



UNIVERSIDADE FERDERAL DO MARANHÃO

Centro de Ciências Sociais, da Saúde e Tecnologia – CCSST

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais –

PPGCM

Floriano Guimarães Neto

ESTUDO DO EFEITO DO ÓXIDO DE ESTRÔNCIO NA BIOATIVIDADE DO SISTEMA VÍTREO CÁLCIO-SÓDIO-BORATO

Orientadora: Prof^{ta}. Dr^a. Franciana Pedrochi

Coorientador: Prof. Dr. Alysson Steimacher

Imperatriz

2019



UNIVERSIDADE FERDERAL DO MARANHÃO

Centro de Ciências Sociais, da Saúde e Tecnologia – CCSST

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais –
PPGCM

Floriano Guimarães Neto

ESTUDO DO EFEITO DO ÓXIDO DE ESTRÔNCIO NA BIOATIVIDADE DO SISTEMA VÍTREO CÁLCIO-SÓDIO-BORATO

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Franciana Pedrochi

Coorientador: Prof. Dr. Alysson Steimacher

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais como requisito obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Imperatriz

2019

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

GUIMARAES NETO, FLORIANO.

ESTUDO DO EFEITO DO ÓXIDO DE ESTRÔNCIO NA BIOATIVIDADE
DO SISTEMA VÍTREO CÁLCIO-SÓDIO-BORATO / FLORIANO GUIMARAES NETO.
- 2019.

85 p.

Coorientador(a): ALYSSON STEIMACHER.

Orientador(a): FRANCIANA PEDROCHI.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Ciência dos Materiais/ccsst, Universidade Federal do Maranhão,
IMPERATRIZ, 2019.

1. BIOATIVIDADE. 2. ESTRÔNCIO. 3. HIDROXIAPATITA. 4.
LIBERAÇÃO DE ÍONS. 5. VIDROS. I. PEDROCHI, FRANCIANA.



UNIVERSIDADE FERDERAL DO MARANHÃO

Centro de Ciências Sociais, da Saúde e Tecnologia – CCSST
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais – PPGCM

Membros da Comissão Julgadora da defesa da dissertação de mestrado do aluno **Floriano Guimarães Neto**, apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM).

Imperatriz, 28 de Junho de 2019.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof^ª. Dr^ª. Franciana Pedrochi (Orientadora do Candidato)
PPGCM/UFMA

Prof. Dr. Márcio José Barbosa
PPGCM/UFMA

Prof. Dr. Gutierrez Rodrigues de Moraes
DFI/UEM

Av.da Universidade, Res. Dom Afonso Felipe Gregory, S/N, Imperatriz-Ma, Cep. 65900-970

Agradecimentos

A Deus, primeiramente, por tudo que me proporcionou.

À minha esposa Aline Leão, que sempre me deu forças e mesmos nos dias que parecia que não daria certo sempre acreditou, pelo afeto, pela dedicação e a compreensão. Agradeço pelo apoio e incentivo que foram fundamentais para chegar até onde cheguei.

Aos meus pais pelo apoio nos momentos difíceis da trajetória até aqui, em especial à minha Mãe, Ana Rosa Mendes, que sempre me incentivou a continuar. Ao meu Pai Sebastião, obrigado.

À minha família, meus irmãos Zeynon, Diego, minha cunhada Fernanda, meu cunhado Estevão, meus sogros Estevão e Francisca, que sempre me apoiaram mesmo achando que eu produzia vidro para janela kkk.

Aos meus amigos João Gomes, Otávio Cândido e Bernardo Rurik pelo apoio incentivo e ajuda durante todo o trabalho, a vocês vale um agradecimento especial.

Aos meus colegas de turma Laís (pela ajuda com o trabalho), Raychiman, Ronaldo, e Emanuela que foram fundamentais no meu processo de evolução durante as aulas e trabalhos.

À Dona Antônia que sempre esteve presente, pelas brincadeiras, sorrisos, histórias e o companheirismo diário durante o desenrolar deste trabalho.

Aos colegas de laboratório, Natacya (vulgo Tatasha) pelas partidas de dardo e ajuda na tirada de dúvidas, Sátya (Sasha), Suzy, João Vitor Neres (vulgo Bob), Taís (Peetins) minha aluninha e companheira que colaborou muito para o desenvolvimento deste trabalho, Natal (pai do aninho novinho) que não ganharia de mim na corrida kkkk.

Ao professor Márcio José Barboza (o Maaarcio “sotaque paranaense”) pelas partidas de dardo também, pelas dicas e ajuda com o desenvolvimento do trabalho.

Ao meu Coorientador professor Alysson Steimacher, que desde o início do trabalho ajudou com ideias, e com a parte experimental, o que sem dúvida elevou muito o nível do trabalho, pelas brincadeiras, e as brigas nas horas necessárias.

À minha orientadora professora Franciana Pedrochi, primeiramente pela oportunidade e confiança, pela ajuda constante, pelas instruções, ensinamentos e pelas muitas correções do trabalho, desde o projeto, qualificação e por último a dissertação (que eu acho que ficou boa rs), pelos puxões de orelha quando necessário, pela atenção e paciência. Obrigado.

Às pessoas que não foram diretamente citadas, mas que de alguma forma colaboraram com este trabalho, obrigado.

RESUMO

Foram estudados neste trabalho vidros bioativos no sistema vítreo cálcio-sódio-borato, substituindo óxido de cálcio (CaO) e óxido de sódio (Na₂O) por óxido de estrôncio (SrO), para avaliar a bioatividade do sistema e o controle da liberação de íons em SBF. Cinco amostras foram preparadas pelo método de fusão resfriamento, variando a concentração de SrO de 0 a 20% em peso, a fim de entender como as propriedades da matriz são alteradas com a inserção de estrôncio e como se dá o processo de lixiviação iônica em SBF. Os difratogramas obtidos para as amostras vítreas antes da imersão em SBF confirmaram a natureza amorfa do material. Os dados de densidade mostraram um aumento à medida que se substituiu CaO e Na₂O por SrO, enquanto que o volume molar diminuiu em proporções semelhantes. Os espectros no infravermelho das amostras antes da imersão em SBF identificaram três bandas características de vidros boratos, vibrações das ligações dos grupos BO₃ e BO₄. As medidas de calor específico não mostraram variações significativas. Ainda assim, a variação dos valores de N₄ mostraram um aumento de conectividades das estruturas boratos, indicando um aumento de unidades BO₄, por influência do SrO, diminuindo a reatividade química do vidro. Os valores de pH da solução mostraram um comportamento exponencial, com menores valores para as amostras com maior quantidade de SrO e maior pH para a amostra sem estrôncio, indicando um controle da liberação de íons em SBF como ação do SrO. Os dados de FTIR e DRX, obtidos em períodos de até 28 dias de imersão das amostras em SBF, confirmaram a bioatividade dos materiais com a formação de hidroxiapatita (HA) em sua superfície. Estes resultados sugerem que os vidros estudados possuem menores taxas de lixiviação iônica em SBF, quando comparados com a amostra sem estrôncio. Logo, prova que o estrôncio consegue controlar a liberação de íons por gerar mudanças de conectividade na matriz vítrea.

ABSTRACT

In this work the replacement of calcium and sodium oxide by strontium oxide in the calcium-sodium-borate bioactive glasses was studied to evaluate the bioactivity of the system and the control of the ion release in SBF. Five samples were prepared by the melt quenching technique, varying the concentration of SrO from 0 to 20 % wt, in order to understand how the properties of the matrix would be altered with the strontium insertion and how the ionic leaching process in SBF occurs. The diffractograms carried out for the samples before the immersion in SBF confirmed their amorphous nature. The density data showed an increase as CaO and Na₂O were replaced by SrO, while the molar volume decreased in the same proportions. The infrared spectra of the samples, before immersion in SBF, showed three bands characteristic of borate glasses vibrations of BO₃ and BO₄ group bonds. The specific heat data did not show significant variations. However, the N₄ values showed an increase of connectivity in the borate structures indicating an increase of BO₄ units due to the influence of Sr, decreasing the chemical reactivity of the glasses. The pH data showed an exponential behavior with lower values for the samples with higher amount of SrO and higher pH for the sample without strontium indicating a control of the ions releasing in SBF. The FTIR and XRD data obtained after of the immersion of samples in SBF confirmed the bioactivity of the materials with formation of hydroxyapatite (HA) on their surfaces. These results indicate that strontium doped calcium-sodium-borate glasses have lower rates of ionic leaching in SBF when compared to the sample without of strontium. Therefore, it is evident that strontium can control the release of ions by inducing changes in connectivity in the vitreous matrix.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Evolução da funcionalidade e da capacidade regenerativa dos biomateriais ao longo do tempo. [14].....	16
Figura 2 -Ligas metálicas e polímeros como elementos estruturais na estabilização de fraturas ósseas.[15]	17
Figura 3 -Diferença entre estrutura cristalina (A) e vítrea (B).[21]	18
Figura 4 - Efeito da temperatura na formação do vidro.[20].....	19
Figura 5 - Anel boroxol. [20].	21
Figura 6 - Diferentes estruturas formadas pelos grupos boratos BO_3 e BO_4 .[33,34].....	22
Figura 7 -Estrutura do Bioglass® 45S5.[35]	23
Figura 8 -Espectro de absorção de IR da amostra contendo 5% em peso de Sr em vidro silicato bioativo, em função do tempo de imersão em SBF.[55]	28
Figura 9 -Espectro de absorção no IR antes e após uma hora de imersão em SBF das amostras de vidro silicato bioativo contendo óxido de estrôncio. [60]	29
Figura 10 - Espectro de absorção no IR das amostras variando SrO de 0 a 20% (G1 a G5) antes da imersão em solução diluída de fosfato.[11]	30
Figura 11 - Espectro de absorção no IR das amostras variando SrO de 0 a 20% (G1 a G5) após da imersão em solução diluída de fosfato. [11]	30
Figura 12 -Variação do pH da solução de SBF contendo as amostras de vidro em função do tempo. [64].....	31
Figura 13 - Variação do pH da solução de SBF contendo as amostras vítreas em função do tempo.[63].....	32
Figura 14 :- Variação do pH da solução de fosfato contendo as amostras vítreas em função do tempo.[61].....	33
Figura 15 -Variação do pH da solução de SBF contendo as amostras borato (círculos preenchidos) e silicato (círculos vazios) em função do tempo.[66]	33
Figura 16 - Medidas de raios-x das amostras antes e após a imersão em SBF.[70].....	35
Figura 17 -Difratogramas das amostras G100, G200, G300 e G400 antes (a) e após (b) a imersão na solução	35
Figura 18 -Difratogramas das amostras G100, G200, G300 e G400 antes (a) e após (b) a imersão na solução diluída de fosfato por um período de uma semana. [68]	35
Figura 19 -Difratogramas das amostras de vidros antes (a) e após (b) a imersão em SBF por um período de 90 dias a uma temperatura de 37 °C. [72].....	36

Figura 20- Esquema de montagem do calorímetro de relaxação térmica. [83,84].....	40
Figura 21- Curvas de decaimento térmico para o substrato e o substrato mais uma amostra de alumínio.....	41
Figura 22- Termograma de DTA para a amostra CaNaB 5SrO.	44
Figura 23- Peagâmetro e banho térmico.....	46
Figura 24- Espectro da radiação eletromagnética.[103].....	46
Figura 25- Espectrômetro FTIR.	48
Figura 26- Foto dos vidros CaNaB fatiados.	52
Figura 27- Densidade e volume molar em função da concentração de estrôncio.	52
Figura 28- Difratograma das amostras CaNaB antes da imersão em SBF.....	54
Figura 29- Calor específico das amostras CaNaB em função do aumento da concentração de SrO.....	55
Figura 30- Espectro FTIR das amostras CaNaB antes da imersão em SBF.....	57
Figura 31- A) Orbitais atômicos do boro. B) Orbitais hibridizados do átomo de boro.....	58
Figura 32- Espectros FTIR das amostras CaNaB deconvoluídos.	59
Figura 33- Fração N ₄ para as amostras CaNaB.	60
Figura 34- Medidas de pH para as amostras CaNaB no período de 28 dias.	61
Figura 35- Perda de peso das amostras CaNaB em função do tempo após imersas em SBF..	63
Figura 36- Citotoxicidade para as amostras CaNaB, 10 SrO, 20 SrO.....	64
Figura 37- Difratogramas da amostra CaNaB após diferentes tempos de imersão em SBF.	65
Figura 38- Difratogramas da amostra 5 SrO após diferentes tempos de imersão em SBF.	66
Figura 39- Difratogramas da amostra 10 SrO após diferentes períodos de imersão em SBF.	67
Figura 40- Difratograma da amostra 15 SrO após diferentes tempos de imersão em SBF.	67
Figura 41- Difratograma para as amostras 20 SrO após diferentes tempos de imersão em SBF.	68
Figura 42- Difratograma das amostras CaNaB após 28 dias de imersão em SBF.	69
Figura 43- Espectros FTIR das amostras CaNaB após a imersão em SBF por um período de 28 dias.....	70
Figura 44- Espectros FTIR da amostra 10 SrO durante diferentes períodos de imersão em SBF (Inset: bandas em 565 e 602 cm ⁻¹).....	71
Figura 45- Espectros FTIR da amostra 20 SrO antes e depois de 28 dias de imersão em SBF, comparação entre a largura e área das bandas.	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentração das Amostras em peso e em mol.	37
Tabela 2 - Temperatura de fusão e do molde.	38
Tabela 3 - Concentração dos íons no SBF e no plasma sanguíneo humano. Adaptado[88]. ..	45
Tabela 4 - Atribuições dos modos vibracionais no infravermelho para os grupos identificados.....	70

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1 BIOMATERIAIS	15
2.2 VIDROS.....	17
2.4 VIDROS BIOATIVOS.....	23
3 REVISÃO BILIOGRÁFICA.....	28
3.1 VIDROS CONTENDO SRO	28
3.2 COMPORTAMENTO DO PH DURANTE A DISSOLUÇÃO DOS VIDROS BIOATIVOS EM FLUIDOS CORPORAIS OU SEMELHANTES	31
3.3 VIDROS BORATOS BIOATIVOS.....	34
4 MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1 Preparação das amostras	37
4.2 Técnicas de Caracterização	38
4.2.1 Densidade Volumétrica e Volume Molar	38
4.2.2 Difração de Raios-X	39
4.2.3 Calor Específico (Cp)	40
4.2.4 Análise Térmica Diferencial (DTA).....	42
4.3 BIOATIVIDADE	44
4.3.1 Testes <i>in vitro</i> SBF (<i>Simulated Body Fluid</i>)	44
4.3.3 Medidas de pH.....	48
4.3.3 Perda de peso	49
4.3.4 Testes de Citotoxicidade	50
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
5.1 MEDIDAS REALIZADAS ANTES DA IMERSÃO EM SBF	52
5.1.1 Densidade e Volume molar.....	52
5.1.2 Difração de Raios-X	53
5.1.3 Calor Específico.....	54
5.1.4 Análise Térmica Diferencial (DTA).....	55
5.1.5 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	56
5.1.7 Fração de Boros Tetracoordenados (N₄).....	57
5.2 MEDIDAS REALIZADAS APÓS 28 DIAS DE IMERSÃO EM SBF	60
5.2.1 Resultados do pH.....	60
5.2.2 Perda de Peso.....	62
5.2.3 Testes de Citotoxicidade	64

5.2.4 Medidas de raios-x após imersão em SBF.....	65
5.2.5 Medidas de FTIR após 28 dias de Imersão em SBF.....	69
6 CONCLUSÃO.....	73
7 REFERÊNCIAS.....	74

1 INTRODUÇÃO

Os seres humanos sempre foram curiosos e dedicados em mudar o ambiente a sua volta para adaptá-lo como melhor habitat de sobrevivência e de recursos. Por natureza os cientistas são investigadores curiosos, e esse instinto ajudou a humanidade a desenvolver seus meios de produção, bens e tecnologias, a fim de melhorar sua qualidade de vida e aumentar sua perspectiva de longevidade. Com os anos foi-se aprimorando materiais para utilização em partes do corpo danificadas ou mesmo membros perdidos em acidentes ou amputações. Surge aí a história dos biomateriais e sua vasta aplicação, primeiro por tentativa e erro, e mais atualmente por meio de várias pesquisas que viabilizam sua aplicação [1,2].

A busca por melhorar os materiais para aplicação *in vivo*, deu início a uma grande área de estudo que alavancou um grande número de pesquisas voltadas para o desenvolvimento de materiais com características compatíveis com o organismo humano, que hoje é conhecida como biomateriais. A aplicação de vidros como materiais bioativos veio como um grande passo nessa investigação. Até 1969 as pesquisas na área de reparação de tecidos eram dominadas pelo uso de ligas metálicas, polímeros, alguns compósitos e pouco se estudava sobre a área de cerâmicas ou vidros propriamente ditos [3,4].

Larry Hench foi pioneiro na pesquisa de vidros como material para tratamento, e reparação de tecidos ósseos danificados ou fraturados. Seu trabalho deu início a uma área muito estudada, e ainda muito vasta, na aplicação de materiais vítreos em implantes ortopédicos. O vidro 45S5 desenvolvido por ele, único vidro registrado como biovidro (Bioglass® 45S5) e constituído principalmente de sílica (SiO_2), foi o primeiro de muitos vidros desenvolvidos com a capacidade de se degradar em fluidos corporais ou fluidos corporais simulados (como o SBF, *Simulated Body Fluid*) e durante esse processo formar uma camada de apatita (hidroxiapatita) na superfície do material, criando uma forte ligação química com o tecido hospedeiro [5–7].

Os vidros com essa habilidade, de se degradar em solução e formar uma camada de hidroxiapatita em sua superfície, ficaram conhecidos como vidros bioativos. Desde então, vidros em várias bases diferentes foram produzidos e testados substituindo a sílica (SiO_2) para verificação da bioatividade, ou mesmo da velocidade de formação de apatita, que é um parâmetro de interesse, já que a aplicação no corpo humano é mais complexa por se tratar de um organismo muito dinâmico [8,9].

Os vidros boratos surgem como candidatos na substituição de silicatos, pois apresentam velocidade de degradação *in vitro* e *in vivo* mais rápida que de tais vidros (silicatos). O mecanismo de degradação dos vidros silicatos é lento devido à formação de uma camada rica

em sílica-gel na superfície do vidro, quando em contato os íons H^+ e H_3O^+ da solução. Esse mecanismo é diferente nos vidros boratos, nos quais não há formação de camadas para retardar a lixiviação, processo de degradação dos materiais por meio da perda de íons provocado por reações com o meio, iônica quando em soros ou soluções fisiológicas, o que gera uma maior e mais rápida conversão do material em hidroxiapatita [8,10].

Assim, os vidros boratos bioativos apresentam-se como materiais mais adequados para a aplicação como biomateriais na reparação de tecidos ósseos danificados, em comparação aos vidros silicatos. No entanto, altas concentrações de boro no corpo humano podem ser prejudiciais ao funcionamento regular do organismo, causando problemas como náuseas e disfunção renal. É necessária então uma liberação controlada de íons da matriz vítrea para evitar esse tipo de efeito adverso. Surge então a possibilidade de uso do estrôncio como modificador de rede, já que este é capaz de controlar a lixiviação dos íons presentes no vidro, devido ao rearranjo provocado na matriz por sua interferência nas ligações químicas do vidro [11].

Levando em consideração todo o contexto apresentado, o presente trabalho objetiva preparar e caracterizar vidros boratos bioativos na base $60B_2O_3-4P_2O_5-(12-X/2)CaO-(24-X/2)Na_2O-(X)Sr$, com ($X=0, 5, 10, 15$ e 20), vulgarmente chamado de CaNaB, em função de sua bioatividade e o efeito do óxido de estrôncio (SrO) substituindo os óxidos de cálcio e sódio na matriz vítrea. Nesse sentido, também avaliar a bioatividade dos vidros produzidos por meio de testes em SBF e o controle de liberação de íons durante o processo de degradação.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Biomateriais

A necessidade por desenvolver mecanismos de recuperação de partes do corpo danificadas, ou perdas durante eventos acidentais, como guerras, acidentes de trânsito, acidentes de trabalho, ou outros, sempre foi algo buscado pelo homem. Assim surgiu a grande área de biomateriais, criando e desenvolvendo diversos utensílios que possibilitaram e possibilitam ao homem o aumento na expectativa de vida e melhoria em sua qualidade [5,8,12].

O termo biomaterial vem sendo definido de diversas formas com o passar dos anos. Uma das definições mais comum é “um material, substância ou uma mistura de substâncias, natural ou sintética (artificial), que atua nos sistemas biológicos (tecidos ou órgãos) parcial ou totalmente, com o objetivo de substituir uma função ou auxiliar no desenvolvimento de uma função ou órgão, desde que não cause uma resposta adversa ao organismo hospedeiro” [4,13].

Outra definição mundialmente aceita, e talvez mais abrangente, é “dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos (incluindo fluidos biológicos), como aplicações diagnósticas, vacinas, cirúrgicas, ou terapêuticas, podendo ser constituídos de compostos de origem natural ou sintética, assim como os materiais naturais quimicamente modificados, tanto na forma de sólidos, quanto géis, pastas, ou mesmo líquidos, não sendo necessariamente fabricados” [1,3].

Esses materiais compreendem uma grande fração dos produtos usados na área da saúde. Dentre eles podem ser citados dispositivos biomédicos (biossensores, tubos de circulação sanguínea, sistemas de hemodiálise, dispositivos de liberação de medicamentos (na forma de filmes, implantes subdérmicos e partículas), órgãos artificiais, curativos, materiais implantáveis (suturas, placas, tendões, telas ou malhas, válvulas cardíacas, lentes, dentes, e substitutos ósseos), dentre outros materiais [14,15].

Desse modo, a nanotecnologia, a ciência e a engenharia de materiais, a engenharia de tecidos, a biomedicina e áreas afins estudam e projetam materiais com propriedades específicas que lhes possibilitem aplicabilidade como um novo biomaterial que possa estimular uma resposta biológica específica para a sua aplicação [16]. Na figura 1 pode ser visto a evolução dos materiais clinicamente utilizáveis, e os investigados, que também já estão sendo usados no tratamento de lesões e como substitutos de ossos, tecidos ou órgãos.

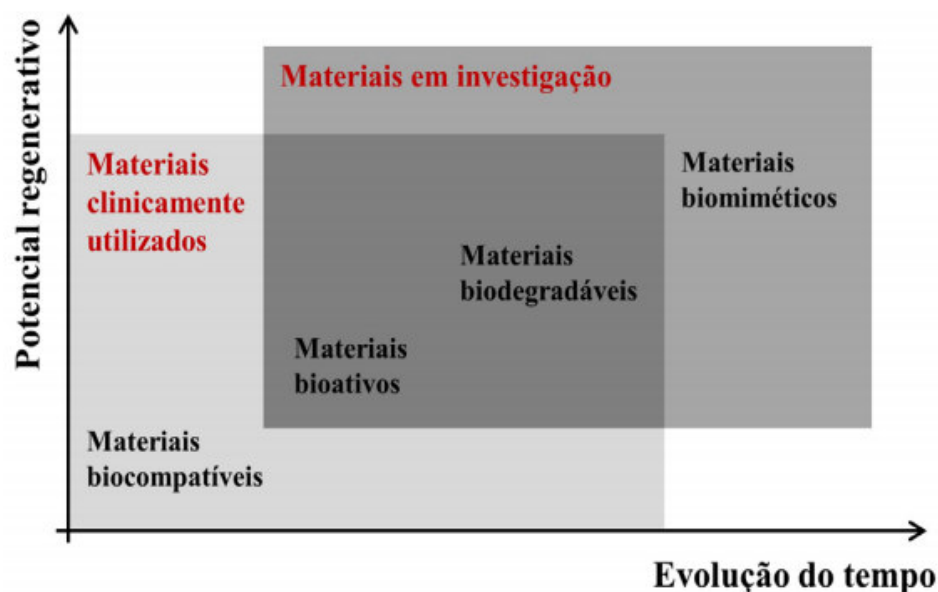


Figura 1 - Evolução da funcionalidade e da capacidade regenerativa dos biomateriais ao longo do tempo. [14]

Com o passar do tempo, e com o grande número de tentativas em fazer aplicações de biomateriais, um consenso foi atingido sobre as necessidades a serem atendidas pelo o material implantado. Sabendo que esses materiais devem entrar em contato com organismos vivos e consequentemente dinâmicos, sofrendo várias alterações dependendo de variáveis como clima, alimentação, prática de exercícios, dentre outras, concluiu-se que eles precisam de características que lhes possibilite interagir com o corpo hospedeiro sem causar danos e cumprir sua função [13].

De forma básica, os biomateriais devem resistir à interação com o ambiente hostil que é o organismo humano, sem se degradar (a menos que seja uma material aplicado com esta finalidade), nem produzir nenhuma resposta biológica adversa, local ou sistêmica [17]. Logo, um biomaterial deve ser: Biocompatível, após o implante o material deve resistir aos ataques do corpo sem se degradar ou liberar substâncias nocivas; ou Biofuncional, deve ter propriedades físicas e mecânicas que lhes permitam desenvolver seu propósito no lugar instalado; e Esterilizado, não pode ter contaminação de nenhuma natureza, sendo então submetido à esterilização, mas sem que isso afete suas propriedades. E ainda deve possuir um formato adequado para o local do implante, para que não cause desconforto ou choques mecânicos aumentando o desgaste e afetando sua eficiência [2,9].

Na figura 2 podem ser vistas algumas imagens de materiais usados como substitutos ósseos, na sua maioria materiais metálicos, como ligas metálicas inertes, ou mesmo materiais poliméricos, ou ainda a junção de funcionalidades entre os dois tipos de materiais.



Figura 2-Ligas metálicas e polímeros como elementos estruturais na estabilização de fraturas ósseas.[15]

Devido às experiências com os primeiros biomateriais, foram criados materiais que combinassem propriedades físicas com a mínima resposta imunológica do tecido hospedeiro. Assim, se destacaram os materiais metálicos, cerâmicos e poliméricos, como aços inoxidáveis, ligas de titânio, zircônia, alumina, polietileno, poliuretanos, resinas acrílicas e vidros bioativos [18].

Desse modo, os materiais com capacidade de melhorar a resposta biológica e a ligação com o tecido hospedeiro ganharam força nas últimas décadas. Materiais com degradação progressiva durante a regeneração tecidual, chamados de reabsorvíveis, deram início à aplicação de vidros como materiais bioativos (degradáveis em solução), não mais como materiais inertes [4,19].

2.2 Vidros

Com o passar dos anos e com o aumento do interesse em possíveis aplicações, buscou-se várias ideias sobre os vidros e de como surgiram, e consequentemente várias definições. Neste contexto, um dos primeiros a estudar as teorias de formação de vidros em função de seus formadores foi Goldschmidt, levando em consideração a natureza dos vidros óxidos, propôs que os vidros formados a partir de óxidos deveriam seguir uma regra geral de fórmula molecular (estrutural) que seria R_nO_m . Se os materiais de preparo seguissem essa regra e a razão entre o cátion (R) e do oxigênio (O) for entre 0,2 e 0,4 formariam vidros facilmente [20].

O trabalho de Zachariasen complementando as ideias de Goldschmidt em 1932, “The atomic arrangement in glass” [21], se tornou a base para entender e explicar os mais diversos tipos de estrutura amorfas (vítreas), e é possivelmente o trabalho mais referenciado no estudo de vidros inorgânicos.

Neste trabalho, Zachariasen propôs que “o arranjo atômico em vidros era caracterizado por uma rede tridimensional estendida, a qual apresentava ausência de simetria e periodicidade”. E que “a presença ou ausência de periodicidade e simetria em uma rede tridimensional, era o divisor de águas entre um vidro e um material cristalino”.

Na figura 3 podem ser vistas as diferenças estruturais entre um material cristalino, que possui ordem atômica periódica de longo alcance, e um material vítreo, atômicamente desordenado, quando visto sua ordem de longo alcance, comumente conhecido como material amorfo.

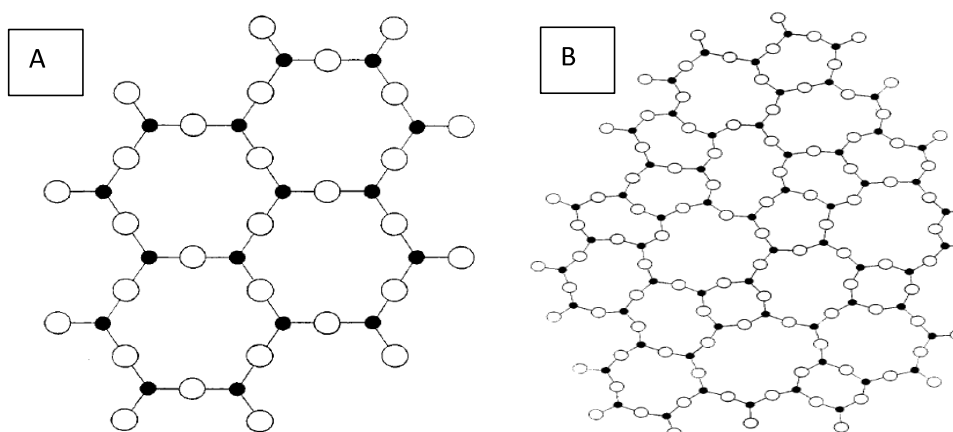


Figura 3-Diferença entre estrutura cristalina (A) e vítrea (B).[21]

Apesar dos materiais vítreos terem um arranjo atômico similar ao dos líquidos, eles não podem ser assim classificados, pois sua condição rígida (sólido) desqualifica-os como tais. A associação Americana para Testes de Materiais (American Society for Testing Materials, ASTM) trata-os como um produto inorgânico de uma fusão que foi resfriado a uma condição rígida sem sofrer cristalização. No entanto, esta definição não é a mais adequada, pois elimina alguns materiais conhecidamente vítreos, que não se encaixam completamente neste apanhado [22].

