



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, SAÚDE E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

**ANDREA FERRAZ SILVA**

**ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO ÓXIDO DE MAGNÉSIO NA BIOATIVIDADE DE  
VIDROS BOROFOSFATOS**

**Orientador:** Prof. Dr. Marcio José Barboza

**Imperatriz – MA  
2022**

ANDREA FERRAZ SILVA

**ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO ÓXIDO DE MAGNÉSIO NA BIOATIVIDADE DE  
VIDROS BORO-FOSFATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Ciência dos Materiais.

**Área de Concentração:** Materiais

**Orientador:** Prof. Dr. Marcio José Barboza

**Imperatriz – MA  
2022**

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

SILVA, Andrea Ferraz.

Estudo da influência do óxido de magnésio na bioatividade de vidros borofosfatos / Andrea Ferraz Silva.

Imperatriz - 2022.

111 p.

Orientador: Marcio José Barboza.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais/CCSST, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2022.

1. Apatitas. 2. Bioatividade. 3. Fosfatos de cálcio.  
4. Óxido de magnésio. 5. Vidros borofosfatos bioativos  
I. Barboza, Marcio José. II. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
Fundação Instituída nos termos da lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís – MA  
Centro de Ciências Sociais, da Saúde e Tecnologia – CCSST  
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais – PPGCM



Membros da comissão julgadora da defesa de dissertação de mestrado da aluna **Andrea Ferraz Silva**, apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM).

Imperatriz, 28 de fevereiro de 2022.

COMISSÃO JULGADORA:

---

Prof. Dr. Marcio José Barboza (Orientador da Candidata)  
PPGCM/UFMA

---

Profa. Dra. Franciana Pedrochi  
PPGCM/UFMA

---

Prof. Dr. Gutierrez Rodrigues de Morais  
CCANL/UEMASUL

*Dedico esse trabalho ao meu esposo, Rodrigo.  
Meu maior incentivador na caminhada da pós-graduação.  
Obrigada por tudo! Sem você, a realização desse sonho não seria possível.*

*“Tirar o primeiro lugar não tem importância quando você é impedido de aprender. Quando alguém lhe tira as canetas, você se dá conta de como a educação é importante.”*

***Malala Yousafzai***

## AGRADECIMENTOS

Ao meu esposo, Rodrigo, pelo amor, zelo, companheirismo, carinho, apoio, incentivo e acompanhamento. Você participou desse trabalho quando tudo ainda era apenas uma possibilidade.

Ao meu professor e orientador, Prof. Dr. Marcio José Barboza pela oportunidade da sua orientação, pela receptividade, pelos ensinamentos, direcionamentos e correções. Sou grata pela sua compreensão e humanidade durante o período – bem difícil, diga-se de passagem – em que realizamos esse trabalho.

Ao Prof. Dr. Alysson Steimacher, pelas contribuições, direcionamentos e pela coorientação.

À Profa. Dra. Franciana Pedrochi, por quem tenho grande admiração e gratidão pelas contribuições feitas nesse trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM) pelos incansáveis esforços em defesa da ciência, do ensino público, da democracia e pelo compromisso com o programa, principalmente em tempos de pandemia e distanciamento social.

Ao Laboratório de Espectroscopia, Óptica e Fototérmica (LEOF), pela estrutura que possibilitou: síntese e preparo das amostras para caracterizações, medidas de densidade e realização das caracterizações vibracionais das amostras por espectroscopia FTIR.

À Central Analítica, pela estrutura que possibilitou a realização dos testes de bioatividade, medidas de pH e perda de massa das amostras.

Ao Laboratório de Difração de Raios-X (LDRX), pela estrutura que possibilitou a realização das caracterizações estruturais das amostras por difratometria de raios-X (DRX).

Ao Laboratório de Análises Térmicas (LAT), pela estrutura que possibilitou a realização das caracterizações térmicas das amostras por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

Aos meus colegas de laboratório (LEOF) que, mesmo durante a pandemia, estiveram dispostos a contribuir e ajudar diretamente nas demandas da pesquisa.

À Universidade Federal do Maranhão (UFMA), pela democratização e gratuidade do ensino.

À CAPES, pelo auxílio financeiro durante a elaboração desta pesquisa.

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo investigar o efeito da adição do óxido de magnésio em vidros borofosfatos do sistema  $40\text{B}_2\text{O}_3-25\text{P}_2\text{O}_5-(20-x)\text{Na}_2\text{O}-15\text{CaF}_2-x\text{MgO}$  ( $x = 0, 2,5, 5, 7,5$  e 10% em mol), analisando a influência da adição de MgO, em substituição parcial de  $\text{Na}_2\text{O}$ , nas propriedades físicas e bioativas desses vidros. As amostras foram sintetizadas pelo método de fusão/resfriamento, submetidas a teste de bioatividade em SBF por 28 dias e caracterizadas por difratometria de raios-X (DRX), densidade e volume molar, análise DSC e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Durante a imersão, medidas diárias de pH foram realizadas e a perda de massa das amostras até 28 dias em SBF foi verificada. A substituição de  $\text{Na}_2\text{O}$  por MgO ocasionou aumento dos valores obtidos para a densidade, redução do volume molar e aumento da temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) à medida que houve o aumento do teor de MgO nos vidros. As medidas de pH realizadas até 28 dias de imersão demonstraram o decréscimo do pH das soluções SBF para todas as amostras imersas. Os dados de perda de massa mostraram maior perda percentual para a amostra que não continha adição de MgO e uma menor perda de massa à medida que o MgO foi incorporado aos sistemas vítreos. Os difratogramas de DRX antes da imersão confirmaram a natureza amorfa das amostras e após imersão exibiram picos de fosfatos de cálcio cristalino e apatitas precipitadas nos vidros. Os espectros FTIR antes da imersão indicaram alterações estruturais nos vidros com o acréscimo de MgO e após imersão em SBF exibiram bandas de absorção nas regiões características dos fosfatos de cálcio. Os resultados obtidos mostraram que o aumento da concentração de MgO tornou os vidros mais quimicamente estáveis aos processos de dissolução da rede vítrea, com atenção para as amostras Mg\_0, Mg\_2,5 e Mg\_5 que exibiram os melhores resultados para bioatividade até os 28 dias. Por fim, as amostras analisadas contendo adição de até 5% mol de MgO exibiram resultados promissores para aplicação como biomateriais.

**Palavras-Chave:** Bioatividade. Vidros borofosfatos bioativos. Fosfatos de cálcio. Apatitas. Óxido de magnésio.

## ABSTRACT

The present study aimed to investigate the effect of adding magnesium oxide to borophosphate glasses of the  $40\text{B}_2\text{O}_3-25\text{P}_2\text{O}_5-(20-x)\text{Na}_2\text{O}-15\text{CaF}_2-x\text{MgO}$  system (with  $x = 0, 2, 5, 7.5$  and  $10\%$  in mol), analyzing the influence of the addition of MgO, in partial substitution of  $\text{Na}_2\text{O}$ , on the physical and bioactive properties of these glasses. The samples were synthesized by melt-quenching method, submitted to bioactivity test in SBF solution for 28 days and characterized by X-ray diffraction (DRX), density and molar volume, DSC analysis and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). During the immersion, daily measurements of pH were carried out and the mass loss of samples up to 28 days in SBF was checked. The replacement of  $\text{Na}_2\text{O}$  by MgO caused an increase in the values obtained for density, a reduction in molar volume and an increase in the glass transition ( $T_g$ ) as the MgO content in the glasses increased. The pH measurements performed up to 28 days of immersion showed a decrease in the pH values of the SBF solutions for all immersed samples, suggesting that a higher concentration of addition had made the surface of the samples less reactive. The mass loss data showed higher percentage of loss for the sample that does not contain MgO and smaller mass loss as the MgO was incorporated into the vitreous systems. XRD diffractograms before immersion confirmed the amorphous nature of the samples and after immersion peaks of crystalline calcium phosphates and apatites in the glasses was detected. The FTIR spectra before immersion indicated structural changes in the glasses with the addition of MgO and after immersion the new FTIR analysis exhibited absorption bands in the characteristic regions of calcium phosphates. The obtained results showed that the increase in the concentration of MgO made the glasses more chemically stable to the processes of dissolution of the vitreous network, with attention to the samples Mg\_0, Mg\_2,5 and Mg\_5 that exhibited the best results for bioactivity up to 28 days. Finally, the analyzed samples containing up to 5% mol of MgO showed promising results for application as biomaterials.

**Keywords:** Bioactivity. Bioactive borophosphate glasses. Calcium phosphates. Apatites. Magnesium oxide.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação bidimensional de estruturas formadas pelo composto  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . (a) Estrutura formada exibindo arranjo cristalino (cristal). (b) Estrutura amorfa formada, sem simetria e sem periodicidade em longo alcance (vidro). **Fonte:** Adaptado de Alves (2001) [48].  
..... 7
- Figura 2.** Gráfico de formação dos vidros (Entalpia vs. Temperatura). **Fonte:** Adaptado de Zanotto e Mauro (2017) [49]. ..... 8
- Figura 3.** Representação esquemática de uma rede bidimensional aleatória de vidro borato constituída por boro e oxigênio. **Fonte:** Adaptado de Aranha [53]. ..... 10
- Figura 4.** Representação das estruturas de vidros boratos. **Fonte:** Adaptado de Stanić [54]. 11
- Figura 5.** Representação das unidades tetraédricas (de terminologia  $Q^n$ ) dos fosfatos. **Fonte:** Adaptado de Stanić [54]. ..... 12
- Figura 6.** Dedo protético descoberto no Egito ainda preso à múmia. **Fonte:** Adaptado de Brier *et al.* (2015) [59]. ..... 13
- Figura 7.** Medidas de pH das soluções SBF em função do tempo de imersão. **Fonte:** Adaptado de Massera (2012) [104]. ..... 24
- Figura 8.** Valores de pH das soluções de SBF contendo amostras do sistema  $45\text{P}_2\text{O}_5-30\text{CaO}-(25-x)\text{Na}_2\text{O}-x\text{MgO}$  ( $x = 0, 1, 2, 5, 5$  e  $10$  %mol) para 21 dias de imersão. **Fonte:** Adaptado de Rajkumar (2012) [105]. ..... 24
- Figura 9.** Medidas de pH para o sistema vítreo  $45\text{P}_2\text{O}_5-24\text{MgO}-16\text{CaO}-(15-x)\text{Na}_2\text{O}-x\text{ZnO}$  ( $x = 0, 5, 10$  e  $15$  % mol) em solução PBS a  $37^\circ\text{C}$  durante 31 dias. **Fonte:** Adaptado de Wang (2019) [108]. ..... 25
- Figura 10.** Medidas de pH das amostras durante 28 dias em solução PBS. **Fonte:** Islam *et al.* (2017) [109]. ..... 26
- Figura 11.** Perda de massa (%) para as amostras após 28 dias de imersão em solução PBS a  $37^\circ\text{C}$ . **Fonte:** Adaptado de Islam *et al.* (2017) [109]. ..... 26
- Figura 12.** Percentual de perda de peso dos vidros do sistema  $\text{CaF}_2-\text{CaO}-\text{B}_2\text{O}_3-\text{P}_2\text{O}_5-\text{V}_2\text{O}_5$ :  $\text{BaO}/\text{MgO}/\text{SrO}/\text{ZnO}$  imersos em SBF em função do tempo de imersão. **Fonte:** Adaptado de Kumari *et al.* (2018) [110]. ..... 27
- Figura 13.** Perda de peso (%) em função da concentração atômica (at%) de Mg nos vidros para 8 e 15 dias de imersão em solução PBS. **Fonte:** Adaptado de Wójcik *et al.* (2021) [107]. .... 28

<b>Figura 14.</b> Espectro DRX das fibras de vidro antes e após imersão em SBF para diferentes períodos de tempo. <b>Fonte:</b> Adaptado de Zheng <i>et al.</i> (2012) [111].	29
<b>Figura 15.</b> Padrões DRX dos vidros do sistema $15\text{CaF}_2-10\text{CaO}-5\text{B}_2\text{O}_3-64,5\text{P}_2\text{O}_5-0,5\text{Fe}_2\text{O}_3-5\text{MO}$ (MO = BaO/SrO/ZnO/MgO) após imersão em solução SBF por 30 dias. <b>Fonte:</b> Adaptado de Sobhanachalam <i>et al.</i> (2017) [112].	30
<b>Figura 16.</b> Difratoogramas de DRX das partículas de vidro grossas após imersão em solução tampão Tris por 3 dias. <b>Fonte:</b> Adaptado de Wetzel (2020) [113].	31
<b>Figura 17.</b> Difratoogramas de DRX das amostras contendo diferentes concentrações de MgO após imersão em SBF por 14 dias. <b>Fonte:</b> Adaptado de Sharifianjazi <i>et al.</i> (2020) [114].	31
<b>Figura 18.</b> Espectros FTIR característicos ( $400-1500\text{cm}^{-1}$ ) para monetita (DCPA), brushita (DCPD), octafosfato de cálcio (OCP), apatita nanocristalina, HAp estequiométrica e fosfato de cálcio amorfo (ACP). <b>Fonte:</b> Adaptado de Drouet (2013) [62].	32
<b>Figura 19.</b> Espectro FTIR característico ( $400-1500\text{cm}^{-1}$ ) da FAp nanométrica. <b>Fonte:</b> Adaptado de Karimi <i>et al.</i> (2017) [115].	33
<b>Figura 20.</b> Espectros FTIR das partículas de vidro grossas após imersão em solução tampão Tris por 3 dias. <b>Fonte:</b> Adaptado de Wetzel (2020) [113].	33
<b>Figura 21.</b> Espectros FTIR das amostras 5Mg-BG, 8Mg-BG e 10Mg-BG após 14 dias de imersão em SBF. <b>Fonte:</b> Adaptado de Sharifianjazi <i>et al.</i> (2020) [114].	34
<b>Figura 22.</b> Difratorômetro (Modelo <i>Empyrean</i> , da marca <i>PANalytical</i> ) utilizado na obtenção dos difratogramas DRX das amostras sintetizadas. <b>Fonte:</b> Acervo próprio.	37
<b>Figura 23.</b> Espectrômetro FTIR (Modelo <i>Vertex 70V</i> , da marca <i>BRUKER</i> ) utilizado na análise vibracional das amostras sintetizadas. <b>Fonte:</b> Acervo próprio.	39
<b>Figura 24.</b> Analisador térmico com detecção por fluxo de calor (Modelo <i>DSC-60</i> , da marca <i>SHIMADZU</i> ). <b>Fonte:</b> Acervo próprio.	40
<b>Figura 25.</b> Tubos de Falcon imersos em banho-maria com temperatura ajustada a $36,5\text{ }^\circ\text{C}$ (Modelo N1030T, da marca NOVATECNICA) contendo amostras imersas em 25 ml de solução SBF. <b>Fonte:</b> Acervo próprio.	41
<b>Figura 26.</b> pHmetro microprocessado de bancada utilizado para as leituras de potencial hidrogeniônico (Modelo PG1800, da marca <i>GEHAKA</i> ). <b>Fonte:</b> Acervo próprio.	41
<b>Figura 27.</b> Fotografia das amostras fatiadas e polidas (Mg <sub>0</sub> , Mg <sub>2,5</sub> , Mg <sub>5</sub> , Mg <sub>7,5</sub> e Mg <sub>10</sub> ) obtidas por fusão/resfriamento. Diâmetro das amostras fatiadas: 10 mm/ Espessura das fatias: $\pm 1,2\text{ mm}$ . <b>Fonte:</b> Acervo próprio.	43

<b>Figura 28.</b> Difractogramas de DRX das amostras sintetizadas antes da imersão em SBF. A linha pontilhada em alaranjado é um guia para os olhos. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	44
<b>Figura 29.</b> Densidade ( $\rho$ ) e Volume molar ( $V_m$ ) das amostras vítreas em função do teor molar de MgO. As linhas são um guia para os olhos. <b>Fonte:</b> Elaboração própria.....	45
<b>Figura 30.</b> Espectros FTIR dos vidros sintetizados antes da imersão em SBF. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	47
<b>Figura 31.</b> Deconvolução do espectro FTIR para a amostra Mg_0. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	48
<b>Figura 32.</b> Variação da área relativa das bandas que compõe o espectro FTIR de cada amostra sintetizada em função do teor de MgO nos vidros. As linhas são um guia para os olhos. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	50
<b>Figura 33.</b> Curvas DSC obtidas para as amostras Mg_0, Mg_2,5, Mg_5, Mg_7,5 e Mg_10 contendo indicação da temperatura do evento térmico de Transição Vítreas ( $T_g$ ). As linhas em alaranjado representam as retas tangentes às curvas. <b>Fonte:</b> Elaboração própria.....	52
<b>Figura 34.</b> Temperatura de transição vítreas ( $T_g$ ) em função do teor de MgO (%mol). <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	53
<b>Figura 35.</b> Visualização da fixação em suporte de polipropileno de uma amostra fatiada, de 10 mm de diâmetro, preparada para teste de bioatividade. <b>Fonte:</b> Acervo próprio.....	54
<b>Figura 36.</b> Representação de uma amostra fixada em suporte de polipropileno inserida em um tubo de Falcon na posição vertical. <b>Fonte:</b> Acervo próprio.....	55
<b>Figura 37.</b> Medidas de pH das amostras vítreas (Mg_0, Mg_2,5, Mg_5, Mg_7,5 e Mg_10) durante 28 dias de imersão em solução SBF. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	56
<b>Figura 38.</b> Aspecto visual das amostras (ainda fixas nos suportes de polipropileno) após imersão em SBF durante os períodos de: 7 dias (7d), 14 dias (14d), 21 dias (21d) e 28 dias (28d). Identificação das amostras da esquerda para a direita da figura: Mg_0, Mg_2,5, Mg_5, Mg_7,5 e Mg_10. <b>Fonte:</b> Acervo próprio. ....	59
<b>Figura 39.</b> Perda de massa (%) em função do tempo de imersão em SBF das amostras Mg_0, Mg_2,5, Mg_5, Mg_7,5 e Mg_10. As linhas são um guia para os olhos. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	60
<b>Figura 40.</b> Difractogramas DRX da amostra Mg_0 para os períodos de imersão de 7, 14, 21 e 28 dias em SBF. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	62
<b>Figura 41.</b> Difractogramas DRX da amostra Mg_2,5 para os períodos de imersão de 7, 14, 21 e 28 dias em SBF. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	64

<b>Figura 42.</b> Difrátogramas DRX da amostra Mg_5 para os períodos de imersão de 7, 14, 21 e 28 dias em SBF. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	65
<b>Figura 43.</b> Difrátogramas de DRX da amostra Mg_7,5 para os períodos de imersão de 7, 14, 21 e 28 dias em SBF. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	66
<b>Figura 44.</b> Difrátogramas DRX da amostra Mg_10 para os períodos de imersão de 7, 14, 21 e 28 dias em SBF. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	67
<b>Figura 45.</b> Difrátogramas de DRX das amostras (Mg_0, Mg_2,5, Mg_5, Mg_7,5 e Mg_10) para 28 dias de imersão em solução SBF. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	68
<b>Figura 46.</b> Espectros FTIR da amostra Mg_0 para todos os períodos de imersão em SBF avaliados. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	70
<b>Figura 47.</b> Espectros FTIR da amostra Mg_2,5 para todos os períodos de imersão em SBF avaliados. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	72
<b>Figura 48.</b> Espectros FTIR da amostra Mg_5 para todos os períodos de imersão em SBF avaliados. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	73
<b>Figura 49.</b> Espectros FTIR da amostra Mg_7,5 para todos os períodos de imersão em SBF avaliados. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	74
<b>Figura 50.</b> Espectros FTIR da amostra Mg_10 para todos os períodos de imersão em SBF avaliados. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	76
<b>Figura 51.</b> Espectros FTIR das amostras (Mg_0, Mg_2,5, Mg_5, Mg_7,5 e Mg_10) para 28 dias de imersão em SBF. <b>Fonte:</b> Elaboração própria. ....	77

