medidas bem como as áreas utilizadas para a realização da medição, contudo apresentaram similaridades entre as medidas.

A Tabela 5 indica que superficialmente houve aumento gradativo dos componentes cálcio elementar, variando de 16,22% para 29,49% em massa, e o elemento fósforo elementar variou de 2,47% para 7,49% em massa, ambos conforme o tempo de permanência variou de 0 e 8 Horas, 5 e 15 dias de exposição ao SBF. A indicação desse resultado é que houve a precipitação de compostos de fosfato de cálcio, indicando que o material é bioativo e quanto maior o tempo maior é a

quantidade de precipitados formada, sendo fundamental para o processo de troca iônica para o crescimento de osso novo.

A composição do biovidro obtido em forno convencional a 700°C com patamar de 3 horas e com taxa de aquecimento de 50C.min⁻¹, após a análise do pó via a técnica de espectroscopia de fluorescência de raios X (FRX) apresentou a composição 41,2%SiO₂ : 15,1%Na₂O : 33,8%CaO : 9,88%P₂O₅, as variações em massa se comparadas com o biovidro 45S5 (45%SiO₂ : 24,5%Na₂O : 24,5%CaO : 6%P₂O₅) apresentaram variações principalmente em relação ao elemento sódio, que no caso em específico é utilizado para abaixar o ponto de fusão do biovidro clássico para algo em torno de 1300oC, como a rota sol-gel foi a utilizada para a produção do biovidro BV700-3 e que o mesmo não chega ao ponto de fusão, essa diferença do composto óxido de sódio não representa agravante em relação as propriedades do biovidro em especial a bioatividade que será avaliada pela técnica de microscopia eletrônica de varredura.

Da mesma forma de raciocínio o biovidro produzido após 11 minutos dentro do sistema de aquecimento no forno de micro-ondas, conforme a Tabela indicou a seguinte composição em massa 47,5%SiO₂: 12,3%Na₂O: 31,7%CaO: 8,53%P₂O₅, portanto, próxima da composição utilizando o forno convencional e ressaltamos que a preparação do biovidro foi realizada em diferentes dias, sendo está uma variação natural do processo de produção.

Devido a presença de volume acumulado as partículas de biovidro apresentam uma quantidade de poros que são fundamentais para a molhabilidade do biovidro auxiliando no desenvolvimento celular, como pode-se observar no estudo de bioatividade a molhabilidade superficial foi importante para a precipitação de partículas oriundas da solução de SBF, dentre elas compostos com os elementos¹⁰.

7 CONCLUSÃO

Os resultados indicaram a possibilidade de obter o biovidro 45S5 com as modificações propostas, neste caso utilizando a sílica coloidal como fonte geradora do biovidro além da utilização do ácido fosfórico como fonte de fósforo.

A composição obtida pelo biovidro após ensaio de FRX foi de $41\text{SiO}_2:15\text{Na}_2\text{O}:34\text{CaO}:10\text{P}_2\text{O}_5$ porcentagem em massa, ou seja, próxima da composição do biovidro 45S5 com diferença no composto óxido de sódio que apresentou uma menor quantidade o que não causa interferência na bioatividade sendo este composto responsável pela redução da temperatura de fusão do biovidro, o que neste caso não se atingiu a temperatura de fusão do vidro pois utilizou-se o processo sol-gel e sem a necessidade de fusão. O composto óxido de cálcio apresentou-se com cerca de 10% em 0,1 1 10 100 0,0 0,1 0,2 0,3 0,4 0,5 0,6 0,7 Volume acumulado (mL/g) Diâmetro acumulado (μm) Biovidro 700 / 3 horas massa superior a composição clássica e este elemento é fundamental devido a composição do osso ser formado por cálcio e fósforo o que pode favorecer a troca iônica.

O DRX demonstrou a formação das fases cristalinas devitrita, combeita e clinfosnaita na temperatura de 700 °C que são típicas do processo de síntese sol-gel, portanto o processo substituiu reagentes de maior valor agregado e elevada toxicidade obtendo fases cristalinas semelhantes.

Nos ensaios de MEV e EDX foi possível indicar a bioatividade logo em 8 horas após a imersão em SBF com indícios de formação de fosfatos de cálcio o que se concretizou após 5 e 15 dias, indicando a sua elevada bioatividade.