A definição da ASTM é equivocada em vários aspectos, primeiro o método de preparo, vidros não necessariamente são formados só em função do aquecimento e resfriamento rápido.

Podem ser produzidos pela técnica de Sol-Gel ou deposição de vapor, que são muito usadas e produzem materiais tipicamente vítreos.

Na preparação de vidros pelo método Sol-Gel é realizado uma reação a partir de alcóxidos, óxidos solúveis ou hidróxidos. O processo de crescimento é iniciado por moléculas oligoméricas (parcialmente hidrolisadas) ou colóides (estado gelatinoso) que em seguida reagem formando redes tridimensionais, ou simplesmente se agregam para formar estas redes, e depois estabiliza-se os intermediários por meio de soluções que são usadas para modelar as amostras preparadas, como revestimento ou desenho de fibra. Assim, há a preparação de vidros por meio de uma rota de reações na qual o produto passa de um estado “Sol” (líquido) para um estado “Gel” (colóide), transitando para formar uma rede tridimensional sem ordem de longo alcance [23–26].

Dessa forma, uma definição mais recente e talvez mais adequada é a de Shelby, que define o vidro como “um sólido amorfo com ausência completa de ordem a longo alcance e periodicidade, exibindo uma região de transição vítrea. Qualquer material, inorgânico, orgânico ou metal, formado por qualquer técnica que exibe o fenômeno de transição vítrea é um vidro” [20].

A transição vítrea é uma das principais características dos materiais vítreos, e um fenômeno crucial para a classificação de um material como vidro. Contrariamente ao ponto de fusão, a extensão de início da sua temperatura de transição vítrea (T_g) depende de como o vidro foi feito, da taxa de resfriamento e se o material passou por um tratamento térmico [20,21,27].

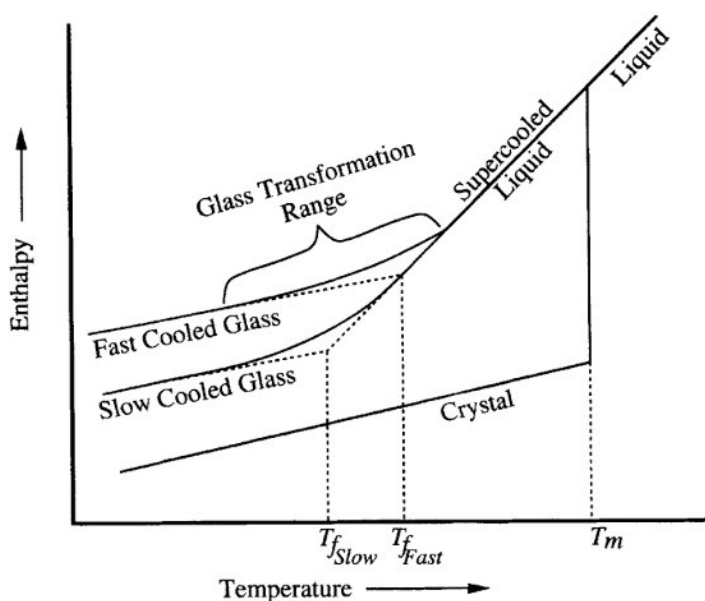


Figura 4- Efeito da temperatura na formação do vidro.[20]

A teoria cinética de formação de vidro mostra os fatores que influenciam na formação de um vidro ou cristal durante o resfriamento, que é justamente a competição entre as velocidades de cristalização e de resfriamento. Na figura 4 é mostrada a formação de um vidro e um cristal em função da temperatura e entalpia de formação, sendo que, para haver formação de vidro é preciso que o sistema seja aquecido até a fusão dos reagentes, homogêneamente bem distribuídos, e em seguida resfriado rapidamente a fim de pular a etapa de rearranjo atômico, ou seja, a cristalização, sendo solidificado com uma estrutura atômica desordenada, algumas vezes chamado de um sólido com características de um líquido.

Para haver a formação de cristal é relativamente simples, basta que um material fundido resfrie a uma taxa lenta, ou seja, basta que resfrie em condições normais. No entanto, o processo microscópico é mais elaborado, dividindo-se em duas etapas, a primeira é a nucleação, que consiste em uma certa quantidade de átomos se arranjando de forma a estarem o mais bem alocados possível, dando origem às primeiras estruturas ordenadas. Em segundo (que pode ser simultaneamente à nucleação), o crescimento de cristais que facilita a formação das camadas de átomos ao redor do núcleo e a ligação entre os núcleos formados [20,27].

Tendo em vista os métodos de preparação de vidros que já foram citados neste trabalho, a técnica de fusão e resfriamento é sem dúvida a mais empregada na preparação destes materiais. Este método consiste na escolha dos materiais usados (a produção de vidros óxidos é muito comum, mas não a única), cálculo das proporções adequadas, pesagem e mistura dos componentes para a obtenção de um material homogêneo. Em, seguida o material é aquecido até atingir o estado líquido, e depois o fundido é resfriado rapidamente em ar, ou em contato com água, ou vertido em molde ou placas, ou até mesmo extraído na forma de fibras contínuas, de acordo com o formato desejado [28,29].

Os constituintes da matriz vítrea desempenham papel fundamental no processo de fabricação e também na aplicação final do material. Existe três categorias mais comuns, são, os formadores de rede, os intermediários e os modificadores de rede. A principal diferença entre eles se deve à formação propriamente dita de vidro, ou seja, habilidade de vitrificação [20].

Os formadores de rede são geralmente cátions com número de coordenação 3 ou 4, tendo, normalmente, a tendência de fazer ligações atômicas predominantemente do tipo covalente, como por exemplo, SiO_2 , B_2O_3 , P_2O_5 , GeO_2 , e são eles os responsáveis por desenvolver a matriz vítrea. Já os modificadores, são normalmente metais alcalinos ou alcalinos terrosos, não como regra, possuindo a habilidade de fazer ligações predominantemente iônicas, como Na_2O , CaO , K_2O , tendo como característica principal ocupar as vacâncias da matriz

vítrea, modificando assim algumas propriedades dos vidros, e normalmente diminuem a viscosidade do fundido. E por último, os intermediários, que têm como característica principal a habilidade de fazer ligações tanto iônicas quanto covalentes, reforçam a rede vítrea, mas sozinhos não podem formar vidro [20,30,31].

2.3 Vidros Boratos

A história dos vidros tem sua base cravada nos vidros formados a partir de sílica (SiO_2), possivelmente o composto mais eficiente na formação de materiais vítreos que existente, e o mais diversificado quanto à obtenção de propriedades específicas, mas de difícil obtenção já que a sílica funde normalmente a 1710°C . A maior parte dos utensílios domésticos feitos de vidro são normalmente feitos de sílica ou uma combinação de formadores, mas quase sempre com sílica inclusa, como no caso dos vidros Pirex®, que são borosilicatos.

Os formadores são muito importantes pois, embora o vidro não tenha ordem periódica de longo alcance, ele mantém uma ordem de curto alcance que são as unidades do formador, que lhe atribui características específicas. Por isso, dependendo da aplicação, pode-se usar um vidro silicato, borato, germanato, fosfato, entre outros.

Os vidros boratos ganharam grande notoriedade com o passar dos anos por apresentarem excelente habilidade de formação vítrea, com alta transparência, baixo ponto de fusão e diversas propriedades. Vidros puramente boratos são muito higroscópicos (absorvem água do ar), mas à medida que se insere modificadores de rede alcalinos, ou alcalinos terrosos, a sua higroscopicidade diminui consideravelmente [20].

Assim, os vidros boratos são formados, em sua grande maioria, a partir do trióxido de boro (B_2O_3), se possuir em sua composição apenas B_2O_3 , normalmente os grupos presentes no processo de vitrificação serão (quase exclusivamente) triangulares (BO_3), no qual “Ø” representa os átomos de oxigênio ligados, e arranjados preferencialmente na estrutura de anéis boroxol, como pode ser visto na figura 5.

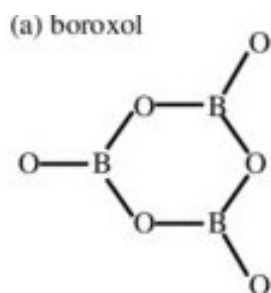


Figura 5- Anel boroxol. [20].

Na formação dessas estruturas anelares (cíclicas), as ligações B-O-B são tipicamente covalentes e recebem o nome de pontes de oxigênios (BO's), e o número médio de estruturas por átomo formador define sua conectividade. Um comportamento inverso é observado para quando se adiciona modificadores de rede ao vidro borato, tendo em vista que em vidros silicatos e fosfatos, óxidos modificadores provocam a quebra das ligações das pontes de oxigênio. Isso não acontece com os vidros boratos, pelo contrário, ao adicionar óxidos modificadores grupos boratos trigonais (BO_3) sofrem uma mudança de coordenação e passam a se arranjar de forma tetraédrica (BO_4) que são negativamente carregados, e precisam de um cátion modificador (carregado positivamente) para os equilibrar eletricamente [32].

Os novos grupos formados podem se arranjar também na forma de anéis tetraédricos, ou até mesmo formar estruturas maiores por meio das ligações de oxigênio (pontes de oxigênio, BO's), formando assim vários arranjos tridimensionais a partir de grupos BO_3 e BO_4 . Se continuar a aumentar as concentrações de modificadores, o sistema atingirá uma saturação no sentido de formar unidades BO_4 e tomará o caminho contrário, começará a converter unidades BO_4 novamente em unidades BO_3 , e agora formará oxigênios não ligantes (NBO's) [33].

As mudanças de conectividade não linear da rede borato, a medida que se acrescenta modificadores em sua estrutura, alteram diretamente as suas propriedades físicas, isso é comumente chamado de anomalia do boro [34].

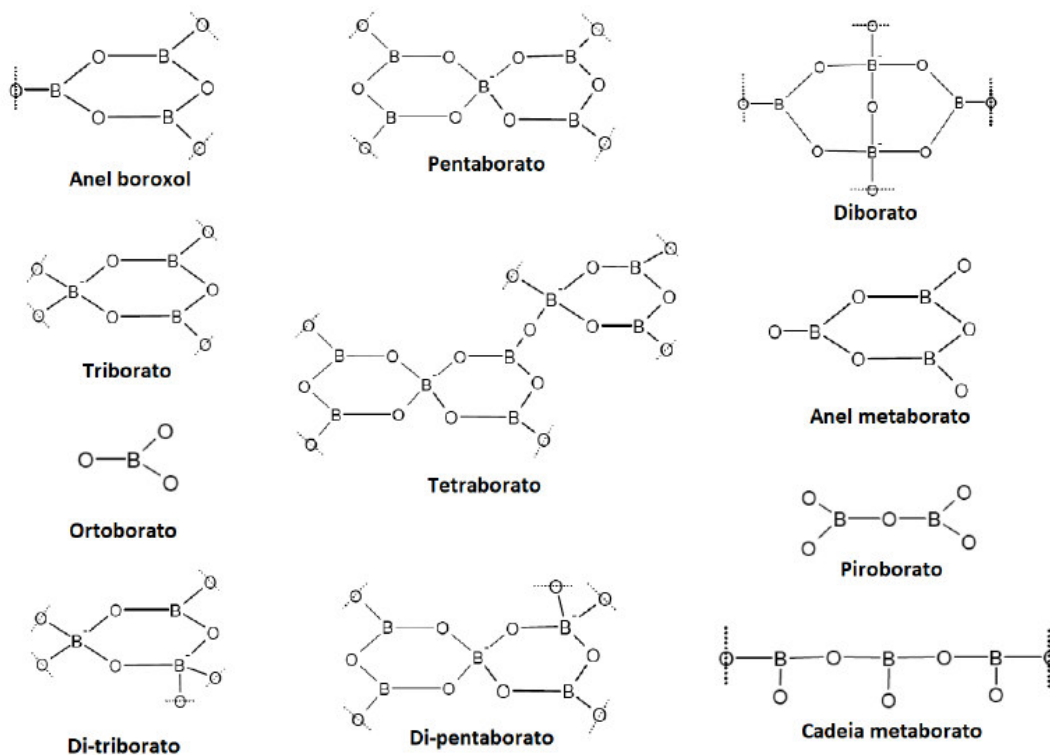


Figura 6- Diferentes estruturas formadas pelos grupos boratos BO_3 e BO_4 . [33,34]

Na figura 6 são mostradas algumas das várias estruturas boratos em vidros ou compostos químicos. Dentre estes vários arranjos alguns são mais comuns e necessitam de mais energia para o rompimento das ligações químicas, como é o caso das unidades BO_4 e BO_3 que são muito comuns em vidros e muito estáveis, sendo as unidades tetracoordenadas menos reativas que as tricoordenadas.

2.4 Vidros Bioativos

Em 1969, Larry Hench, por meio de vários testes, chegou a um sistema vítreo com concentração relativamente baixa de sílica (SiO_2) e com alta concentração de fósforo e cálcio, se comparado com os vidros usuais. Esse material ficou conhecido como Bioglass[®] 45S5, tendo como composição, em peso: 45% de SiO_2 , 24,5% de CaO , 24,5% de Na_2O e 6,0% de P_2O_5 [6]. A figura 7 mostra uma parte da estrutura amorfa dos vidros silicatos bioativos 45S5[®].

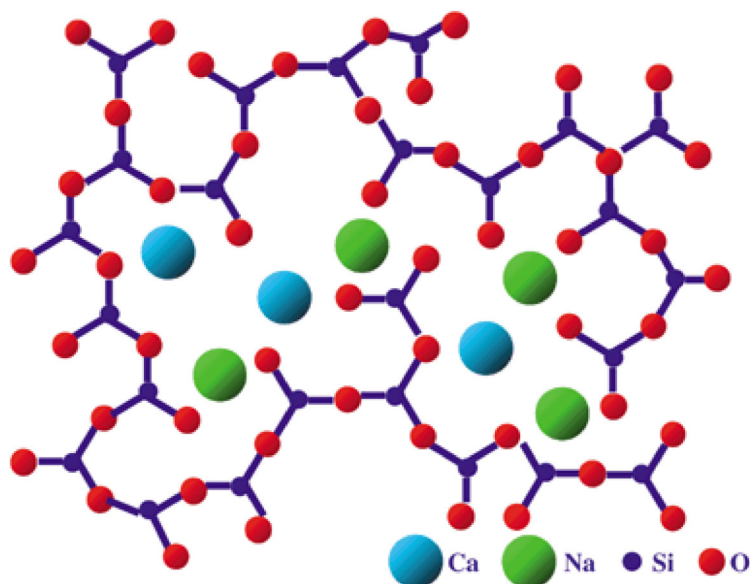


Figura 7-Estrutura do Bioglass[®] 45S5.[35]

As altas concentrações de fósforo e cálcio dão a este material a habilidade de, quando degradado, liberar íons que formarão hidroxiapatita (HA) em contato com fluidos corporais ou fluidos corporais simulados (SBF). Mas para isso, o vidro precisa ser degradável, por isso as altas concentrações de modificadores, já que vidros com altas concentrações de formadores têm alta estabilidade química, ou seja, são menos reativos quando comparados com um sistema com a maior concentração de íons modificadores, pelo fato de serem cátions alcalinos ou alcalinos terrosos e serem mais reativos que os ânions formadores, como o silício. Assim, a adição de

óxidos modificadores gera mudanças estruturais na matriz e aumenta a reatividade do material, que quando em soluções específicas libera esses íons, formando HA [13].

O conceito do vidro criado por Hench gerou uma classe nova de materiais, os materiais bioativos, muito usados em implantes ou próteses para reparar ou substituir tecidos ósseos danificados. De modo geral, vidros bioativos possuem composições químicas diferentes dos materiais usuais, e uma durabilidade química menor, o que lhe promove como material biodegradável. Quando implantado, o biovidro se degrada lentamente, liberando íons que promovem o crescimento de tecidos no local implantado. Ainda existem composições que induzem a diferenciação osteoblástica e osteoclástica [16,36,37].

Tendo em vista que o corpo humano tem altas taxas de recusa de materiais (inertes) implantados, como ligas metálicas, polietileno e outros, os vidros bioativos são uma classe de materiais que vieram para resolver este problema. Por serem materiais bioativos e biodegradáveis, ou seja, quando implantados são degradados, lixiviando íons que reagirão com o fluido corporal aderindo quimicamente ao tecido hospedeiro por meio de uma forte ligação química entre a superfície do tecido e a camada de HA formada pelo material, em vez de serem encapsulados por um tecido fibroso, ou fagocitado para serem expelidos do organismo [38].

Ainda assim, estes materiais não são completamente bioativos, podendo gerar algum tipo de efeito adverso. Como são materiais vítreos, eles apresentam baixa resistência à fratura e baixa tenacidade à fratura, ou seja, nos primeiros dias depois de implantado o material, a região do implante não pode ser forçada ou receber choques mecânicos, que são geralmente comuns. No entanto, nenhum outro material bioativo reúne tantas características benéficas, de bioatividade, biocompatibilidade, aceitação pelo organismo e reposta biológica positiva, quanto os vidros bioativos [6,25,39].

Não existe uma classificação que verdadeiramente meça a bioatividade de um material, no entanto, quanto mais rápido for o processo de formação de HA, melhor será a ligação entre o tecido hospedeiro e o material bioativo implantado. Desse modo, várias composições de vidros foram testadas, com o passar dos anos, e o desenvolvimento das pesquisas na área de biomateriais, e outros formadores de rede vítrea surgiram como potenciais materiais para substituir o SiO_2 , pois apresentam maior reatividade quando em SBF, logo maior velocidade de formação de HA e conseqüentemente melhor bioatividade [40–42].

O mecanismo de dissolução dos vidros silicatos segue um padrão que foi proposto pelo próprio Hench, tendo em vista que para haver formação de hidroxiapatita (cristalina) é preciso haver as fases de nucleação e crescimento de cristais, que é o processo comum na formação de

cristais [20]. Desse modo, os vidros silicatos se degradam em etapas, de forma incongruente, pois apresentam uma lixiviação seletiva de íons. Sendo, que depende de vários fatores, tais como o pH da solução de imersão, da razão entre a área de contato entre a superfície do vidro (cinética química) e da temperatura [43].

A solução de imersão com pH menor que 9 gera trocas iônicas de íons alcalinos e alcalinos terrosos (Ca^{2+} , Na^{+}) com os íons H^{+} e H_3O^{+} da solução. O tamanho do cátion (raio catiônico) influencia na taxa de lixiviação, pois átomos grandes ficam presos na matriz de vidro silicato. A rede de sílica da superfície do vidro é atacada pelos íons hidrônio (H_3O^{+}) e hidroxila (H^{+}) da solução e são hidratados junto a átomos dos metais alcalinos e alcalinos terrosos presentes, formando uma cama de sílica gel na superfície do material [44].

O gel formado pelos grupos silanois impede a passagem dos íons da matriz vítrea, diminuindo a velocidade de formação de hidroxiapatita e a bioatividade do material. Esse mecanismo não é observado nos vidros boratos bioativos, que possuem uma rápida e total conversão em HA. Logo, os vidros boratos bioativos são os mais promissores materiais bioativos existentes até o momento [45].

O principal agravante na utilização de vidros borato como material bioativo e biodegradável é justamente a sua vantagem em relação aos silicatos, ou seja, sua rápida lixiviação iônica *in vitro* e *in vivo* [41]. O boro desempenha papel fundamental na fisiologia do corpo, sendo encontrado em alimentos de origem vegetal e animal, atua no organismo como indutor na proliferação de células que regeneram e crescem tecidos ósseos, atua também aumentando a produção do hormônio testosterona. Mas, em altas concentrações no corpo é prejudicial à saúde, podendo causar náuseas, vômitos, tremores, irritabilidade, desconforto gástrico e outros [46].

No entanto, pesquisas recentes demonstraram que ao adicionar certos óxidos modificadores, como o óxido de estrôncio, estes mudam as conectividades de rede, rearranjando grupos BO_3 em BO_4 e assim aumentam a estabilidade química, e minimizam o risco de intoxicação por boro. O material ainda possuirá rápida lixiviação, mas os grupos boratos deixarão a matriz de forma moderada [47,48].

2.5 Estrôncio

O estrôncio é um elemento metálico, mais precisamente metal alcalino terroso, ou seja, faz parte do grupo 2 da tabela periódica, possui símbolo Sr, número atômico igual a 38, com dois elétrons na sua camada de valência, tendendo a fazer ligações tipicamente iônicas. É um

elemento altamente reativo, sendo encontrado na natureza na forma de óxido de estrôncio (SrO) ou mais comumente na forma de carbonato de estrôncio (SrCO_3), que é a sua forma mais estável [49]. É extraído do mineral estroncianita (ou celestina) por meio de fusão do mineral e em seguida processos de purificação. Pode ser encontrado também na forma de estrôncio metálico (Sr) de alta pureza, porém é muito reativo ao ar, reagindo abruptamente e formando óxido de estrôncio. Possui características similares aos vizinhos de grupo, cálcio e bário, um raio atômico de 215 picômetros e densidade de $2,64 \text{ g/cm}^3$ [50].

O estrôncio tem uma importante função biológica nos organismos vivos, sendo que representa 0,00044% da massa do corpo dos vertebrados. Ajuda no desenvolvimento de algumas plantas e já foi comprovado que sua aplicação em doses moderadas ajuda a prevenir cáries em ratos. A sua aplicação na forma de ranelato de estrôncio tem eficiência comprovada no tratamento de fraturas e lesões provocadas pela osteoporose em mulheres pós-menopausa, e/ou pessoas idosas [51,52].

Difícilmente ele seria capaz de intoxicar um organismo, no entanto, estrôncio e cálcio possuem características atômicas semelhantes, o que lhe proporciona fazer ligações com praticamente os mesmos átomos ligantes, isso causa uma competição da absorção por parte do organismo, que pode absorver mais estrôncio e excretar o cálcio pela urina, provocando a síndrome da deficiência de cálcio ou hipocalcemia [52]. O estrôncio tem também a habilidade de substituir o cálcio na apatita (hidroxiapatita), tendo um importante papel no auxílio ao desenvolvimento ósseo. Pode ser injetado em pacientes com ossos fragilizados ou com osteoporose, no intuito de aumentar a dureza e a densidade óssea [52].

Em vidros o estrôncio atua como modificador de rede, ou seja, altera ligações existentes na matriz a fim de lhe conceder novas propriedades físicas, químicas e mecânicas. Alguns trabalhos relatam que atua primeiramente tornando o material fundido menos viscoso, ou seja, mais líquido na hora da versão. Possui uma certa tendência a cristalizar quando resfriado, no entanto, é possível a obtenção de diversos vidros com estrôncio desde que a taxa de resfriamento seja rápida [20]. A sua habilidade mais específica no vidro é a formação de uma estrutura octaédrica (6 ligantes), ao reagir com o oxigênio presente, ou mesmo até uma coordenação com 8 ligantes. Isso influencia diretamente a matriz, pois no caso do boro, o estrôncio “rouba” oxigênio e cria uma estrutura relativamente grande e densa, ao ocupar os espaços vazios na rede vítrea acaba empurrando os grupos BO_3 (predominantes na matriz) da rede e aumenta a interação do tipo B-O-B a ponto de se forçar um novo arranjo espacial, agora na forma de boro tetraédrico, em maior concentração que antes [53].

Nesse sentido, a aplicação do estrôncio em vidros bioativos, no sistema borato é uma forma possivelmente eficiente de controlar a liberação de íons boro em solução, sabendo que os grupos BO_3 que normalmente se formam com maior frequência nos vidros, é mais reativo e mais facilmente liberado em solução, a formação de BO_4 dá à matriz vítrea uma maior estabilidade química frente aos ataques dos íons H^+ e H_3O^+ da solução [47,48].

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Vidros contendo SrO

Os vidros são normalmente constituídos de tipos de diferentes átomos, os quais lhe fornecem características específicas. O estrôncio é um desses átomos que cria distorções na estrutura vítrea dando ao vidro propriedades específicas, dependendo da matriz. Na produção de vidros, o estrôncio geralmente é usado na sua forma de óxido e têm diversas funções, sendo classificado como modificador e também ajuda a remover bolhas durante o processo de fusão do vidro [20,54].

Mais recentemente o estrôncio tem sido usado em vidros bioativos com a intenção de controlar a liberação de íons, e também por induzir a formação de osteoblastos (células responsáveis pela regeneração e criação de tecidos ósseos) e inibir a atividade dos osteoclastos (células responsáveis por reabsorção da matriz óssea), que são características desse elemento *in vivo* e *in vitro*, já que esse último é um dos papéis desenvolvidos pelo estrôncio no organismo humano [55].

Hoppe et. al., [55] analisaram amostras de vidro silicato contendo de 0 a 5% em peso de estrôncio, por meio da espectroscopia de absorção IR (Infravermelho) com transformada de Fourier, em função da quantidades de dias de imersão das amostras em SBF (*Simulated Body Fluid*). Dentre os resultados do artigo, pode-se verificar na Figura 8, o espectro de absorção no IR da amostra contendo 5% de Sr.

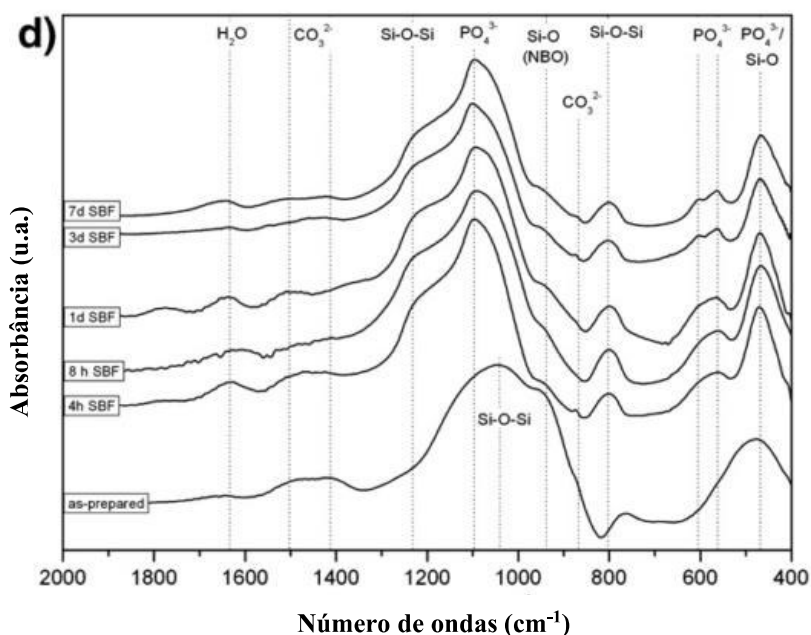


Figura 8-Espectro de absorção de IR da amostra contendo 5% em peso de Sr em vidro silicato bioativo, em função do tempo de imersão em SBF. Adaptado [55]

O estreitamento das bandas de absorção é uma característica da mudança da estrutura do material, indicando uma cristalização após a imersão em SBF, o que é um fenômeno comum durante o processo de degradação dos vidros bioativos *in vitro* [56,57]. É possível verificar mudanças estruturais nos espectros da amostra com o passar do tempo de contato com a solução [58,59].

No trabalho de Ashutosh et. al., [60] foi investigada a influência do óxido de estrôncio na estrutura vítrea, a habilidade de formação de hidroxiapatita (HA) e a cinética química de degradação dos vidros $(36.07-x)\text{CaO}-19.24\text{MgO}-5.61\text{P}_2\text{O}_5-38.49\text{SiO}_2-0.59\text{CaF}$ substituindo CaO por SrO de 0 a 10 %mol. A Figura 9 mostra os espectros de absorção de infravermelho antes e após a imersão das amostras em SBF por um período de 1 hora.

Como pode ser visto na Figura 9 o surgimento de bandas características da presença de hidroxiapatita, na região de 565 cm^{-1} , que são estiramento da ligação P-O dos grupos PO_4 tetraédrico da apatita, confirmando que a bioatividade do vidro não foi alterada pela presença do estrôncio.