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Definições dos vidros verificados na literatura a partir de 1990. ....	6
<b>Tabela 2.</b> Fosfatos de cálcio de diferentes razões Ca/P. ....	15
<b>Tabela 3.</b> Concentrações de íons presentes no plasma sanguíneo humano e na solução SBF. ....	17
<b>Tabela 4.</b> Cronologia de aplicações especiais de vidros bioativos fora do sistema esquelético. ....	19
<b>Tabela 5.</b> Nomenclatura e composição das amostras em porcentagem molar (%mol) e em peso (%wt). ....	35
<b>Tabela 6.</b> Valores de densidade e volume molar das amostras sintetizadas. ....	45
<b>Tabela 7.</b> Posições e atribuições das bandas observadas nos espectros FTIR das amostras sintetizadas antes da imersão em SBF. ....	48
<b>Tabela 8.</b> Valores de temperatura de transição vítrea ( $T_g \pm 5^\circ\text{C}$ ) para as amostras Mg_0, Mg_2,5, Mg_5, Mg_7,5 e Mg_10 a partir das curvas DSC. ....	53
<b>Tabela 9.</b> Relação de fases de fosfato de cálcio utilizadas para comparação com os difratogramas DRX das amostras (Mg_0, Mg_2,5, Mg_5, Mg_7,5 e Mg_10) obtidos após imersão em SBF por até 28 dias. ....	61
<b>Tabela 10.</b> Atribuições FTIR após imersão em SBF para a amostra Mg_0 com base na literatura. ....	70

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>CAPÍTULO 2: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	3
<b>2.1 VIDROS</b> .....	3
2.1.1 Uma breve história dos vidros .....	3
2.1.2 Definição, Teoria de Formação e Teoria Estrutural dos vidros .....	5
2.1.3 Vidros boratos, fosfatos e borofosfatos .....	10
<b>2.2 BIOMATERIAIS</b> .....	13
2.2.1 Definição .....	13
2.2.2 Fosfatos de cálcio .....	14
2.2.2.1 Hidroxiapatita (HAp) .....	15
2.2.2.2 Fluorapatita (FAp).....	16
2.2.3 <i>Simulated Body Fluid</i> (SBF).....	17
2.2.4 Vidros bioativos .....	17
2.2.5 Vidros borofosfatos bioativos .....	19
<b>2.3 MAGNÉSIO NO ORGANISMO</b> .....	20
<b>2.4 VIDROS BIOATIVOS CONTENDO ADIÇÃO DE ÓXIDO DE MAGNÉSIO</b> .....	21
<b>CAPÍTULO 3: REVISÃO BILIOGRÁFICA</b> .....	23
<b>3.1 Comportamento do pH de soluções contendo vidros bioativos com MgO</b> .....	23
<b>3.2 Perda de massa de vidros bioativos contendo MgO</b> .....	26
<b>3.3 Análise da bioatividade de vidros contendo MgO por difratometria de raios-X (DRX)</b> .....	28
<b>3.4 Análise da bioatividade de vidros contendo MgO por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</b> .....	32
<b>CAPÍTULO 4: MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	35
<b>4.1 Materiais</b> .....	35
<b>4.2 Metodologia de síntese das amostras</b> .....	35
<b>4.3 Técnicas para caracterização e estudo dos materiais obtidos</b> .....	36
4.3.1 Caracterização Estrutural.....	36
4.3.1.1 Difratometria de Raios-X (DRX).....	36
4.3.1.2 Densidade Volumétrica ( $\rho$ ) e Volume Molar ( $V_m$ ).....	37

4.3.2 Caracterização Vibracional: Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	38
4.3.3 Caracterização Térmica: Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	39
4.3.4 Bioatividade .....	40
4.3.4.1 Teste <i>in vitro</i> em SBF e Medidas de pH.....	40
4.3.4.2 Perda de Massa.....	42
<b>CAPÍTULO 5: RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>43</b>
<b>5.1 Síntese das amostras</b> .....	<b>43</b>
<b>5.2 Caracterizações das amostras antes da imersão em SBF</b> .....	<b>43</b>
5.2.1 Difratomia de Raios-X (DRX).....	43
5.2.2 Densidade ( $\rho$ ) e Volume molar ( $V_m$ ) .....	45
5.2.3 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	46
5.2.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	51
<b>5.3 Testes de Bioatividade <i>in vitro</i> em SBF</b> .....	<b>54</b>
<b>5.4 Caracterizações das amostras após imersão em SBF</b> .....	<b>55</b>
5.4.1 Medidas de pH .....	55
5.4.2 Análise visual das amostras após imersão em SBF .....	58
5.4.3 Perda de Massa .....	60
5.4.4 Difratomia de Raios-X (DRX).....	61
5.4.5 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	69
<b>CAPÍTULO 6: CONCLUSÃO</b> .....	<b>78</b>
<b>CAPÍTULO 7: PERSPECTIVAS</b> .....	<b>79</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>80</b>

## CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

A incessante busca do homem para promoção do seu bem-estar com a melhoria da qualidade de vida populacional por meio de avanços científicos e do aperfeiçoamento de tecnologias aplicáveis em áreas relacionadas à saúde humana tem sido responsável pelo surgimento de soluções nas substituições e reparos de tecidos vivos danificados [1–3].

No campo da engenharia de tecidos ósseos, a necessidade por opções de materiais inteligentes que possam ser prontamente utilizados em reparos ósseos – especialmente os de tamanhos críticos – agindo por meio da modulação de funções celulares, consolidando o formato dos tecidos em reparação e impulsionando sua regeneração, é motivo de constante interesse por pesquisadores [4,5]. Um material inteligente aplicável neste campo deve ser capaz de guiar resposta fisiológica enquanto fornece trilhas morfológicas [6–8] e bioquímicas [9,10] no intuito de promover a interação requerida [5].

No final da década de 60, Larry L. Hench, juntamente aos seus colaboradores [11], desenvolveu um material vítreo capaz de formar em sua superfície uma camada que exibe afinidade química e estrutural ao constituinte mineral ósseo, promovendo uma firme ligação do material com tecidos vivos, ossos e dentes, sendo o primeiro de sua classificação de materiais, a chamada classe de vidros bioativos [6–9,11,12]. A descoberta foi patenteada e chamada de *Bioglass® 45S5* ( $45\text{SiO}_2-24,5\text{CaO}-6\text{P}_2\text{O}_5-24,5\text{Na}_2\text{O}$ , com % em peso) [12,13].

A propriedade requerida para esta classificação de vidros é a bioatividade, consistindo na capacidade do material de promover aderência com o osso e tecidos vivos quando inserido em meio fisiológico, que ocorre por meio da formação de uma camada superficial de apatita biologicamente ativa [14–16]. Assim, a verificação experimental da bioatividade de um vidro é feita medindo a capacidade de deposição de Hidroxiapatita (HAp) quando imerso em uma solução de fluido corporal simulado (*Simulated Body Fluid* ou SBF), de modo a antever seu desempenho nas aplicações *in vivo* [15,16].

Desde a descoberta de Hench, numerosos estudos abordando diferentes composições de vidros bioativos foram feitos, constatando-os como promissores para aplicação na engenharia de tecidos [17]. Em razão do pioneiro desta classificação de materiais apresentar sílica ( $\text{SiO}_2$ ) em sua composição e por obter sucesso em incontáveis tratamentos cirúrgicos, vidros silicatos bioativos receberam atenção especial por pesquisadores após o surgimento do *Bioglass® 45S5*, passando a ser extensivamente investigados e utilizados [18–21].

Posteriormente, com o conhecimento de uma grande variedade de vidros não silicatos, vidros bioativos contendo como formadores de rede o boro ou fósforo destacaram-se [22–24]. Tais matrizes exibiram maior solubilidade em SBF em relação a uma grande variedade de composições que apresentavam alta concentração de sílica, sendo então relatados como materiais em potencial para utilização em aplicações clínicas [13,24]. Com isso, poderiam fornecer um material alternativo ao criado por Hench [25].

Além dos vidros boratos e fosfatos, os vidros do tipo borofosfato são abordados como bioabsorvíveis e promissores para a engenharia de tecidos ósseos [26–28]. Investigações de bioatividade dessas matrizes relataram maior capacidade de formação superficial de apatita em relação ao *Bioglass® 45S5* [13,29,30]. Foi visto que capacidade bioativa foi fortemente influenciada pelos constituintes da matriz vítrea do borofosfato [31]. Somado a isso, esses vidros bioativos não comprometeram o crescimento celular, exibiram biocompatibilidade e adequada estabilidade química para aplicações como biomateriais [26–28,32].

Uma grande quantidade de investigações sobre vidros bioativos contendo adições de magnésio é verificada na literatura, especialmente em vidros silicatos [14,26,33–40]. Em razão da sua importância fisiológica no organismo humano, o magnésio é um elemento que desperta interesse para compor dispositivos médicos. O Mg é capaz de favorecer a formação óssea através da proliferação de osteoblastos e encontra-se presente em altas concentrações nos ossos na forma de cristais de HAp [37–39].

Vidros bioativos contendo óxido de magnésio (MgO) são abordados na literatura como potenciais para utilização na engenharia de tecidos ósseos e no controle de liberação iônica [41]. Um fator importante verificado em estudos feitos com vidros fosfatos [38,42] e borofosfatos [23,43] contendo adição de MgO foi a sua compatibilidade celular favorável em células osteoblásticas MG63, onde as matrizes vítreas contendo MgO apresentaram resposta positiva em relação à proliferação celular [23,38,39,42,43].

Apesar do óxido de magnésio ser um reagente bastante incorporado em sistemas vítreos contendo boro e fósforo, estudos que tratam especificamente sobre a influência desse óxido de metal alcalino terroso na capacidade bioativa de vidros não silicatos ainda são escassos e os mecanismos de ação do MgO na reatividade superficial dessas matrizes ainda não são amplamente esclarecidos [23,42–46].

Assim, o presente estudo tem como objetivo sintetizar e caracterizar vidros borofosfatos com adição de óxido de magnésio, investigando a influência dessa adição nas propriedades físicas e na bioatividade *in vitro* com imersão das amostras sintetizadas em SBF.

## CAPÍTULO 2: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 VIDROS

#### 2.1.1 Uma breve história dos vidros

Atualmente, os vidros compõem uma das classes de materiais mais versáteis, presentes em incontáveis aplicações cotidianas da modernidade [47]. Estudiosos abordam o vidro como um dos materiais mais antigos à disposição do homem, estando diretamente ligado a história e ao desenvolvimento das civilizações. Com isso, a datação precisa da sua incorporação aos hábitos de vida dos povos antigos e o início preciso da sua fabricação permanecem desconhecidos [24,48].

Por mais que hoje o vidro seja popular em suas formas sintéticas e em diferentes formatos, acredita-se que os vidros naturais denominados de *obsidians* (Obsidianas, formadas por erupções vulcânicas causando fusão de rochas em altas temperaturas e que, posteriormente, resfriaram rapidamente) foram os primeiros a serem descobertos e utilizados. Seu valor e importância sempre estiveram relacionados ao contexto na qual esses materiais estavam inseridos [24,48].

Por ser um material frágil e que exibe arestas cortantes quando quebrado, essas formas vítreas naturais auxiliaram o homem da Idade de Pedra na confecção de objetos pontiagudos e cortantes, tanto para utilização doméstica quanto para confecção de armas para caça e defesa [24]. Os Egípcios trataram os vidros como materiais preciosos e de alto valor, utilizando-os em adornos e na confecção das tumbas dos Faraós, dadas as suas características singulares e seu aspecto visual (podendo apresentar cor, opacidade, transparência ou translucidez) [48].

As características dos vidros variam em razão da composição e das condições de obtenção, sendo necessário o conhecimento destes fatores para sua fabricação. Com isso, acredita-se que as primeiras sínteses desse material tenham ocorrido em condições acidentais, sendo posteriormente aprimoradas por meio da observação das condições de obtenção e durante tentativas de reproduzir o fenômeno observado [24,48].

Na enciclopédia de Plínio (nascido em 23 d.C.) intitulada de “*Naturalis Historia*” (História Natural, em português), o naturalista faz atribuições de onde possam ter sido obtidos os primeiros vidros da história da humanidade. Segundo a sua enciclopédia, os Fenícios observaram a formação de um líquido viscoso e brilhante escorrendo de fogueiras feitas na areia com blocos de salitre improvisadas para uso ao desembarcarem na costa da Síria (cerca de 8000-7000 a.C.) e que rapidamente solidificava-se. O fenômeno foi muito observado até ser reproduzido e acredita-se que assim os primeiros materiais vítreos foram sintetizados [47].

Shelby [24] faz uma abordagem mais científica do fenômeno de obtenção dos vidros – visto nas fogueiras pelos Fenícios – na tentativa de elucidar as condições em que esses materiais teriam sido obtidos.

No livro *“Introduction to glass science and technology”* (Introdução à ciência e tecnologia dos vidros, em português), Shelby justifica que a obtenção do material vítreo classificado como “bruto e de baixa qualidade” ocorreu devido à mistura de sal marinho (contendo  $\text{Na}_2\text{O}$ ) e ossos de caças (contendo  $\text{CaO}$ ) presentes sob as madeiras utilizadas nas fogueiras feitas na areia (que contém  $\text{SiO}_2$ ). O autor argumenta que o ambiente de fusão dos componentes, de alguma forma, reduziu o ponto de fusão da mistura ocorrendo a nível do mar (possivelmente, do Mar Mediterrâneo). Tais condições possibilitaram formação do vidro [24].

A difusão da arte vidreira se deu pelo Egito e Mesopotâmia, com a fabricação de vitro-cerâmicas no Egito antigo, sendo ali o local onde a técnica de fabricar materiais 100% vítreos e com coloração foi posteriormente aperfeiçoada. Em 200 a.C., novas técnicas para conformação de materiais vítreos começaram a surgir, como a técnica de sopragem desenvolvida na Babilônia e Sidon, possibilitando que artesãos sintetizassem peças ocas utilitárias e decorativas, tais como copos, bacias, garrafas e adornos [48].

Os primeiros vidros totalmente incolores foram obtidos em Alexandria por volta de 100 d.C., sugerindo nessa época um maior domínio por parte dos vidreiros do processo empírico de obtenção do vidro. No processo, era adicionado óxido de manganês na composição e os componentes eram fundidos sob altas temperaturas em fornos melhorados, possibilitando maior controle da atmosfera de combustão e melhorando consideravelmente a qualidade das peças manufaturadas [48].

O período do Império Romano é datado como a idade do luxo dos materiais vítreos, em razão do melhoramento das técnicas e obtenção de peças refinadas [47,48]. A utilização de vidros com diferentes colorações nas composições dos vitrais – muito vistos em catedrais, igrejas, janelas de residências e átrios, por exemplo – foi responsável por tornar o material mais conhecido, difundindo a técnica de fabricação de vitrais no século XV, conhecido como o “período de ouro” dos vidros [48].

Dois séculos após o “período de ouro”, em XVII (período da Renascença) ocorreu o desinteresse por parte dos artesãos na arte de fabricação de vidros e crescente interesse nas técnicas de conformação, como corte e polimento, originando novos produtos [48].

Contudo, apesar dos avanços relatados na obtenção dos vidros produzidos ao longo da história, os vidreiros dominavam apenas conhecimentos empíricos sobre o vidro [48]. Nos 300

anos subsequentes ao período da Renascença, importantes avanços ocorreram no estudo dos vidros e uma melhor compreensão científica por trás da obtenção desses materiais veio à luz [24,47,48].

Atualmente, sabe-se que vidros podem ter diferentes formadores, inúmeras composições e, nos últimos 40 anos, novas técnicas de obtenção de vidros foram difundidas no meio científico [24]. Além disso, uma abordagem físico-química na concepção desses materiais foi capaz de expandir consideravelmente sua faixa de aplicações, melhorando propriedades requeridas e possibilitando a formulação mais completa da definição de um material vítreo [24,47].

### **2.1.2 Definição, Teoria de Formação e Teoria Estrutural dos vidros**

Inicialmente, as definições dos vidros eram baseadas no conceito de viscosidade, considerando observações feitas durante a execução da técnica de fusão/resfriamento (método tradicional de obtenção desses materiais) [48]. A adequação do conceito de vidros foi sendo constantemente necessária no decorrer dos anos com os avanços em torno da ciência dos vidros [24,47,48].

Os conceitos atuais trazem abordagens mais aprofundadas sobre condições termodinâmicas de obtenção do vidro e arranjo estrutural do material. As definições de vidro propostas por estudiosos desde 1990 estão colocadas na Tabela 1. Algumas semelhanças entre as definições podem ser observadas, como a repetição de termos importantes que remetem diretamente às estruturas tipicamente vítreas [48].

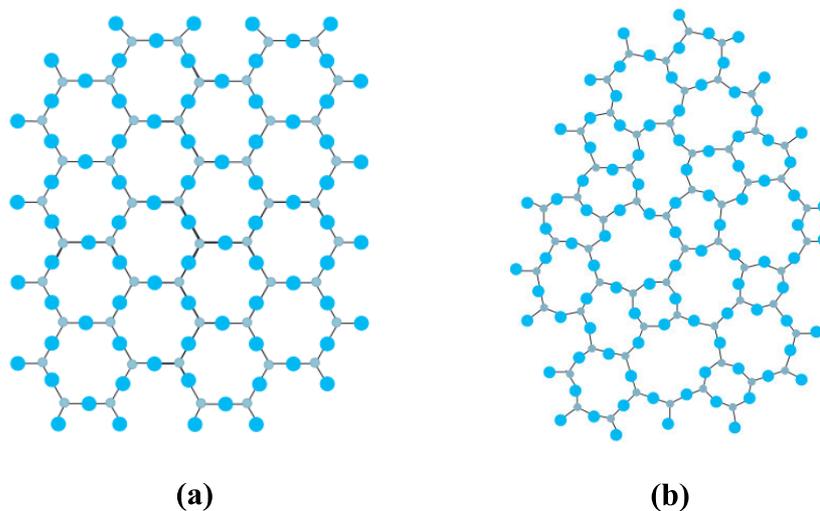
**Tabela 1.** Definições dos vidros verificados na literatura a partir de 1990.

<b>Autor (Ano)</b>	<b>Definição</b>
Elliot (1990)	"Vidros são materiais amorfos que não possuem ordem translacional a longo alcance (periodicidade), característica de um cristal. Os termos amorfo e sólido não-cristalino são sinônimos nesta definição. Um vidro é um sólido amorfo que exhibe transição vítrea."
Zarzycki (1991)	"Um vidro é um sólido não-cristalino exibindo o fenômeno de transição vítrea."
Doremus (1994)	"Vidro é um sólido amorfo. Um material é amorfo quando não tem ordem a longa distância, isto é, quando não há uma regularidade no arranjo dos constituintes moleculares, em uma escala maior que algumas vezes o tamanho desses grupos. Não é feita distinção entre as palavras vítreo e amorfo."
Varshneya (1994)	"Vidro é um sólido que tem a estrutura do tipo de um líquido, um sólido "não-cristalino" ou simplesmente um sólido amorfo, considerando a característica de amorfo como uma descrição da desordem atômica, evidenciada pela técnica de difração de raios-X."
Shelby (1997)	"Vidro é 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 exhibe um fenômeno de transição vítrea é um vidro."
Zanotto e Mauro (2017)	"O vidro é um estado fora do equilíbrio termodinâmico, não cristalino da matéria condensada, que exhibe uma transição vítrea. As estruturas dos vidros são semelhantes às dos seus líquidos super-resfriados (LSR) e relaxam espontaneamente em direção ao estado de LSR. Seu destino final, para tempos infinitamente longos, é cristalizar."

**Fonte:** Adaptado de Alves (2001) e Zanotto e Mauro (2017) [48,49].

A utilização do termo "amorfo" é recorrente nestas definições. Aqui, as expressões "sólido não-cristalino" e "sólido amorfo" são consideradas equivalentes e referem-se à estruturas que não exibem uma estrutura organizacional definida em nível atômico, possuindo um arranjo sólido, porém desordenado, semelhante ao que é visto nos líquidos [24,47,48].

O composto alumina ( $Al_2O_3$ ), por exemplo, é um capaz de formar estruturas que exibem ordenamento atômico e estruturas não ordenadas, conforme pode ser observado na Figura 1 [48].