REFERÊNCIAS*

1. Laurencin CT, Khan Y, Veronick J. Bone graft substitutes: past, present, and future. In: Laurencin C, Jiang T, editors. Bone graft substitutes and bone regenerative engineering. 2nd. ed. West Conshohocken: ASTM International; 2014. p.1-10.
2. Wenz B, Oesch B, Horst M. Analysis of the risk of transmitting bovine spongiform encephalopathy through bone grafts derived from bovine bone. *Biomaterials*. 2001; 22(12): 1599–606.
3. Hench LL. Bioglass: 10 milestones from concept to commerce. *J Non Cryst Solids*. 2016; 432: 2–8.
4. Hench LL, Splinter RJ, Allen WC, Greenlee TK. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *J Biomed Mater Res*. 1971; 5(6): 117–41.
5. Jones JR. Reprint of: review of bioactive glass: from hench to hybrids. *Acta Biomater*. 2015; 23 Suppl: S53-82.
6. Hua S-Bin, Su J, Deng ZL, Wu JM, Cheng LJ, Yuan X et al. Microstructures and properties of 45S5 bioglass® & BCP bioceramic scaffolds fabricated by digital light processing. *Addit Manuf*. 2021; 45: 102470.
7. Faure J, Drevet R, Lemelle A, Ben Jaber N, Tara A, El Btaouri H et al. A new sol-gel synthesis of 45S5 bioactive glass using an organic acid as catalyst. *Mater Sci Eng C*. 2015; 47: 407–12.
8. Da Silva Buriti J, Barreto MEV, Barbosa FC, de Brito Buriti BMA, de Lima Souza JW, de Vasconcelos Pina H et al. Synthesis and characterization of Agdoped 45S5 bioglass and chitosan/45S5-Ag biocomposites for biomedical applications. *J Therm Anal Calorim*. 2021; 145: 39-50 .
9. Stöber W, Fink A, Bohn E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *J Colloid Interface Sci*. 1968; 26(1): 62–9.
10. Iler RK. The chemistry of silica: solubility, polymerization, colloid and surface properties, and biochemistry. Wiley-Interscience: Lavoisierfr. 1979.
11. Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*. 2006; 27(15): 2907-15.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

ANEXO A – APROVAÇÃO RELATÓRIO CIENTÍFICO II

Relatório Científico para Elaboração	
Processo	<u>2021/05778-6</u> Mais Informações ▼
Linha de Fomento	Programas Regulares / Bolsas / No País / Iniciação Científica - Fluxo Contínuo
Situação	Em Execução
Vigência	01/10/2021 a 30/06/2023
Beneficiário	<u>Joana Rodrigues Zaroni</u>   
Responsável	<u>Luis Geraldo Vaz</u>      
Vínculo Institucional do Processo	Faculdade de Odontologia de Araraquara/FOAR/UNESP
Título	Síntese e caracterização de bioglass (45S5) obtido via processo sol-gel usando forno convencional e comparação com forno de micro-ondas.

Nesta lista são apresentados todos os compromissos de Relatórios Científicos do processo. Para elaborar um novo relatório, alterar um relatório em elaboração ou consultar um relatório, clique no link sobre a sua data de compromisso. Não será possível elaborar um Relatório Científico, sem que o anterior já tenha sido elaborado e enviado à FAPESP. Para visualizar todos os Relatórios Científicos de um compromisso, marque o compromisso e selecione a opção "Visualizar Relatórios do Compromisso".

Visualizar Relatórios do Compromisso 									
Ordem	Data do Compromisso	Período Relacionado	Elaborado Por	Submetido Por	Data da Submissão	Situação RC Atual	Situação do Compromisso	#	
1º	<u>10/03/2022</u>	01/10/2021 a 10/03/2022	Joana Rodrigues Zaroni	Luis Geraldo Vaz	10/03/2022	Aprovado	Atendido	1	☐
2º	<u>10/10/2022</u>	10/03/2022 a 30/09/2022	Joana Rodrigues Zaroni	Luis Geraldo Vaz	05/10/2022	Aprovado	Atendido	2	☐
3º	<u>10/02/2023</u>	01/10/2022 a 10/02/2023					Previsto	3	☐
4º	<u>10/07/2023</u>	10/02/2023 a 30/06/2023					Previsto	4	☐