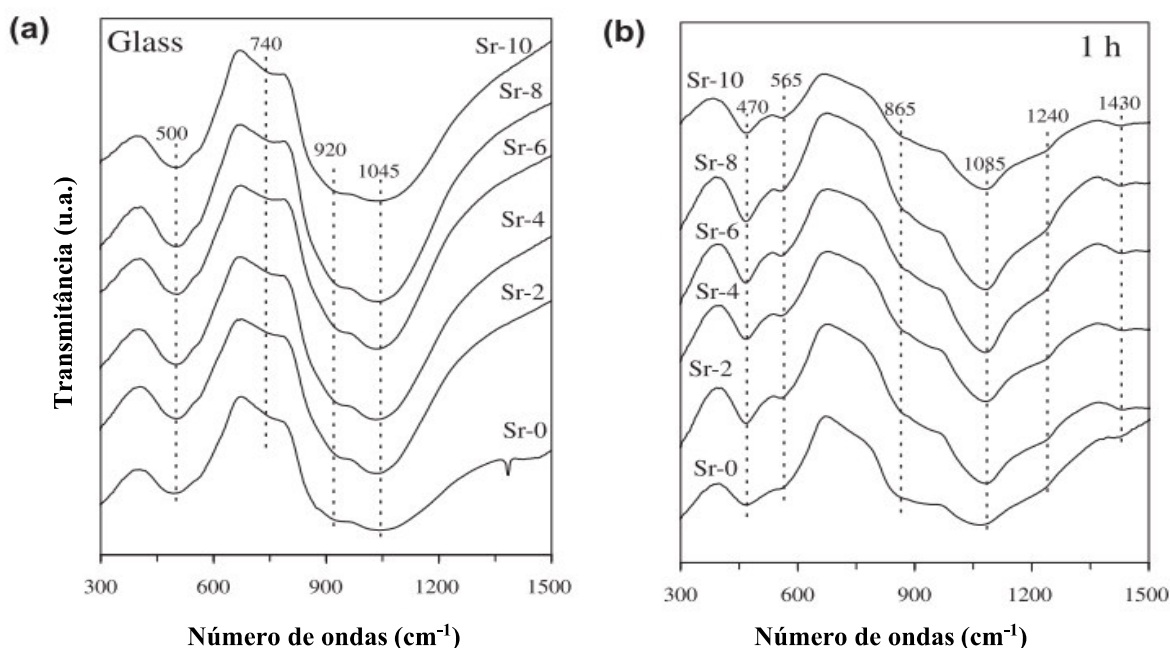


Figura 9-Espectro de absorção no IR antes e após uma hora de imersão em SBF das amostras de vidro silicato bioativo contendo óxido de estrôncio. Adaptado [60]

Abdelghany et. al., [11] estudou o sistema vítreo $60\text{B}_2\text{O}_5-(20-X)\text{CaO}-(20-X)\text{Na}_2\text{O}$ substituindo CaO e Na_2O por SrO variando de 5 a 20% em peso, para avaliar a bioatividade e o comportamento do estrôncio em vidros durante o processo de degradação em fluidos corporais, SBF ou soluções com características semelhantes. Foi avaliado o comportamento das

amostras em uma solução de fosfato de cálcio diluída (0,025%) a 37 °C por duas semanas, tendo analisado o comportamento dos espectros de absorção de IR antes e após a imersão.

Pode ser verificado nas Figuras 10 e 11 os espectros de absorção no IR obtidos por Abdelghany et. al., [11] no período de duas semanas de imersão em solução de fosfato diluída. Podem ser verificadas as mudanças nos espectros, como o surgimento de duas bandas com centros nas regiões de 560 cm^{-1} e 640 cm^{-1} que são características da formação de hidroxiapatita e da bioatividade dos vidros produzidos.

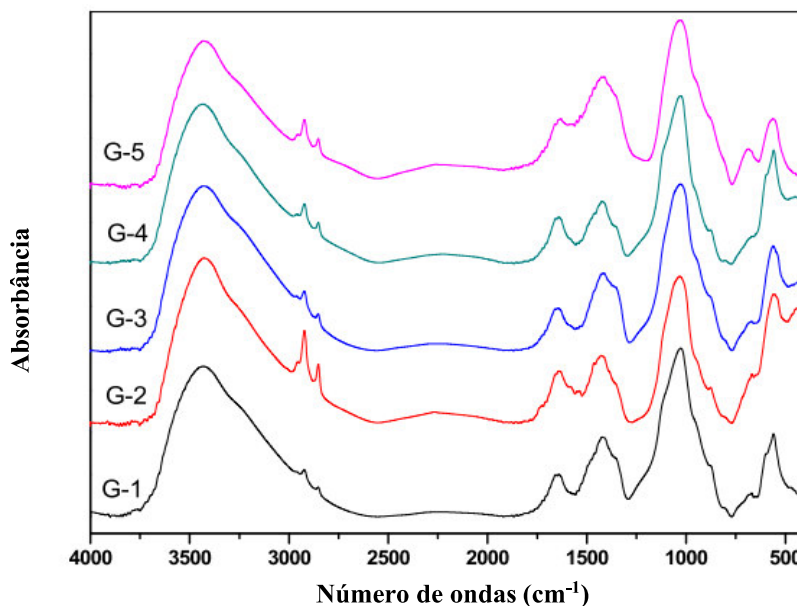


Figura 10- Espectro de absorção no IR das amostras variando SrO de 0 a 20% (G1 a G5) antes da imersão em solução diluída de fosfato. Adaptado [11]

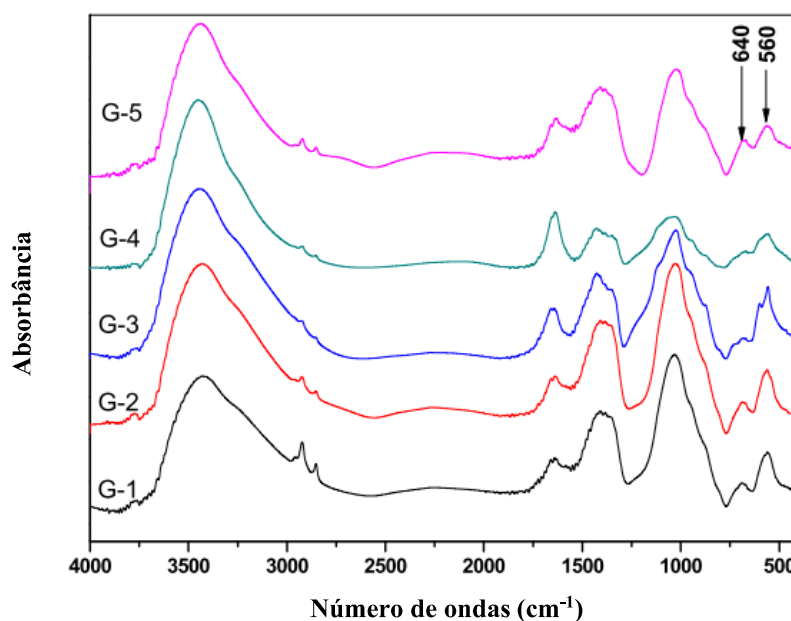


Figura 11- Espectro de absorção no IR das amostras variando SrO de 0 a 20% (G1 a G5) após da imersão em solução diluída de fosfato. Adaptado [11]

3.2 Comportamento do pH durante a dissolução dos vidros bioativos em fluidos corporais ou semelhantes

O pH das soluções, contendo as amostras vítreas, tende a aumentar com o aumento da quantidade de dias de contato com a amostra [61]. Isso acontece pela grande quantidade de trocas iônicas que ocorrem entre a superfície do vidro e a solução, durante o processo de corrosão [62]. No entanto, devido também às trocas que ocorrem frequentemente até a saturação da solução de imersão (SBF, solução diluída de fosfato e outras) em determinados momentos o pH oscila devido ao rearranjo iônico que ocorre na solução [63].

No trabalho de Kumar et. al., [64] foi investigado o comportamento de pH na solução de SBF durante o período de imersão do vidro no sistema NaO-CaO-SrO-P₂O₅-SiO₂ substituindo SiO₂ por SrO, com as concentrações de 0, 1, 2,2 e 3% em peso de SrO, que corresponde no gráfico respectivamente às linhas 0,2,1,3 e 4. A Figura 12 mostra o comportamento do pH da solução de SBF em função do tempo. É possível notar o crescimento dos valores em função do aumento do tempo até 3 dias e após volta a cair e estabiliza, o que é explicado pela grande quantidade de trocas iônicas entre a superfície dos vidros bioativos e a solução, principalmente no início do período da interação, o que com o passar do tempo satura e estabiliza o pH.

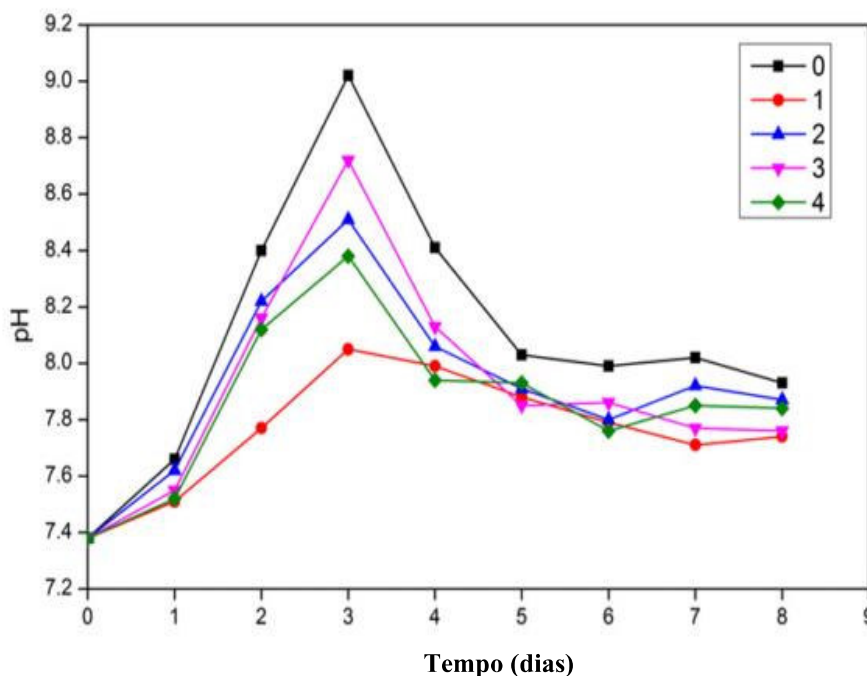


Figura 12-Variação do pH da solução de SBF contendo as amostras de vidro em função do tempo.

Adaptado [64]

Manupriya et. al., [63] estudou o comportamento do pH da solução de SBF durante o processo de corrosão dos vidros 50CaO-45B₂O₃-5Na₂O (variando a concentração de B₂O₃ e CaO, e acrescentando Na₂O em uma das amostra).

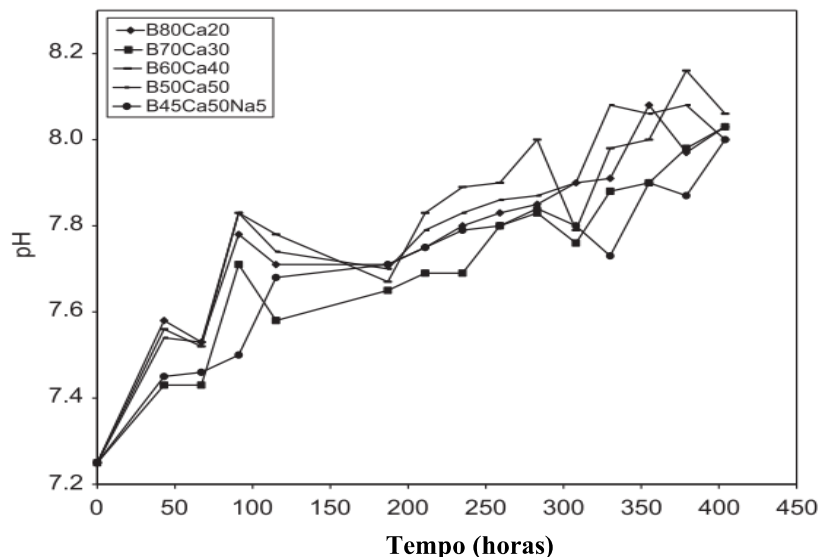


Figura 13- Variação do pH da solução de SBF contendo as amostras vítreas em função do tempo.

Adaptado [63]

Os dados obtidos das medidas de pH mostrados na Figura 13 por Manupriya et. al.,[63] demonstram o comportamento de dissolução dos vidros em SBF, sendo notório o aumento dos valores de pH para uma faixa de valores maiores ou iguais a 8, indicando as trocas de íons alcalinos da superfície dos vidros com os íons H⁺, H₃O⁺ e OH⁻ da solução.

No trabalho de Abdelghany et. al., [61] estudou-se o comportamento do pH da solução de SBF durante o processo de dissolução dos vidros 70(55)B₂O₃-45(15)CaO-(15)Na₂O-(15)K₂O, que é mostrado na figura 14, a investigação foi realizada em função da variação da concentração dos componentes das amostras.,

Na Figura 14 é mostrado o gráfico de pH da solução de fosfato durante o processo de dissolução dos vidros 70(55)B₂O₃-45(15)CaO-(15)Na₂O-(15)K₂O em função do tempo, a uma temperatura de 37 °C. Na qual, é mostrado o comportamento de pH em função do tempo, podendo ser evidenciado que a amostra com menor concentração de óxido de boro e maior concentração de óxido de cálcio (G400) possui menores valores de pH durante o processo de dissolução, o que indica maior estabilidade química frente à solução de fosfato.

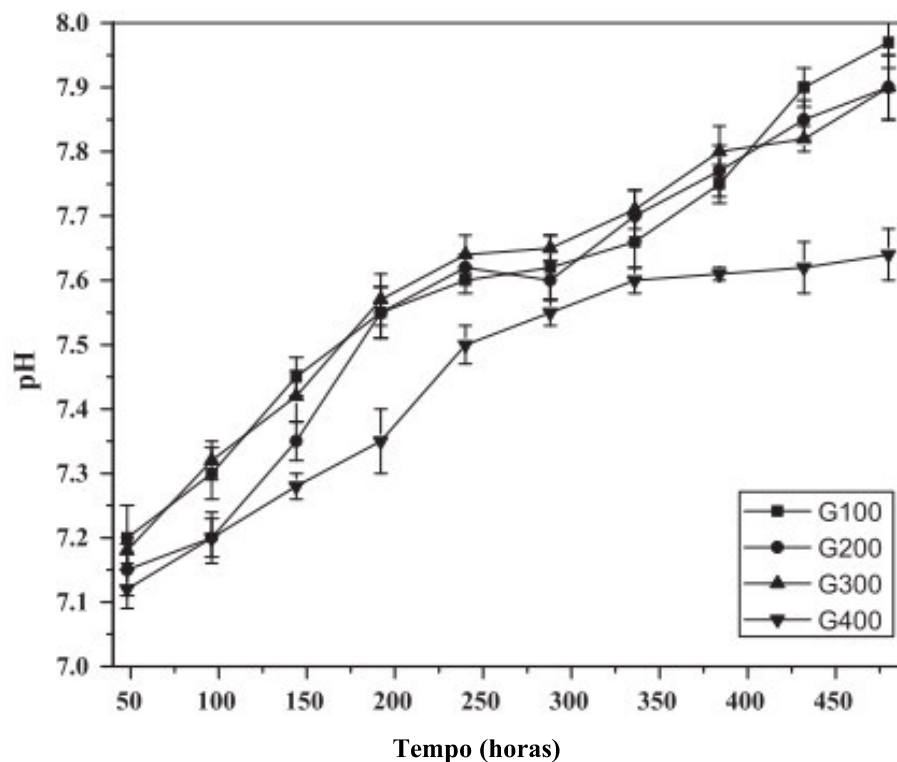


Figura 14-: Variação do pH da solução de fosfato contendo as amostras vítreas em função do tempo.

Adaptado [61]

Aylin et. al., [65] estudou o comportamento de dissolução de dois vidros diferentes em SBF a 37 °C em função do tempo. Os vidros no 13-93 e 13-93B3 nos respectivos sistemas $53\text{SiO}_2\text{-}20\text{CaO-}6\text{Na}_2\text{O-}12\text{K}_2\text{O-}5\text{MgO-}4\text{P}_2\text{O}_3$ e $56,6\text{B}_2\text{O}_3\text{-}18,5\text{CaO-}5,5\text{Na}_2\text{O-}11,1\text{K}_2\text{O-}4,6\text{MgO-}3,7\text{P}_2\text{O}_3$ foram comparados quanto à sua corrosão em solução (SBF).

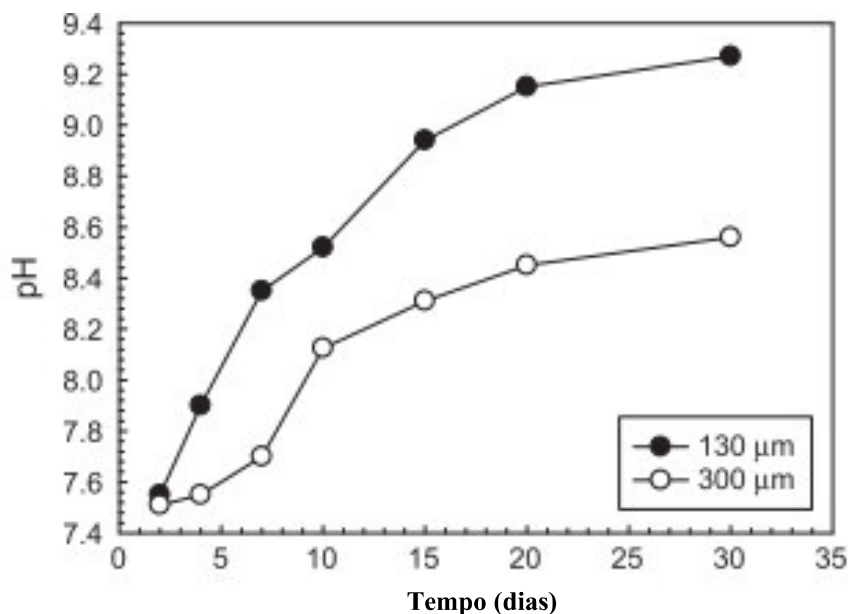


Figura 15-Variação do pH da solução de SBF contendo as amostras borato (círculos preenchidos) e silicato (círculos vazios) em função do tempo. Adaptado [66]

A Figura 15 mostra o comportamento do pH do SBF durante o processo de corrosão dos vidros 13-93 (silicato) e 13-93B3 (borato), sendo visível a maior velocidade de corrosão do vidro borato em relação ao silicato em função do tempo, que é evidenciado pelo aumento do pH da solução de SBF.

3.3 Vidros Boratos Bioativos

Vidros bioativos são aqueles que, em soluções fisiológicas ou simuladas, se degradam enquanto forma-se em sua superfície uma camada de apatita (hidroxiapatita) ou fosfato de cálcio, por meio dos íons que são lixiviados em solução [40,67]. As trocas iônicas são favorecidas por meio dos grupos iônicos H^+ , H_3O^+ e OH^- da solução, que reagem com os cátions alcalinos presentes nos vidros [68].

Os primeiros vidros bioativos produzidos tiveram a sílica (SiO_2) como formador [6]. No entanto, o principal problema encontrado nesses materiais é o processo de dissolução em solução, em que a camada inicial é corroída e após a liberação de SiO_2 em solução, cria-se uma camada de sílica gel que impede a liberação dos íons do vidro, diminuindo a velocidade de corrosão, ou seja, a formação de apatita de cálcio (principal constituinte ósseo) [61][10].

Por outro lado, esse problema encontrado nos vidros silicatos não é verificado em vidros boratos (tendo o boro, B_2O_3 , como formador) [69]. Esse comportamento de dissolução pode ser visto quando se compara as amostras antes e depois da imersão em SBF, solução fisiológica ou outra solução correspondente.

No trabalho de Saranti et al, [70] foram estudados os vidros no sistema $20B_2O_3$ - $66CaO$ - $14P_2O_5$ com pequenas diferenças nas quantidades de CaO e P_2O_5 , por meio da difração de raios-x (DRX), antes e após a imersão em SBF, por um período de 3 meses em solução. A Figura 16 mostra os difratogramas das amostras C4PB2 ($CaO/P_2O_5 = 4$) e C5PB2 ($CaO/P_2O_5 = 5$) antes e após a imersão em SBF.

É possível verificar, por meio do DRX, mudanças estruturais que aconteceram durante o período de imersão em SBF, sendo notório o aparecimento de picos característicos da HA ou fosfato de cálcio cristalino correspondente. O que comprova a bioatividade do material, já que a formação de uma camada de apatita na superfície do material (ou conversão total do material em HA) é o indicativo de sua bioatividade [64,71].

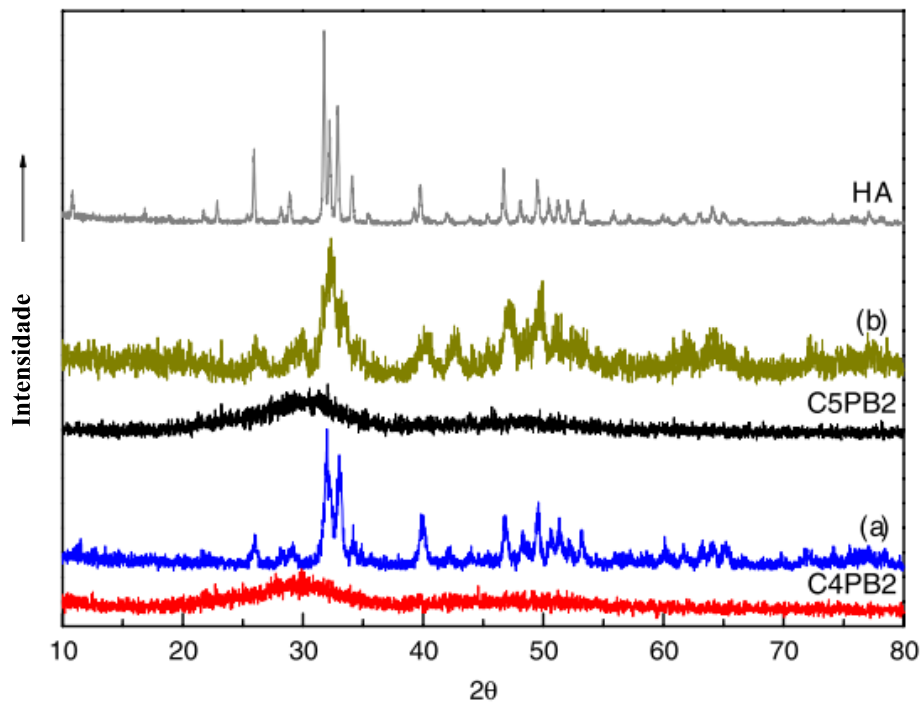


Figura 16- Medidas de raios-x das amostras antes e após a imersão em SBF. Adaptado [70]

No trabalho de Abdelghany et. al., [68] foi estudado o comportamento dos vidros $70\text{B}_2\text{O}_3\text{-}15\text{CaO-}15\text{Na}_2\text{O}$ (G100), $70\text{B}_2\text{O}_3\text{-}15\text{CaO-}15\text{Li}_2\text{O}$ (G200), $70\text{B}_2\text{O}_3\text{-}15\text{CaO-}15\text{K}_2\text{O}$ (G300) e $55\text{B}_2\text{O}_3\text{-}45\text{CaO}$ (G400) por meio da difração de raios-x antes e após a imersão em uma solução de fosfato diluída, por um período de uma semana, a fim de avaliar uma possível mudança estrutural no material (formação de hidroxiapatita ou um fosfato de cálcio). A Figura 17 mostra os difratogramas antes e após a imersão da amostra na solução de fosfato.

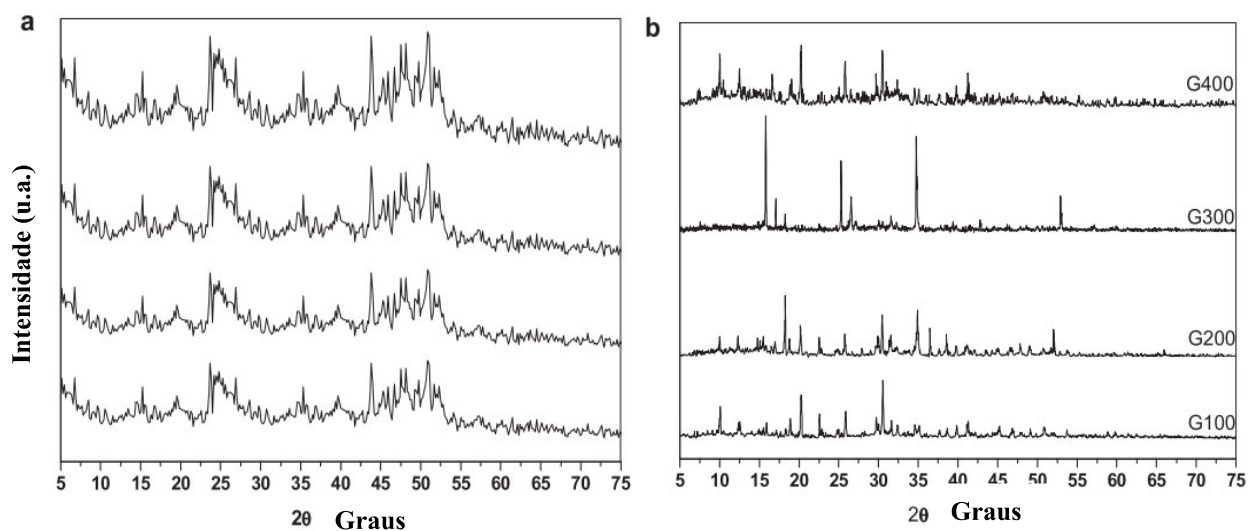


Figura 18- Difratogramas das amostras G100, G200, G300 e G400 antes (a) e após (b) a imersão na solução diluída de fosfato por um período de uma semana. Adaptado [68]

Hui Wang et.al.,[72] estudou o comportamento dos vidros $6\text{Na}_2\text{O}-8\text{K}_2\text{O}-8\text{MgO}-22\text{CaO}-36\text{B}_2\text{O}_3-18\text{SiO}_2-2\text{P}_2\text{O}_5$, dopados com cobre variando em 0, 1 e 3% em peso de Cu (designadas BG, BG-1Cu e BG-3Cu, respectivamente) usando a técnica de difração de raios-x para comparar a estrutura dos vidros antes e após a imersão em SBF, a fim de verificar a bioatividade do material por meio da formação de hidroxiapatita. Na Figura 18 são mostrados os dados de raios-x obtidos por Hui Wang et. al.

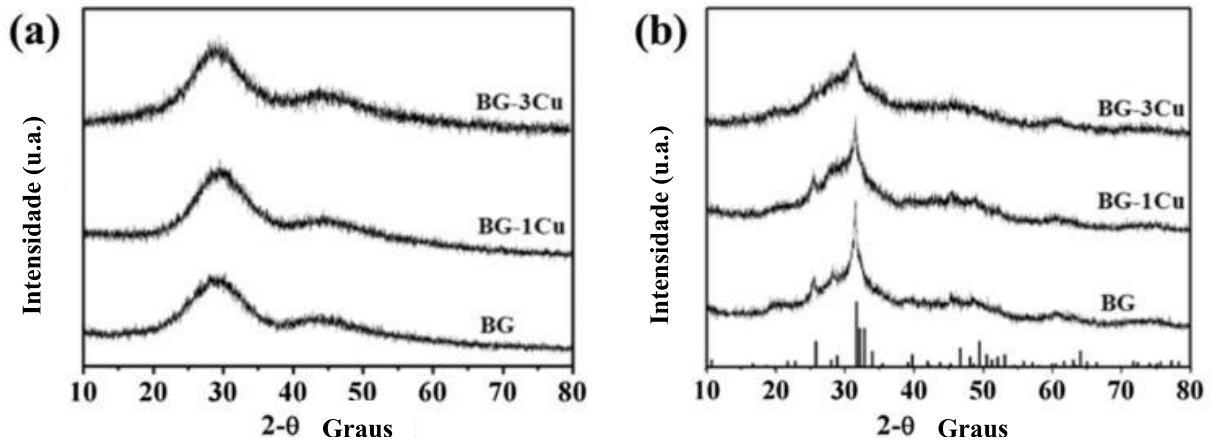


Figura 19-Difratogramas das amostras de vidros antes (a) e após (b) a imersão em SBF por um período de 90 dias a uma temperatura de 37 °C. Adaptado [72]

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Preparação das amostras

Todas as amostras de vidros pertencentes ao sistema cálcio-sódio-borato foram sintetizadas na Unidade de Preparação e Caracterização de Materiais da Universidade Federal do Maranhão – Campus Imperatriz, nos Laboratórios de Espectroscopia Óptica e Fototérmica (LEOF). Os reagentes utilizados para a síntese das amostras foram: trióxido de boro (B_2O_3), pentóxido de fósforo (P_2O_5), carbonato de cálcio ($CaCO_3$), carbonato de sódio (Na_2CO_3), e carbonato de estrôncio ($SrCO_3$), cujas concentrações em peso (wt%) e em mol (mol%) são mostrados na tabela 01. Todos os reagentes usados têm pureza maior ou igual a 99,98%.