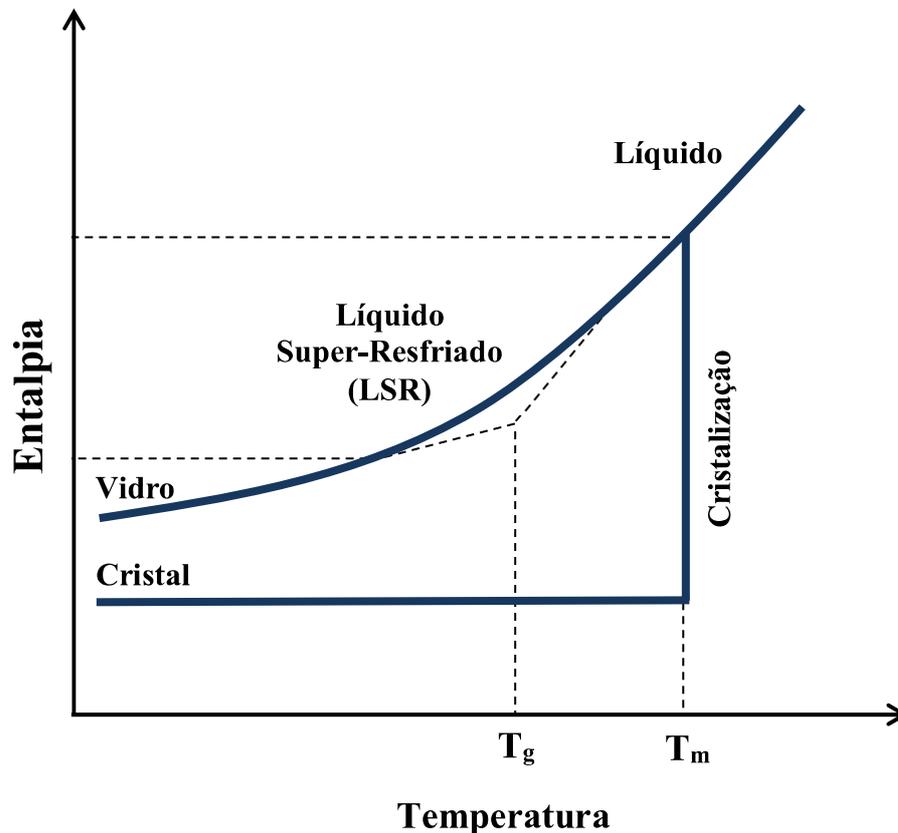


**Figura 1.** Representação bidimensional de estruturas formadas pelo composto  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . (a) Estrutura formada exibindo arranjo cristalino (cristal). (b) Estrutura amorfa formada, sem simetria e sem periodicidade em longo alcance (vidro). **Fonte:** Adaptado de Alves (2001) [48].

Na Figura 1 (a) é visto um sólido com estrutura bidimensional ordenada, simétrica e com repetição de cadeias em longas distâncias (periodicidade), exibindo um arranjo característico de cristais. Esse arranjo estrutural ordenado é denominado na literatura como “arranjo cristalino” ou “estrutura cristalina” [24,48,50].

A Figura 1 (b), por outro lado, exibe um arranjo sólido desordenado – similar ao arranjo verificado em líquidos – com periodicidade apenas de curto alcance e ausência de simetria. Tal representação é típica de estruturas amorfas, sendo essa a principal característica de materiais vítreos [24,48].

Portanto, o vidro não é definido por composição específica ou por método de obtenção específico, mas pela característica amorfa alcançada por meio de um fenômeno termodinâmico chamado de “transição vítrea” [24,47,48]. Para entendimento do fenômeno, é necessário compreender o processo de obtenção de um vidro. A Figura 2 exibe o gráfico de formação dos vidros, considerando o método tradicional de fusão/resfriamento, extraído do trabalho de Zanotto e Mauro [49].



**Figura 2.** Gráfico de formação dos vidros (Entalpia vs. Temperatura). **Fonte:** Adaptado de Zanotto e Mauro (2017) [49].

No processo exemplificado da Figura 2, as matérias-primas passam por fusão em temperaturas superiores à temperatura  $T_m$  (*melting point*, ou temperatura de fusão, em português), cujo valor está diretamente relacionado à composição da mistura líquida. Após fundido, o líquido pode percorrer dois caminhos de resfriamento: tornar-se um líquido super-resfriado (LSR) ou passar por um processo de cristalização [24,49].

Para temperaturas acima da  $T_m$ , existem apenas líquidos termodinamicamente estáveis (ou simplesmente “líquidos”) que não cristalizam nesta condição. Além da temperatura de fusão, há outra assinalada no gráfico e extremamente importante no processo: a temperatura de transição vítrea,  $T_g$  (*glass transition*). Quando resfriado rapidamente em temperaturas entre a  $T_m$  e a  $T_g$ , o líquido entra em um estado termodinâmico metaestável chamado de “líquido super-resfriado” (LSR). Neste estado, qualquer perturbação de temperatura pode retirar o material desta condição e causar algum percentual de cristalização no mesmo [24,48,49].

Após a obtenção do LSR, ao reduzirmos a temperatura abaixo da  $T_g$ , o líquido super-resfriado torna-se vidro, ou seja, um sólido resultante do rápido resfriamento que exibe a mesma “desordem estrutural” de um líquido (arranjo amorfo) [48,49]. Em resumo, o vidro é obtido

fundindo os constituintes em altas temperaturas, acima da  $T_m$ , e passando posteriormente por um resfriamento rápido para temperaturas abaixo da  $T_g$  [48].

Por outro lado, a cristalização ocorre durante o processo de resfriamento lento do líquido (em taxas muito inferiores à taxa de resfriamento necessária para vidros). Percorrendo o gráfico novamente partindo do estado de líquido acima da  $T_m$ , ao sofrer resfriamento e entrar na região metaestável sob taxas de resfriamento lentas, nucleações são iniciadas e há ocorrência de crescimento de cristais no material, indicando o surgimento de um ordenamento estrutural atômico, originando cristais [48,49].

Nos cristais, a taxa de resfriamento lenta é o que possibilita sua organização estrutural, onde ocorre a redução brusca da entalpia do sistema que tem sua energia consumida durante o ordenamento atômico. Nos vidros, o ordenamento é impossibilitado devido ao rápido resfriamento do fundido, “congelando” o arranjo e impedindo a mobilidade dos átomos. Os vidros exibem maior entalpia em relação aos cristais, que é devido ao rápido resfriamento. Com isso, é necessário que o vidro passe por um tratamento térmico após obtido (em temperaturas abaixo da  $T_g$ ) para alívio das tensões internas residuais [24,47–49].

Outra questão em torno dos materiais vítreos intrigava estudiosos: a facilidade de determinados compostos em exibirem o fenômeno de transição vítrea – em outras palavras, a facilidade de “formar” vidro [24,48]. Zachariasen [51], em sua publicação datada de 1932 intitulada como “*The atomic arrangement in glass*” (O arranjo atômico em vidros, no português) baseou-se nas observações de Goldschmidt para explicar porque certas coordenações de cátions eram favoráveis na formação do vidro.

No estudo, Zachariasen percebeu similaridade entre as formas amorfa e cristalina dos compostos e a predominância de espécies tetraédricas conectadas formando cadeias (como visto nos vidros silicatos). As observações serviram para explicar a tendência de formação para maioria dos vidros óxidos [24,48,51].

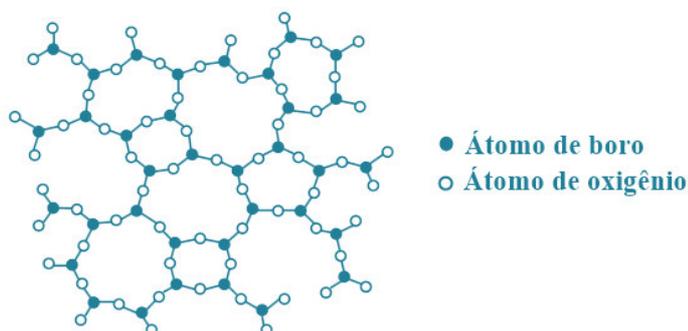
Considerando um vidro formado pelo óxido  $Al_2O_3$ , regras foram propostas no estudo de Zachariasen para explicar a formação do vidro, são elas:

- a) O número de átomos de oxigênio ligados ao elemento “Al” deve ser pequeno;
- b) Um átomo de oxigênio não pode ser ligado a mais de dois átomos “Al”;
- c) Os poliedros de oxigênios compartilham ligações por seus vértices e não pelas faces;
- d) Para redes tridimensionais, os oxigênios dos poliedros devem se ligar por seus três vértices [24,51].

### 2.1.3 Vidros boratos, fosfatos e borofosfatos

O boro (B) consiste em um elemento da tabela periódica da Família IIIA, de valência 3+ e de grande importância na natureza [24,47,50]. No estudo feito por Zachariasen sobre vidros óxidos, o composto trióxido de diboro ( $B_2O_3$ ) foi classificado como formador de rede vítrea, possuindo semelhança com o dióxido de silício ( $SiO_2$ ) em relação às unidades estruturais componentes no vidro, podendo exibir arranjo tetraédrico em vidros boratos na presença de óxidos modificadores [24,51,52].

Ao propor explicação sobre estrutura vítrea borato, Zachariasen descreveu que o boro encontrava-se no centro de um triângulo equilátero, contendo átomos de oxigênio em suas extremidades [24]. Tais triângulos encontram-se aleatoriamente dispostos, conectados uns aos outros por meio dos vértices (oxigênios ligados) formando anéis boroxol e o menor dos anéis é constituído por 8 átomos [24,51,53]. A configuração da rede vítrea planar proposta por Zachariasen para vidros puramente boratos pode ser observada na Figura 3.



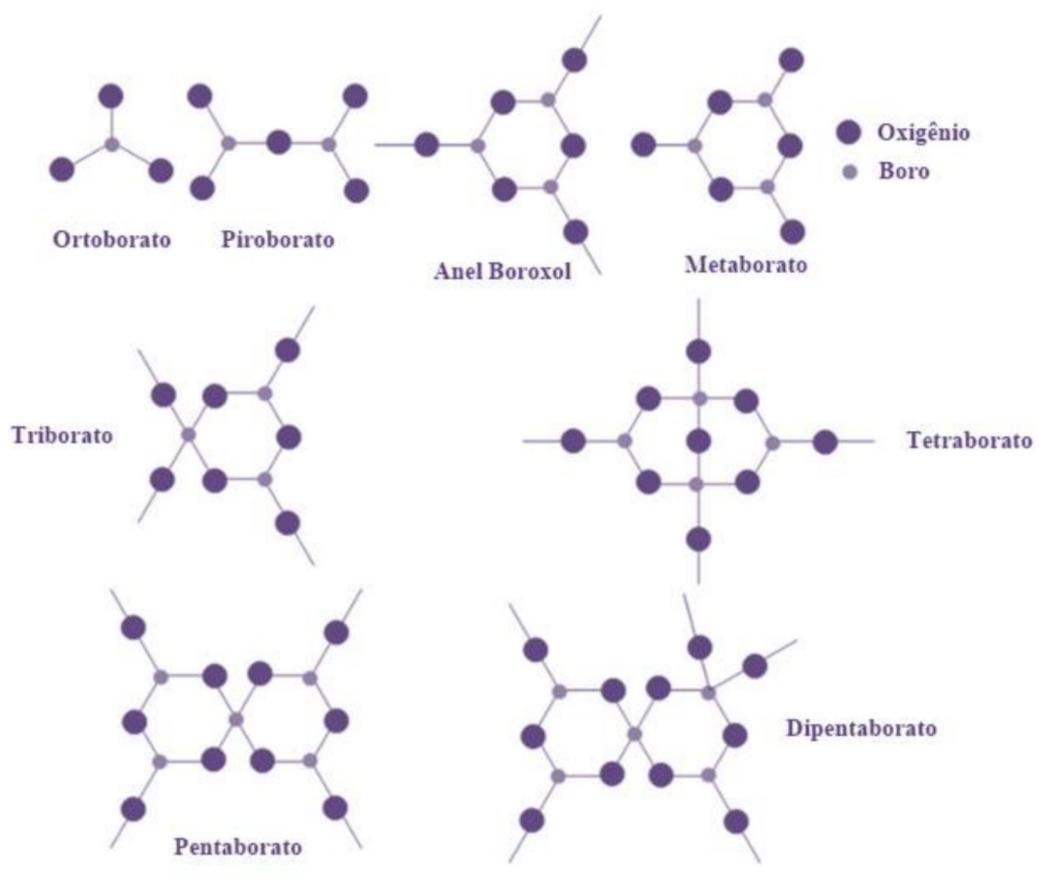
**Figura 3.** Representação esquemática de uma rede bidimensional aleatória de vidro borato constituída por boro e oxigênio. **Fonte:** Adaptado de Aranha [53].

A incorporação de óxidos modificadores em vidros boratos ocasiona a conversão de unidades trigonais planares ( $B\text{O}_3$ ) em unidades tetraédricas ( $B\text{O}_4$ ), a fim de equilibrar o desbalanceamento de cargas causado pela incorporação de cátions modificadores na rede [24,53].

Contudo, o contínuo aumento de modificadores causa o efeito inverso em uma determinada concentração: unidades borato de coordenação 4 atingem um valor máximo na rede (saturação) e, após isso, começam a sofrer redução para número de coordenação igual a 3. Assim, unidades  $B\text{O}_4$  convertem-se novamente em unidades  $B\text{O}_3$ , causando aumento da

quantidade de oxigênios não-ligados no sistema vítreo e do volume da rede, impactando nas propriedades físicas do vidro como densidade e a temperatura de transição vítrea [24,54]. O fenômeno inverso descrito é conhecido na literatura como anomalia do boro [24].

Na Figura 4 estão representadas as estruturas formadas por unidades  $B\text{O}_3$  e  $B\text{O}_4$  em vidros boratos [54].

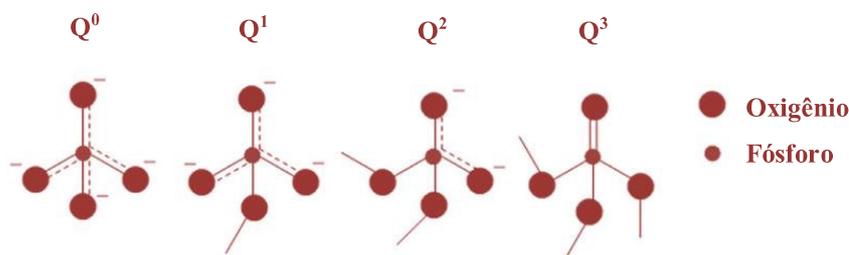


**Figura 4.** Representação das estruturas de vidros boratos. **Fonte:** Adaptado de Stanić [54].

Outro tipo de estrutura vítrea constituída por espécies tetraédricas (tal como o silício) são os vidros fosfatos, formados pelo composto pentóxido de difósforo ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) [24,51,54]. O elemento fósforo (P) que exibe carga 5+, possui afinidade com oxigênio e, diferentemente do tetraedro de silício que exibe 4 oxigênios ligantes, o tetraedro de fosfato compartilha no máximo 3 dos seus 4 oxigênios nos vértices (apresentando um oxigênio não-ligado, NBO, que faz dupla ligação com o fósforo). A presença de NBO's nas unidades tetraédricas dos fosfatos reduz a sua conectividade de rede em relação à rede silicato [54].

As diferentes estruturas tetraédricas dos fosfatos são descritas por meio da terminologia  $Q^n$  – similar à designada para os silicatos – onde “n” representa o número de oxigênios ligantes

do tetraedro [24,54]. A Figura 5 exibe as diferentes unidades tetraédricas ( $Q^n$ ) para os fosfatos [54].



**Figura 5.** Representação das unidades tetraédricas (de terminologia  $Q^n$ ) dos fosfatos. **Fonte:** Adaptado de Stanić [54].

Vidros puramente fosfatos possuem apenas espécies  $Q^3$  na constituição da rede vítrea. Contudo, à medida que cátions modificadores são inseridos no sistema vítreo fosfato, há uma conversão das espécies tetraédricas, reduzindo o número de oxigênios ligantes do íon fosfato na ordem:  $Q^3 \rightarrow Q^2 \rightarrow Q^1 \rightarrow Q^0$  [55]. Tal comportamento demonstra que a incorporação de modificadores de rede causa quebra da rede fosfato (despolimerização), reduzindo sua conectividade de rede [54].

Vidros fosfatos mostraram-se comercialmente interessantes devido às suas propriedades de alto coeficiente de expansão, alta condutividade térmica e características ópticas [52,54]. O boro, por sua vez, é bastante incorporado em vidros com diferentes composições para atingir propriedades físicas e químicas desejadas, mostrando-se um importante formador de rede vítrea, sendo atualmente um sistema vítreo de grande interesse científico [52].

Duas características importantes dos sistemas vítreos boratos e fosfatos são baixa durabilidade química e baixo ponto de fusão [24,52]. O fato de serem higroscópicos limitou por muito tempo a utilização desses vidros. Com isso, estudos sistemáticos sobre a interação entre compostos no vidro foram capazes de melhorar propriedades indesejadas desses sistemas vítreos e proporcionar novas aplicações para esses materiais [52].

Nesse contexto, o sistema vítreo designado como borofosfato surge da união dos formadores de rede boro e fósforo. Vidros borofosfatos mostraram-se promissores em aplicações que vão desde dispositivos ópticos até aplicações na biomedicina, em que a união de  $B_2O_3$  e  $P_2O_5$  em uma mesma matriz conferiu ao sistema melhoria das suas propriedades químicas quando comparadas aos seus formadores isoladamente [31,43,52,56]. Ademais, nesses sistemas é verificada a formação de tetraedros  $BPO_4$  (ligações P-O-B) que podem ser detectados com a utilização de métodos espectroscópicos [31,43,56,57].

## 2.2 BIOMATERIAIS

### 2.2.1 Definição

No decorrer dos anos, o termo biomaterial recebeu diferentes definições. Atualmente, biomateriais são definidos como uma classe de materiais utilizada no contato direto com sistemas biológicos (ou fluidos) em aplicações variadas: diagnósticos, vacinas, dispositivos cirúrgicos e terapias direcionadas. Podem ser de origem natural ou sintética, se apresentando em diferentes formas (sólido, líquido, gel ou pasta) [58].

Sabe-se que utilização de biomateriais ocorre desde os povos antigos [58,59]. Relatos como a utilização de linhas de linho e ouro em suturas no Antigo Egito (2000 a.C.), da utilização de intestinos de animais na Europa (Idade Média) e da manufatura de dentes artificiais com diferentes materiais pelos maias (600 a.C.), franceses (200 a.C.), romanos, chineses e astecas, reforçam que os biomateriais sempre estiveram associados aos reparos na saúde humana [58]. Além disso, evidenciam a busca por melhorias da qualidade e expectativa de vida dos povos na antiguidade [58,59].

O estudo realizado por Brier *et al.* (2015) [59] em duas múmias do Egito – uma totalmente embrulhada e outra parcialmente embrulhada – teve como objetivos: determinar sexo, idade da morte, função da prótese encontrada do dedo do pé da múmia que não havia sido violada e compreender o processo de mumificação por meio de investigações radiológicas. O estudo constatou que a múmia totalmente embrulhada (não violada) apresentava uma prótese de madeira no local de um dedão amputado. A Figura 6 mostra o dedo protético ainda preso à múmia.



**Figura 6.** Dedo protético descoberto no Egito ainda preso à múmia. **Fonte:** Adaptado de Brier *et al.* (2015) [59].

A múmia não violada tratava-se de um homem que morreu em sua meia-idade, que provavelmente ocupava-se como escultor e embalsamado há mais de 2500 anos [59]. Após

análise do material protético, os pesquisadores concluíram que a prótese de madeira não havia sido utilizada em vida, mas que foi colocada para ajudar na preservação do corpo e destinava-se ao uso na sua “ressurreição no próximo mundo” – conforme crenças da época – demonstrando o interesse pela melhoria da qualidade de vida de indivíduos que possuíam membros amputados [59].

A evolução e desenvolvimento dos biomateriais ao longo dos séculos foram marcados por tentativas e erros [58]. Os avanços que ocorreram em torno desses materiais permitem classificá-los em três gerações [60].

A escolha do tipo de material utilizado até meados da década de 50 era realizada com base nas propriedades do material em si, com foco em materiais bioinertes e biotoleráveis (como ligas de aço inoxidável e titânio), constituindo a 1ª geração dos biomateriais [58,60].

Um conhecimento mais íntimo da composição, do desempenho e da interação com sistemas biológicos foi considerado um avanço marcante para aplicações de sucesso durante o emprego de biomateriais [58,60,61]. Assim, em 1969, Larry Hench através da criação do *Bioglass® 45S5* contribui de forma significativa para o surgimento da 2ª geração de biomateriais no início dos anos 70 [11,58]. Esses materiais exibiram propriedades bioabsorvíveis ou bioativas (como as biocerâmicas e polímeros), capazes de promover íntima integração com tecidos vivos devido a sua reatividade em meio fisiológico [18,60].

O contínuo aperfeiçoamento desencadeou no surgimento de biomateriais com características peculiares ainda nos anos 80, como os materiais bioabsorvíveis capazes de induzir respostas específicas no meio celular [60]. Aplicações terapêuticas, propriedade de liberação iônica controlada e ausência de toxicidade ao organismo vivo foram algumas das propriedades dos materiais da 3ª geração e ainda requeridas na modelação de biomateriais atualmente, como os vidros, compósitos e os nanocompósitos [58,60].

### **2.2.2 Fosfatos de cálcio**

Pertencentes à 2ª geração de biomateriais, os fosfatos de cálcio consistem em biocerâmicas de bastante interesse para aplicações médicas, ortopédicas e odontológicas devido à sua similaridade química com minerais ósseos (apatitas naturais) [62]. Suas aplicações vão desde recobrimentos até a regeneração de tecidos. Apresentam diferentes formulações químicas e diferenças de solubilidade, podendo ser classificadas em função da razão molar Ca/P (que varia de 0,5 a 2,0) [62,63].

A Tabela 2 exhibe algumas formas de fosfatos de cálcio e respectiva razão molar Ca/P.

**Tabela 2.** Fosfatos de cálcio de diferentes razões Ca/P.

<b>Fosfato de cálcio</b>	<b>Fórmula Química</b>	<b>Ca/P</b>
Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,5
Hidroxiapatita (HAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Octafosfato de cálcio (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio diidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1
Fluorapatita (FAP)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F})_2$	1,67

**Fonte:** Adaptado de Aparecida *et al.* (2007) [63].

O fosfato de cálcio ACP encontra-se na constituição de sistemas biológicos. Exibe propriedades como osteocondutividade e é capaz de melhorar adesão de recobrimentos em superfícies metálicas. Entretanto, é uma fase de fosfato de cálcio bastante solúvel (metaestável) rapidamente sendo degradada e convertida em outras formas de fosfato de cálcio mais estáveis [62–64]. O fosfato de cálcio OCP exibe similaridade estrutural com a HAp, sendo considerado uma fase de transição na formação de apatitas e importante na formação de ossos e dentes nos vertebrados [63].

A precipitação de fosfatos de cálcio em solução supersaturada é diretamente relacionada à composição da solução, pH e temperatura [63]. Nos estágios iniciais de precipitação em soluções neutras ou alcalinas, a fase de fosfato de cálcio amorfo (ACP) é formada. Estudos abordam essa fase metaestável como precursora direta da formação de apatitas cristalinas, enquanto outros relatos bibliográficos abordam a ocorrência da formação de octafosfato de cálcio (OCP) como fase intermediária na formação de apatita a partir do ACP, na ordem: ACP→OCP→HAp [62–64].

O fosfato de cálcio DCPD é abordado na bibliografia como uma fase metaestável e também é considerado um importante precursor da formação de apatitas (ou de compostos intermediários na formação de apatita). O estudo de Drouet [62] relata que a precipitação das fases OCP e DCPD são favorecidas em meios ácidos de  $\text{pH} < 6,5$ , onde exibem maior estabilidade em relação à HAp [62,63].

### **2.2.2.1 Hidroxiapatita (HAp)**

A hidroxiapatita (HAp) é uma cerâmica bioativa do tipo apatita, de fórmula  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , sendo o principal componente do esmalte dentário e ósseo, além de ser um constituinte do osso natural, presente em 70% de seus minerais [65,66]. A HAp possui composição teórica de 39,68Ca–18,45P (% em peso), apresentando razão atômica Ca/P igual a 1,67, exibindo estrutura cristalina do tipo hexagonal na maioria dos casos de precipitação, com

espaço de grupo  $P6_3/m$ , número de espaço de grupo 176 e parâmetros de rede  $\alpha = \beta = 90^\circ$  e  $\gamma = 120^\circ$  [66–68].

É a composição de fosfato de cálcio biocompatível que apresenta estabilidade em pH neutro e alcalino, não exibindo toxicidade e capaz de induzir formação óssea [66]. Por ser uma apatita frágil e de difícil conformação, a sua utilização como biomaterial limita-se ao formato do implante [66]. Assim, no intuito de vencer sua fragilidade, o emprego da HAp costuma ser feito em conjunto com outros materiais e sua aplicação não deve ser feita em locais que recebam esforços mecânicos [66,69].

A HAp sintética e natural exibem composições similares, mas ainda apresentam diferenças do ponto de vista químico [67,69]. A principal diferença é quanto a estequiometria, onde as apatitas biológicas são nanocristalinas e imperfeitas, decorrente das substituições iônicas causadas por oligoelementos que são essenciais ao corpo humano, enquanto as sintéticas são estequiométricas e de cristais maiores que os naturais [68,70].

As aplicações dos cristais de HAp sintéticos são regidos por algumas características como sua forma, diâmetro de partícula e razão Ca/P, fatores importantes para a funcionalidade requerida da apatita em meio biológico [67]. Em razão da apatita natural possuir cristais em nanoescala, as apatitas sintéticas nanocristalinas são mais interessantes para a aplicação na engenharia de tecidos ósseos, pois fornecem biocompatibilidade adequada e integram-se melhor ao osso hospedeiro [67,70].

#### **2.2.2.2 Fluorapatita (FAp)**

A fluorapatita (FAp) é uma apatita de fórmula  $Ca_{10}(PO_4)_6F_2$  presente em ossos e dentes, juntamente à HAp, e ambas exibem propriedades osteoindutoras e de biocompatibilidade similares [71,72]. A FAp é mais utilizada em aplicações na odontologia por ser um fosfato de cálcio mais estável e resistente em meio ácido que a HAp, além de apresentar uma menor taxa de degradação *in vivo* em comparação à HAp [73].

A incorporação de flúor em vidros bioativos torna-se interessante para estender sua aplicabilidade, podendo ser explorados na odontologia ou ortopedia, melhorando funções celulares e adesão com o tecido ósseo [73]. Com o flúor na matriz vítrea, além de formar HAp em sua superfície, esses vidros bioativos também podem promover a deposição de camada de FAp, incrementando propriedades interessantes nesses materiais [72].

### 2.2.3 Simulated Body Fluid (SBF)

Quando inseridos em ambiente fisiológico, os vidros bioativos são capazes de promover a deposição de uma camada de apatita na sua superfície, podendo ser na forma de HAp ou FAp, responsáveis pela união com o tecido hospedeiro [70,74]. O grau de bioatividade é avaliado em função do tempo de deposição de camada de apatita na superfície do vidro. Assim, quanto menor o tempo verificado para conversão em HAp ou FAp, maior é a sua capacidade bioativa [75].

A verificação da bioatividade de um material é feita experimentalmente em um meio que se assemelha ao plasma sanguíneo, proposto inicialmente por Kokubo e Takadama, denominado como *Simulated Body Fluid* (SBF) [76]. Tal simulador de fluido corpóreo consiste em uma solução cuja composição química inorgânica e pH são similares ao verificado no plasma sanguíneo, induzindo a ocorrência de mudanças estruturais na superfície dos vidros por meio de troca iônica [15,16,76].

Os resultados obtidos nos testes de imersão de amostras vítreas em SBF mostram-se consistentes com a atividade verificada *in vivo* para os vidros bioativos e a utilização da solução SBF descartou a necessidade de testes em cobaias [16]. As concentrações iônicas da solução SBF original, proposta por Kokubo e Takadama, podem ser verificadas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Concentrações de íons presentes no plasma sanguíneo humano e na solução SBF.

	Concentração Iônica (mM)							
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup> <sub>+</sub>	Ca <sup>2+</sup> <sub>+</sub>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
<b>Plasma Sanguíneo Humano</b>	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5
<b>SBF original</b>	142,0	5,0	1,5	2,5	148,8	4,2	1,0	0

Fonte: Adaptado de Kokubo e Takadama (2006) [16].

O procedimento de teste em SBF requer atenção para que erros experimentais não induzam ou favoreçam indevidamente a precipitação de fosfatos de cálcio e/ou apatitas e, com isso, obtenha-se um resultado de falso positivo para a bioatividade do material [74,77].

### 2.2.4 Vidros bioativos

Até o surgimento da classe de materiais vítreos bioativos, a seleção de um biomaterial para utilização no organismo vivo era feita baseada na sua resistência à ataques corrosivos. Em

algumas situações pós-cirúrgicas feitas com esse critério de seleção, uma resposta imunológica desfavorável nos pacientes era verificada, onde o organismo não reconhecia o material implantado, indicando assim a ausência completa de adesão e, conseqüentemente, a falha do implante [18].

Um grupo de pesquisadores no final da década de 60, liderados por Larry L. Hench na Universidade da Florida, desenvolveu um material vítreo que exibiu capacidade de suportar o meio fisiológico humano e interagir por meio de resposta química [18,78], criando pela primeira vez um sistema bioabsorvível chamando de *Bioglass® 45S5* [9,11,79]. A descoberta de Hench foi capaz de promover adesão com o tecido hospedeiro e obter resposta imunológica favorável, revolucionando a visão de médicos e da indústria de dispositivos médicos em relação às propriedades requeridas para fabricação de implantes [18].

A composição do vidro bioativo de Hench apresenta estequiometria  $45\text{SiO}_2-24,5\text{CaO}-6\text{P}_2\text{O}_5-24,5\text{Na}_2\text{O}$ , com % em peso [12,13]. Sua adesão com o tecido ósseo é tão forte que é incapaz de ser removida sem ocorrência de quebra do osso. Com a descoberta dessa classe de materiais, houve também o surgimento do campo de materiais inorgânicos bioativos, com potencial para aplicações em reparos ósseos [79,80]. O *Bioglass® 45S5*, atualmente, é o material de referência para verificação da bioatividade de novas composições vítreas, especialmente as de vidros silicatos bioativos [81].

Os vidros bioativos tiveram aplicações bastante diversificadas, muito além da função para o qual foram inicialmente desenvolvidos e em aplicações que pareciam ser impossíveis no estudo inicial. Assim, sua definição foi ampliada para um material que apresente capacidade de induzir respostas favoráveis em meio biológico [18,25,82]. Contudo, mesmo em inúmeras aplicações e terapias clínicas, atualmente são mais aplicados na ortopedia e odontologia [9].

A Tabela 4 apresenta uma cronologia de aplicações especiais dos vidros bioativos após o surgimento do *Bioglass® 45S5* em uma gama de aplicações [83].

**Tabela 4.** Cronologia de aplicações especiais de vidros bioativos fora do sistema esquelético.

<b>Ano</b>	<b>Evento/Aplicação</b>
<b>1969</b>	Invenção do Bioglass® 45S5
<b>1977</b>	Tratamento de doenças do ouvido
<b>1978</b>	Implantes oculares
<b>1987</b>	Tratamento de câncer de fígado
<b>1998</b>	Reparo de nervo periférico
<b>2000</b>	Cicatrização de feridas
<b>2004</b>	Engenharia de tecidos pulmonar
<b>2005</b>	Reparo de ligamento e músculo esquelético
<b>2005</b>	Aplicações gastrointestinais
<b>2010</b>	Engenharia de tecidos cardiovascular
<b>2012</b>	Embolização de miomas uterinos
<b>2012</b>	Reparo da medula espinhal

**Fonte:** Adaptado de Baino *et al.* [83].

Perspectivas para futuras aplicações dos vidros bioativos sugerem que seu emprego também possa ser associado às terapias direcionadas (por meio de liberação iônica), na entrega de medicamentos (*drug-delivery*), na estimulação de angiogênese e na regeneração de órgãos [25].

### **2.2.5 Vidros borofosfatos bioativos**

Alguns questionamentos foram levantados sobre o *Bioglass® 45S5* abordados como desvantagens da sua utilização, como a degradação lenta dessas matrizes e os efeitos à longo prazo da sílica que dificilmente é absorvida pelo organismo [84]. Com isso, a busca por novos vidros bioativos para utilização em reparos ósseos com constituintes bioabsorvíveis levou ao surgimento de novas matrizes livres de sílica, exibindo capacidade bioativa, fornecendo alternativas ao uso do *Bioglass® 45S5* [81].

O sistema vítreo borofosfato é relatado com uma boa alternativa para aplicação na engenharia de tecidos ósseos para emprego em dispositivos médicos [26]. Saranti *et al.* [13], ao realizar estudos de bioatividade adicionando B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> em estruturas vítreas binárias livres de sílica, sintetizou pela primeira vez os sistemas vítreos 60CaO–20B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>–20P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 66,7CaO–20B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>–13,3P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (ambos com % em peso), verificando que todas as amostras de composição ternária no estudo apresentaram formação superficial de apatita em poucos dias, confirmando a bioatividade de vidros borofosfatos que até então não havia sido relatada.

Um vidro de mesma composição molar que o *Bioglass*® 45S5 foi sintetizado por Huang *et al.* [29], com SiO<sub>2</sub> totalmente substituído por B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (denominado no estudo como amostra 3B), de composição 22,9Na<sub>2</sub>O–22,9CaO–48,6B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>–5,6P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (% em peso). A amostra 3B demonstrou sofrer uma conversão mais rápida e completa em apatita comparada ao *Bioglass*® 45S5 e às amostras do estudo que continham alto teor de sílica (denominadas como amostras 0B, 1B e 2B) [29,30].

Hidi *et al.* [31] avaliou a bioatividade de vidros do sistema vítreo xB<sub>2</sub>O<sub>3</sub>–30Na<sub>2</sub>O–(70–x)P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (com  $0 \leq x \leq 70$  em % molar) e, ao término do estudo, constatou que a interação dos vidros borofosfatos sintetizados com a solução SBF foi influenciada fortemente pela composição química das amostras, verificando maior tempo de degradação das amostras para menores concentrações de boro.

Ren *et al.* [32] obteve vitro-cerâmicas CaPNaB, de composição 50CaO–40P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>–7Na<sub>2</sub>O–3B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (em % molar), que apresentaram bioatividade, biocompatibilidade, não-toxicidade e boa estabilidade química para aplicações na engenharia de tecidos ósseos. No estudo de solubilidade das vitro-cerâmicas de Ren e seus colaboradores, foi relatado que a baixa adição de B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> reduz as taxas de dissolução da matriz vítrea, responsável pela melhora da estabilidade química, em sintonia com a verificação de Hidi em trabalho anterior [31].

Abo-Naf *et al.* [27] sintetizou vidros bioativos do sistema 15Na<sub>2</sub>O–15CaO–xB<sub>2</sub>O<sub>3</sub>–(70–x)P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (com x = 5, 10, 15, 20, 25 e 30% em mol), verificando deposição superficial de HAp nanocristalina nas amostras, relatando que o material do estudo é interessante para aplicação na engenharia de tecidos ósseos. Vidros borofosfatos que exibem propriedades terapêuticas além da atividade bioativa, como ações antibacterianas também são relatados na literatura [28].

### 2.3 MAGNÉSIO NO ORGANISMO

O elemento químico magnésio (Mg) é um metal alcalino terroso que possui grande importância fisiológica em humanos. É o segundo elemento de maior importância na composição celular, sendo o quarto elemento mais presente no organismo humano, necessário em inúmeras reações enzimáticas, metabólicas e na ação da vitamina D [35,85,86]. Sua deficiência no organismo é corriqueiramente associada à hipertensão, arritmia cardíaca, infarto no miocárdio e outras doenças. Quando ausente na alimentação, é associado como fator de risco para desenvolvimento de osteoporose e para redução de formação óssea [87].

É um oligoelemento presente em altas concentrações nos ossos, na faixa de 60–70% do total presente no organismo humano, onde encontra-se incorporado na forma de cristais de HAp [34,88]. Também apresenta importante papel em atividade extracelular, viabilizando o surgimento de novas células [34,89,90].

Em relação aos mecanismos de ação do Mg nos cristais ósseos, é capaz de ligar-se à superfície de cristais de apatita retardando seu crescimento, agindo na formação de cristais menores [91,92]. No estudo realizado por Burnell *et al.* [93], ratos que receberam excessivas quantidades de Mg apresentaram cristais minerais ósseos de tamanhos menores em relação aos animais tomados como controle, enquanto que o tamanho e perfeição de cristais ósseos vistos por Boskey *et al.* [94] em ratos com deficiência de Mg foram de tamanhos maiores.

Em outro estudo, Cohen e Kitzes [95] avaliaram por meio de espectroscopia FTIR a relação entre a deficiência de Mg no organismo e a ocorrência de osteoporose em mulheres na pós-menopausa. Foi verificado no estudo que houve uma relação inversa entre o teor de Mg nos ossos e a cristalinidade dos minerais ósseos: para mulheres com deficiência de Mg, cristais ósseos maiores e mais perfeitos no osso trabecular foram observados, enquanto que em mulheres com excesso de Mg no organismo apresentaram cristais ósseos de tamanhos menores [35,95].

Em relação às propriedades mecânicas do osso, a ocorrência de cristais minerais ósseos de grandes tamanhos confere ao osso baixa capacidade de carga e fragilidade, enquanto que cristais minerais de menores tamanhos conferem maior resistência ao osso [91–93,95]. Em animais, a fragilidade dos ossos é associada a deficiência de Mg, sendo relatados como quebradiços [96,97].

Em estudo feito por Wang *et al.* [98] em pré-adolescentes submetidas à reposição de Mg, foi verificada uma resposta positiva referentes às propriedades quantitativas observadas em ultrassom dos ossos com a reposição de magnésio, sugerindo o importante papel desse elemento para o desenvolvimento esquelético e crescimento ósseo de humanos.

## **2.4 VIDROS BIOATIVOS CONTENDO ADIÇÃO DE ÓXIDO DE MAGNÉSIO**

O interesse na incorporação de magnésio em vidros bioativos explica-se na sua capacidade de estimular formação óssea e por estar em altas concentrações nos ossos [37–39]. Vidros bioativos contendo óxido de magnésio foram estudados, verificando que a inserção de MgO mostrou-se capaz de promover alteração na superfície dos vidros silicatos, ajustando sua reatividade em ambiente biológico [10,99–101].

Oliveira *et al.* [37] sinalizou que o óxido de magnésio possui efeitos benéficos, causando melhoria nos estágios iniciais de mineralização e contribuindo para contato íntimo com o tecido vivo. O estudo feito por Al-Noaman *et al.* [34] relata que a composição de vidros contendo magnésio é mais complexa quando comparada a outros vidros bioativos, verificando que o magnésio não inibe formação de apatita, mas retarda deposição e saturação de cálcio e fosfatos em solução, importante fator na nucleação e crescimento da apatita, podendo ser interessante no controle de liberação iônica.

Zhang e Santos [41] realizaram experimentos de diluição em meio fisiológico com vidros e vitro-cerâmicas do sistema  $50\text{CaO}-40\text{P}_2\text{O}_5-5\text{MgO}-5\text{Na}_2\text{O}$  (em % molar), concluindo que os vidros e vitro-cerâmicas contendo CaO e  $\text{P}_2\text{O}_5$  com adições de MgO e  $\text{Na}_2\text{O}$  apresentam bom potencial no campo da biomedicina como substitutos ósseos, assim como no transporte e liberação de medicamentos.

Walter *et al.* [42] analisou vidros fosfatos contendo CaO e MgO como modificadores, verificando que o decréscimo de  $\text{P}_2\text{O}_5$  (% molar) de 39,4 a 28,7 e a adição simultânea de MgO de 0 a 22,8 (% molar) tornou a estrutura vítrea mais compacta.