Tabela 1 - Concentração das Amostras em peso e em mol.

Amostras	B_2O_3		P_2O_5		CaO		Na ₂ O		SrO	
	Wt%	Mol%	Wt%	Mol%	Wt%	Mol%	Wt%	Mol%	Wt%	Mol%
CaNaB	60	57,8	4	1,900	12,0	14,3	24,0	26,00	0	0
5 SrO	60	59,2	4	1,935	9,5	11,6	21,5	23,86	5	3,31
10 SrO	60	60,6	4	1,980	7,0	8,78	19,0	21,50	10	6,78
15 SrO	60	63,1	4	2,060	4,5	5,86	16,5	19,45	15	10,56
20 SrO	60	64,1	4	2,090	2,0	2,65	14,0	16,80	20	14,3

Para o preparo das amostras, primeiramente foi realizada a pesagem do carbonato de cálcio ($CaCO_3$) em uma balança analítica, modelo AUW220D da SHIMADZU. Logo em seguida, o $CaCO_3$ foi colocado em um cadinho de platina e levado a um forno de atmosfera a ar da marca JUNG para a realização da calcinação, processo que consiste na perda de gás carbônico (CO_2) e obtenção de óxido de cálcio (CaO). Após esse procedimento, o CaO foi adicionado aos outros componentes e a mistura foi homogeneizada em um almofariz de ágata. Em seguida, os componentes homogeneizados foram transferidos para o cadinho de platina e levados ao forno para a fusão. Após a fusão, a massa fundida foi vertida em molde de aço inoxidável previamente aquecido a temperaturas possivelmente próximas e abaixo da Transição Vítrea (T_g), logo em seguida a amostra foi tratada termicamente à temperatura do molde pré-aquecido por quatro horas para remoção das tensões internas. Todas as temperaturas estão mostradas na tabela 2.

Tabela 2 - Temperatura de fusão e do molde.

Amostra (% em massa de SrO)	Temperatura de Fusão (° C)	Temperatura do Molde (° C)
CaNaB	1000	450
5 SrO	1050	450
10 SrO	1100	450
15 SrO	1150	480
20 SrO	1150	480

4.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

4.2.1 Densidade Volumétrica e Volume Molar

A densidade é uma importante medida usada para se obter informações sobre a forma como se relaciona mudanças estruturais à medida que se muda um constituinte do material. Pode ser determinada pela massa das moléculas constituintes e o volume dos grupos estruturais que existem aleatoriamente na matriz vítrea [73]. O aumento na massa molar e compactação da estrutura no vidro pode causar o aumento na densidade [74].

A densidade de um material pode ser alterada por meio da troca de átomos mais pesados por átomos mais leves, e vice-versa, do aumento ou diminuição dos espaços vazios na amostra (interstícios), mudança de orientação espacial atômica, mudanças da conformação estrutural, número de coordenação entre outros [3,4].

As medidas de densidade deste trabalho foram realizadas pelo método de Arquimedes, que consiste em pesar a amostra ao ar e em seguida pesá-la em um líquido de densidade conhecida, a uma determinada temperatura. Em seguida foi usada a Equação 1 para calcular a densidade das amostras. Na qual, ρ_{vidro} é a densidade calculada do vidro, m_{ar} é a massa da amostra pesada ao ar, $m_{\text{água}}$ é a massa da amostra pesada em água destilada, e $\rho_{\text{água}}$ é a densidade da água destilada na temperatura aferida. O erro estimado para os resultados foi de 0,5%.

$$\rho_{\text{vidro}} = \frac{m_{\text{ar}}}{m_{\text{ar}} - m_{\text{água}}} * \rho_{\text{água}} \quad (1)$$

As medidas de densidade foram realizadas no LEOF II, foi usada água destilada como líquido de densidade conhecida, em temperatura ambiente, e uma balança analítica da marca Shimadzu modelo AUW220D com precisão de 0,01 mg.

O volume molar é uma propriedade diretamente ligada à densidade, já que a densidade é a razão entre a massa e o volume. Massa e volume são propriedades intrínsecas da matéria. Assim, o volume molar descreve quão próximos os átomos estão ligados (compactados) e tem relação direta com a geometria molecular, ou seja, quanto mais próximos os átomos, menor o volume molar, e o contrário também é verdadeiro [73,75].

No entanto, o volume molar não depende só do arranjo estrutural, mas também da massa molar dos átomos que constituem o material. Para uma estrutura amorfa como os vidros, pode-se tirar conclusões importantes sobre o comportamento estrutural avaliando-se o volume molar e a densidade, sabendo que são propriedades inversamente proporcionais [76].

Assim, ao observar o volume molar, é possível notar mudanças estruturais de acordo o comportamento apresentado. A mudança de um constituinte da matriz vítrea pode implicar em mudanças no volume molar e na densidade [76].

4.2.2 Difração de Raios-X

A difração é um fenômeno ondulatório que é evidenciado quando ondas passam por um orifício ou contornam um objeto cuja dimensão é da mesma ordem de grandeza que seu comprimento de onda [77]. Para se produzir raios-x é necessário que se tenha um campo elétrico de alta tensão que lançará os elétrons em um alvo (material que permitirá a liberação de raios-x) que é conhecido como ânodo, que por meio do choque libera calor, raios-x e outros [78].

O choque produz dois tipos de espectros de raios-x, um de espectro contínuo, que resulta da desaceleração do elétron devido à penetração no ânodo (alvo) e consequente redução da sua energia cinética, conhecido como efeito de Bremsstrahlung. O outro espectro é chamado de discreto, que são os raios-x característicos do material do ânodo. Assim, o espectro de raios-x resulta da sobreposição de um espectro contínuo e da série de linhas espectrais características do material anódico. A linha espectral de maior intensidade de raios-x para qualquer material emissor de raios-x é a $K\alpha$, independente do elemento usado, por exemplo, se o ânodo for de cobre, a sua radiação discreta será do tipo $CuK\alpha$, se for de molibdênio $MoK\alpha$, se for de cromo $CrK\alpha$ [79].

O padrão de raios-x obtido depende da estrutura do material analisado, mas sabe-se que será única e exclusiva para cada composto, por isso é considerado a “impressão digital” na identificação de materiais. Ao observar o difratograma de um material cristalino é perceptível a presença de picos estreitos em determinadas regiões e intensidades que são próprios do

material em questão, no entanto, materiais amorfos, como os vidros, alguns polímeros ou metais amorfos, não apresentam picos no difratograma, isso porque os picos indicam ordem translacional de longo alcance, ou seja, uma estrutura atômica organizada, o que não acontece com os materiais amorfos [80].

As medidas de difração de raios X deste trabalho foram realizadas no Laboratório de Difração de Raios-X (LDRX) na Unidade de Preparação e Caracterização de Materiais (UPCM) da Universidade Federal do Maranhão, coordenado pelo Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos. Para o estudo de difração de raios X foi utilizado um difratômetro da *PANalytical* modelo *Empyrean*, operando com radiação $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), geometria Bragg-Bretano, monocromador de grafite pirolítico, com câmera de temperatura *Anton-Paar* modelo *TTK 450*. Nesta medida, foi utilizado passo angular de $0,02^\circ$, em intervalo angular de $10\text{-}60^\circ$ (2θ), e tempo de aquisição de 2 s.

4.2.3 Calor Específico (C_p)

O calor específico de um material (C_p), é definido como a quantidade de calor necessária para elevar um grau Celsius a massa de 1 g do determinado material. Assim, o calor específico é uma propriedade intrínseca de cada material, ao adicionar calor a um corpo ele armazena essa energia não como calor, mas como energia cinética ou potencial de seus átomos e moléculas. Ao fazer isso, ele estabiliza essa energia por meio do processo de equilíbrio térmico, doando energia às moléculas de menor energia, e assim redistribuindo de forma igualitária por todo o material [81,82].

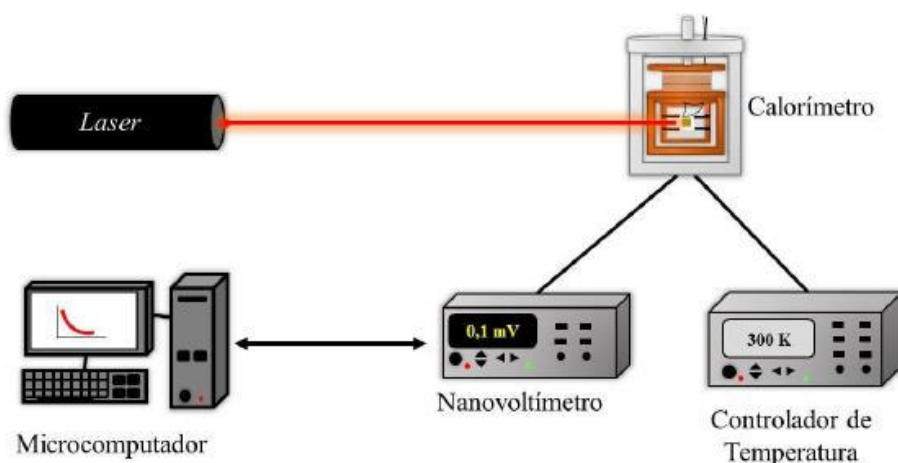


Figura 20- Esquema de montagem do calorímetro de relaxação térmica. [83,84]

Na figura 20 é apresentado o esquema do calorímetro usado para realizar as medidas de calor específico. Ao incidir o laser em uma certa potência o aparato é aquecido, o reservatório

térmico tem maior massa que a amostra então sofre menos a variação de temperatura, então o aquecimento da amostra gera uma curva exponencial de subida, enquanto que o corte do feixe do laser faz com que a amostra resfrie rapidamente e gera uma curva exponencial de decaimento que é apresentada na figura 21.

Na figura 21 são mostradas, como exemplo, as curvas de decaimento térmico (diminuição da temperatura) do substrato e do alumínio em função do tempo, na qual pode ser visto a diferença entre o tempo necessário das duas amostras para a diferença de temperatura chegar à zero Kelvin, indicando um comportamento térmico diferente, e consequente valores de calor específico diferentes.

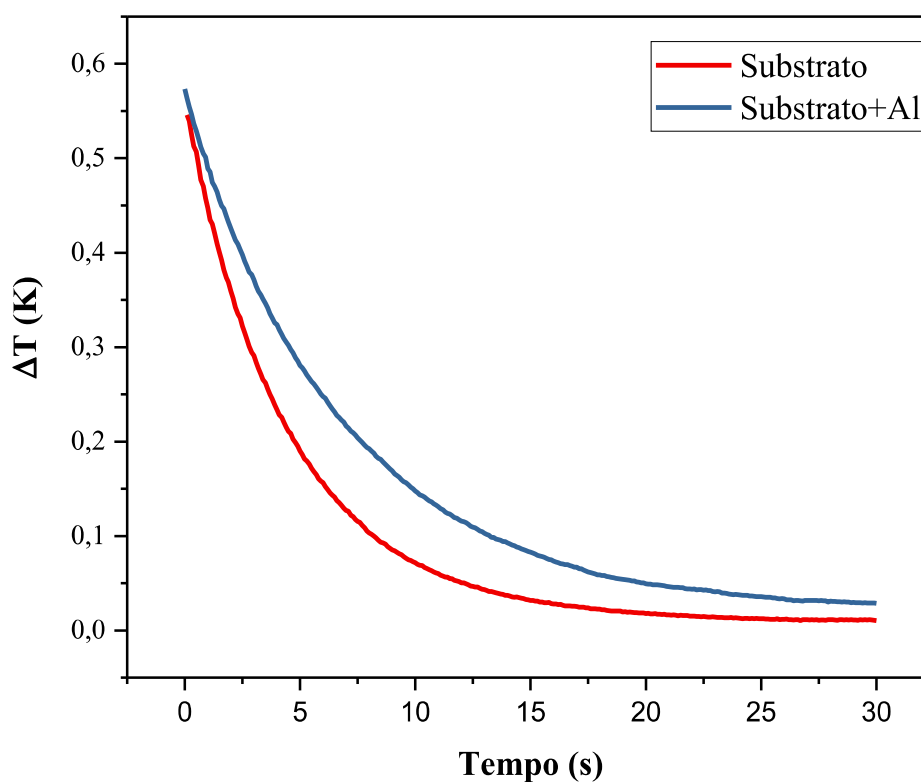


Figura 21-Curvas de decaimento térmico para o substrato e o substrato mais uma amostra de alumínio.

Dessa forma, como a temperatura dos materiais é medida em termos da energia cinética de suas moléculas (ou átomos), pode-se afirmar que quanto maior o movimento das moléculas (maior mobilidade dos átomos) na estrutura de um material, menor será a quantidade de energia fornecida na forma de calor para promover o mesmo aumento de temperatura, e como consequência menor será o calor específico do material, o inverso também é verdadeiro [85,86].

As medidas de calor específico foram realizadas em temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$, ou 298 K), usando um calorímetro de relaxação térmica, o sistema é constituído de um reservatório

térmico de cobre, tendo a ele acoplado um substrato de prata, no qual a amostra é fixada sobre pasta térmica, para aumentar o contato entre a superfície da amostra e o substrato, diminuindo assim possíveis imperfeições do substrato e/ou amostra, e como consequência diminuir o erro experimental da medida ao diminuir a perda de calor por falta de contato amostra-substrato [87].

No método empregado, é necessário provocar uma diferença de temperatura entre o sistema (substrato + amostra) e o reservatório térmico, e analisar a diferença de temperatura da amostra em função do tempo. Os dados obtidos são curvas de relaxação térmica em função do tempo [88,89].

As medidas de calor específico foram realizadas na Central Analítica do PPGCM, usando um calorímetro construído no LEOF pelos professores Dr. Alysson Steimacher e Dr. Márcio José Barboza. As amostras foram cortadas e polidas em uma espessura de aproximadamente 1mm e massa de aproximadamente 30 mg.

4.2.4 Análise Térmica Diferencial (DTA)

Essa técnica consiste em medir a diferença de temperatura entre uma substância e um cadinho vazio, enquanto ambos são submetidos a uma variação (crescimento) gradual e controlada de temperatura [90–92]. Na análise térmica, o DTA fornece informações importantes, como perda de massa, oxidação, redução, ponto de ebulição, temperatura de transição vítrea, temperatura de início de cristalização (T_x) e outras.

O comportamento térmico dos materiais é uma importante ferramenta para determinar suas características e possíveis aplicações. Tendo em vista que os vidros são materiais amorfos, quando comparados com cristais apresentam características térmicas diferenciadas expressas no termograma, pois apresentam T_g e T_x que são características peculiares dos materiais amorfos. Assim, é importante compreender o comportamento térmico dos vidros para poder distinguir suas possibilidades de aplicação [92–94].

T_x e T_g são eventos térmicos que podem ser determinados ao observar o termograma de um vidro. Sabe-se que são propriedades intrínsecas de cada vidro, ou seja, variam de vidro para vidro, à medida que se muda a sua composição estrutural. Na transição vítrea a viscosidade não é baixa o suficiente para que as moléculas se movam no vidro, caracterizando-a como apenas uma “flexibilidade” das ligações interatômicas, ainda sim é apresentada como um fenômeno do enfraquecimento das ligações interatômicas nos materiais amorfos [93]. Na temperatura de início de cristalização, os vidros devem possuir uma viscosidade que lhes

permita a mobilidade de seus átomos, ainda que muito pequena, já que a estrutura amorfa começa a se organizar em função do relaxamento térmico provocado pelo aumento de temperatura [95]. A diferença $T_x - T_g$ é usada para descrever a tendência à cristalização dos materiais amorfos durante as análises térmicas como a Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) ou DTA. Os valores dessa diferença de temperaturas indicam alta ou baixa tendência a cristalizar devido às suas unidades estruturais, assim baixos valores indicam alta tendência de cristalização, possuindo unidades estruturais que não são favoráveis à formação de vidro e contrário também é verdadeiro [96,97].

A relaxação de tensões que acontece em determinadas estruturas de um material amorfo acontece seguida de mudanças repentinas em suas propriedades térmicas, estruturais e mecânicas [97]. Assim, durante o processo de preparação é necessário conhecer as temperaturas de transição vítrea e de cristalização (possível faixa de temperatura), para otimizar o processo de preparação de vidros, mesmo sabendo que preparar amostras de vidros novos ainda é possível mesmo sem conhecer esses parâmetros.

Na figura 22 é mostrado um termograma da amostra CaNaB 5SrO, no qual é possível observar os principais eventos característicos de um material amorfo em um termograma diferencial. Dessa forma, na figura 21 são observadas as temperaturas de transição vítrea, de início de cristalização e de pico de cristalização (T_p). A partir das temperaturas de transição vítrea e de início de cristalização é possível calcular a estabilidade térmica do material por meio da relação ($\Delta T = T_x - T_g$).

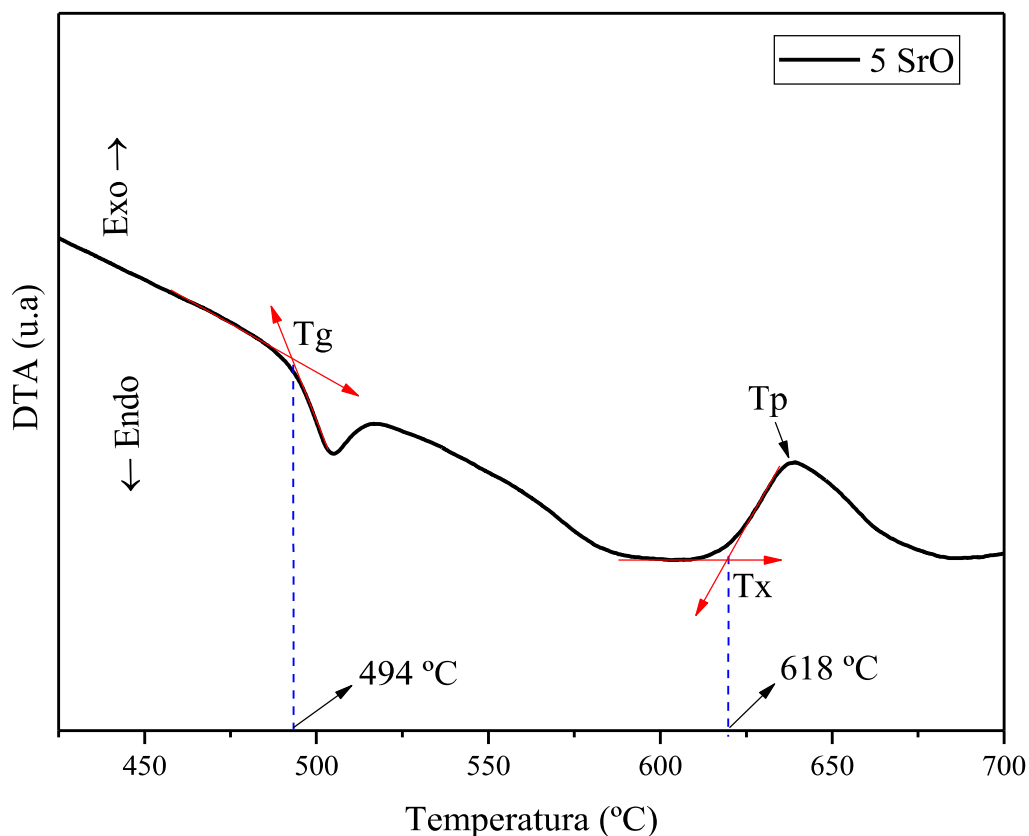


Figura 22- Termograma de DTA para a amostra CaNaB 5SrO.

Para determinar a T_g , T_x e a estabilidade térmica das amostras CaNaB, foram realizadas análises por calorimetria exploratória de varredura (DTA) na Unidade de Preparação e Caracterização de Materiais (UPCM) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) Campus Bom Jesus, Imperatriz. Foram usadas massas de aproximadamente 20 mg de amostra, em um cadinho de platina, submetido a um intervalo de temperatura de 20 a 900 °C, com taxa de aquecimento de 10°C/min, com fluxo 60 mL/min, utilizando um equipamento TG-DTA usados simultaneamente, modelo DTG-60 SHIMADZU, em atmosfera de nitrogênio.

4.3 Bioatividade

4.3.1 Testes *in vitro* SBF (*Simulated Body Fluid*)

Um material bioativo é aquele capaz de fazer uma rápida e forte ligação entre a sua superfície e a do material hospedeiro por meio de uma camada de HA [98,99]. A avaliação feita usualmente para determinar a bioatividade de um material, como um vidro bioativo, por exemplo, são os testes em SBF, que consistem em produzir uma solução com concentração iônica similar à do plasma sanguíneo humano, criada por Kokubo [98].

A solução de SBF necessita de uma sequência de procedimentos metodicamente seguida à risca, tendo em vista que ela deve simular as condições fisiológicas de um organismo vivo. Assim, ela deve ser preparada a uma temperatura de 36,5 °C e ter o pH controlado durante todo o preparo. A precipitação de algum sal ou o descontrole da temperatura ou pH gera uma solução inadequada para os testes de bioatividade [100].

Para a realização dos testes *in vitro* deste trabalho a solução de SBF foi preparada seguindo rigorosamente o método de Kokubo e Takadama [98]. Para a realização dos testes de bioatividade, os vidros foram cortados em fatias com espessura de aproximadamente 1,3 mm, em seguida foram feitas ranhuras em sua superfície para aumentar a área de contato com a solução. As amostras foram fixadas em suportes de polipropileno e inseridas em tubos também de polipropileno, com fundo cônico, para manter sempre a mesma razão área superficial/volume de SBF em contato com a amostra. O tubo selado foi colocado em banho térmico (banho-maria) a uma temperatura de 36,5 °C. Na tabela 3 é possível observar as concentrações iônicas do plasma sanguíneo humano e do SBF, sendo visível pequenas diferenças de concentrações de determinados íons, como Cl^- e HCO_3^- .

Tabela 3 - Concentração dos íons no SBF, e no plasma sanguíneo humano. Adaptado [88].

Íons presentes	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl^-	HCO_3^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}	pH
Plasma Sanguíneo	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5	7,2-7,4
SBF	142,0	5,0	1,5	2,5	147,8	4,2	1,0	0,5	7,4

Durante o período de imersão houve a aferição diária do pH das soluções de SBF que continham as amostras. Após cada período de imersão, que compreendeu os intervalos de 3, 7, 14, 21 e 28 dias, as amostras foram retiradas e secas ao ar e em seguida guardadas em dessecador a vácuo para análises posteriores. Na figura 23 é mostrado uma fotografia do banho-maria (marca Tecnal modelo Te-054 MAG) e peagâmetro (marca Gehaka modelo PG 1800) usados durante o preparo da solução de SBF, e durante o período de incubação das amostras

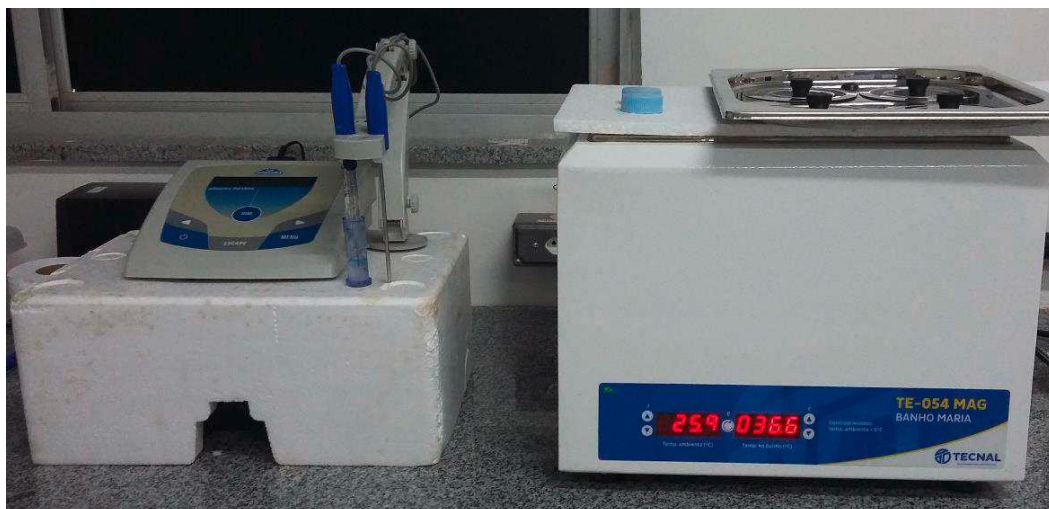


Figura 23-Peagâmetro e banho térmico.

4.3.2 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier é muito empregada na identificação e caracterização de materiais por ser uma técnica que permite detectar vibrações entre ligações atômicas ou moleculares por meio do espectro infravermelho formado. A radiação infravermelha é uma radiação não ionizante na porção invisível do espectro eletromagnético, adjacente aos comprimentos de ondas longos, não podendo ser visível como luz, mas podendo ser detectado como calor. A técnica é baseada na absorção da radiação eletromagnética na região do Infravermelho (700 nm a valores maiores que 25000 nm). A radiação infravermelha possui comprimento de onda maior que a da luz visível e menor que das microondas, consequentemente possui menor frequência que a luz visível e maior que a das microondas [101,102]. A figura 24 mostra um espectro de radiação eletromagnética de maneira simplificada.

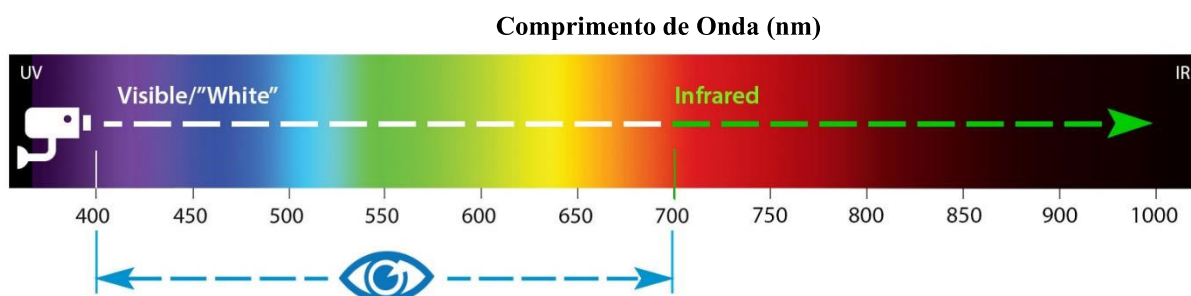


Figura 24-Espectro da radiação eletromagnética. Adaptado [103]

A espectroscopia estuda a interação da luz com a matéria, normalmente as transições eletrônicas estão situadas na região do ultravioleta ou visível, as vibracionais na região do

infravermelho e as rotacionais na região de microondas ou no infravermelho distante [104]. A radiação infravermelha é do tipo não ionizante, no entanto, pode causar mudanças nas ligações químicas e consequentemente mudanças na energia vibracional, desde que a molécula exposta à radiação infravermelho seja um dipolo, ou pelo menos um dipolo induzido, o momento dipolo é determinado pela magnitude da diferença de cargas e a distância entre dois centros de carga [105].

No equipamento FTIR é usado um interferômetro, neste equipamento está o beamsplitter (divisor de feixe), que é o responsável por dividir o feixe de luz monocromática, um dos feixes segue em direção a um espelho de posição fixa que reflete de volta para o beamsplitter, no qual parte deste feixe reflete de volta para a fonte e parte para o detector. O outro feixe segue em direção a um espelho móvel, que o reflete também para a fonte e para o detector, se aposição do espelho móvel é tal que o feixe 2 percorra o mesmo caminho que o feixe 1 antes de chegar ao detector, então os dois feixes estão em fase, e nesse caso a energia será máxima e a interferência será construtiva, caso contrário, a interferência será destrutiva [102,105,106].

O dado puro obtido de início no espectrômetro é o interferograma, que é formado pela soma de todas as ondas de diferentes amplitudes e frequências que chegam ao interferômetro e possui todas as informações espectrais da amostra, que fica no vácuo durante o procedimento. Após a aplicação da transformada de Fourier no interferograma tem-se o espectro de infravermelho [102].

O FTIR foi aplicado na análise das amostras antes e após a imersão em SBF para determinar a bioatividade das amostras vítreas, complementando os resultados de raios-x. As medidas foram realizadas no LEOF, usando um espectrômetro da Bruker, modelo Vertex 70v. Foi utilizado a técnica de transmitância óptica usando pastilhas de brometo de potássio (KBr), com massa de 200mg para formar a pastilha, sendo que 2% da massa refere-se ao material analisado, usando 32 varreduras numa faixa de 400-4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} em temperatura ambiente. As linhas de base usadas nos espectros FTIR foram feitas usando o programa Origin. Na figura 25 tem-se uma fotografia do espectrômetro FTIR usado para realizar as medidas mostradas neste trabalho.



Figura 25-Espectrômetro FTIR.