Franks *et al.* [38], durante estudos com vidros fosfatos contendo adições de MgO em substituição ao CaO, constatou que amostras contendo 7% mol ou mais de MgO apresentaram aumento de proliferação celular visto no teste MTT para células MG63. Ahmed *et al.* [39] investigou vidros fosfatos contendo óxido de magnésio e os resultados sugeriram que a degradação das amostras contendo teor fixo de 40% (em mol) de  $\text{P}_2\text{O}_5$  foram capazes de fornecer resposta de citocompatibilidade favorável.

No estudo feito por Sharmin *et al.* [23] os vidros bioativos dos sistemas  $45\text{P}_2\text{O}_5-16\text{CaO}-(15-x)\text{Na}_2\text{O}-24\text{MgO}-x\text{B}_2\text{O}_3$  e  $50\text{P}_2\text{O}_5-16\text{CaO}-(10-x)\text{Na}_2\text{O}-24\text{MgO}-x\text{B}_2\text{O}_3$  (com  $x=0, 1$  e 5% molar) apresentaram boa estabilidade térmica e boa resposta celular para células MG63, viabilizando a proliferação celular. Em sintonia, Zhu *et al.* [102] investigou o vidro borofosfato de composição  $48\text{P}_2\text{O}_5-12\text{B}_2\text{O}_3-14\text{CaO}-20\text{MgO}-1\text{Na}_2\text{O}-5\text{Fe}_2\text{O}_3$  (em % molar), constatando citocompatibilidade para a composição, com efeitos positivos referentes a atividade metabólica celular, a proliferação, a diferenciação e a morfologia.

## CAPÍTULO 3: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo, uma revisão bibliográfica é realizada com o objetivo de destacar conceitos e teorias que possibilitem uma discussão sobre os resultados obtidos no presente trabalho.

### 3.1 Comportamento do pH de soluções contendo vidros bioativos com MgO

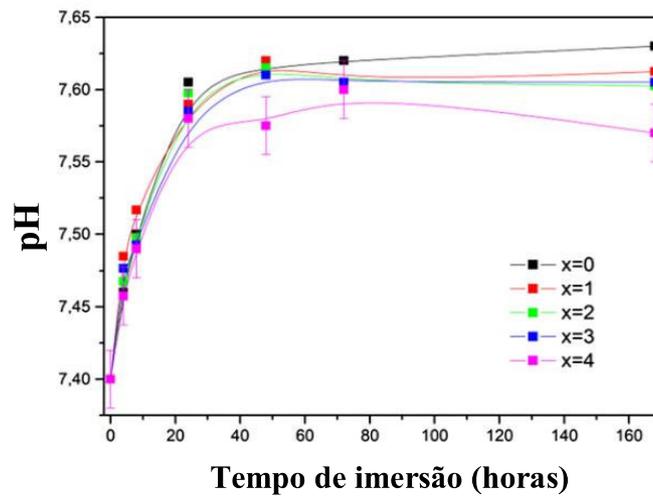
O comportamento de dissolução de vidros bioativos é de extrema importância na análise da solubilidade destes biomateriais [55]. A liberação de espécies iônicas da matriz vítrea causada por reações com íons da solução é refletida nos valores de pH medidos em função do tempo, que indicam aumento ou decréscimo da alcalinidade/acidez ou neutralidade da solução contendo amostra [55,62,63].

O magnésio é tipicamente conhecido por melhorar propriedades como a estabilidade química, sendo acompanhada muitas vezes da redução da reatividade superficial dos vidros [34,103]. Entretanto, o aumento ou redução da solubilidade de vidros em função da concentração de MgO é diretamente dependente das espécies formadoras da rede, das substituições realizadas e dos demais reagentes incorporados ao vidro, tornando complexa a análise de vidros bioativos multicomponentes [34].

Ademais, estudos sobre vidros bioativos relatam a influência do pH na fase de fosfato de cálcio precipitada na superfície do vidro [62,63]. Em face destas observações, faz-se necessário o acompanhamento da evolução das trocas iônicas durante o teste de bioatividade em vidros.

No estudo realizado por Massera [104], o sistema vítreo  $53,85\text{SiO}_2\text{-}22,66\text{Na}_2\text{O}\text{-}1,72\text{P}_2\text{O}_5\text{-(}21,77\text{-}x\text{)CaO-xMgO}$  ( $x=0, 1, 2, 3$  e  $4\%$  mol) foi sintetizado e as modificações nas propriedades físicas foram analisadas com base na substituição do CaO por MgO. Testes de bioatividade em SBF foram conduzidos durante 7 dias (168 horas) para as amostras sintetizadas e as medidas de pH obtidas podem ser observadas na Figura 7.

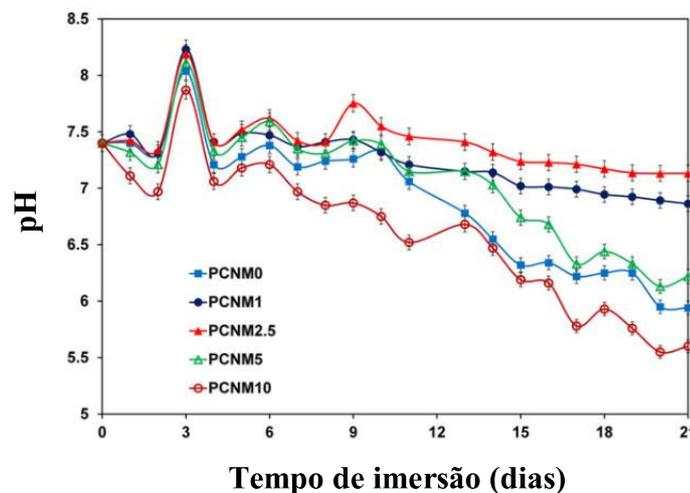
As soluções SBF contendo os vidros silicatos com MgO tornaram-se alcalinas rapidamente nas primeiras 24 horas de imersão, reflexo do processo de degradação da rede silicato e da liberação de outros íons alcalinos na solução, que aumentam o pH do meio [104].



**Figura 7.** Medidas de pH das soluções SBF em função do tempo de imersão. **Fonte:** Adaptado de Massera (2012) [104].

A partir de 35 horas de imersão, verificou-se a saturação das soluções SBF por meio dos valores de pH medidos. Observou-se pelo gráfico de pH em função do tempo que, aos 7 dias de imersão, as variações de pH são menores para os vidros com maiores concentrações de MgO, evidenciando um comportamento de liberação iônica reduzido [34,104].

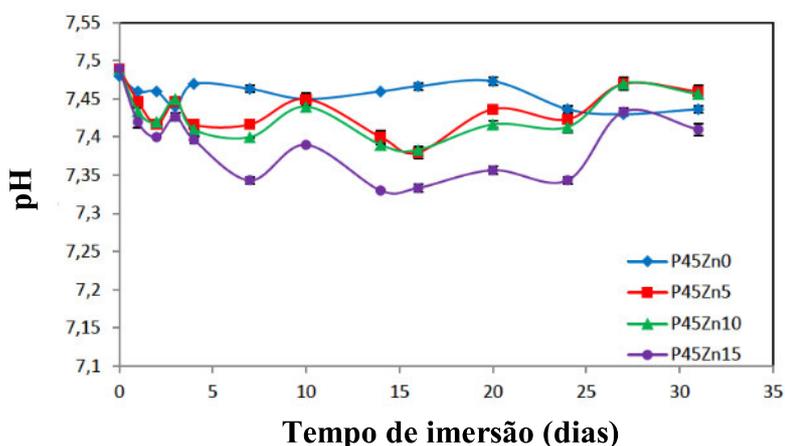
No estudo realizado por Rajkumar [105], o comportamento da curva do pH para as amostras vítreas do sistema  $45P_2O_5-30CaO-(25-x)Na_2O-xMgO$  ( $x = 0, 1, 2,5, 5$  e  $10$  %mol) foi verificado em solução SBF e analisado em função dos teores de MgO incorporados. Os dados de pH medidos estão inseridos na Figura 8, onde o valor inicial de pH para todas as soluções foi de 7,4 [16,105].



**Figura 8.** Valores de pH das soluções de SBF contendo amostras do sistema  $45P_2O_5-30CaO-(25-x)Na_2O-xMgO$  ( $x = 0, 1, 2,5, 5$  e  $10$  %mol) para 21 dias de imersão. **Fonte:** Adaptado de Rajkumar (2012) [105].

Aos 21 dias de imersão em SBF, todas as soluções exibiram valor de pH inferior ao valor inicial de 7,4, tendendo a tornar-se ácidas. De modo geral, as variações de pH para vidros contendo MgO foram menores [34]. As amostras do estudo exibiram bioatividade em SBF aos 21 dias, exceto a amostra PCNM10 (contendo 10%mol de MgO) [105]. O decréscimo de pH visto em função do tempo de imersão concorda com relatos bibliográficos para vidros fosfatos bioativos, que tendem a degradar formando lixiviados mais ácidos [105–107].

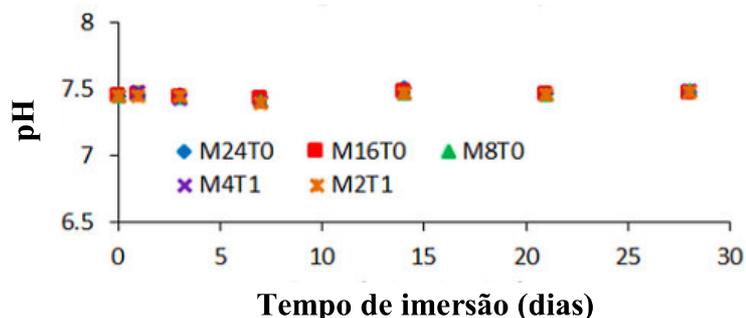
De modo similar ao que foi observado no estudo de Rajkumar [105], no estudo feito por Wang [108] é visto o comportamento da série vítrea  $45\text{P}_2\text{O}_5\text{-}24\text{MgO}\text{-}16\text{CaO}\text{-}(15\text{-}x)\text{Na}_2\text{O}\text{-}x\text{ZnO}$  ( $x = 0, 5, 10$  e  $15\%$  mol) em solução salina de fosfato (PBS) durante 31 dias de imersão. As medidas de pH obtidas para as amostras estão na Figura 9. O pH inicial das soluções PBS contendo amostras de vidro fosfato no início do experimento foi de  $\sim 7,5$ .



**Figura 9.** Medidas de pH para o sistema vítrea  $45\text{P}_2\text{O}_5\text{-}24\text{MgO}\text{-}16\text{CaO}\text{-}(15\text{-}x)\text{Na}_2\text{O}\text{-}x\text{ZnO}$  ( $x = 0, 5, 10$  e  $15\%$  mol) em solução PBS a  $37^\circ\text{C}$  durante 31 dias. **Fonte:** Adaptado de Wang (2019) [108].

As soluções mostraram uma tendência à acidez em função do tempo de imersão, fato atribuído na literatura à hidrólise da rede fosfato [107,108]. As análises do estudo de Wang foram feitas em função da variação do ZnO substituindo o  $\text{Na}_2\text{O}$ , onde a concentração de MgO foi mantida constante. Contudo, observa-se pela Figura 9 que alta concentração de MgO ( $24\%$ mol) nas amostras não foi um fator limitante para o comportamento de degradação [108].

No estudo realizado por Islam *et al.* [109], vidros do sistema  $40\text{P}_2\text{O}_5\text{-}(40\text{-}x)\text{CaO}\text{-}x\text{MgO}\text{-}(20\text{-}y)\text{Na}_2\text{O}\text{-}y\text{TiO}_2$  (com  $x = 0$  a  $24\%$ mol e  $y = 0$  a  $1\%$ mol) foram investigados e a formação de fosfatos de cálcio *in vitro* foi avaliada. Durante os 28 dias de imersão, medidas de pH foram realizadas para todas as amostras de vidro fosfato, podendo ser visualizadas na Figura 10.



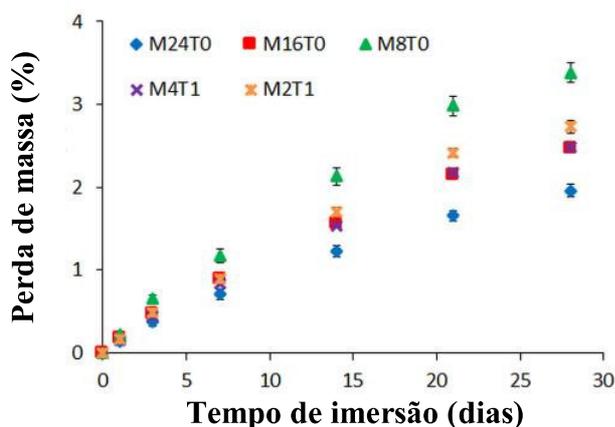
**Figura 10.** Medidas de pH das amostras durante 28 dias em solução PBS. **Fonte:** Islam *et al.* (2017) [109].

Foram obtidos valores aproximados de pH para as amostras em todos os períodos de imersão. A inobservância de aumento do pH com a liberação de íons alcalinos e alcalino-terrosos na solução é atribuída à liberação simultânea de espécies ácidas da rede fosfato que atenuam o acréscimo do pH, refletindo em valores neutros [109].

### 3.2 Perda de massa de vidros bioativos contendo MgO

No estudo de degradação dos sistemas vítreos bioativos, outro parâmetro importante é a perda de massa das amostras (também abordada em muitos estudos como perda de peso) durante os períodos de imersão [55].

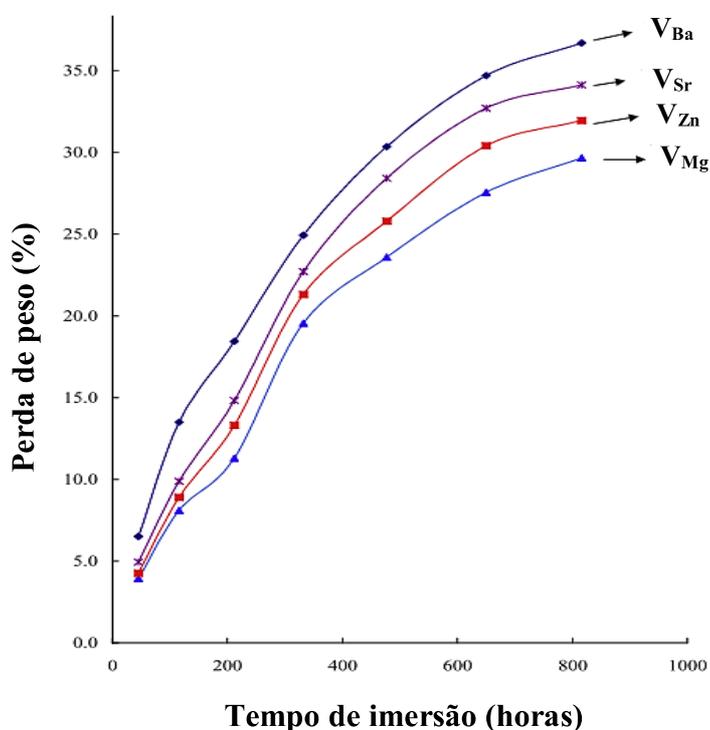
No estudo realizado por Islam *et al.* [109], já citado, os valores de pH obtidos (Figura 10) não exibiram variações consideráveis em função do tempo de imersão. Contudo, a perda de massa foi determinada para todas as amostras e pode ser observada na Figura 11.



**Figura 11.** Perda de massa (%) para as amostras após 28 dias de imersão em solução PBS a 37 °C. **Fonte:** Adaptado de Islam *et al.* (2017) [109].

Os autores verificaram o aumento da perda de massa das amostras (de 1,9% para 3,4%) para as composições que exibiram redução do teor de MgO (de 24% para 8%mol). Diferentemente do que foi visto nas medidas de pH, na verificação da perda de massa percentual foi possível observar a influência da concentração de MgO no comportamento de degradação dos vidros [109].

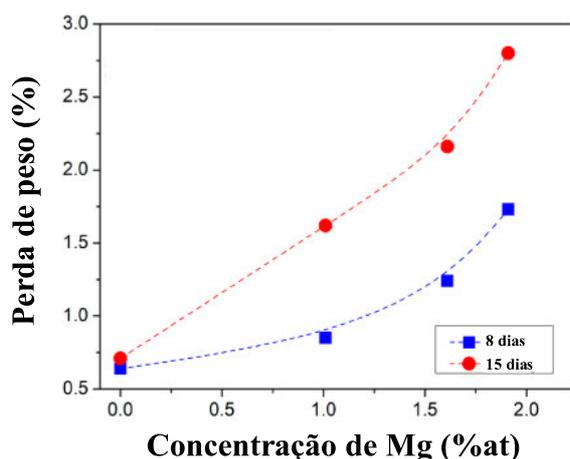
Em estudo posterior realizado por Kumari *et al.* [110], vidros bioativos do sistema  $\text{CaF}_2\text{-CaO-B}_2\text{O}_3\text{-P}_2\text{O}_5\text{-V}_2\text{O}_5$  contendo adições de BaO/MgO/SrO/ZnO foram sintetizados. As amostras contendo diferentes modificadores de rede foram imersas em SBF e a perda de peso em função do tempo foi verificada. Os resultados estão demonstrados na Figura 12.



**Figura 12.** Percentual de perda de peso dos vidros do sistema  $\text{CaF}_2\text{-CaO-B}_2\text{O}_3\text{-P}_2\text{O}_5\text{-V}_2\text{O}_5$ : BaO/MgO/SrO/ZnO imersos em SBF em função do tempo de imersão. **Fonte:** Adaptado de Kumari *et al.* (2018) [110].

Foi visto no estudo de Kumari *et al.* [110] que a amostra contendo BaO exibiu maior perda de peso para todos os tempos em SBF, seguida das amostras contendo SrO, ZnO e MgO, respectivamente. O comportamento de menor perda de peso da amostra V<sub>Mg</sub> foi justificado pelas características do cátion  $\text{Mg}^{2+}$ , que exibe alta força de campo, tornando o sistema vítreo mais rígido e menos solúvel, evidenciado pela menor degradação em função do tempo quando comparado ao efeito causado pelos cátions  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  na rede vítreo [110].

No estudo conduzido por Wójcik *et al.* [107], vidros contendo Mg foram investigados em função das substituições de Na<sub>2</sub>O por MgO. Os resultados obtidos para o comportamento de solubilidade dos vidros contendo maiores concentrações de MgO contrariam vários relatos bibliográficos [34,104,110]. O comportamento pode ser observado na Figura 13, que exibe os dados de perda de peso para 8 e 15 dias de imersão em função da concentração de Mg.



**Figura 13.** Perda de peso (%) em função da concentração atômica (at%) de Mg nos vidros para 8 e 15 dias de imersão em solução PBS. **Fonte:** Adaptado de Wójcik *et al.* (2021) [107].

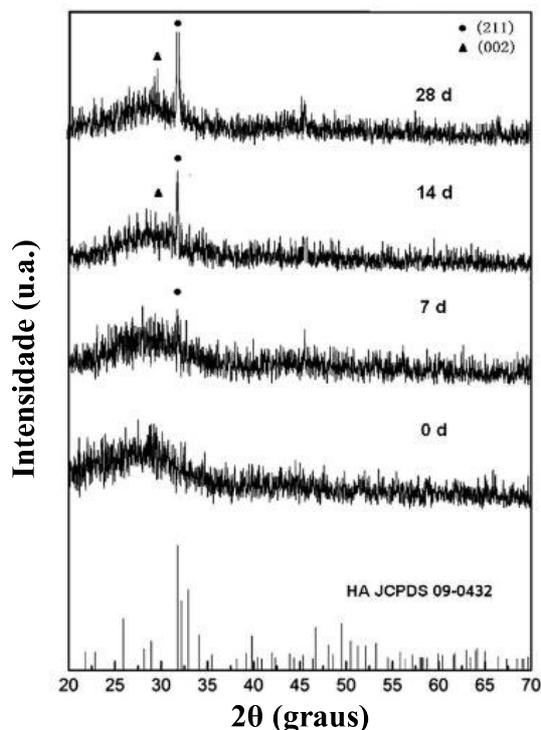
No estudo, as amostras contendo maiores teores de magnésio exibiram maior perda de peso em solução PBS. Os autores justificaram que as concentrações iônicas da solução PBS (que apresenta grande quantidade de íons de sódio) influenciaram a degradação dos materiais sintetizados, onde a saturação de Na<sup>+</sup> na solução favoreceu a difusão do Mg<sup>2+</sup> no meio, tornando os sistemas vítreos com maior concentração de MgO mais solúveis quando imersos em solução salina de fosfato [107].

### 3.3 Análise da bioatividade de vidros contendo MgO por difratometria de raios-X (DRX)

A constatação da bioatividade de materiais é realizada após a sua imersão em fluido corporal simulado e, sequencialmente, utilizando-se de técnicas de caracterização para comprovar a ocorrência de precipitação de uma ou mais fases cristalinas de fosfato de cálcio na sua superfície. Uma das técnicas utilizadas na investigação da bioatividade de vidros é a técnica de DRX [16].

No estudo elaborado por Zheng *et al.* [111], a biocompatibilidade de fibras de vidro do sistema 10Na<sub>2</sub>O–10K<sub>2</sub>O–20CaO–5MgO–5SrO–10B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>–40P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (%mol) foi verificada. As

análises DRX foram realizadas antes e após imersão em SBF para diferentes períodos de tempo. Os padrões DRX obtidos podem ser visualizados na Figura 14.



**Figura 14.** Espectro DRX das fibras de vidro antes e após imersão em SBF para diferentes períodos de tempo.

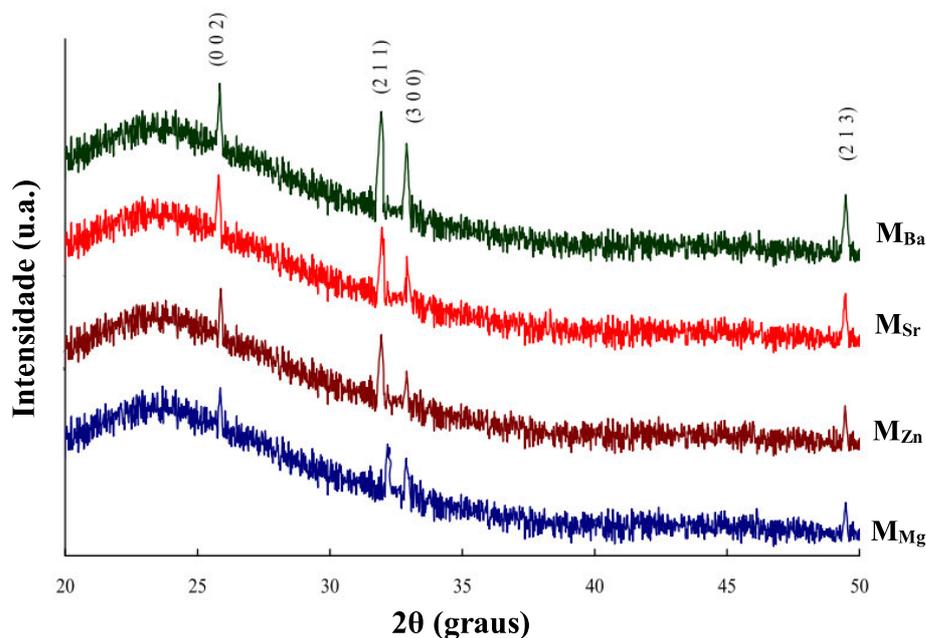
**Fonte:** Adaptado de Zheng *et al.* (2012) [111].

Antes da imersão em SBF (0 dias), o difratograma de DRX da fibra de vidro borofosfato sintetizada exibiu apenas bandas largas e amorfas. Após 7 dias de imersão, ocorreu o aparecimento de um estreitamento pouco pronunciado em  $31,1^\circ$  ( $2\theta$ ), sugerindo a deposição de HAp amorfa ou pouco cristalina na superfície do material imerso. Após 14 dias de imersão em SBF, o pico em  $31,1^\circ$  correspondente ao plano (2 1 1) da HAp cristalina foi mais pronunciado. Para 28 dias de imersão em SBF, dois picos foram vistos em  $31,1$  e  $29,8^\circ$ , correspondendo aos planos (2 1 1) e (0 0 2) da HAp [111].

Portanto, é possível observar nos difratogramas da Figura 14 a evolução do surgimento de fases cristalinas na superfície das amostras, em função do tempo de imersão, por meio do aumento da cristalinidade da apatita formada [62,111]. Desta forma, a análise DRX (antes e após imersão) sugeriu bioatividade do compósito em SBF [111].

Sobhanachalam *et al.* [112] investigou a bioatividade em SBF de uma série de vidros contendo adição de óxidos modificadores alcalino-terrosos, incluindo o sistema  $15\text{CaF}_2-10\text{CaO}-5\text{B}_2\text{O}_3-64,5\text{P}_2\text{O}_5-0,5\text{Fe}_2\text{O}_3-5\text{MgO}$  (%mol), identificando no seu estudo a amostra que

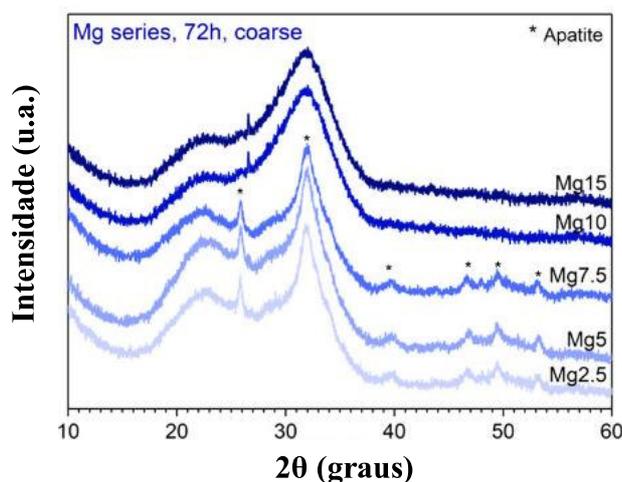
contém MgO como “M<sub>Mg</sub>”. A difratometria de raios-X foi utilizada para confirmar a formação de HAp na superfície das amostras após imersão e os dados obtidos estão demonstrados na Figura 15.



**Figura 15.** Padrões DRX dos vidros do sistema 15CaF<sub>2</sub>–10CaO–5B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>–64,5P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>–0,5Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>–5MO (MO = BaO/SrO/ZnO/MgO) após imersão em solução SBF por 30 dias. **Fonte:** Adaptado de Sobhanachalam *et al.* (2017) [112].

Todas as amostras do estudo exibiram bioatividade aos 30 dias em SBF, evidenciadas pela análise DRX. O difratograma da amostra M<sub>Mg</sub> indicou aparecimento de picos pouco intensos de difração correspondentes aos planos (0 0 2), (2 1 1) e (3 0 0), sugerindo a formação de HAp pouco cristalina [112].

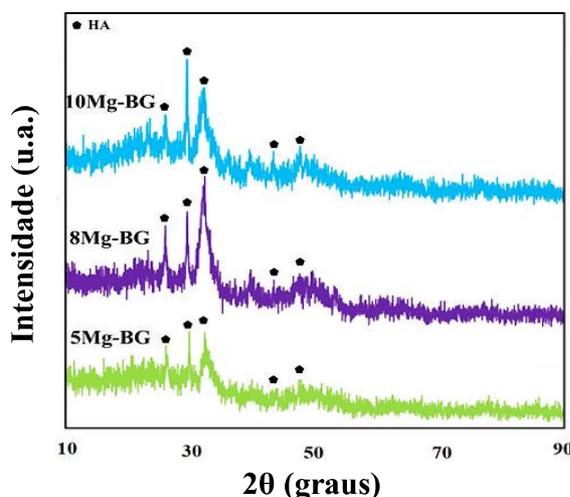
No estudo realizado por Wetzel [113], duas séries vítreas foram investigadas, incluindo o sistema 46,1SiO<sub>2</sub>-2,6P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-24,4Na<sub>2</sub>O-(26,9-x)CaO-xMgO (x = 0 a 6,7%mol) na forma de partículas vítreas de granulometria grossa e fina. As partículas de vidro foram submetidas a teste de bioatividade por 3 dias em solução tampão Tris. Os difratogramas de DRX para as partículas grossas com variadas concentrações de Mg estão inseridas na Figura 16.



**Figura 16.** Difratogramas de DRX das partículas de vidro grossas após imersão em solução tampão Tris por 3 dias. **Fonte:** Adaptado de Wetzel (2020) [113].

Nos difratogramas de DRX da Figura 16 foi possível observar formações de picos estreitos e largos (\*), atribuídos a precipitação de apatita [113]. Também foi possível observar que o aumento do teor de magnésio nas partículas grossas de vidro bioativo causou redução da intensidade dos picos e formação de halos amorfos no difratograma das amostras. Os resultados de DRX deste estudo evidenciaram o efeito da concentração de MgO na cristalinidade da apatita formada na superfície do material [34,113].

Sharifianjazi *et al.* [114] analisou duas séries vítreas com substituições de CaO por SrO e MgO. A bioatividade das amostras foi investigada e os difratogramas de DRX após imersão dos vidros do sistema  $60\text{SiO}_2-4\text{P}_2\text{O}_5-(36-x)\text{CaO}-x\text{MgO}$  ( $x = 5, 8$  e  $10\%$ mol) foram obtidos. Os resultados podem ser observados na Figura 17.



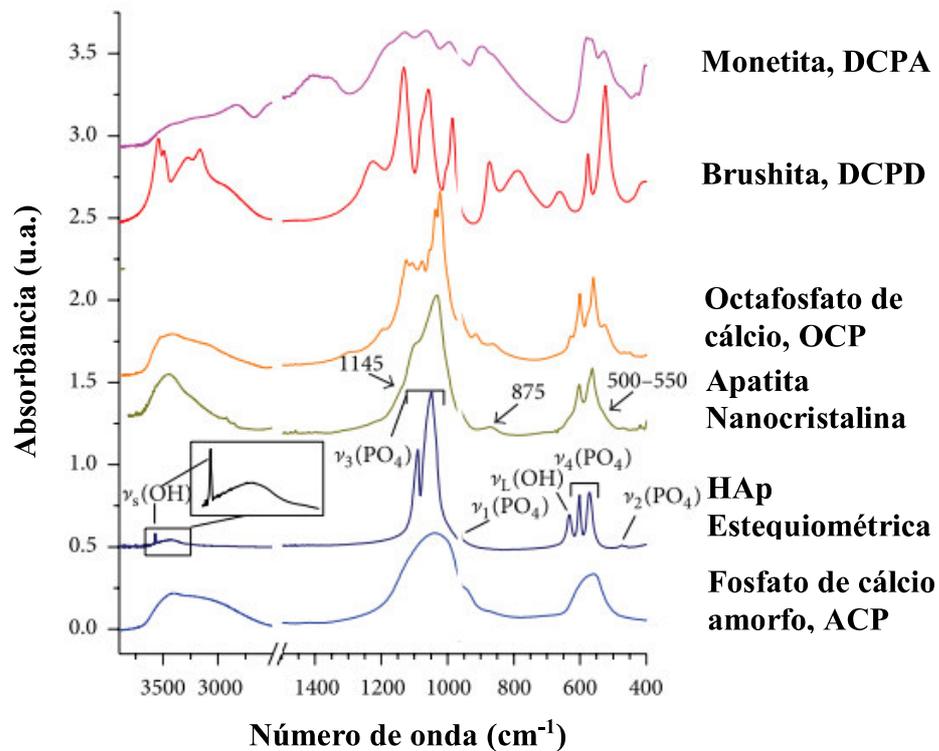
**Figura 17.** Difratogramas de DRX das amostras contendo diferentes concentrações de MgO após imersão em SBF por 14 dias. **Fonte:** Adaptado de Sharifianjazi *et al.* (2020) [114].

As amostras da Figura 17 exibiram bioatividade aos 14 dias de imersão, com picos característicos de HAp para todos os vidros contendo MgO. A intensidade dos picos verificados dos difratogramas indicam precipitação de HAp pouco cristalina [62]. No estudo, a substituição de CaO por MgO não comprometeu a formação de apatita e os autores relataram melhor bioatividade para amostra 8Mg-BG (contendo 8%mol de MgO) [114].

### 3.4 Análise da bioatividade de vidros contendo MgO por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

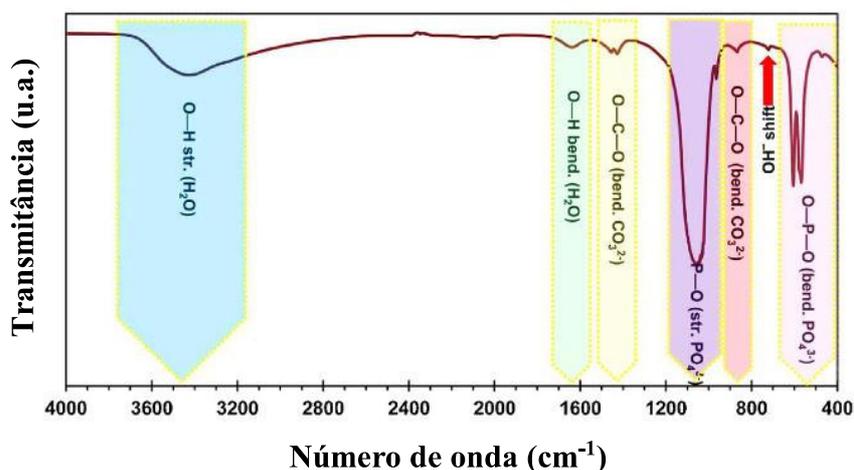
Para verificar a evolução da formação de fases de fosfato de cálcio na superfície de vidros bioativos, são obtidos os espectros FTIR das amostras após imersão em solução SBF. Posteriormente, os espectros FTIR obtidos para as amostras são comparados aos picos e às bandas dos espectros FTIR de referência para fosfatos de cálcio e apatitas, a fim de identificar os modos vibracionais característicos nos espectros das amostras testadas [16].

A Figura 18 exibe espectros FTIR, no modo absorbância, referentes a diferentes fosfatos de cálcio de interesse biológico [62].



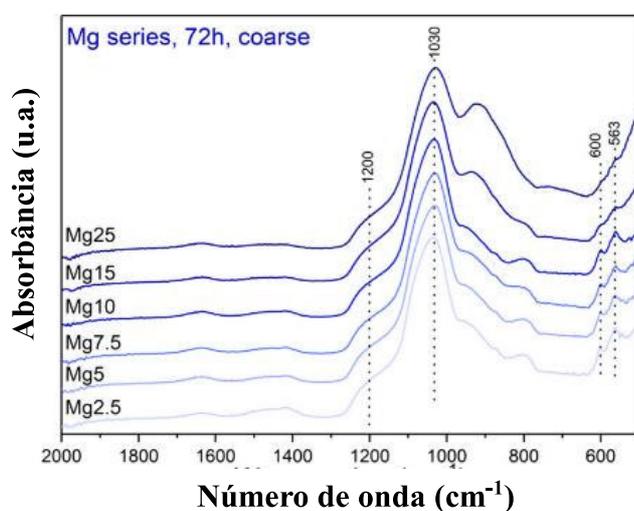
**Figura 18.** Espectros FTIR característicos ( $400\text{-}1500\text{cm}^{-1}$ ) para monetita (DCPA), brushita (DCPD), octafosfato de cálcio (OCP), apatita nanocristalina, HAp estequiométrica e fosfato de cálcio amorfo (ACP). **Fonte:** Adaptado de Drouet (2013) [62].

Na Figura 19 é fornecido o espectro da fluorapatita nanométrica (FAP) no modo transmitância, contendo as vibrações típicas desta apatita na região do infravermelho (400-1500 $\text{cm}^{-1}$ ) [115].



**Figura 19.** Espectro FTIR característico (400-1500 $\text{cm}^{-1}$ ) da FAP nanométrica. **Fonte:** Adaptado de Karimi *et al.* (2017) [115].

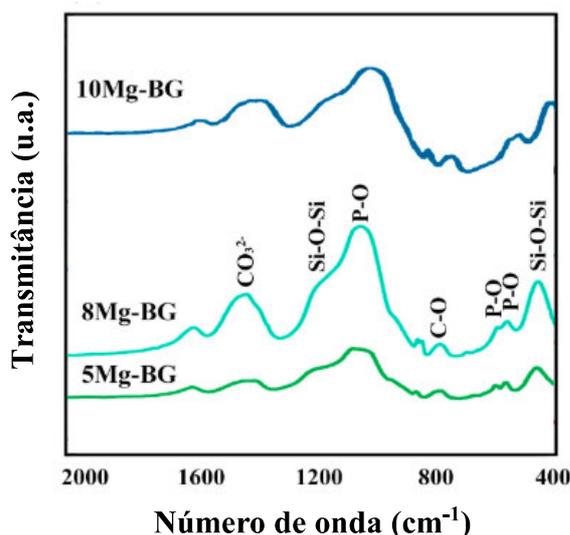
A identificação dos modos vibracionais característicos das espécies de fosfato de cálcio em amostras examinadas após imersão em fluido corporal simulado é uma confirmação da bioatividade [16]. No estudo realizado por Wetzel, as amostras contendo diferentes concentrações de MgO foram submetidas à espectroscopia de absorção na região do infravermelho após imersas, a fim de analisar qualitativamente as fases precipitadas na superfície. Os espectros FTIR das partículas de vidro estão inseridos na Figura 20 [113].



**Figura 20.** Espectros FTIR das partículas de vidro grossas após imersão em solução tampão Tris por 3 dias. **Fonte:** Adaptado de Wetzel (2020) [113].

Foi possível observar uma sequência de modificações nos espectros após 72 horas de imersão com a substituição de CaO por MgO. A redução das bandas relacionadas à fosfatos de cálcio localizadas em 563, 600 e 1030 $\text{cm}^{-1}$  com o aumento da concentração de MgO nos vidros indicou tendência decrescente de precipitação de apatita e de menor reatividade das amostras com maior concentração de MgO. Os espectros FTIR obtidos concordam com a tendência observada nos difratogramas de DRX (exibidos anteriormente na Figura 16), onde as amostras Mg2,5, Mg5 e Mg7,5 exibiram bioatividade aos 3 dias [113].

No trabalho realizado por Sharifianjazi *et al.* (2020) [114], os espectros FTIR para o sistema vítreo 60SiO<sub>2</sub>-4P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-(36-x)CaO-xMgO (x=5, 8 e 10%mol) foram obtidos após imersão em SBF por 14 dias. Os resultados podem ser observados na Figura 21.



**Figura 21.** Espectros FTIR das amostras 5Mg-BG, 8Mg-BG e 10Mg-BG após 14 dias de imersão em SBF.

**Fonte:** Adaptado de Sharifianjazi *et al.* (2020) [114].

Verificou-se o surgimento de absorções nas mesmas posições para todas as amostras. Os modos vibracionais das ligações P-O emergiram nos números de onda 567 e 604  $\text{cm}^{-1}$  (atribuídos à formação de HAp cristalina) e em 1059  $\text{cm}^{-1}$  (atribuídos à formação de fosfato de cálcio amorfo) [62,114]. Em 873  $\text{cm}^{-1}$  ocorreu a banda referente aos modos vibracionais de ligações C-O e os picos em 1425 e 1455  $\text{cm}^{-1}$  indicaram a presença de grupos CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, sugerindo a precipitação de apatita carbonatada [62,114]. A amostra contendo 8% mol de MgO exibiu bandas mais intensas comparadas as amostras com adições de 5 e 10%mol [114].

## CAPÍTULO 4: MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

Os reagentes utilizados na síntese das amostras vítreas foram: fluoreto de cálcio ( $\text{CaF}_2$ , pureza  $\geq 99\%$ ), óxido de magnésio ( $\text{MgO}$ , pureza  $\geq 99\%$ ), pentóxido de difósforo ( $\text{P}_2\text{O}_5$ , pureza  $\geq 99\%$ ), carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , pureza  $\geq 99,5\%$ ) e trióxido de diboro ( $\text{B}_2\text{O}_3$ , pureza  $\geq 99,98\%$ ). Todos os reagentes utilizados são da marca *Sigma-Aldrich*.