4.3.3 Medidas de pH

O potencial hidrogeniônico (pH) é uma escala logarítmica que mede o grau de acidez, basicidade (alcalinidade) ou neutralidade de uma determinada solução. Conceito este que foi introduzido em 1909 pelo químico dinamarquês Soren Peter Lauritz Sorensen, no qual, por ser uma propriedade físico-química, varia em função da temperatura e a composição da substância analisada, como concentração de ácido, sais e bases, entre outros [107].

A escala de valores de pH compreende valores de 0 a 14, sendo o 7 considerado o valor neutro, o valor de zero acidez máxima e 14 alcalinidade máxima. Valores acima de 14 e abaixo de zero podem ser verificados para algumas substâncias, como exceção à regra do comportamento de pH das substâncias químicas [25,107].

Os valores de pH são representações numéricas das concentrações mínimas do íon hidrogênio (H^+) em solução aquosa, podendo ser calculado pela expressão $pH = -\log[H^+]$ [107]. No comportamento de dissolução de vidros bioativos o aumento do pH indica a dissolução de íons alcalinos no SBF durante sua conversão em hidroxiapatita.

Dependendo dos formadores da matriz muda-se a velocidade de dissolução dos vidros. Os vidros boratos (B_2O_3) dissolvem-se mais rapidamente, quando comparados aos silicatos, devido aos seus arranjos estruturais BO_3 e/ou BO_4 sendo mais reativos em solução que os grupos tetracoordenados de silicatos (SiO_4) [25].

A degradação de vidros silicatos acontece de forma incoerente, pois apresenta lixiviação seletiva de alguns íons. Ela também depende do pH da solução e da razão entre a superfície do vidro e do volume de solução de fluido que está interagindo com ele [108]. Durante o processo de lixiviação dos vidros silicatos, como o 45S5[®], é formada uma camada de sílica gel que impede a passagem de íons, ou pelo menos há uma lixiviação seletiva, criando em sua superfície

silanois (SiH_3OH) e a sílica gel de fato. Estes dois compostos atuam como revestimento de materiais para isolá-los de ataques externos de agentes químicos, como os íons H^+ e H_3O^+ presentes na solução de SBF, logo a degradação desses vidros é mais demorada e conseqüentemente mais lenta é a velocidade de formação de HA, o que pode ser evidenciado por aumento mais lento nos valores de pH em função do tempo quando comparado com outros materiais [39,109,110].

O mecanismo de dissolução dos vidros boratos é uniforme reagindo rapidamente com a solução de SBF, com alta taxa de liberação de íons e conseqüente formação de HA mais rápida que os vidros silicatos. Desse modo, o comportamento do pH das soluções contendo vidros boratos bioativos têm um crescimento exponencial, que estabiliza com o passar do tempo em função da saturação dos íons da solução de SBF [38].

Os valores de pH deste estudo foram medidos todos os dias em que as amostras estavam imersas em SBF. Foi usado um peagâmetro microprocessado de bancada PG1800, da marca Gehaka, com precisão de pH de 0,01 unidades, e durante as medições foi calibrado em soluções tampões para garantir sua precisão.

4.3.3 Perda de peso

Esse estudo se baseia na massa perdida pelas amostras durante o período de imersão em SBF, no qual várias trocas iônicas favorecem a lixiviação iônica (substituição preferencial de íons constituintes da matriz, podendo ser alcalinos e/ou alcalinos terrosos, reagindo com íons hidrogênio (H^+) ou hidrônio (H_3O^+) da solução atacante), ou mesmo o ganho de material depositado na superfície dos vidros. Dessa forma, cada matriz vítrea apresenta um comportamento específico frente aos padrões físico-químicos do meio em que estão incubadas. Diversas pesquisas relatam como se dá a degradação de vidros bioativos que possuem o óxido de silício como formador de rede, ou mesmo uma combinação de óxido de boro e silício, os quais apresentam comportamentos diferentes durante a troca de íons em solução, como previsto e explicado pelo próprio Larry Hench [25,39,45,111].

A perda de massa ou o ganho dela, é explicado pelas várias reações que acontecem entre a superfície dos vidros e a solução de SBF, um ataque da solução à estrutura do vidro, o que é essencial para que haja a formação de HA ou mesmo outro fosfato de cálcio, que é o objetivo dos implantes de materiais bioativos ou biocompatíveis. Estas reações se dão de maneira acelerada no início do contato entre a amostra e a solução, em seguida tende a um equilíbrio químico, reduzindo as trocas iônicas e conseqüentemente a velocidade de degradação do

material [112–114]. Esse mesmo comportamento está diretamente ligado ao aumento do pH das soluções, pelo fato de aumentar abruptamente a quantidade de íons alcalinos no meio. Assim, quanto mais material é perdido durante a lixiviação dos íons em solução, maior será o pH desta. No entanto, vale ressaltar que a perda muito rápida de material pode gerar prejuízos ao sistema hospedeiro, pois pode haver a degradação completa do implante sem que se forme HA para tratar das lesões no tecido ósseo, ou quando a matriz vítrea é composta de óxido de boro que em grandes concentrações prejudica o bom funcionamento do organismo [111,114,115].

Dessa maneira, é importante entender o comportamento dos íons em solução, ou mesmo da matriz vítrea, a qual tem fundamental importância na formação do produto esperado (hidroxiapatita) que dá ao material a habilidade bioativa. Nesse sentido, muitos estudos demonstram como são realizados os testes de corrosão, ou perda de peso, que estão diretamente ligados com a degradação do material, a equação 2 mostra como é calculada a perda de massa teórica, na qual W_0 é a massa da amostra antes da imersão em SBF e W é a massa após a imersão [111,115].

$$\Delta w = \frac{(w_0 - w)}{w_0} \cdot 100 \quad (2)$$

4.3.4 Testes de Citotoxicidade

De acordo com o Órgão Internacional de Padronização (International Standard Organization), ISO 10993, o ensaio de citotoxicidade (viabilidade celular) *in vitro* é o primeiro teste para avaliar a biocompatibilidade de qualquer material [116]. Os métodos *in vitro* apresentam vantagens em relação aos *in vivo* tais como poder limitar o número de variáveis experimentais, obter dados significativos mais facilmente, além do período de teste ser, em muitos casos, mais curto.

Os testes de viabilidade celular foram realizados a fim de testar se os vidros preparados possuem altas taxa de liberação de íons que podem impedir a atividade dos osteoblastos do tecido ósseo hospedeiro. Os testes de citotoxicidade são classificados como uma avaliação inicial que utiliza técnicas de cultura celular. A avaliação da atividade citotóxica dos vidros CaNaB foi realizada em células osteoblastos MC3T3-E1. As células foram suspensas a proporção $1,0 \times 10^6$ células/mL em meio α -MEM (Meio Mínimo Essencial Eagle, SIGMA, Alemanha) suplementada com FBS 10% (Soro Fetal Bovino, GIBCO), 100 μ L foi adicionado à 96 placas de poços e incubada por 24 horas a 37 ° C e 5% de CO₂. As amostras foram diluídas

(1, 0,7, 0,4 e 0,1 mg/mL), adicionadas à monocamada de células e incubadas por 24 h nas mesmas condições. Após a incubação, 50 µL de solução de MTT [(3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) - 2,5-difeniltetrazólio)] foram adicionados a 2 mg/mL. A placa foi incubada durante 4 horas a 37° C com 5% de CO₂ (protegido da luz) e adicionados 150 µl de DMSO. A leitura foi realizada num leitor de microplacas (BIO-TEK Power Wave XS) a 570 nm, a fim de avaliar a citotoxicidade por meio da absorbância.

Os testes de citotoxicidade foram realizados no Laboratório de Inovação Tecnológica no Desenvolvimento de Fármacos e Cosméticos do Departamento de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Estadual de Maringá-UEM. O erro estimado para as medidas foi de 0,5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados e a discussão das análises realizadas durante a realização deste trabalho. Na figura 26 são mostradas as amostras preparadas, cortadas em fatias. As amostras apresentam boa qualidade óptica, alta transparência, sem a presença de cristaltos (por inspeção visual e, posteriormente raios-x) e sem alterações visuais em função do aumento da quantidade de SrO.

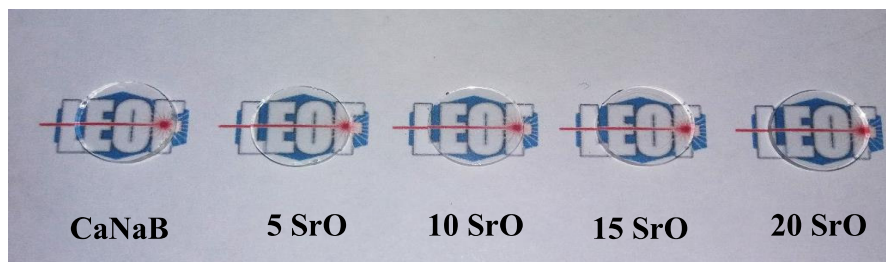


Figura 26-Foto dos vidros CaNaB fatiados.

5.1 MEDIDAS REALIZADAS ANTES DA IMERSÃO EM SBF

5.1.1 Densidade e Volume molar

Os valores de densidade e volume molar das amostras CaNaB, em função do aumento da concentração de óxido de estrôncio (SrO), em peso, são mostrados na figura 27. Ao verificar os dados, pode-se notar um aumento linear da densidade à medida que aumenta a concentração de SrO e inversamente, uma diminuição linear para o volume molar seguindo uma proporção similar.

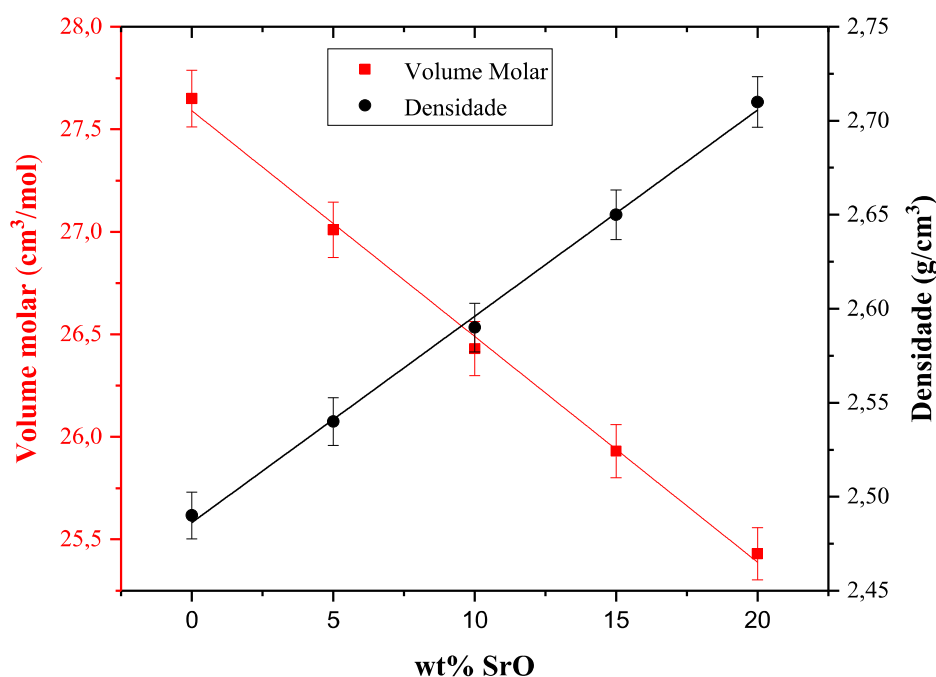


Figura 27-Densidade e volume molar em função da concentração de estrôncio.

Na figura 27 é observado que a densidade varia de $2,49 \text{ g/cm}^3$, para a amostra CaNaB, a $2,71 \text{ g/cm}^3$ para a amostra 20 SrO, correspondendo a um aumento de 8,12% nos valores de densidade, em função do aumento da concentração de SrO nos vidros. Isso pode ser justificado pela substituição de óxido de cálcio (CaO) e óxido de sódio (Na_2O) por óxido de estrôncio (SrO), pois o SrO ($103,6194 \text{ g/mol}$) apresenta massa molar de aproximadamente duas vezes a do CaO ($61,9789 \text{ g/mol}$) e a do Na_2O ($56,0774 \text{ g/mol}$). O aumento também pode estar associado às unidades estruturais formadas, pois o Sr possui cátion significativamente maior que Ca e Na (quase 1,2 vezes), por ocupar os espaços vazios na rede vítrea empurra átomos de oxigênio em direção aos grupos BO_3 forçando-os a se rearranjarem na forma tetragonal (BO_4) que têm maior densidade, pois aumenta a massa na região em questão [47,60,117].

O comportamento apresentado pelo volume molar é inverso ao da densidade, o qual diminui à medida que aumenta a concentração do SrO, e é notado uma variação de $27,65 \text{ cm}^3$, para a amostra CaNaB e $25,40 \text{ cm}^3$ para a amostra 20 SrO. Nesse sentido, a diminuição dos valores de volume molar corresponde a aproximadamente 8,14%. Essa diminuição pode ser explicada pelo mecanismo contrário ao que ocorre com variação da densidade. O Sr quando na matriz vítrea, ocupa lugares semelhantes ao do Ca e Na (na maior parte dos casos em interstícios da matriz) no entanto possui raio atômico maior (por ter mais prótons no núcleo atrai mais fortemente os íons carregados negativamente compactando a estrutura de forma mais eficiente) e maior massa molar, aumentando a massa em função da diminuição do volume, o que induz a formação de grupos BO_4 em maiores quantidades, que são mais pesados e ocupam praticamente o mesmo volume que os grupos BO_3 [47,60].

5.1.2 Difração de Raios-X

As medidas de difração de raios-x foram realizadas antes e após a imersão dos vidros em SBF para determinar, primeiramente se houve a formação de cristalitos nas amostras preparadas, e em seguida para observar possíveis alterações na superfície do material após o período de imersão em SBF, como a formação de hidroxiapatita, o que comprovaria a bioatividade do material.

Os resultados da difratometria de raios-x (DRX) nos vidros, antes de imersos em SBF, estão apresentadas na figura 28. Pode-se notar a presença de duas bandas alargadas e de baixa intensidade, que são características de vidros, comprovando o caráter amorfo das amostras, o que garante a ausência de fases cristalinas que poderiam ser formadas durante o processo de fabricação das amostras.

As duas bandas largas com centros próximos a 29 e 45° 2 θ são características de vidros boratos [118,119]. É possível verificar também que à medida que se insere estrôncio na matriz vítrea há um alargamento da banda com centro em 29° 2 θ [120,121], o que indica que a inserção de óxido de estrôncio na matriz não induz processos de cristalização.

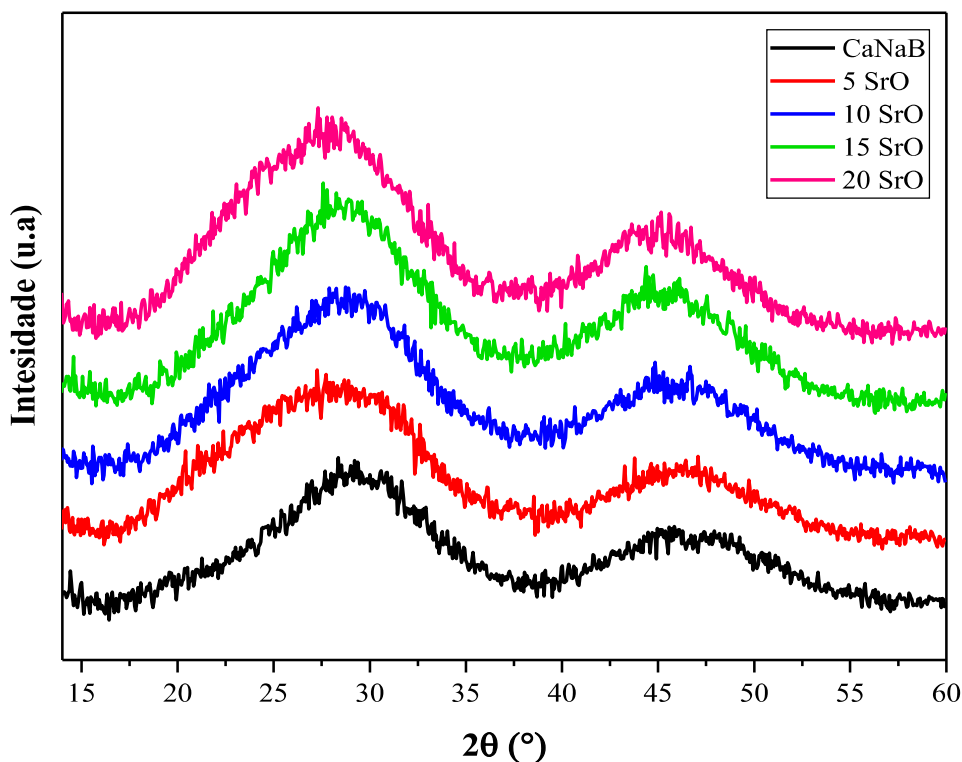


Figura 28-Difratograma das amostras CaNaB antes da imersão em SBF.

5.1.3 Calor Específico

Por meio das curvas de relaxação térmica em função tempo foi calculado o calor específico das amostras CaNaB. A figura 29 mostra o calor específico das amostras em função do aumento da concentração de SrO. Todos os resultados adquiridos são uma média de valores de 18 curvas de relaxação térmica, que foram realizadas em 3 medidas de 6 curvas para cada uma das amostras para reduzir possíveis erros experimentais.

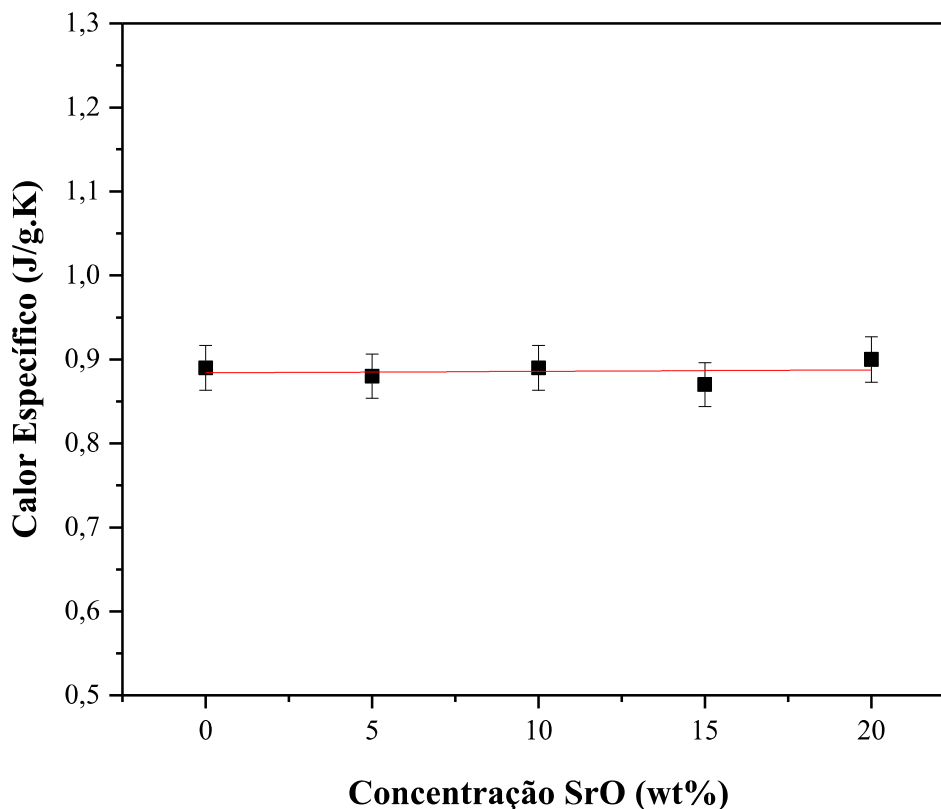


Figura 29-Calor específico das amostras CaNaB em função do aumento da concentração de SrO.

É possível observar que mesmo com a substituição dos óxidos de cálcio e sódio pelo óxido de estrôncio não houve mudanças significativas, dentro da margem de erro experimental, nos valores de calor específico das amostras CaNaB. É possível observar no gráfico de calor específico que os valores obtidos são muito próximos entre si, mesmo outras medidas indicando um aumento do número de conectividades, ou simplesmente mudanças nas conectividades existentes [47].

5.1.4 Análise Térmica Diferencial (DTA)

Os valores para a temperatura de transição vítrea, temperatura de início de cristalização e para a estabilidade térmica dos vidros CaNaB são mostrados na Tabela 4. Analisando a tabela é possível verificar que a T_g para a amostra CaNaB é a mais baixa, sendo 492°C e a temperatura de início de cristalização também é inferior às demais, 615°C , resultando em uma estabilidade térmica de 123°C .

Tabela 4- Resultados de DTA para os vidros CaNaB em função da concentração de SrO.

Amostra	Tg (°C) ($\pm 5^\circ\text{C}$)	Tx (°C) ($\pm 5^\circ\text{C}$)	Tx-Tg (°C) ($\pm 5^\circ\text{C}$)
CaNaB	492	615	123
5 SrO	494	618	124
10 SrO	500	623	123
15 SrO	512	622	110
20 SrO	517	623	106

Assim, à medida que se insere óxido de estrôncio na matriz vítrea aumenta-se a Tg das amostras como é observado para as amostras com 5, 10, 15 e 20 wt% em peso de SrO, já os valores para a Tx aumentam até 10% de SrO, depois apresentam uma estagnação, mesmo aumentando a concentração de estrôncio, o que pode ser uma pequena variação dentro do erro estimado. A estabilidade térmica dos vidros segue um comportamento inverso ao da Tg, diminui para as amostras com maior concentração de óxido de estrôncio, das quais, as amostras com maior estabilidade são as amostras CaNaB, 5 SrO e 10 SrO.

O comportamento apresentado pela Tg e Tx podem estar ligados à atuação dos modificadores de rede e às modificações provocadas pelo aumento da concentração de SrO, no qual as mudanças de conectividade (como comprova os cálculos de N_4) geraram uma estrutura com Tx parecidas para as amostras com maior concentração de estrôncio (10, 15 e 20% de SrO). Acredita-se que com o aumento da concentração de SrO aumentou-se a conversão de grupos BO_3 para BO_4 (aumentando a quantidade de ligações químicas por unidade de volume), o que pode ser explicado pelo fato do estrôncio possuir tamanho de cátion maior que o do cálcio e sódio, e por também ter maior densidade atômica que estes dois [57,121,122].

5.1.5 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

Os espectros FTIR dos vidros CaNaB antes da imersão, podem ser vistos na figura 30, nos quais é possível verificar as três regiões de absorção características de vidros boratos, bem definidas nas regiões de $\sim 470\text{-}775\text{ cm}^{-1}$, $\sim 775\text{-}1201\text{ cm}^{-1}$ e $\sim 1201\text{-}1605\text{ cm}^{-1}$. A banda em menores comprimentos de ondas, com centro próximo a 460 cm^{-1} , é típica de modificadores de rede como óxido de cálcio, óxido de sódio, e/ou outros óxidos alcalinos ou alcalinos terrosos, mas é atribuída principalmente aos grupos fosfatos.

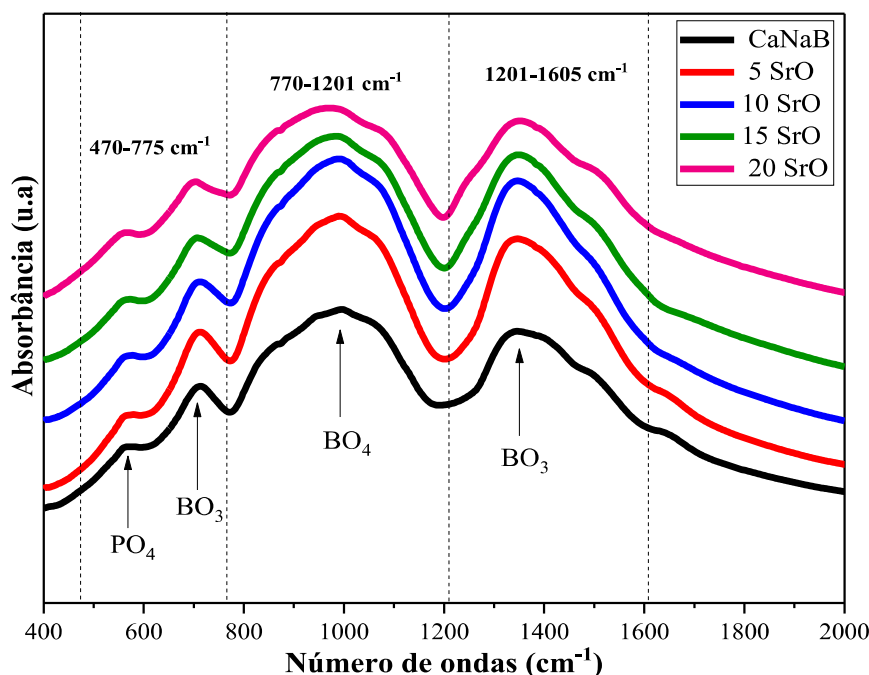


Figura 30-Espectro FTIR das amostras CaNaB antes da imersão em SBF.

A banda com centro em aproximadamente 563 cm^{-1} , que vai de 470 a 605 cm^{-1} , está relacionada com a vibrações dos modos internos da ligação P-O nos grupos PO_4^{3-} [11,62]. Enquanto que a banda na região de $600\text{--}800\text{ cm}^{-1}$, indica vibrações do tipo *bending* dos segmentos B-O-B dos grupos BO_3 [45,61,123]. A banda na região de $770\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ é atribuída a vibrações do tipo *stretching* dos grupos BO_4 [123,124]. O intervalo de número de onda seguinte, na região de $1200\text{--}1630\text{ cm}^{-1}$, indica vibrações do tipo *stretching* das ligações B-O dos grupos BO_3 [11,62,123].

A ausência da banda (pequena saliência, ou ombro) em $\sim 801\text{ cm}^{-1}$ confirma a ausência de anéis de boroxol [62]. Os resultados se encontram de acordo com os dados encontrados na literatura para vidros boratos.

5.1.7 Fração de Boros Tetracoordenados (N_4)

O boro possui uma habilidade especial quando comparado com os outros elementos químicos, também chamada de anomalia do boro, este consegue se estabilizar com apenas seis elétrons na camada de valência, enquanto a maioria dos elementos seguem a regra do octeto, e se estabilizam com oito elétrons na camada de valência. Tendo em vista que o boro possui dois orbitais p vazios e um p semipreenchido, deveria fazer apenas duas ligações covalentes, mas não é isso que é evidenciado, na realidade ele é capaz de fazer três ligações covalentes e ainda

ter uma carga parcial negativa para fazer mais uma ligação química [117,125]. Isso se deve por causa da hibridização de seus orbitais atômicos s e 2p, gerando um orbital molecular sp^2 , sendo possível assim fazer as ligações que são observadas para o boro nos compostos encontrados na natureza. Essas informações são necessárias para entender o comportamento dos grupos boratos triangulares e tetraédricos, pois a geometria molecular dos compostos depende intrinsecamente da hibridização de seus orbitais. A figura 31 mostra os orbitais atômicos do boro antes e após a hibridização [126].

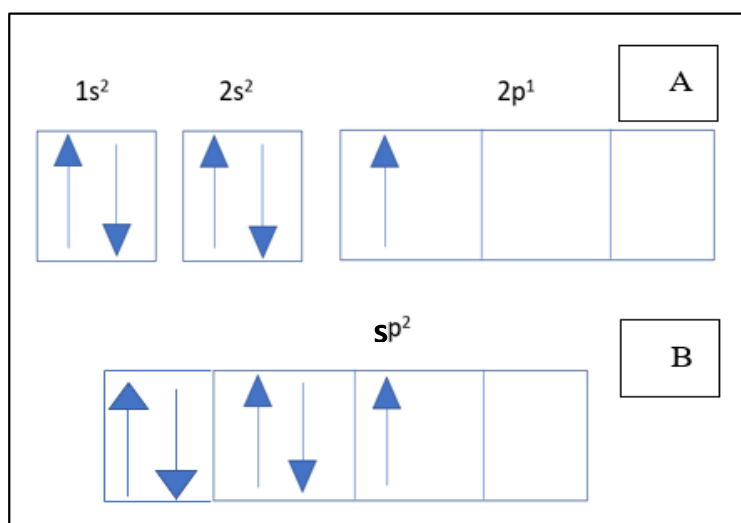


Figura 31-A) Orbitais atômicos do boro. B) Orbitais hibridizados do átomo de boro.

Assim, os grupos BO_3 têm hibridização do tipo sp^2 o que lhe confere uma geometria trigonal plana, já os grupos BO_4 possuem hibridização do tipo sp^3 que lhe conferem uma geometria tetraédrica. As informações de hibridização dos orbitais atômicos não só descrevem as ligações e a geometria, como também podem prescrever a força das ligações de um composto, isso é evidente nos grupos boratos, em que as estruturas com hibridização sp^2 possuem uma menor estabilidade química quando comparadas às sp^3 , ou seja, as ligações químicas nos grupos triangulares necessitam de menos energia para serem rompidas em comparação aos grupos tetraédricos, por isso a maior estabilidade nos grupos BO_4 [73,127].

Por meio dos espectros FTIR deconvoluídos (fitting gaussiano), como apresentado na figura 32, foi possível calcular as áreas das bandas características, sendo identificadas como as vibrações BO_3 e BO_4 e em seguida usada a equação 3 para calcular o valor de N_4 (fração de boros tetracoordenados).

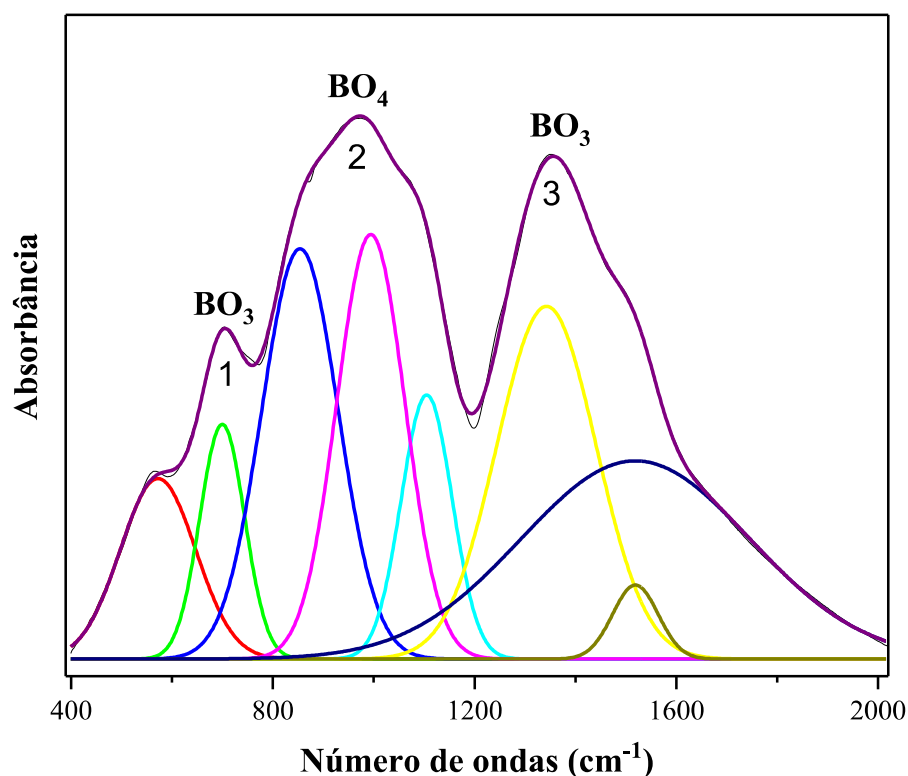


Figura 32- Espectros FTIR das amostras CaNaB deconvoluídos.

$$N_4 = \frac{A_4}{A_4 + A_3} \quad (3)$$

Na equação (3), A_3 é a área relativa às bandas respectivas às unidades de boratos tricoordenados, e A_4 é a área da banda referente às unidades de boratos tetracoordenados [128,129]. Para verificar possíveis alterações na rede vítrea foi calculada a fração de boros tetracoordenados, a fim de observar o comportamento dos íons boratos na matriz vítrea (em função do aumento de SrO) em relação ao aumento ou a diminuição da quantidade de unidades BO_4 . A figura 33 mostra os dados da razão N_4 calculadas para as amostras CaNaB.

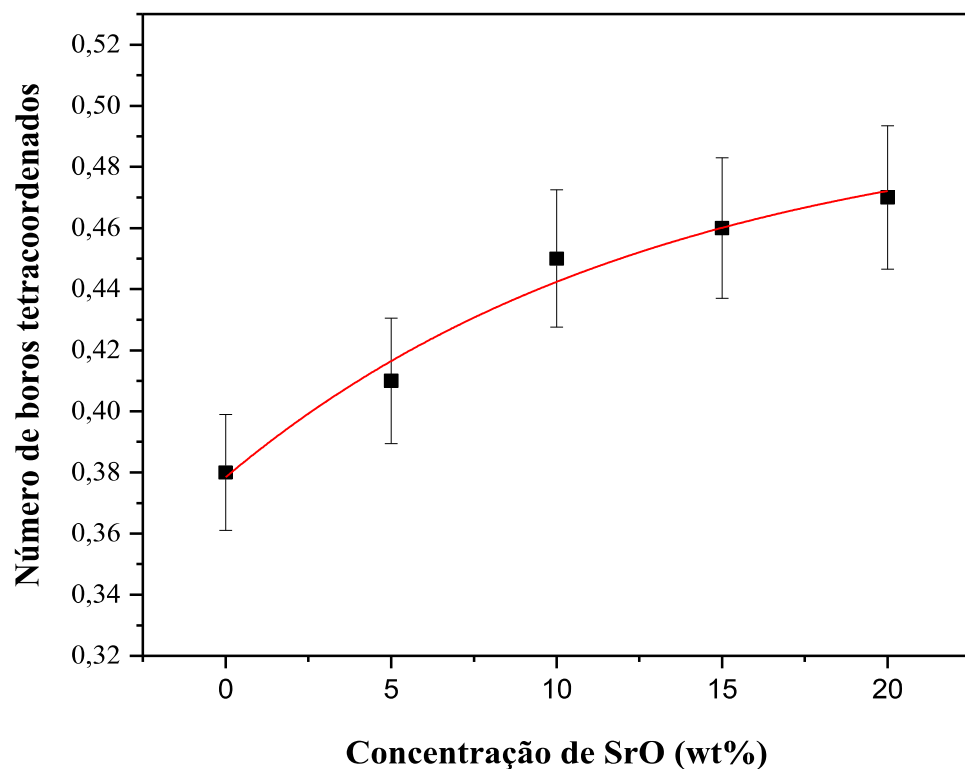


Figura 33-Fração N_4 para as amostras CaNaB.

Este comportamento pode ser explicado pelo fato do estrôncio, assim como cálcio e sódio, poderem ocupar os interstícios da matriz vítrea, mas possuir raio atômico maior que os modificadores que substitui, causando um desbalanço estrutural na rede, empurrando mais oxigênios não-ligados na direção dos grupos BO_3 forçando-os a se rearrajarem na forma tetraédrica (mais estável) que ocupa um espaço relativamente menor (maior concentração de átomos num espaço similar ao dos grupos BO_3) [125,127].

5.2 MEDIDAS REALIZADAS APÓS 28 DIAS DE IMERSÃO EM SBF

5.2.1 Resultados do pH

Durante o período de imersão em SBF acontecem várias trocas iônicas entre a solução (doadoras de íons como, H^+ , H_3O^+ e OH^-) e a superfície das amostras vítreas (doadora de íons alcalinos, como Ca^{2+} , Na^+ , PO_4^{3-} , que são constituintes estruturais da matriz vítrea). Essas trocas se dão inicialmente em uma velocidade rápida e com passar dos dias (ou horas), elas reduzem a velocidade devido à supersaturação da solução e consequente equilíbrio químico entre os produtos e reagentes, isso provoca mudanças drásticas no pH da solução.

Então, durante esse processo, é possível indicar que haja a formação de um composto característico de apatita, devido ao aumento do pH da solução com o aumento do tempo de contato entre os vidros e a solução SBF, até que atinja o equilíbrio iônico (o que pode ser comprovado com as medidas de DRX). No entanto, não é incomum o pH se comportar de forma aparentemente anômala, tendo variações de aumento e em seguida diminuição, isso se deve à formação de novas camadas sobrepondo as camadas previamente formadas na estrutura dos vidros [130,131]. Na figura 34 é mostrado o gráfico do pH da solução de SBF com as amostras CaNaB durante o período de 28 dias de imersão.

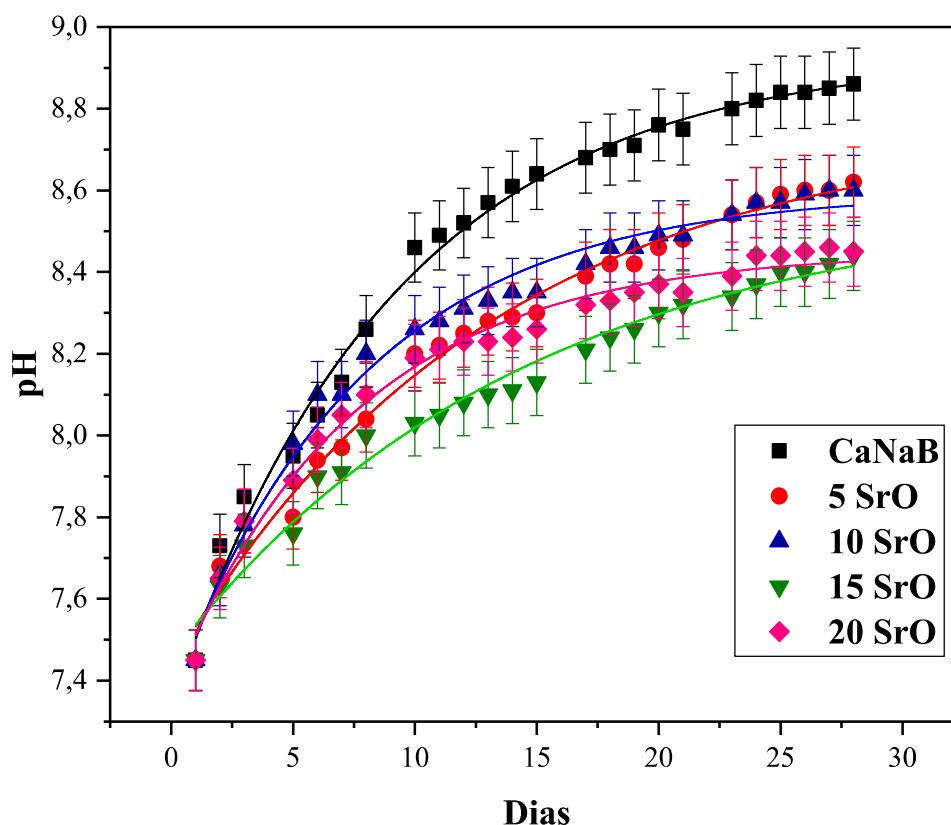


Figura 34-Medidas de pH para as amostras CaNaB no período de 28 dias.

Analisando o gráfico do comportamento do pH, figura 34, é possível notar um aumento exponencial do pH para todas as amostras. Isso pode ser explicado pelo fato das trocas iônicas entre a superfície dos vidros e a solução acontecerem em uma velocidade muito rápida nos primeiros dias, a partir de um determinado instante há um equilíbrio das trocas iônicas realizadas, diminuindo a velocidade das reações e ,consequentemente apresentando maior estabilidade do pH das soluções, tendo um comportamento tendendo a uma possível saturação.

Os resultados obtidos não permitem determinar se a solução de SBF ou o vidro que diminuiu a doação de íons para a continuação das reações, tendo em vista que a tendência do

pH à saturação demonstra a baixa quantidade de átomos ou grupos reagindo, o que mostra um produto mais estável quando comparado com os períodos iniciais de trocas iônicas. Ainda é possível que ocorra reações de “descamação”, ou seja, as camadas de apatitas cristalina formadas na superfície do material pode reagir e formar fosfato de cálcio amorfo, que também pode formar uma ligação com os tecidos ósseos, no entanto, não é o produto desejado para este trabalho.

O maior pH foi observado para a solução contendo a amostra CaNaB sem estrôncio, quando comparado com as amostras CaNaB com estrôncio, o que pode ser explicado exatamente pelo fato de não possuir estrôncio na sua estrutura, havendo maior tendência de formação de grupos BO_3 na sua matriz, sendo o grupo borato triangular menos estável quimicamente quando comparado aos grupos BO_4 . Estes grupos que são formados em maior quantidade quando se introduz óxido de estrôncio no vidro, que atua enrijecendo as ligações e mudando algumas estruturas metaestáveis para sua forma mais estável, como é o caso dos grupos boratos [11,132].

O comportamento do pH observado indica, como esperado, que as amostras com maiores concentrações de estrôncio possuem uma dissolução iônica mais lenta durante a imersão em SBF, quando comparadas com vidros boratos bioativos, como no caso da amostra CaNaB (0% SrO). Isso pode ser evidenciado pelo fato do pH das soluções com as amostras de maior concentração de óxido de estrôncio serem menores, isto indica menor taxa de liberação de íons e maior estabilidade química, tendo em vista que, uma boa parte dos componentes do vidros são elementos alcalinos ou alcalinos terrosos, quando em solução, esses mudam o pH do meio aumentando significativamente os valores registrados [11,133].

Assim, o comportamento das amostras CaNaB seguem o comportamento esperado, menores valores de pH das soluções contendo as amostras com maior quantidade de SrO, indicando um melhor controle da liberação dos grupos boratos pelas amostras com 10%, 15% e 20% de SrO.

5.2.2 Perda de Peso

A figura 35 mostra os valores de perda de peso calculados para as amostras CaNaB a partir da equação 2, apresentada na sessão 4.3.3, seguindo os parâmetros descritos por Huang 2006 [115]. Nesse sentido, por meio dessa equação pôde ser calculado o comportamento cinético de degradação de vários vidros silicatos como o 45S5[®], borosilicatos e boratos. Assim, no gráfico apresentado fica evidente que as amostras com estrôncio em sua composição

apresentam menores valores de perda de peso quando comparado com a amostra base (sem estrôncio). O erro estimado foi de 0,5%.

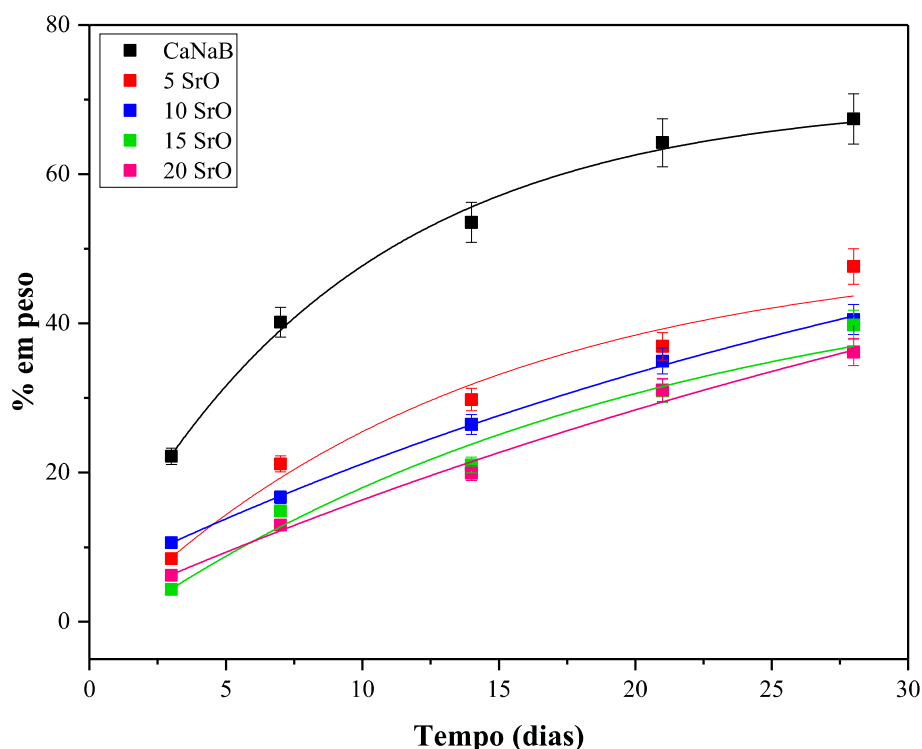


Figura 35- Perda de peso das amostras CaNaB em função do tempo após imersas em SBF.

As amostras com maiores quantidades de óxido de estrôncio apresentaram menores perdas de massa após o contato com a solução de SBF. Houve um aumento da perda de peso para todas as amostras com o aumento do tempo de imersão em SBF. A amostra CaNaB teve uma perda de peso de 67,4% após 28 dias de imersão, enquanto que as amostras com 5, 10, 15 e 20 wt% de SrO tiveram respectivamente 47,6%, 40,5%, 39,7% e 36,2 % de perda de peso após o tempo 28 dias de imersão.

Estes resultados indicam fortemente a habilidade de controle de íons pelo estrôncio quando inseridas na matriz do vidro, dessa forma corrobora com os dados de N_4 e pH. Vale ressaltar que estes resultados são confirmados pelos dados obtidos por Goel 2011[60], que afirma que a inserção de SrO na matriz vítrea diminuiu 7 vezes a velocidade da perda de peso comparado a sua amostra base, e também com Taylor 1971 [53] que sugere que o estrôncio, quando na matriz vítrea, pode realizar 6, 8 ou até 10 ligações periféricas com os demais átomos da estrutura do material, o que gera uma maior estabilidade química ao vidro.

5.2.3 Testes de Citotoxicidade

Para interpretação dos valores encontrados nos testes de citotoxicidade é preciso levar em consideração um parâmetro, que é o controle, um frasco sem a amostra a ser analisada, somente o meio celular se proliferando livremente, 100% de proliferação. Esse parâmetro sugere uma morte celular mínima, que é aceita como sendo até 10%, ou seja, 90% de viabilidade celular. Valores acima de 100% indicam que o material implantado é capaz de induzir a diferenciação celular e aumentar o número de células osteoblásticas no local implantado [134,135].

Na figura 36 é apresentado o gráfico de citotoxicidade para as amostras CaNaB, 10 SrO e 20 SrO para testes em quatro concentrações de amostra, que são 100, 400, 700 e 1000 µg/ml.

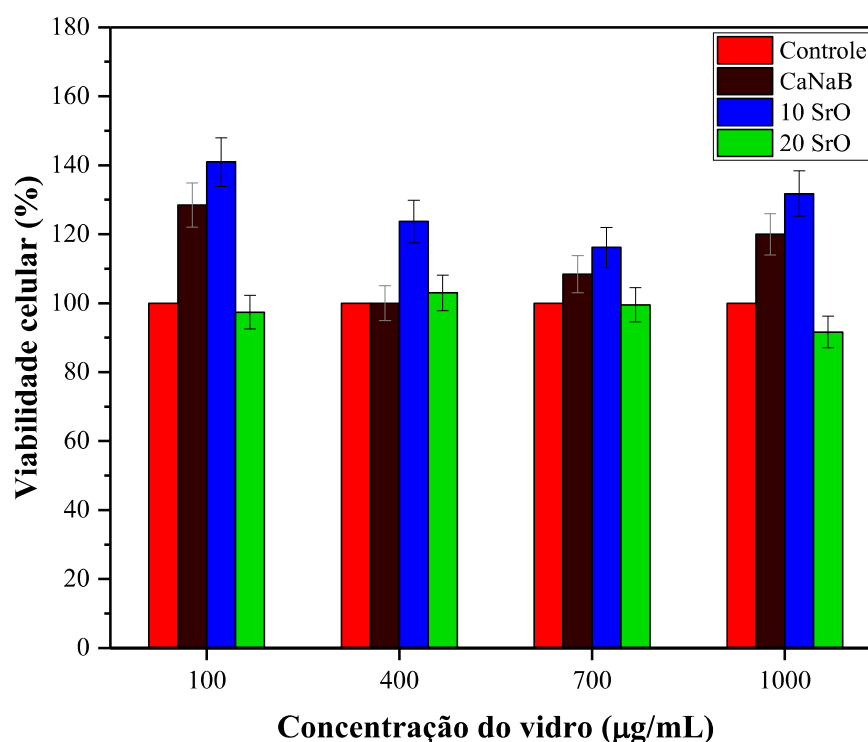


Figura 36-Citotoxicidade para as amostras CaNaB, 10 SrO, 20 SrO.

Os dados obtidos constataam que os vidros bioativos CaNaB não são citotóxicos para as células osteoblásticas, mesmo a amostra com 20% em peso de SrO, para a maior concentração, que é 1000 µg/ml, apresenta viabilidade celular de 91,65% que está dentro da margem aceita. As demais amostras além de não serem citotóxicas também apresentam a capacidade de induzir a formação de osteoblastos, como é visto principalmente para a amostra 10 SrO, que em todas

as concentrações testadas apresenta sempre aumento da viabilidade celular chegando a 140,94% na concentração de 100 µg/ml.

5.2.4 Medidas de raios-x após imersão em SBF

Na figura 37 são mostrados os espectros de DRX, para a amostra CaNaB durante 3, 7, 14, 21 e 28 dias de imersão em SBF. Foi identificado o surgimento de picos em regiões que confirmam a formação de HA nas amostras após a imersão em SBF, sendo os ângulos identificados mais claramente 23, 26, 32, 46, 49 e 53° 2θ aproximadamente, que são condizentes com os ângulos de picos de raios-x da HA [10,136].

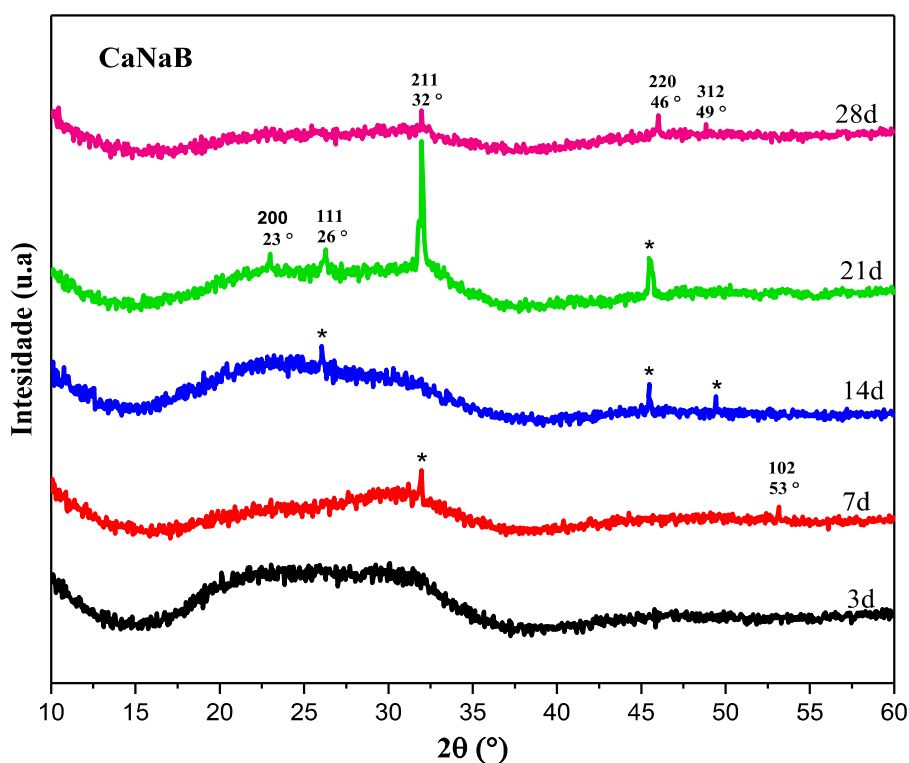


Figura 37-Difratogramas da amostra CaNaB após diferentes tempos de imersão em SBF.

Os ângulos nos quais os picos estão situados são apresentados no gráfico junto com o respectivo plano cristalográfico, os asteriscos são os picos já identificados que correspondem com os da HA, vale ressaltar que os picos encontrados em todos os difratogramas podem ter pequenas diferenças de posição devido à medida de raios-x não acontecer em uma superfície plana, e sim irregular, o que pode gerar pequenos deslocamentos dos picos sem desconfigurar o material analisado [137,138].

Todos os picos que apareceram após as trocas iônicas gerados nas reações entre a amostras CaNaB e a solução são característicos da hidroxiapatita ou fosfato de cálcio cristalino.

Na figura 38 são apresentados os difratogramas para a amostra 5 SrO após a imersão em SBF. Os picos em sua região angular são identificados no gráfico junto a seu plano cristalográfico. Todos os picos que surgiram após a imersão das amostras em SBF são originários da hidroxiapatita ou outro fosfato de cálcio cristalino.

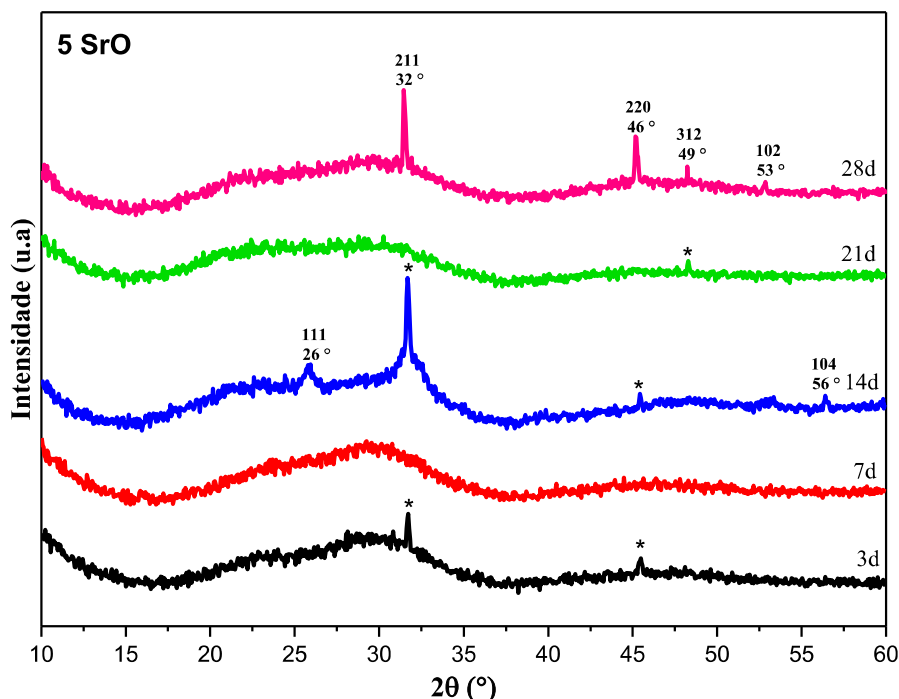


Figura 38-Difratogramas da amostra 5 SrO após diferentes tempos de imersão em SBF.

Na figura 39 são mostrados os difratogramas para a amostra 10 SrO em função do tempo de imersão em SBF. Os picos que surgiram no DRX após a imersão são identificados em seus respectivos ângulos e planos cristalográficos. Dessa maneira, os picos foram identificados como precursores da HA cristalina.

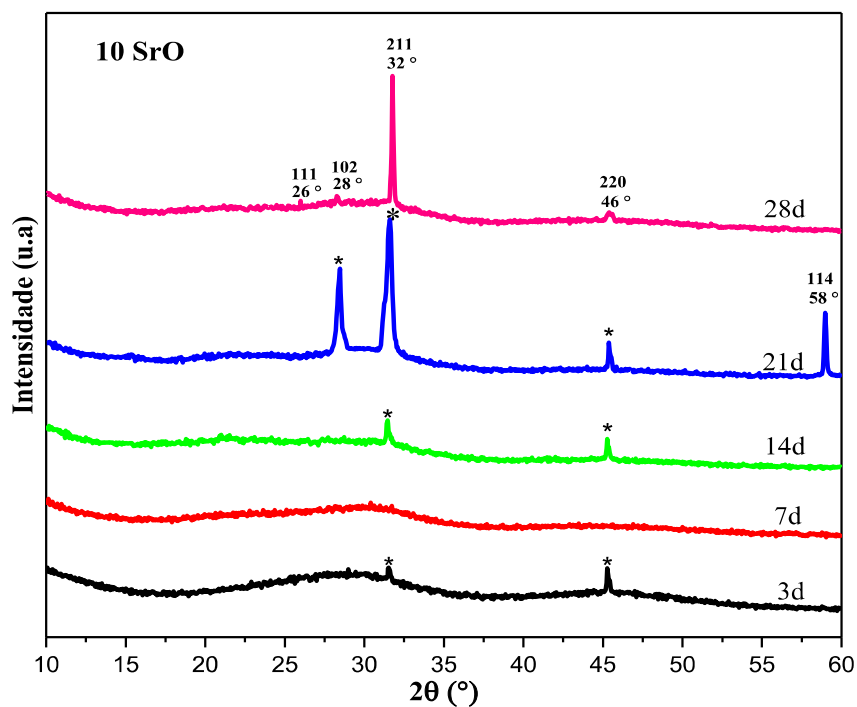


Figura 39- Difratomogramas da amostra 10 SrO após diferentes períodos de imersão em SBF.

Na figura 40 são apresentados os difratogramas para a amostra 15 SrO após a imersão em SBF por diferentes períodos. Os picos (ângulos) e planos cristalográficos são identificados no gráfico. Os picos que surgiram no difratograma são coincidentes com os da HA.