### 4.2 Metodologia de síntese das amostras

As composições das amostras, conforme o sistema vítreo  $40\text{B}_2\text{O}_3\text{--}25\text{P}_2\text{O}_5\text{--}(20\text{-x})\text{Na}_2\text{O--}15\text{CaF}_2\text{--xMgO}$  ( $x = 0, 2,5, 5, 7,5$  e  $10\%$  em mol), se encontram identificadas na Tabela 5.

**Tabela 5.** Nomenclatura e composição das amostras em porcentagem molar (%mol) e em peso (%wt).

Amostras	$\text{B}_2\text{O}_3$ (%)		$\text{P}_2\text{O}_5$ (%)		$\text{Na}_2\text{O}^*$ (%)		$\text{CaF}_2$ (%)		$\text{MgO}$ (%)	
	mol	wt	mol	wt	mol	wt	mol	wt	mol	wt
<b>Mg_0</b>	40	31,85	25	40,58	20	14,18	15	13,39	-	-
<b>Mg_2,5</b>	40	32,05	25	40,84	17,5	12,48	15	13,48	2,5	1,16
<b>Mg_5</b>	40	32,25	25	41,09	15	10,77	15	13,56	5	2,33
<b>Mg_7,5</b>	40	32,45	25	41,35	12,5	9,03	15	13,65	7,5	3,52
<b>Mg_10</b>	40	32,66	25	41,61	10	7,27	15	13,73	10	4,73

Fonte: Elaboração própria.

\*Obtido pela calcinação do  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

O reagente óxido de sódio ( $\text{Na}_2\text{O}$ ) é obtido por redução a partir do carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Para isso, é necessário um processo de calcinação, onde ocorre liberação de  $\text{CO}_2$  e, com isso, o reagente  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  é reduzido à  $\text{Na}_2\text{O}$ . O procedimento é realizado em forno de atmosfera a ar (à temperatura de  $900^\circ\text{C}$ ) incluso na rampa de aquecimento para fusão dos reagentes.

Inicialmente, para cada amostra vítrea a ser obtida, os reagentes foram pesados em balança analítica (Modelo AUW220D, da marca *SHIMADZU*), misturados em almofariz de ágata e levados ao forno em cadinho de platina. Em razão do processo de calcinação, para a pesagem do reagente  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , é feita uma correção multiplicando o valor da massa de  $\text{Na}_2\text{O}$  (vide estequiometria da respectiva amostra vítrea) por um fator de correção igual a 1,71. O valor resultante corresponde ao valor em massa do reagente  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a ser pesado em balança analítica.

As amostras foram obtidas por meio do método convencional de fusão/resfriamento utilizando fornos de atmosfera a ar (Modelo LF0061401 da marca *JUNG*).

Os reagentes passaram por fusão em uma rampa de aquecimento de 10°C/min até a temperatura de 1150°C, sendo posteriormente vertidos em molde de aço inoxidável aquecido até temperatura próxima da temperatura de transição vítrea (em 500°C). Após o choque térmico, foi realizado o desmolde e a amostra permaneceu em forno para tratamento térmico à temperatura de 450°C durante 4 horas. Por fim, posteriormente ao tratamento térmico, o forno foi desligado e a amostra foi retirada do forno em temperatura ambiente.

O procedimento de síntese das amostras foi realizado no Laboratório de Preparação de Materiais Vítreos (LPMV), sediado na Unidade de Preparação de Caracterização de Materiais, UPCM (UFMA, Unidade Avançada Bom Jesus).

### **4.3 Técnicas para caracterização e estudo dos materiais obtidos**

Os procedimentos de caracterização das amostras estão descritos nos itens que seguem. As amostras sintetizadas foram caracterizadas estruturalmente por meio de verificações de Difractometria de Raios-X (DRX), Densidade Volumétrica ( $\rho$ ) e Volume Molar ( $V_m$ ); submetidas à análise vibracional por meio de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR); e caracterizadas termicamente por meio de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

A bioatividade foi verificada por meio de teste *in vitro* de formação de fosfatos de cálcio e/ou apatitas em SBF. Concomitante aos testes *in vitro* em SBF, foram realizadas as medidas de pH da solução e, ao término da imersão, a perda de massa das amostras também foi verificada.

Além disso, a infraestrutura utilizada para realização das caracterizações está descrita nos itens aqui discriminados.

#### **4.3.1 Caracterização Estrutural**

##### **4.3.1.1 Difractometria de Raios-X (DRX)**

Neste estudo, as amostras foram submetidas à técnica de difratometria de raios-X (DRX) antes e após imersão em SBF. A verificação antes da imersão em SBF foi realizada para comprovação da natureza amorfa dos materiais obtidos. A verificação após imersão em SBF foi realizada para detecção de formação de fases cristalinas de fosfatos de cálcio na superfície das amostras imersas [61].

A instrumentação utilizada nesta caracterização consistiu em um difratômetro (Modelo *Empyean*, da marca *PANalytical*), operando com radiação  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ) de geometria

Bragg-Bretano, com monocromador de grafite pirolítico, câmara de temperatura Anton-Paar, modelo *TTK 450*, utilizando passo angular de  $0,02^\circ$ , com varredura angular de  $10-60^\circ$  ( $2\theta$ ) e tempo de aquisição de 2 segundos. O equipamento pode ser visualizado na Figura 22.



**Figura 22.** Difratorômetro (Modelo *Empyrean*, da marca *PANalytical*) utilizado na obtenção dos difratogramas DRX das amostras sintetizadas. **Fonte:** Acervo próprio.

As medidas de DRX do presente estudo foram realizadas no Laboratório de Difração de Raios-X (LDRX) da UPCM (UFMA, Unidade Avançada Bom Jesus), coordenado pelo Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos.

#### **4.3.1.2 Densidade Volumétrica ( $\rho$ ) e Volume Molar ( $V_m$ )**

A principal propriedade física dos sólidos e a mais simples de ser medida é a densidade [50]. A densidade de um material pode ser alterada por meio de substituição de constituintes, preenchimento de espaços intersticiais ou pela mudança do número de coordenação de íons presentes causadas por rearranjos, por exemplo. Para os vidros, é uma das propriedades mais importantes, capaz de detectar mudanças estruturais [20,61,116].

No presente estudo, as verificações de densidade e volume molar para os vidros foram feitas baseadas no princípio de Arquimedes [50]. Para isso, são realizadas as medidas de massa

das amostras em ar ( $m_c$ ) e, posteriormente, feitas as medidas da massa das amostras imersas em água ( $m_L$ ).

Pelo método empregado, a equação 1 é utilizada na determinação do parâmetro de densidade dos vidros. O valor a ser considerado para densidade da água ( $\rho_L$ ) é de 0,99707g/cm<sup>3</sup> a 25 °C [24].

$$\rho = \left( \frac{m_c}{m_c - m_L} \right) \rho_L \quad \text{(Equação 1)}$$

Após determinada a densidade ( $\rho$ ) de cada amostra, é feito o cálculo do Volume Molar ( $V_m$ ) dos vidros sintetizados. Na determinação do volume molar, faz-se a divisão entre a massa molecular da amostra ( $M$ ) e a densidade (obtida pela equação 1), como pode ser observado na equação 2.

$$V_m = \frac{M}{\rho} \quad \text{(Equação 2)}$$

As medidas de densidade das amostras foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia Óptica e Fototérmica (LEOF) da UPCM (UFMA, Unidade Avançada Bom Jesus), com utilização de balança analítica (Modelo *AUW220D* da marca *SHIMADZU*) com precisão de 0,01 mg.

#### **4.3.2 Caracterização Vibracional: Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)**

A utilização das análises espectrais FTIR foi necessária neste estudo antes e após imersão em SBF. Os espectros FTIR antes da imersão foram obtidos no intuito de identificar as ligações no sistema vítreo borofosfato contendo MgO, esclarecendo a ocorrência das interações entre os compostos nos sistemas vítreos sintetizados [117]. Após a imersão em SBF, são obtidos novos espectros FTIR para identificação dos modos vibracionais do material precipitado na superfície das amostras, complementando as caracterizações obtidas por DRX.

As medições de espectros FTIR foram realizadas com o material amostral em pó, dispersos em pastilhas de brometo de potássio (KBr) na proporção de 1% de material (amostra) para 200mg de pastilha, as quais foram submetidas às técnicas de absorvância óptica.

O aparato instrumental utilizado consistiu em um espectrômetro FTIR (Modelo *Vertex 70V*, da marca *BRUKER*), vide Figura 23. As medidas foram coletadas em temperatura ambiente, utilizando três fontes de excitação e detector InGaAs; e DLaTGS, com uma média de 32 varreduras e resolução espectral de  $4\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 23.** Espectrômetro FTIR (Modelo *Vertex 70V*, da marca *BRUKER*) utilizado na análise vibracional das amostras sintetizadas. **Fonte:** Acervo próprio.

As verificações de espectroscopia FTIR foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia Óptica e Fototérmica II (LEOF II), sediado na UPCM (UFMA, Unidade Avançada Bom Jesus). O aparato instrumental utilizado é coordenado pela Profa. Dra. Franciana Pedrochi.

#### **4.3.3 Caracterização Térmica: Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

A verificação dos eventos térmicos das amostras foi realizada por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Para as medidas de DSC utilizou-se em analisador térmico com detecção por fluxo de calor (Modelo *DSC-60*, da marca *SHIMADZU*) contendo  $\pm 35\text{mg}$  de material amostral em cadinho de platina, ocorrendo sob atmosfera de nitrogênio ( $60\text{ mL/min}$ ),

com razão de temperatura na faixa de 20 a 600°C e taxa de aquecimento de 10°C/min. O instrumento pode ser observado na Figura 24.



**Figura 24.** Analisador térmico com detecção por fluxo de calor (Modelo *DSC-60*, da marca *SHIMADZU*).  
**Fonte:** Acervo próprio.

As análises DSC das amostras foram realizadas no Laboratório de Análises Térmicas (LAT), que se localiza nas dependências da UPCM (UFMA, Unidade Avançada Bom Jesus).

#### **4.3.4 Bioatividade**

##### **4.3.4.1 Teste *in vitro* em SBF e Medidas de pH**

No presente estudo, foram realizadas análises da capacidade de formação de fosfatos de cálcio de interesse biológico das amostras em solução SBF, preparada conforme o protocolo proposto por Kokubo e Takadama [16].

Previamente à imersão, as amostras foram fatiadas em espessuras de  $\pm 1,2\text{mm}$  e polidas no intuito de promover ranhuras em suas faces (aumentando área de contato entre amostra e solução SBF). Posteriormente, as amostras foram fixadas verticalmente em um suporte de polipropileno e imersas em tubos de polipropileno contendo a solução SBF. O volume de solução SBF ( $v_s$ ) é obtido por meio da equação 3, que é dado em função da área superficial da amostra ( $v_a$ ) [16,118].

$$v_s = \frac{v_a}{10} \quad \text{(Equação 3)}$$

Os tubos foram colocados em banho-maria (Modelo N1030T, da marca *NOVATECNICA*) ajustado na temperatura de 36,5°C, permanecendo imersos por até 28 dias.

O banho-maria utilizado contendo os tubos de polipropileno imersos (fixados em suporte de isopor) pode ser visualizado na Figura 25.



**Figura 25.** Tubos de Falcon imersos em banho-maria com temperatura ajustada a 36,5 °C (Modelo N1030T, da marca NOVATECNICA) contendo amostras imersas em 25 ml de solução SBF. **Fonte:** Acervo próprio.

Durante a imersão das amostras nos tubos em banho-maria, o pH das soluções SBF foi criteriosamente verificado, sendo medido diariamente. O instrumento utilizado na verificação consistiu em um pHmetro microprocessado de bancada (Modelo PG1800, da marca *GEHAKA*) com precisão de 0,01 unidades, que pode ser visualizado na Figura 26. A verificação da calibração do pHmetro foi realizada antes das medições com o uso de soluções tampão ambientadas (de pH 4, 7 e 10).



**Figura 26.** pHmetro microprocessado de bancada utilizado para as leituras de potencial hidrogeniônico (Modelo PG1800, da marca *GEHAKA*). **Fonte:** Acervo próprio.

Toda instrumentação citada neste item está localizada na Central Analítica da UPCM (UFMA, Unidade Avançada Bom Jesus), onde também foram realizados os experimentos.

#### 4.3.4.2 Perda de Massa

É esclarecido na literatura que o tempo de degradação de vidros bioativos é de suma importância e que conhecer o comportamento de dissolução desses materiais é crucial para a sua aplicação [57].

A interação entre os constituintes do vidro bioativo e os íons da solução SBF ( $H^+$ ,  $H_3O^+$  e  $OH^-$ ) ocorre de maneiras distintas e dependentes das espécies presentes na matriz. Assim, a perda de massa consiste na verificação percentual de degradação da estrutura vítrea (após um determinado período de imersão) em relação ao valor de massa registrado no início do teste de bioatividade [119].

Para determinação da perda de massa, realizou-se a medição da massa inicial das amostras antes da imersão ( $m_o$ ) e após imersão em SBF ( $m$ ). Feito isso, a equação 4 foi aplicada no cálculo do parâmetro  $\Delta m$ , referente à perda de massa, para o período de imersão correspondente [29,30,102].

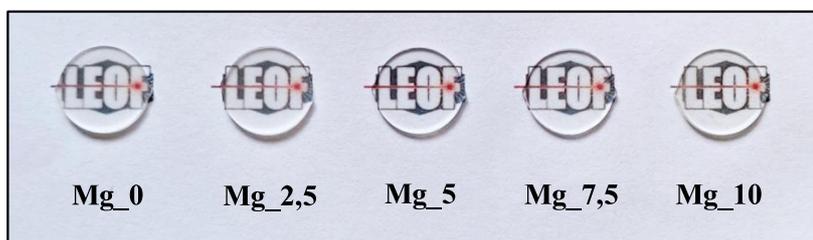
$$\Delta m = \frac{m_o - m}{m_o} \quad \text{(Equação 4)}$$

As medidas de massa das amostras (antes e após imersão em SBF) foram realizadas em balança analítica (Modelo AUW220D, da marca SHIMADZU), com precisão de 0,01mg. O procedimento foi realizado na Central Analítica, sediada na UPCM (UFMA, Unidade Avançada Bom Jesus).

## CAPÍTULO 5: RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Síntese das amostras

As amostras vítreas, cujas composições estão inseridas na Tabela 5, foram sintetizadas pelo método convencional de fusão/resfriamento. Após obtidas, as amostras foram fatiadas com o auxílio de cortadeira de disco diamantado. As fatias foram polidas superficialmente para que apresentassem espessura final de  $\pm 1,2$  mm e, principalmente, para promover ranhuras superficiais no intuito de aumentar a área de contato com a solução SBF. O aspecto visual final das amostras preparadas pode ser visualizado na Figura 27.



**Figura 27.** Fotografia das amostras fatiadas e polidas (Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10) obtidas por fusão/resfriamento. Diâmetro das amostras fatiadas: 10 mm/ Espessura das fatias:  $\pm 1,2$  mm. **Fonte:** Acervo próprio.

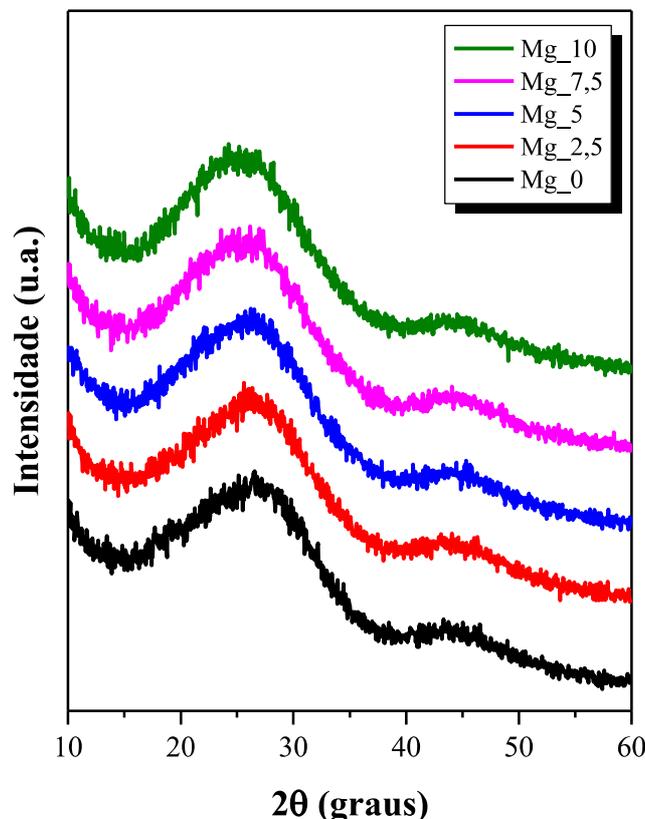
Para as composições sintetizadas no presente estudo, foram obtidas amostras com alta transparência, não havendo alteração da coloração em função do aumento da adição de óxido de magnésio nos vidros (incolors). Além disso, os materiais obtidos não apresentaram trincas, estrias ou cristalitos visíveis.

### 5.2 Caracterizações das amostras antes da imersão em SBF

#### 5.2.1 Difratomia de Raios-X (DRX)

As amostras sintetizadas foram caracterizadas estruturalmente por difratometria de raios-X no intuito de comprovar sua natureza amorfa. As características verificadas em materiais que apresentam ausência de periodicidade a longo alcance são observadas nos padrões de DRX obtidos para as amostras, com bandas largas em baixos ângulos e ausência de picos definidos de alta intensidade.

Os difratogramas de raios-X das amostras Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10, antes da imersão, podem ser visualizados na Figura 28.



**Figura 28.** Difratogramas de DRX das amostras sintetizadas antes da imersão em SBF. A linha pontilhada em alaranjado é um guia para os olhos. **Fonte:** Elaboração própria.

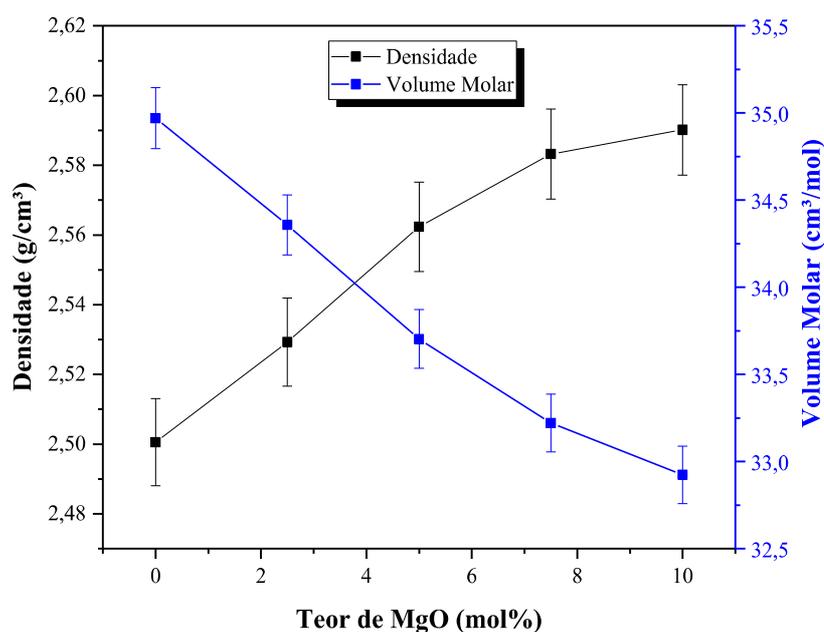
Os padrões de DRX obtidos para as amostras sintetizadas exibiram similaridade com os padrões verificados para borofosfatos da literatura [13,27,31,111]. São observados nos difratogramas bandas largas centradas em aproximadamente  $2\theta=26^\circ$  e  $2\theta=45^\circ$ . Não ocorreu cristalização até a adição de 10% mol de MgO nos vidros sintetizados.