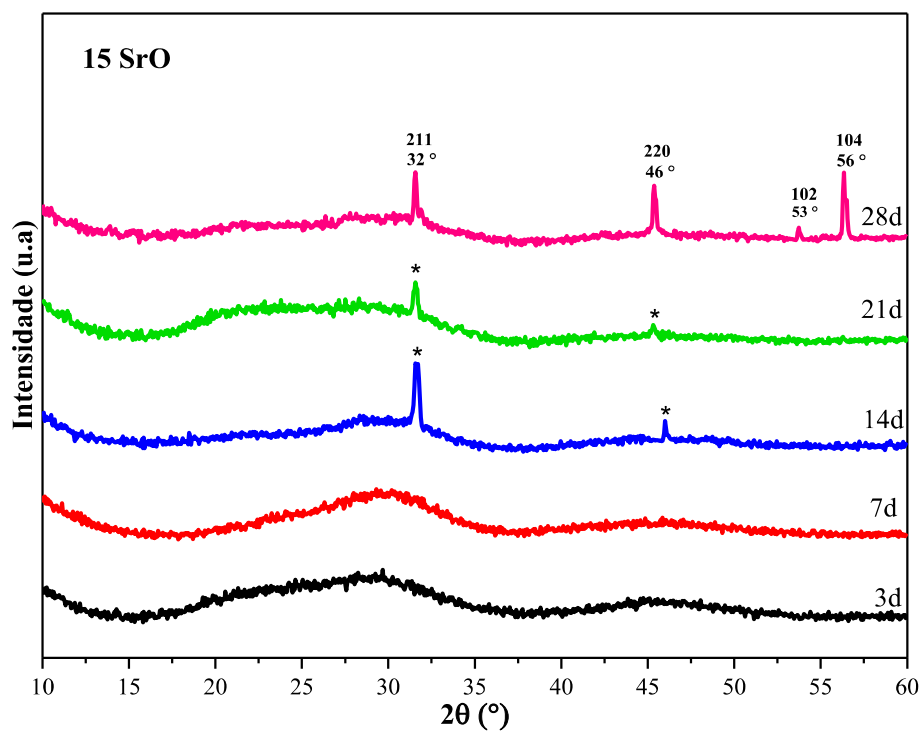


Figura 40- Difratomograma da amostra 15 SrO após diferentes tempos de imersão em SBF.

A figura 41 mostra os difratogramas para a amostra 20 SrO após diferentes tempos de imersão em SBF. Os picos são identificados no gráfico quanto a sua região angular e respectivos planos cristalográficos. Diferente dos demais espectros a amostra com 20 wt% de óxido de estrôncio apresentou um pico de cristalização diferente dos demais, esse pico na região de 27° 2θ é característico do hidróxido de estrôncio cristalino [133,139,140].

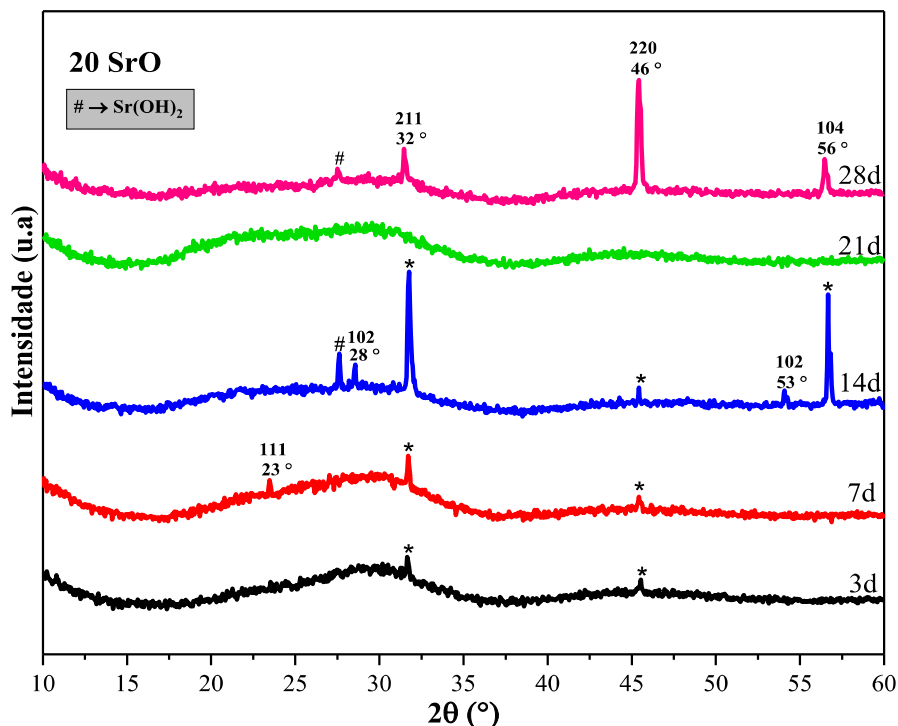


Figura 41- Difratograma para as amostras 20 SrO após diferentes tempos de imersão em SBF.

As camadas nucleadas nas amostras por algumas vezes podem ter se apresentado amorfas devido a um processo comum durante as trocas iônicas em SBF. As trocas acontecem numa dada velocidade, até que haja a formação de uma camada na superfície dos vidros, que normalmente é a HA, fosfato de cálcio cristalino ou em poucos casos fosfato de cálcio amorfo, após formada a camada, se a solução ainda tiver alta concentração de íons hidrônio (H_3O^+) e hidroxila (OH^-), reagirá novamente com esta camada e “roubará” alguns de seus íons, formando um material amorfo nesta camada formada, e esse processo pode se reverter e cristalizar novamente a camada, dependendo de fatores como pH, temperatura e concentração de íons aceptores [35,108,136].

Na figura 42 são mostrados os espectros de DRX, de todas as amostras, após 28 dias de imersão em SBF. Foi identificado o surgimento de picos em regiões que confirmam a formação de HA nas amostras após a imersão em SBF, sendo os ângulos identificados mais claramente

28, 32, 45 e 56° 2 θ aproximadamente, que são condizentes com os ângulos de picos de raios-x da HA [10,136].

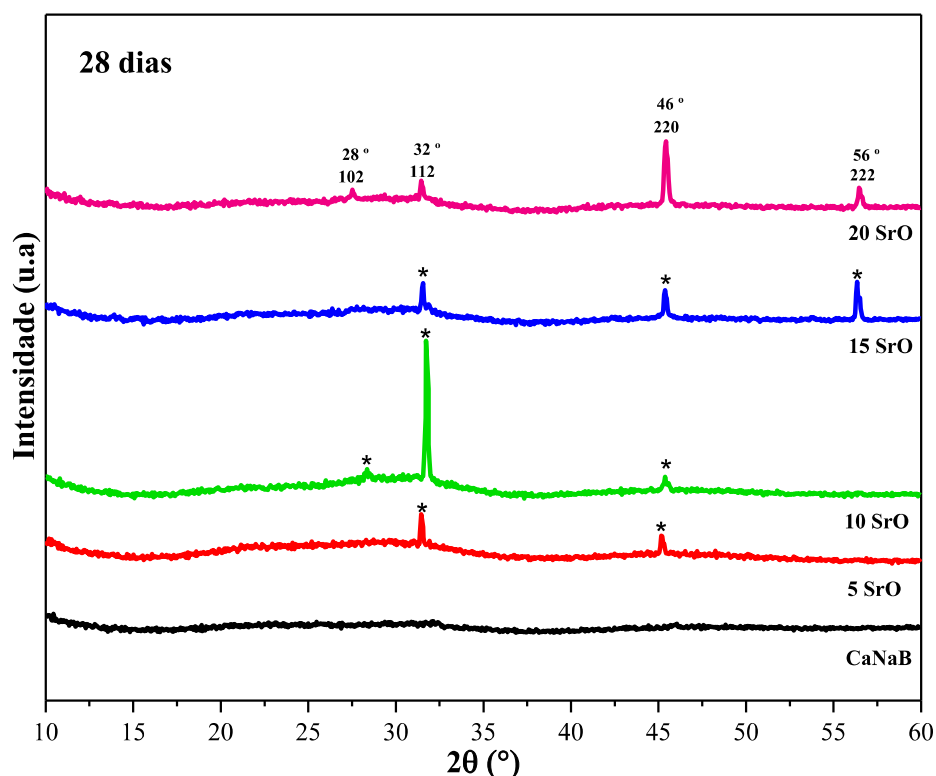


Figura 42-Difratograma das amostras CaNaB após 28 dias de imersão em SBF.

De modo geral, os difratogramas apresentaram grandes semelhanças entre si, no entanto a amostra CaNaB não apresentou picos em seu difratograma de 28 dias, ao contrário das demais amostras, indicando possivelmente menor reatividade *in vitro*, ou pode ser consequência das diversas reações em sua superfície (por ser menos estável) que pode criar camadas cristalinas mais rapidamente, e em consequência de sua rápida liberação de íons formar novas camadas amorfas sobrepondo as cristalinas [41,108].

5.2.5 Medidas de FTIR após 28 dias de Imersão em SBF

A figura 43 mostra os espectros FTIR para as amostras CaNaB após 28 dias de imersão em SBF. Podendo ser visíveis possíveis modificações estruturais após o contato com a solução de SBF. Assim, os espectros se mostraram mais estreitos em relação aos espectros das amostras antes da imersão, sendo indicativo de um aumento na organização estrutural (cristalização) após a imersão das amostras em SBF.

As bandas com centros nas regiões de 565 cm^{-1} , 710 cm^{-1} , 1041 cm^{-1} , 1351 cm^{-1} , 1410 cm^{-1} e 1647 cm^{-1} são identificadas na Tabela 5, bem como suas respectivas atribuições. O pico em 567 cm^{-1} é atribuído a ligação P-O-P do grupo fosfato tetraédrico (PO_4), que caracteriza a formação de uma fase de hidroxiapatita, ou fosfato de cálcio cristalino correspondente. O pico intenso centrado na região de 1041 cm^{-1} é admitido como o estiramento assimétrico da ligação P-O, sendo mais um indicativo da formação de hidroxiapatita [4,141,142]. Os modos vibracionais dos grupos fosfatos ν_4 , ν_3 e ν_1 são identificados respectivamente modos triplamente degenerados de dobramentos O-P-O em íons PO_4^{3-} , estiramento P-O dos grupos PO_4^{3-} , e não degenerado [142–144].

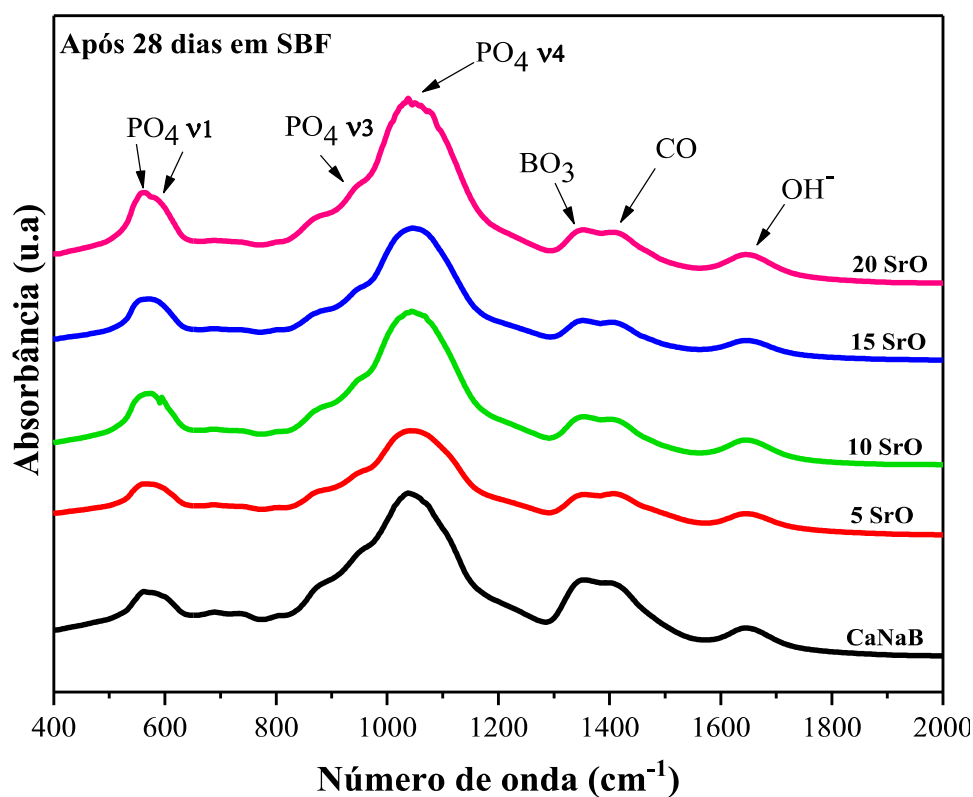


Figura 43-Espectros FTIR das amostras CaNaB após a imersão em SBF por um período de 28 dias.

Tabela 5 - Atribuições dos modos vibracionais no infravermelho para os grupos identificados.

Pico (cm^{-1})	Atribuição
1647	Vibração do grupo OH^- da água [70,125,144].
1410	Ressonância da ligação C-O [125,143,144].
1355	Estiramento B-O das unidades BO_4 em anéis pentaboratos [125,142,143].

1041	Estiramento assimétrico da ligação P-O do grupo fosfato [125,142].
710	Flexão das ligações nos grupos BO_3 [70,142,143].
565 e 602	Modo de flexão da ligação O-P-O [125,127].

Na figura 44 são mostrados os espectros FTIR para a amostra 10 SrO durante os intervalos de 3, 7, 14, 21 e 28 dias em SBF. Na figura é possível verificar as bandas identificadas na tabela 5, no entanto, bem mais aparentes que na figura 43, mostrando os estágios de mudanças sofridas pelas amostras durante os dias de contato com a solução, isso deixa evidente, assim como nos DRX, que em certos períodos as amostras apresentam características mais amorfas, ou mais cristalinas.

No inset é possível verificar as bandas em 565 cm^{-1} e 602 cm^{-1} que são características da hidroxiapatita, bem como o comportamento desta banda durante os diferentes tempos de imersão em SBF.

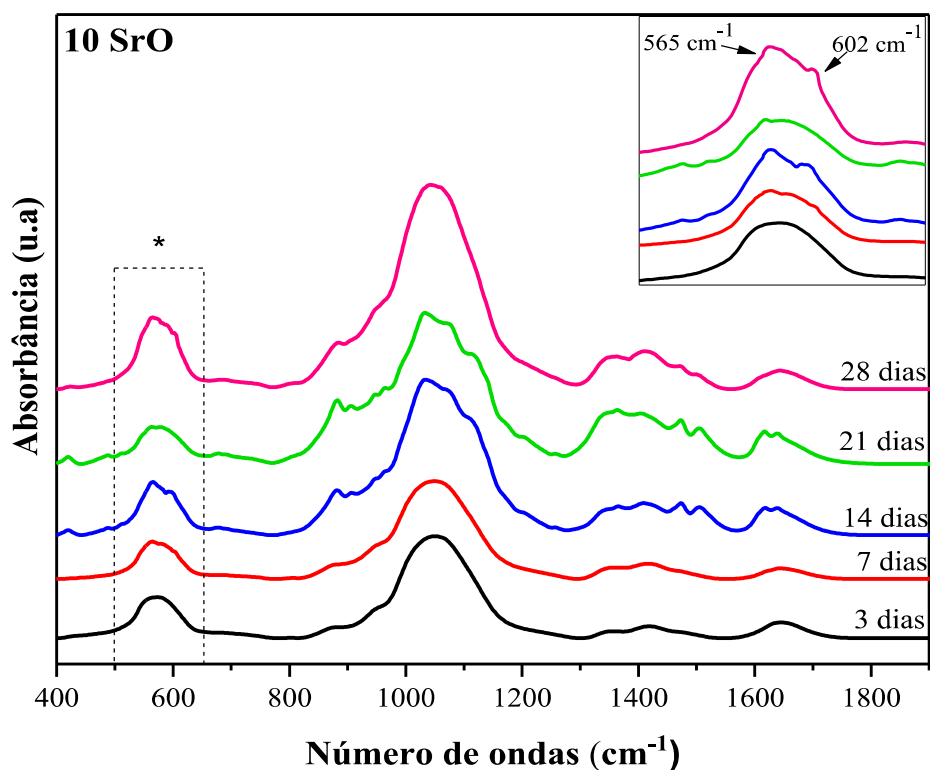


Figura 44- Espectros FTIR da amostra 10 SrO durante diferentes períodos de imersão em SBF (Inset: bandas em 565 cm^{-1} e 602 cm^{-1}).

O estreitamento das bandas de FTIR pode ser melhor observado na figura 45, na qual é feita uma comparação entre os espectros da amostra 20SrO antes e após os 28 dias de imersão em SBF. É possível observar mudanças significativas entre os dois espectros, mudanças abruptas nas áreas das bandas apresentadas e também na largura à meia altura (FWHM) calculada para a banda de maior intensidade (banda com centro próximo a 1042 cm^{-1}) nos dois espectros. O valor da FWHM calculado mostrou uma diminuição de aproximadamente 47% quando comparado ao valor apresentado à mesma banda antes da imersão em SBF, comprovando um estreitamento significativo da banda.

Nesse sentido, a área das bandas, que também foi calculada, apresentaram mudanças significativas, nas quais a banda centrada em 563 cm^{-1} , banda que é característica da formação de hidroxiapatita, teve um aumento na área de 547%, enquanto que a banda com centro próximo de 1042 cm^{-1} teve um aumento de sua área em 211%, devido ao seu aumento de intensidade provocado pelas vibrações dos grupos fosfatos da HA que vibram nessa região, e por último, a banda com centro em aproximadamente 1373 cm^{-1} tem uma diminuição de sua área em 43%, isso pode ser explicado por conta da alta solubilidade dos íons BO_3 , que vibram nesta região do infravermelho, ainda vale mencionar o surgimento de uma banda de menor intensidade na região de 1647 cm^{-1} que não é evidente no espectro anterior à imersão, sua aparição é relatada como as vibrações das ligações do grupo OH^- da água.

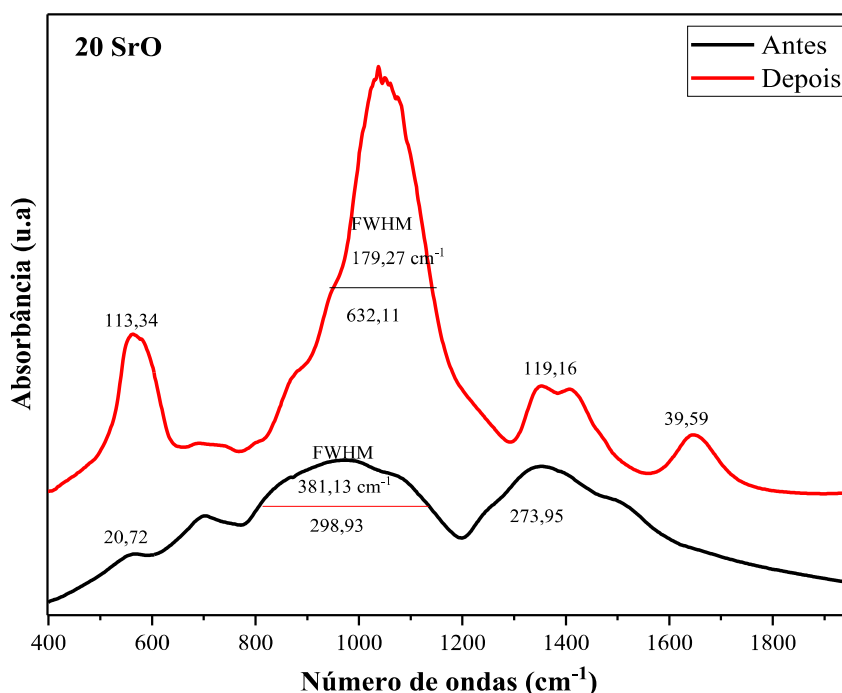


Figura 45-Espectros FTIR da amostra 20 SrO antes e depois de 28 dias de imersão em SBF, comparação entre a largura e área das bandas.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi investigada a influência do aumento na concentração de SrO (0, 5%, 10%, 15%, e 20% em peso), substituindo CaO e Na₂O em determinadas proporções, na bioatividade do sistema vítreo CaNaB. Os resultados de densidade, volume molar e fração N₄ mostraram um aumento nas estruturas BO₄ com o aumento da concentração de SrO no sistema vítreo, causando modificações significativas na estrutura da matriz e no comportamento de degradação dos vidros em solução.

A difratometria de raios-x mostrou que as amostras antes da imersão em SBF apresentaram um caráter puramente amorfo. Os difratogramas para as amostras CaNaB realizados por diferentes tempos (3, 7, 14, 21 e 28 dias) de imersão em SBF confirmou a formação de HA nos vidros estudados.

Os resultados de FTIR e DRX, após a imersão em SBF, confirmaram a bioatividade do sistema CaNaB em SBF. As medidas de FTIR mostraram a formação de dois picos característicos da hidroxiapatita. O aumento nos valores de pH com o passar do tempo de contato entre a solução de SBF e as amostras, indica a liberação de íons alcalinos em solução, íons que reagem para formar HA, menores valores de pH foram observados para as amostras com maior teor de SrO, e que corrobora com os dados obtidos de perda de peso, que indica que com o aumento de SrO diminui a taxa de degradação do material.

A substituição de CaO e NaO por SrO, demonstrou alta eficiência no controle da liberação de íons boratos, pois o Sr aumentou o número de unidades BO₄ (quimicamente mais estáveis) na rede vítrea e conseqüentemente a redução da liberação de íons em SBF. Isso pôde ser comprovado pelos valores de pH, nos quais as amostras com maior concentração de SrO possuíram menores valores de pH na solução de SBF, confirmando a menor taxa de liberação de íons, e também pelos cálculos da perda de peso, que demonstrou que a amostra sem estrôncio na composição possui maior perda de material durante a imersão em SBF.

De modo geral, as amostras CaNaB apresentaram boa bioatividade, sendo qualificadas como materiais promissores na aplicação como biomaterial. As amostras com estrôncio além de apresentar boa bioatividade, apresentaram menores taxas de liberação de íons, sendo assim materiais promissores na aplicação como biomaterial e com controle da liberação de íons boratos, e ainda, nenhuma das amostras produzidas apresentam citotoxicidade para as células osteoblásticas, em alguns casos apresentando até mesmo indução à proliferação celular dos osteoblastos, como indica os testes de viabilidade celular.

7 REFERÊNCIAS

- [1] S.M. Kurtz, J.N. Devine, PEEK biomaterials in trauma, orthopedic, and spinal implants, *Biomaterials*. 28 (2007) 4845–4869. doi:10.1016/j.biomaterials.2007.07.013.
- [2] J.K. Francis Suh, H.W.T. Matthew, Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: A review, *Biomaterials*. 21 (2000) 2589–2598. doi:10.1016/S0142-9612(00)00126-5.
- [3] C.E. Schmidt, J.M. Baier, Acellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering., *Biomaterials*. 21 (2000) 2215–31. doi:10.1016/S0142-9612(00)00148-4.
- [4] D.F. Williams, On the nature of biomaterials, *Biomaterials*. 30 (2009) 5897–5909. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.07.027.
- [5] M. Geetha, A.K. Singh, R. Asokamani, A.K. Gogia, Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - A review, *Prog. Mater. Sci.* 54 (2009) 397–425. doi:10.1016/j.pmatsci.2008.06.004.
- [6] L.L. Hench, The story of Bioglass®, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 17 (2006) 967–978. doi:10.1007/s10856-006-0432-z.
- [7] M.N. Rahaman, D.E. Day, B. Sonny Bal, Q. Fu, S.B. Jung, L.F. Bonewald, A.P. Tomsia, Bioactive glass in tissue engineering, *Acta Biomater.* (2011). doi:10.1016/j.actbio.2011.03.016.
- [8] S. Franz, S. Rammelt, D. Scharnweber, J.C. Simon, Immune responses to implants - A review of the implications for the design of immunomodulatory biomaterials, *Biomaterials*. 32 (2011) 6692–6709. doi:10.1016/j.biomaterials.2011.05.078.
- [9] M.P. Staiger, A.M. Pietak, J. Huadmai, G. Dias, Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review, *Biomaterials*. 27 (2006) 1728–1734. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.10.003.
- [10] A.M. Deliormanli, Size-dependent degradation and bioactivity of borate bioactive glass, *Ceram. Int.* 39 (2013) 8087–8095. doi:10.1016/j.ceramint.2013.03.081.
- [11] A.M. Abdelghany, M.A. Ouis, M.A. Azooz, H.A. Elbatal, G.T. El-Bassyouni, Role of SrO on the bioactivity behavior of some ternary borate glasses and their glass ceramic derivatives, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 152 (2016) 126–133. doi:10.1016/j.saa.2015.07.072.
- [12] D. Campoccia, L. Montanaro, C.R. Arciola, A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces, *Biomaterials*. 34 (2013) 8533–8554.

- doi:10.1016/j.biomaterials.2013.07.089.
- [13] L.L. Hench, Biomaterials: A forecast for the future, *Biomaterials*. 19 (1998) 1419–1423. doi:10.1016/S0142-9612(98)00133-1.
 - [14] A.L.R. Pires, A.C.K. Bierhalz, Â.M. Moraes, Biomaterials: Types, Applications, and Market, *Quim. Nova*. 38 (2015) 957–971. doi:10.5935/0100-4042.20150094.
 - [15] B.M. Bruna Felix, Biomateriais: Biomateriais na Medicina, (2011) 5. <http://biomatufrjmacae.blogspot.com/2011/11/biomateriais-na-medicina.html> (accessed September 13, 2018).
 - [16] I. Farooq, Z. Imran, U. Farooq, A. Leghari, H. Ali, Bioactive Glass: A Material for the Future, *World J. Dent.* (2012). doi:10.5005/jp-journals-10015-1156.
 - [17] K. Anselme, Osteoblast adhesion on biomaterials, *Biomaterials*. 21 (2000) 667–681. doi:10.1016/S0142-9612(99)00242-2.
 - [18] E. Neovius, T. Engstrand, Craniofacial reconstruction with bone and biomaterials: Review over the last 11 years, *J. Plast. Reconstr. Aesthetic Surg.* 63 (2010) 1615–1623. doi:10.1016/j.bjps.2009.06.003.
 - [19] Y. Wang, H.J. Kim, G. Vunjak-Novakovic, D.L. Kaplan, Stem cell-based tissue engineering with silk biomaterials, *Biomaterials*. 27 (2006) 6064–6082. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.07.008.
 - [20] James E. Shelby, INTRODUCTION TO GLASS SCIENCE AND TECHNOLOGY, second edi, New York, n.d.
 - [21] W.H. Zachariasen, The atomic arrangement in glass, *J. Am. Chem. Soc.* 54 (1932) 3841–3851. doi:10.1021/ja01349a006.
 - [22] Z.H. Jiang, Q.Y. Zhang, The structure of glass: A phase equilibrium diagram approach, *Prog. Mater. Sci.* (2014). doi:10.1016/j.pmatsci.2013.12.001.
 - [23] C. Brinker, G. Scherer, Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing, *Adv. Mater.* (1990). doi:10.1186/1471-2105-8-444.
 - [24] H. Schmidt, Chemistry of material preparation by the sol-gel process, *J. Non. Cryst. Solids*. 100 (1988) 51–64. doi:10.1016/0022-3093(88)90006-3.
 - [25] L.L. Sepulveda, P., Jones, J.R., Hench, In vitro dissolution of melt derived 45 S5 and sol-gel derived 58 S bioactive glasses., *Biomed. Mater. Res.* 61 (2002) 301–311. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jbm.10207>.
 - [26] I. Stadtwald, Inorganic-Organic Composites by Sol-Gel Techniques, 231 (1994) 217–231.

- [27] I.S. Gutzow, J.W.P. Schmelzer, *The Vitreous State*, 162 (2013). doi:10.1007/978-3-642-34633-0.
- [28] M.L. Huggins, K. uan???Ran Sun, A. Silverman, *THE VITREOUS STATE*, J. Am. Ceram. Soc. (1943). doi:10.1111/j.1151-2916.1943.tb15180.x.
- [29] M. Ediger, C.A. Angell, S.R. Nagel, *Supercooled Liquids and Glasses*, J. Phys. Chem. (1996). doi:10.1021/jp953538d.
- [30] K. Heide, G. Heide, *Vitreous state in nature-Origin and properties*, *Chemie Der Erde*. (2011). doi:10.1016/j.chemer.2011.10.001.
- [31] G. Aliprandi, *Glasses and the vitreous state*, *Mater. Chem. Phys.* (1992). doi:10.1016/0254-0584(92)90237-3.
- [32] A.C. Wright, *Borate structures: Crystalline and vitreous*, *Phys. Chem. Glas. Eur. J. Glas. Sci. Technol. Part B.* (2010).
- [33] B.N. Meera, J. Ramakrishna, *Raman spectral studies of borate glasses*, *J. Non. Cryst. Solids*. 159 (1993) 1–21. doi:10.1016/0022-3093(93)91277-A.
- [34] B. Karthikeyan, S. Mohan, *Structural, optical and glass transition studies on Nd³⁺-doped lead bismuth borate glasses*, *Phys. B Condens. Matter*. 334 (2003) 298–302. doi:10.1016/S0921-4526(03)00080-2.
- [35] M. Vallet-Regí, *Ceramics for medical applications*, *J. Chem. Soc. Dalt. Trans.* (2001) 97–108. doi:10.1039/b007852m.
- [36] D.S. Brauer, *Bioactive Glasses-Structure and Properties*, *Angew. Chemie Int. Ed.* (2015). doi:10.1002/anie.201405310.
- [37] F. Baino, G. Novajra, V. Miguez-Pacheco, A.R. Boccaccini, C. Vitale-Brovarone, *Bioactive glasses: Special applications outside the skeletal system*, *J. Non. Cryst. Solids*. (2016). doi:10.1016/j.jnoncrysol.2015.02.015.
- [38] D.S. Brauer, N. Karpukhina, M.D. O'Donnell, R. V. Law, R.G. Hill, *Fluoride-containing bioactive glasses: Effect of glass design and structure on degradation, pH and apatite formation in simulated body fluid*, *Acta Biomater*. 6 (2010) 3275–3282. doi:10.1016/j.actbio.2010.01.043.
- [39] Manupriya, K.S. Thind, G. Sharma, K. Singh, V. Rajendran, S. Aravindan, *Soluble borate glasses: In vitro analysis*, *J. Am. Ceram. Soc.* 90 (2007) 467–471. doi:10.1111/j.1551-2916.2006.01449.x.
- [40] O. Rodriguez, D.J. Curran, M. Papini, L.M. Placek, A.W. Wren, E.H. Schemitsch, P. Zalzal, M.R. Towler, *Characterization of silica-based and borate-based, titanium-*

- containing bioactive glasses for coating metallic implants, *J. Non. Cryst. Solids*. 433 (2016) 95–102. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2015.09.026.
- [41] J. Ning, A. Yao, D. Wang, W. Huang, H. Fu, X. Liu, X. Jiang, X. Zhang, Synthesis and in vitro bioactivity of a borate-based bioglass, *Mater. Lett.* 61 (2007) 5223–5226. doi:10.1016/j.matlet.2007.04.089.
- [42] K.L. Goetschius, M.A. Beuerlein, C.M. Bischoff, R.K. Brow, Dissolution behavior of ternary alkali-alkaline earth-borate glasses in water, *J. Non. Cryst. Solids*. 487 (2018) 12–18. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2018.02.011.
- [43] P.A. Bellon, Síntese do biovidro e sua caracterização., (2012) 59.
- [44] C.A. Houser, J.S. Herman, I.S.T. Tsong, W.B. White, W.A. Lanford, Sodium-hydrogen interdiffusion in sodium silicate glasses, *J. Non. Cryst. Solids*. 41 (1980) 89–98. doi:10.1016/0022-3093(80)90194-5.
- [45] A.M. Abdelghany, H. Kamal, Spectroscopic investigation of synergetic bioactivity behavior of some ternary borate glasses containing fluoride anions, *Ceram. Int.* 40 (2014) 8003–8011. doi:10.1016/j.ceramint.2013.12.151.
- [46] R. Rhoades, D. Bell, *Medical Physiology: Principles for Clinical Medicine*, 2009. doi:10.1002/1521-3773(20010316)40:6<9823::AID-ANIE9823>3.3.CO;2-C.
- [47] K. MacDonald, M.A. Hanson, D. Boyd, Modulation of strontium release from a tertiary borate glass through substitution of alkali for alkali earth oxide, *J. Non. Cryst. Solids*. 443 (2016) 184–191. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2016.04.024.
- [48] Y. Zhang, X. Cui, S. Zhao, H. Wang, M.N. Rahaman, Z. Liu, W. Huang, C. Zhang, Evaluation of injectable strontium-containing borate bioactive glass cement with enhanced osteogenic capacity in a critical-sized rabbit femoral condyle defect model, *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 7 (2015) 2393–2403. doi:10.1021/am507008z.
- [49] V. Achal, X. Pan, D. Zhang, Bioremediation of strontium (Sr) contaminated aquifer quartz sand based on carbonate precipitation induced by Sr resistant *Halomonas* sp., *Chemosphere*. (2012). doi:10.1016/j.chemosphere.2012.06.064.
- [50] F. Dabsie, G. Gregoire, M. Sixou, P. Sharrock, Does strontium play a role in the cariostatic activity of glass ionomer?. Strontium diffusion and antibacterial activity, *J. Dent.* (2009). doi:10.1016/j.jdent.2009.03.013.
- [51] P.J. Meunier, C. Roux, E. Seeman, S. Ortolani, J.E. Badurski, T.D. Spector, J. Cannata, A. Balogh, E.-M. Lemmel, S. Pors-Nielsen, R. Rizzoli, H.K. Genant, J.-Y. Reginster, The Effects of Strontium Ranelate on the Risk of Vertebral Fracture in Women with

- Postmenopausal Osteoporosis, *N. Engl. J. Med.* 350 (2004) 459–468.
doi:10.1056/NEJMoa022436.
- [52] S. Pors Nielsen, The biological role of strontium, *Bone*. 35 (2004) 583–588.
doi:10.1016/j.bone.2004.04.026.
- [53] P.C. Taylor, P.J. Bray, ELECTRON SPIN RESONANCE OF Mn^{2+} IN STRONTIUM COMPOUNDS AND GLASSES, *J. Phys. Chem. Solids*. 33 (1972) 43–58.
- [54] A. Nag, T.R.N. Kutty, Role of B_2O_3 on the phase stability and long phosphorescence of $SrAl_2O_4:Eu, Dy$, *J. Alloys Compd.* 354 (2003) 221–231. doi:10.1016/S0925-8388(03)00009-4.
- [55] A. Hoppe, B. Sarker, R. Detsch, N. Hild, D. Mohn, W.J. Stark, A.R. Boccaccini, In vitro reactivity of Sr-containing bioactive glass (type 1393) nanoparticles, *J. Non. Cryst. Solids*. 387 (2014) 41–46. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2013.12.010.
- [56] C.T. Wong, W.W. Lu, W.K. Chan, K.M.C. Cheung, K.D.K. Luk, D.S. Lu, A.B.M. Rabie, L.F. Deng, J.C.Y. Leong, In vivo cancellous bone remodeling on a strontium-containing hydroxyapatite (sr-HA) bioactive cement., *J. Biomed. Mater. Res. A*. 68 (2004) 513–21. doi:10.1002/jbm.a.20089.
- [57] M. Stefanic, M. Peroglio, A.-M. Stanciuc, G.C. Machado, I. Campbell, M.M. Kržmanc, M. Alini, X. Zhang, The influence of strontium release rate from bioactive phosphate glasses on osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells, *J. Eur. Ceram. Soc.* (2017). doi:10.1016/j.jeurceramsoc.2017.08.005.
- [58] J. Liu, S.C.F. Rawlinson, R.G. Hill, F. Fortune, Guest editorial Strontium-substituted bioactive glasses in vitro osteogenic and antibacterial effects, *Dent. Mater.* (2015) 1–11. doi:10.1016/j.dental.2015.12.013.
- [59] J. Isaac, J. Nohra, J. Lao, E. Jallot, J.M. Nedelec, A. Berdal, J.M. Sautier, Effects of strontium-doped bioactive glass on the differentiation of cultured osteogenic cells, *Eur. Cells Mater.* 21 (2011) 130–143. doi:10.22203/eCM.v021a11.
- [60] M. Sro, S.P.O. Caf, A. Goel, R. Raman, J.M.F. Ferreira, *Acta Biomaterialia* Influence of strontium on structure , sintering and biodegradation behaviour, 7 (2011) 4071–4080. doi:10.1016/j.actbio.2011.06.047.
- [61] A.M. Abdelghany, H.A. Elbatal, F.M. Ezzeldin, Bone bonding ability behavior of some ternary borate glasses by immersion in sodium phosphate solution, *Ceram. Int.* 38 (2012) 1105–1113. doi:10.1016/j.ceramint.2011.08.038.
- [62] S.M. Salman, S.N. Salama, H.A. Abo-Mosallam, The role of strontium and potassium

- on crystallization and bioactivity of Na₂O-CaO-P₂O₅-SiO₂ glasses, *Ceram. Int.* 38 (2012) 55–63. doi:10.1016/j.ceramint.2011.06.037.
- [63] K.S. Thind, K. Singh, V. Kumar, G. Sharma, D.P. Singh, D. Singh, *Journal of Physics and Chemistry of Solids* Compositional dependence of in-vitro bioactivity in sodium calcium borate glasses, *J. Phys. Chem. Solids.* 70 (2009) 1137–1141. doi:10.1016/j.jpcs.2009.05.025.
- [64] S. Kumar, H. Tripathi, S. Kumar, P. Pratim, R. Pyare, S.P. Singh, Enhanced bioactivity, biocompatibility and mechanical behavior of strontium substituted bioactive glasses, *Mater. Sci. Eng. C.* 69 (2016) 108–116. doi:10.1016/j.msec.2016.06.070.
- [65] A.M. Delormant, Size-dependent degradation and bioactivity of borate bioactive glass, (2013). doi:10.1016/j.ceramint.2013.03.081.
- [66] J. Massera, A. Mishra, S. Guastella, S. Ferraris, E. Verné, Surface functionalization of phosphate-based bioactive glasses with 3-aminopropyltriethoxysilane (APTS), *Biomed. Glas.* 2 (2016) 51–62. doi:10.1515/bglass-2016-0007.
- [67] S. Kargozar, F. Baino, S. Hamzehlou, R.G. Hill, M. Mozafari, Bioactive glasses entering the mainstream, *Drug Discov. Today.* 00 (2018). doi:10.1016/j.drudis.2018.05.027.
- [68] A.M. Abdelghany, Novel method for early investigation of bioactivity in different borate bio-glasses, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 100 (2013) 120–126. doi:10.1016/j.saa.2012.02.051.
- [69] L. Eindhoven, THE STRUCTURE OF BORATE GLASSES, 18 (1975) 307–331.
- [70] A. Saranti, I. Koutselas, M.A. Karakassides, Bioactive glasses in the system CaO – B₂O₃ – P₂O₅: Preparation, structural study and in vitro evaluation, 352 (2006) 390–398. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2006.01.042.
- [71] P. Balasubramanian, A. Gr, R. Detsch, L. Hupa, F. Tallia, A.K. Solanki, J.R. Jones, A.R. Boccaccini, Ion Release, Hydroxyapatite Conversion, and Cytotoxicity of Boron-Containing Bioactive Glass Scaffolds, 215 (2016) 206–215. doi:10.1111/ijag.12206.
- [72] H. Wang, S. Zhao, W. Xiao, J. Xue, Y. Shen, J. Zhou, W. Huang, M.N. Rahaman, C. Zhang, D. Wang, Influence of Cu doping in borosilicate bioactive glass and the properties of its derived scaffolds, *Mater. Sci. Eng. C.* 58 (2016) 194–203. doi:10.1016/j.msec.2015.08.027.
- [73] H. Doweidar, Y.B. Saddeek, FTIR and ultrasonic investigations on modified bismuth

- borate glasses, *J. Non. Cryst. Solids*. 355 (2009) 348–354.
doi:10.1016/j.jnoncrysol.2008.12.008.
- [74] A. Kaur, A. Khanna, C. Pesquera, F. González, V. Sathe, Preparation and characterization of lead and zinc tellurite glasses, *J. Non. Cryst. Solids*. 356 (2010) 864–872. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2010.01.005.
- [75] R.R. Reddy, Y. Nazeer Ahammed, P. Abdul Azeem, K. Rama Gopal, T.V.R. Rao, S. Buddhudu, N. Sooraj Hussain, Absorption and emission spectral studies of Sm^{3+} and Dy^{3+} doped alkali fluoroborate glasses, *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* 77 (2003) 149–163. doi:10.1016/S0022-4073(02)00084-5.
- [76] S. Inaba, S. Fujino, Empirical equation for calculating the density of oxide glasses, *J. Am. Ceram. Soc.* 93 (2010) 217–220. doi:10.1111/j.1551-2916.2009.03363.x.
- [77] V. Pecharsky, P. Zavalij, *Fundamentals of Powder Diffraction and Structural Characterization of Materials*, 2009. doi:10.1007/978-0-387-09579-0.
- [78] D.M. Moore, R.C. Reynolds, *X-Ray diffraction and the identification and analysis of clay minerals*, Oxford Univ. Press. Oxford, New York. (1997) 373.
- [79] C. Kittel, H.Y. Fan, Introduction to Solid State Physics, *Am. J. Phys.* 25 (1957) 330–330. doi:10.1119/1.1934457.
- [80] B.D.CULLITY-ElementsofX-RAYDIFFRACTION-SECONDEDITION.pdf, (n.d.).
- [81] A.N. Medina, A.M.F. Caldeira, A.C. Bento, M.L. Baesso, J. a. Sampaio, T. Catunda., Thermal relaxation method to determine the specific heat of optical glasses, *J. Non-Crystalline Solids*. 304 (2002) 299–305.
- [82] J. Lasjaunias, a Ravex, The density of low energy states in vitreous silica: Specific heat and thermal conductivity down to 25 mK, *Solid State Commun.* 17 (1975) 1045–1049. doi:10.1016/0038-1098(75)90251-3.
- [83] A. Steimacher, *Vidros, Desenvolvimento E Caracterização DE Cálcio, Aluminosilicato D E Com, Dopados*, (2008).
- [84] D.R.N. Brito, *Estudo das propriedades estruturais , térmicas , ópticas e espectroscópicas do vidro cálcio-boroaluminato dopado com Sm_2O_3* , (2016).
- [85] E.A. DiMarzio, F. Dowell, Theoretical prediction of the specific heat of polymer glasses, *J. Appl. Phys.* 50 (1979) 6061–6066. doi:10.1063/1.325794.
- [86] R.B. Stephens, G.S. Cieloszyk, G.L. Salinger, Thermal conductivity and specific heat of non-crystalline solids: Polystyrene and polymethyl methacrylate, *Phys. Lett. A*. 38 (1972) 215–217. doi:10.1016/0375-9601(72)90483-5.

- [87] N.O. Birge, S.R. Nagel, Specific-heat spectroscopy of the glass transition, *Phys. Rev. Lett.* 54 (1985) 2674–2677. doi:10.1103/PhysRevLett.54.2674.
- [88] S.M. Lima, W.F. Falco, E.S. Bannwart, L.H.C. Andrade, R.C. de Oliveira, J.C.S. Moraes, K. Yukimitu, E.B. Araújo, E.A. Falcão, A. Steimacher, N.G.C. Astrath, A.C. Bento, A.N. Medina, M.L. Baesso, Thermo-optical characterization of tellurite glasses by thermal lens, thermal relaxation calorimetry and interferometric methods, *J. Non. Cryst. Solids.* 352 (2006) 3603–3607. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2006.02.116.
- [89] A. Steimacher, A.N. Medina, A.C. Bento, J.H. Rohling, M.L. Baesso, V.C.S. Reynoso, S.M. Lima, M.N. Petrovich, D.W. Hewak, The temperature coefficient of the optical path length as a function of the temperature in different optical glasses, *J. Non. Cryst. Solids.* 348 (2004) 240–244. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2004.08.176.
- [90] X. Monnier, A. Saiter, E. Dargent, Physical aging in PLA through standard DSC and fast scanning calorimetry investigations, *Thermochim. Acta.* 648 (2017) 13–22. doi:10.1016/j.tca.2016.12.006.
- [91] V.S. Bilanych, V.B. Onyshchak, I.M. Rizak, K. Csach, K. Flachbart, V.M. Rizak, Investigation of thermal properties of the Ge-As-Se glasses by differential scanning calorimetry with heat flow harmonic modulation, *J. Non. Cryst. Solids.* 366 (2013) 48–53. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2012.11.045.
- [92] J.P. Souza, J.R. Martinelli, Evaluation of aluminosilicate glass sintering during differential scanning calorimetry, *Ceram. Int.* 41 (2015) 7296–7301. doi:10.1016/j.ceramint.2015.02.013.
- [93] T.K. Bechgaard, O. Gulbiten, J.C. Mauro, M.M. Smedskjaer, Parametric study of temperature-modulated differential scanning calorimetry for high-temperature oxide glasses with varying fragility, *J. Non. Cryst. Solids.* 484 (2018) 84–94. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2018.01.022.
- [94] J.J. Benvenuta-Tapia, E. Vivaldo-Lima, J.A. Tenorio-López, M. de los Ángeles Vargas-Hernández, H. Vázquez-Torres, Kinetic analysis of the RAFT copolymerization of styrene and maleic anhydride by differential scanning calorimetry, *Thermochim. Acta.* 667 (2018) 93–101. doi:10.1016/j.tca.2018.07.013.
- [95] M.V. Kök, M.A. Varfolomeev, D.K. Nurgaliev, Wax appearance temperature (WAT) determinations of different origin crude oils by differential scanning calorimetry, *J. Pet. Sci. Eng.* 168 (2018) 542–545. doi:10.1016/j.petrol.2018.05.045.
- [96] A. Hrubý, Evaluation of glass-forming tendency by means of DTA, *Czechoslov. J.*

- Phys. 22 (1972) 1187–1193. doi:10.1007/BF01690134.
- [97] G.C. Bazzo, M. Antonio, S. Silva, Estudo termoanalítico de comprimidos revestidos contendo captopril através de termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), Brazilian J. Pharm. Sci. 41 (2005) 315–322. doi:10.1590/S1516-93322005000300004.
- [98] T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro, Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W3, J. Biomed. Mater. Res. 24 (1990) 721–734. doi:10.1002/jbm.820240607.
- [99] T. Kokubo, Bioactive glass ceramics: properties and applications, Biomaterials. 12 (1991) 155–163. doi:10.1016/0142-9612(91)90194-F.
- [100] T. Kokubo, H. Takadama, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, Biomaterials. 27 (2006) 2907–2915. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.01.017.
- [101] M.H. Zimmermann, Methods in Lignin Chemistry, 1992.
- [102] G.E.A. Swann, S. V. Patwardhan, Application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) for assessing biogenic silica sample purity in geochemical analyses and palaeoenvironmental research, Clim. Past. 7 (2011) 65–74. doi:10.5194/cp-7-65-2011.
- [103] HERSCHELL, Spectroscopic Infrared in glass system, Herschel Discov. Infrared Light. 37 (2012) 7.
- [104] Y. Liu, H.-J. Kim, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) and Simple Algorithm Analysis for Rapid and Non-Destructive Assessment of Developmental Cotton Fibers, Sensors. 17 (2017) 1469. doi:10.3390/s17071469.
- [105] M. Naseska, Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Univ. Ljubljana. (2016) 1–12. doi:10.1016/B978-0-323-46140-5.00004-2.
- [106] P. Pascuta, A.R. Lungu, A.I. Ardelean, FTIR and Raman spectroscopic investigation of some strontium – borate glasses doped with iron ions, (2010) 548–553. doi:10.1007/s10854-009-9955-7.
- [107] A. Para Contato, J. Carlos De Andrade, Química Analítica Básica: Os conceitos ácido-base e a escala de pH, Chemkeys. (2010) 6.
- [108] A. Yao, D. Wang, W. Huang, Q. Fu, M.N. Rahaman, D.E. Day, In vitro bioactive characteristics of borate-based glasses with controllable degradation behavior, J. Am. Ceram. Soc. 90 (2007) 303–306. doi:10.1111/j.1551-2916.2006.01358.x.
- [109] J.L. George, R.K. Brow, In-situ characterization of borate glass dissolution kinetics by

- μ -Raman spectroscopy, *J. Non. Cryst. Solids*. 426 (2015) 116–124.
doi:10.1016/j.jnoncrysol.2015.07.003.
- [110] G. Lusvardi, G. Malavasi, L. Menabue, V. Aina, C. Morterra, Fluoride-containing bioactive glasses: Surface reactivity in simulated body fluids solutions, *Acta Biomater.* 5 (2009) 3548–3562. doi:10.1016/j.actbio.2009.06.009.
- [111] E.M. Khalil, Y.M. Hamdy, FTIR Spectral Analysis of Corrosion Mechanisms in Soda Lime Silica Glasses Doped with Transition Metal Oxides, *Orig. Pap.* (2010) 41–47. doi:10.1007/s12633-010-9037-8.
- [112] N.W. Marion, W. Liang, W. Liang, G.C. Reilly, E. Delbert, M.N. Rahaman, J.J. Mao, N.W. Marion, W. Liang, W. Liang, G.C. Reilly, E. Day, M.N. Rahaman, J.J. Mao, B. Glass, I. Vitro, N.W. Marion, G.C. Reilly, D.E. Day, J.J. Mao, Borate Glass Supports the In Vitro Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells Borate Glass Supports the In Vitro Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells, 6494 (2007). doi:10.1080/15376490590928615.
- [113] D. Zhao, W. Huang, M.N. Rahaman, D.E. Day, D. Wang, Mechanism for converting Al₂O₃-containing borate glass to hydroxyapatite in aqueous phosphate solution, *Acta Biomater.* 5 (2009) 1265–1273. doi:10.1016/j.actbio.2008.11.021.
- [114] Q. Fu, M.N. Rahaman, H. Fu, X. Liu, Silicate, borosilicate, and borate bioactive glass scaffolds with controllable degradation rate for bone tissue engineering applications. I. Preparation and in vitro degradation, (2010) 164–171. doi:10.1002/jbm.a.32824.
- [115] W. Huang, D.E. Day, K. Kittiratanapiboon, M.N. Rahaman, Kinetics and mechanisms of the conversion of silicate (45S5), borate, and borosilicate glasses to hydroxyapatite in dilute phosphate solutions, (2006) 583–596. doi:10.1007/s10856-006-9220-z.
- [116] A. Cambiaghi, E. Medical, D. Testing, Biological Evaluation of Medical Devices as an Essential Part of the Risk Management Process : Updates and Challenges of ISO 10993-1 : 2018, (2018).
- [117] N.P. Lower, J.L. McRae, H.A. Feller, A.R. Betzen, S. Kapoor, M. Affatigato, S.A. Feller, Physical properties of alkaline-earth and alkali borate glasses prepared over an extended range of compositions, *J. Non. Cryst. Solids*. 293–295 (2001) 669–675. doi:10.1016/S0022-3093(01)00768-2.
- [118] A.R. Boccaccini, Q. Chen, L. Lefebvre, L. Gremillard, J. Chevalier, Sintering, crystallisation and biodegradation behaviour of Bioglass®-derived glass-ceramics, *Faraday Discuss.* 136 (2007) 27–44. doi:10.1039/b616539g.

- [119] K.O. Connell, M. Hanson, H.O. Shea, D. Boyd, Linear release of strontium ions from high borate glasses via lanthanide / alkali substitutions, *J. Non. Cryst. Solids.* 430 (2015) 1–8. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2015.09.017.
- [120] D. Sriranganathan, N. Kanwal, K.A. Hing, R.G. Hill, Strontium substituted bioactive glasses for tissue engineered scaffolds : the importance of octacalcium phosphate, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 27 (2016) 1–10. doi:10.1007/s10856-015-5653-6.
- [121] R.I. Fertout, Effect of Strontium on Structure and Superficial, 2012 (2012) 31–36.
- [122] M.D.O. Donnell, P.L. Candarlioglu, C.A. Miller, E. Gentleman, M.M. Stevens, Materials characterisation and cytotoxic assessment of strontium-substituted bioactive glasses for bone regeneration †, (2010) 8934–8941. doi:10.1039/c0jm01139h.
- [123] L. Bi, M.N. Rahaman, D.E. Day, Z. Brown, C. Samujh, X. Liu, A. Mohammadkhah, V. Dusevich, J.D. Eick, L.F. Bonewald, Effect of bioactive borate glass microstructure on bone regeneration, angiogenesis, and hydroxyapatite conversion in a rat calvarial defect model, *Acta Biomater.* 9 (2013) 8015–8026. doi:10.1016/j.actbio.2013.04.043.
- [124] D.C. Clupper, J.J. Mecholsky, G.P. LaTorre, D.C. Greenspan, Bioactivity of tape cast and sintered bioactive glass-ceramic in simulated body fluid, *Biomaterials.* 23 (2002) 2599–2606. doi:10.1016/S0142-9612(01)00398-2.
- [125] Y. Moustafa, H. Doweidar, Utilisation of Infrared Spectroscopy to Determine the Fraction of the Four Coordinated Borons in Borate Glasses., *Phys. Chem. Glas. Eur. J. Glas. Sci. Technol. Part B.* 2 (1994) 104–106.
- [126] J.D. Lee, *quimica_inorganica_jd_lee.pdf*, 5 Ed, pp. 24, 217, 360-370, 1999.
- [127] H. Doweidar, Y.B. Saddeek, Effect of La_2O_3 on the structure of lead borate glasses, *J. Non. Cryst. Solids.* 356 (2010) 1452–1457. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2010.04.036.
- [128] H. Doweidar, G. El-Damrawi, M. Al-Zaibani, Distribution of species in Na_2O - CaO - B_2O_3 glasses as probed by FTIR, *Vib. Spectrosc.* 68 (2013) 91–95. doi:10.1016/j.vibspec.2013.05.015.
- [129] T. Yano, N. Kunimine, S. Shibata, M. Yamane, Structural investigation of sodium borate glasses and melts by Raman spectroscopy. II. Conversion between BO_4 and BO_2O -units at high temperature, *J. Non. Cryst. Solids.* 321 (2003) 147–156. doi:10.1016/S0022-3093(03)00159-5.
- [130] M.T. Souza, M.C. Crovace, C. Schröder, H. Eckert, O. Peitl, E.D. Zanotto, Effect of magnesium ion incorporation on the thermal stability, dissolution behavior and bioactivity in Bioglass-derived glasses, *J. Non. Cryst. Solids.* 382 (2013) 57–65.

doi:10.1016/j.jnoncrysol.2013.10.001.

- [131] D. Zhang, O. Leppäranta, E. Munukka, H. Ylänen, M.K. Viljanen, E. Eerola, M. Hupa, L. Hupa, Antibacterial effects and dissolution behavior of six bioactive glasses, J. Biomed. Mater. Res. - Part A. 93 (2010) 475–483. doi:10.1002/jbm.a.32564.
- [132] M.D. O'Donnell, R.G. Hill, Influence of strontium and the importance of glass chemistry and structure when designing bioactive glasses for bone regeneration, Acta Biomater. 6 (2010) 2382–2385. doi:10.1016/j.actbio.2010.01.006.
- [133] M.D. O'Donnell, Y. Fredholm, A. de Rouffignac, R.G. Hill, Structural analysis of a series of strontium-substituted apatites, Acta Biomater. 4 (2008) 1455–1464. doi:10.1016/j.actbio.2008.04.018.
- [134] G. Kaur, G. Pickrell, G. Kimsawatde, D. Homa, H.A. Allbee, N. Sriranganathan, for sol-gel based, (2014) 1–14. doi:10.1038/srep04392.
- [135] N. Pothayee, R.D.T. Jr, B. Brenseke, N. Sriranganathan, Antibacterial efficacy of core-shell nanostructures encapsulating gentamicin against an in vivo intracellular Salmonella model, (2009) 289–297.
- [136] M. Vallet-Regí, A.M. Romero, C. V. Ragel, R.Z. LeGeros, XRD, SEM-EDS, and FTIR studies of in vitro growth of an apatite-like layer on sol-gel glasses, J. Biomed. Mater. Res. 44 (1999) 416–421. doi:10.1002/(SICI)1097-4636(19990315)44:4<416::AID-JBM7>3.0.CO;2-S.
- [137] N. Winograd, X-Ray Photoelectron Spectroscopic Studies of Cadmium- and Silicon Oxygen Surfaces, 47 (1975).
- [138] R.O. Hussein, X. Nie, D.O. Northwood, Surface & Coatings Technology Influence of process parameters on electrolytic plasma discharging behaviour and aluminum oxide coating microstructure, Surf. Coat. Technol. 205 (2010) 1659–1667. doi:10.1016/j.surfcoat.2010.08.059.
- [139] C.T. Wong, W.W. Lu, W.K. Chan, K.M.C. Cheung, K.D.K. Luk, D.S. Lu, A.B.M. Rabie, L.F. Deng, J.C.Y. Leong, In vivo cancellous bone remodeling on a Strontium-containing hydroxyapatite (Sr-HA) bioactive cement, 10 (2003).
- [140] I. Nez, Combustion synthesis process for the rapid preparation of high-purity SrO powders, 32 (2014) 682–687. doi:10.2478/s13536-014-0250-9.
- [141] S. Ecole, N. Supe, Infrared and Raman microspectrometry study of fluor-fluor-hydroxy and hydroxy-apatite powders, 8 (n.d.) 271–276.
- [142] S. Koutsopoulos, Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals : A review

- study on the analytical methods, (2002) 31–34.
- [143] X. Han, A.D.E. Day, Reaction of sodium calcium borate glasses to form hydroxyapatite, (2007) 1837–1847. doi:10.1007/s10856-007-3053-2.
- [144] R. Samudrala, A.A. P, V. Penugurti, B. Manavathi, Cytocompatibility studies of titania-doped calcium borosilicate bioactive glasses in-vitro, Mater. Sci. Eng. C. 77 (2017) 772–779. doi:10.1016/j.msec.2017.03.245.