Em relação à banda amorfa centrada em aproximadamente  $2\theta=26^\circ$  no difratograma de DRX para a amostra Mg\_0, com o aumento da concentração de óxido de magnésio em até 10% (em mol), é observado o deslocamento do centro dessa banda para ângulos de difração menores que  $26^\circ$ , indicando a ocorrência de alterações estruturais nos vidros sintetizados com o aumento da adição de MgO.

Para a banda centrada em  $2\theta=45^\circ$ , não são observadas mudanças expressivas em função do aumento de MgO nos vidros sintetizados.

### 5.2.2 Densidade ( $\rho$ ) e Volume molar ( $V_m$ )

A determinação dos valores de densidade e volume molar das amostras se faz necessária, uma vez que podem ser indicadores de alterações estruturais nos materiais em estudo. Os valores obtidos para densidade e volume molar foram expressos em função do teor de MgO incorporado nas amostras, vide as concentrações inseridas na Tabela 5. Os resultados obtidos podem ser verificados na Figura 29.



**Figura 29.** Densidade ( $\rho$ ) e Volume molar ( $V_m$ ) das amostras vítreas em função do teor molar de MgO. As linhas são um guia para os olhos. **Fonte:** Elaboração própria.

Para melhor visualização dos valores de densidade e volume molar das amostras, os dados da Figura 29 foram inseridos na Tabela 6.

**Tabela 6.** Valores de densidade e volume molar das amostras sintetizadas.

Amostra	Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	Volume Molar (cm <sup>3</sup> /mol)
Mg_0	2,50	34,97
Mg_2,5	2,53	34,36
Mg_5	2,56	33,70
Mg_7,5	2,58	33,22
Mg_10	2,59	32,92

**Fonte:** Elaboração própria.

Analisando os valores de densidade obtidos, em porcentagem, a densidade da amostra Mg<sub>2,5</sub> aumentou em 1,19% em relação ao valor de 2,50g/cm<sup>3</sup> da amostra sem MgO. Na sequência, seguindo a comparação com a amostra Mg<sub>0</sub>, a densidade da amostra Mg<sub>5</sub> aumentou em 2,34%. A amostra Mg<sub>7,5</sub> exibiu aumento correspondente a 3,10%. Por fim, a amostra Mg<sub>10</sub> exibiu aumento do valor da densidade em 3,48%.

Em relação ao volume molar, foi visto redução em 1,74% para a amostra Mg<sub>2,5</sub> quando comparado ao valor da densidade da amostra Mg<sub>0</sub> (34,97cm<sup>3</sup>/mol). Seguindo o mesmo comparativo com o volume molar da amostra Mg<sub>0</sub>, na sequência, para a amostra Mg<sub>5</sub> foi observada redução do volume molar em 3,63%. Por fim, para as amostras Mg<sub>7,5</sub> e Mg<sub>10</sub>, foram observadas reduções correspondentes à 5,00% e 5,86%, respectivamente.

Por meio dos resultados obtidos, verificou-se que a densidade e o volume molar apresentaram comportamento inverso [57]. Com a redução da razão Na<sub>2</sub>O/MgO, a densidade das amostras sintetizadas aumentou, considerando que o óxido de sódio apresenta menor densidade (2,27 g/cm<sup>3</sup>) em relação ao óxido de magnésio (3,58 g/cm<sup>3</sup>). Além disso, a literatura relata que a ocupação de espaços intersticiais por um modificador mais denso pode ser capaz de aumentar a densidade do sistema sem que ocorra sua expansão volumétrica [38,120–122].

Observando o raio iônico do Mg<sup>2+</sup> (57 pm) em comparação ao Na<sup>+</sup> (102 pm), verificou-se que a substituição causou maior contração da rede [113,123]. O tamanho pequeno do íon Mg<sup>2+</sup> (em relação ao Na<sup>+</sup>), sua valência (bivalente) e o caráter iônico das ligações formadas com o oxigênio (Mg-O) conferiu aos sistemas vítreos maior compactação para maiores concentrações de MgO, refletido nos valores de densidade e volume molar obtidos [39,55,57].

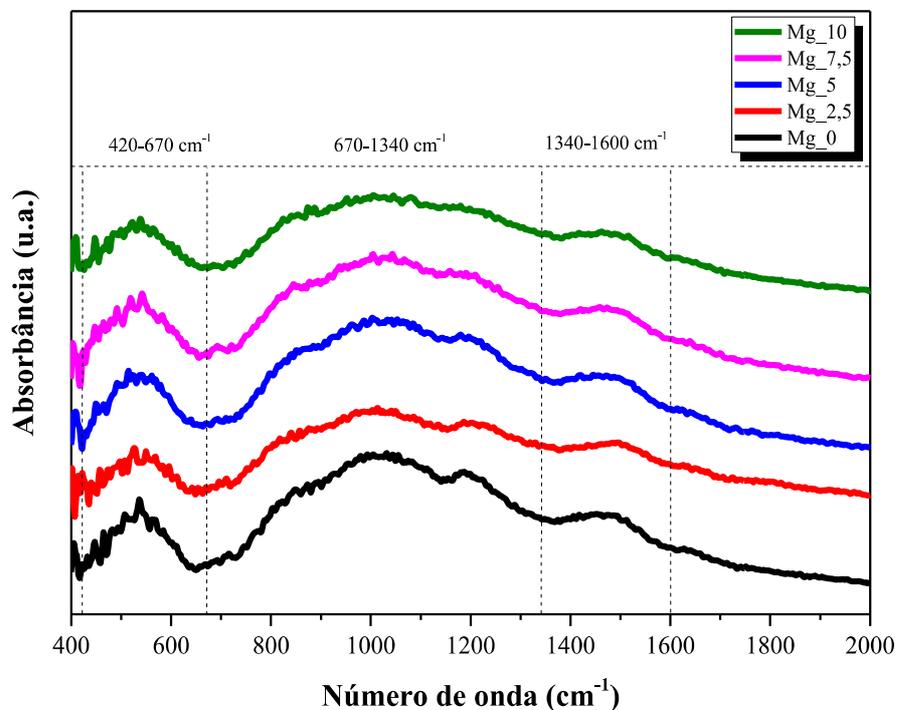
Assim, em concordância com a bibliografia, observou-se a redução do volume molar e o aumento da densidade para os vidros com maiores adições de MgO [39].

### 5.2.3 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A identificação das espécies químicas presentes na rede vítrea pode ser feita por meio da diferenciação dos modos vibracionais de absorção na região do infravermelho [57]. Assim, os espectros FTIR, antes da imersão em SBF, para as amostras sintetizadas foram obtidos e podem ser visualizados na Figura 30. As análises foram realizadas para a faixa de 400–2000 cm<sup>-1</sup> do infravermelho no modo absorbância.

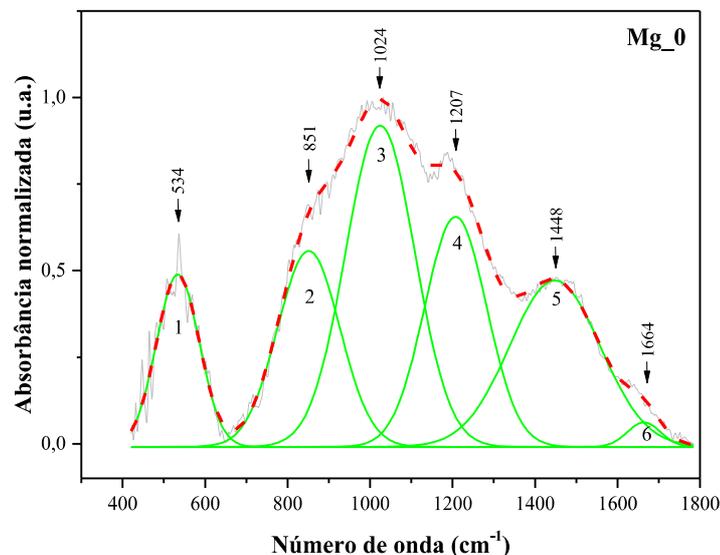
Três regiões de absorção podem ser identificadas nos espectros dos vidros borofosfatos sintetizados: 420–670 cm<sup>-1</sup>, 670–1340 cm<sup>-1</sup> e 1340–1600 cm<sup>-1</sup>. Para obtenção das informações qualitativas dos modos vibracionais sobrepostos, os espectros foram normalizados e

deconvoluídos em funções Gaussianas. Posteriormente, foram feitas as atribuições das bandas observadas com base nas vibrações verificadas para vidros boratos e fosfatos da literatura [57].



**Figura 30.** Espectros FTIR dos vidros sintetizados antes da imersão em SBF. **Fonte:** Elaboração própria.

A Figura 31 exibe o espectro FTIR da amostra Mg\_0 deconvolvido em seis bandas (recebendo numeração de 1 a 6). Na região 420–670  $\text{cm}^{-1}$  é visto a formação de uma banda de absorção (1); enquanto a região espectral 670–1340  $\text{cm}^{-1}$  foi decomposta em três bandas de absorção (2, 3 e 4); e por fim, duas bandas (5 e 6) compõe a banda de absorção observada entre 1340–1700  $\text{cm}^{-1}$ . O mesmo procedimento foi realizado para os espectros FTIR das amostras Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10.



**Figura 31.** Deconvolução do espectro FTIR para a amostra Mg\_0. **Fonte:** Elaboração própria.

As posições das bandas FTIR obtidas após deconvolução para todas as amostras estão inseridas na Tabela 7, contendo as atribuições dos picos observados.

**Tabela 7.** Posições e atribuições das bandas observadas nos espectros FTIR das amostras sintetizadas antes da imersão em SBF.

Região do infravermelho	Posição das bandas observadas ( $\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 4 \text{ cm}^{-1}$ )	Atribuições
420-670	532-536	Vibrações do tipo <i>bending</i> de ligações O-P=O. [57,124,125]
670-1340	829-851	Vibrações simétricas do tipo <i>stretching</i> de ligações P-O-P. [57,124–126] Modo vibracional de ligações P-O-B. [57,124]
	981-1024	Vibrações assimétricas do tipo <i>stretching</i> de ligações P-O-P. [57] Vibrações do tipo <i>stretching</i> de B-O em grupos estruturais tetraédricos de $\text{BO}_4$ . [127]
	1195-1207	Vibrações assimétricas do tipo <i>stretching</i> de íons $\text{PO}_3^{2-}$ . [124] Vibrações referentes a grupos terminais de cadeias de fosfato. [56,128]
	> 1340	Vibrações do tipo <i>stretching</i> de ligações B-O em unidades $\text{BO}_3^{3-}$ . [57] Vibrações do tipo <i>stretching</i> de ligações P=O. [57,124]
	1643-1664	Modo vibracional de ligações H-O-H, P-OH e B-OH. [57,124,125]

**Fonte:** Elaboração própria.

Para a amostra Mg\_0, o espectro FTIR antes da imersão foi decomposto em bandas centralizadas em: 534 (1), 851 (2), 1024 (3), 1207 (4), 1447 (5) e 1664  $\text{cm}^{-1}$  (6).

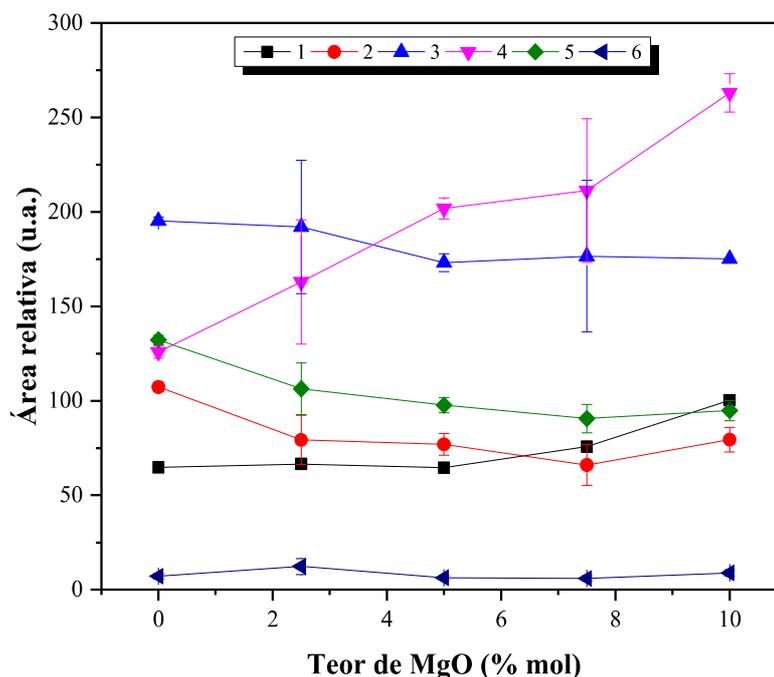
Na região de baixa frequência, em 534  $\text{cm}^{-1}$  verificou-se a presença de flexões (vibrações do tipo *bending*) das ligações O-P=O em unidades Q<sup>1</sup> no vidro. [57,124,125].

Na região de média frequência, 3 bandas de absorção foram detectadas. Em 851 e 1024  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas, respectivamente, ao alongamento simétrico e assimétrico (vibrações do tipo *stretching*) de ligações P-O-P. A banda centralizada em 851  $\text{cm}^{-1}$  também é atribuída na literatura ao modo vibracional de ligações P-O-B da rede borofosfato. Além disso, referente às estruturas de boratos, a banda em 1024  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída ao modo de alongamento de grupos estruturais tetraédricos BO<sub>4</sub>. Na posição ~1200  $\text{cm}^{-1}$  (1207  $\text{cm}^{-1}$ ) tem-se as vibrações harmônicas de grupos terminais de cadeias fosfatos [57,124–126].

Na região de alta frequência, absorções foram verificadas nos números de onda 1448 e 1664  $\text{cm}^{-1}$ . A banda centrada em 1448  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída na literatura tanto às vibrações de alongamento de ligações B-O em unidades BO<sub>3</sub><sup>3-</sup>, quanto às vibrações de alongamento das ligações P=O em fosfatos. Por fim, a banda centralizada em 1664  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída ao modo vibracional de ligações H-O-H, P-OH e B-OH [57,124,125].

O perfil dos espectros FTIR normalizados (para 0 a 10% mol de MgO) são semelhantes, com bandas posicionadas nas mesmas regiões de absorção, porém exibindo alguns deslocamentos de número de onda. Ademais, observando a intensidade das bandas (1 a 6), é possível notar as mudanças nas áreas relativas em função da concentração de MgO nos vidros. Para melhor visualização dessas modificações, a Figura 32 exibe as áreas relativas das 6 bandas de cada amostra em função do teor de MgO incorporado.

Com aumento da concentração de MgO nos vidros, foi verificado o aumento da área relativa das bandas 1 (532-536  $\text{cm}^{-1}$ ) e 4 (1195-1207  $\text{cm}^{-1}$ ). As bandas 2 (829-851  $\text{cm}^{-1}$ ), 3 (981-1024  $\text{cm}^{-1}$ ) e 5 (1447-1483  $\text{cm}^{-1}$ ) sofreram redução com o aumento da concentração de MgO até 10% mol. A banda 6 (1643-1664  $\text{cm}^{-1}$ ) permanece sem exibir variação considerável.



**Figura 32.** Variação da área relativa das bandas que compõem o espectro FTIR de cada amostra sintetizada em função do teor de MgO nos vidros. As linhas são um guia para os olhos. **Fonte:** Elaboração própria.

As tendências observadas para as bandas de absorção sugerem que a incorporação crescente de MgO nos vidros (em até 10% mol) induziu quebra das ligações entre unidades formadoras da rede vítrea. A redução da intensidade dos modos vibracionais referentes às ligações P-O-P, P-O-B e B-O, somada ao aumento da intensidade das vibrações das ligações O-P=O e de grupos terminais de cadeias fosfatos sugeriu a redução da conectividade de rede (despolimerização) [56,57,124,128].

A crescente incorporação de modificadores (metais alcalinos e alcalino-terrosos) faz com que as unidades de fosfato sejam substituídas na ordem:  $Q^3 \rightarrow Q^2 \rightarrow Q^1 \rightarrow Q^0$ . Como consequência, a conectividade de rede dos fosfatos é reduzida [56,57].

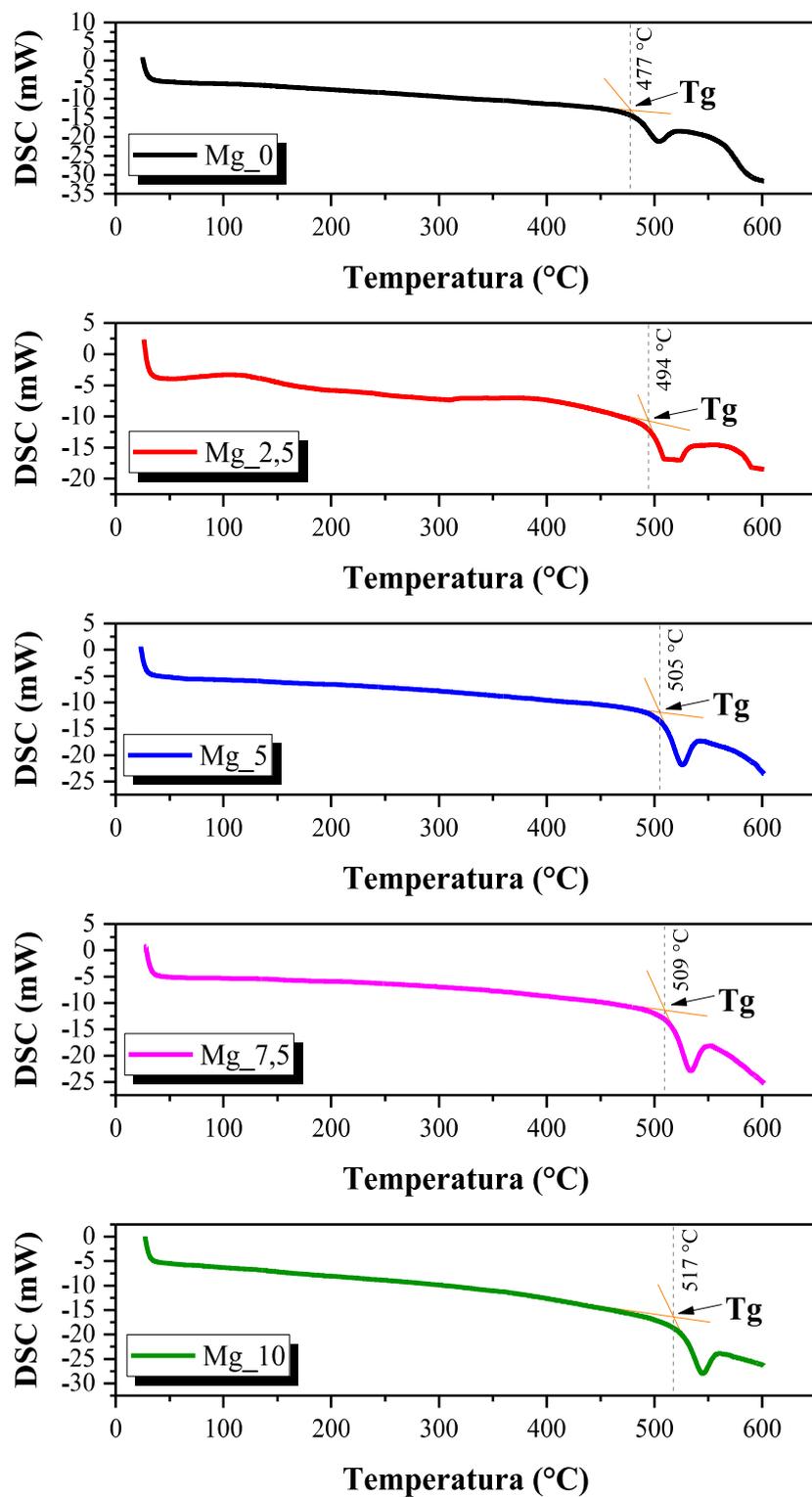
Em contrapartida, a presença de MgO nos vidros acarretou na estruturação da rede vítrea na forma de cadeias mais lineares entre diferentes espécies formadoras. Tal fato é atribuído na literatura às ligações cruzadas P-O-M (onde  $M=Mg^{2+}$ ) que enrijecem a estrutura vítrea por serem mais estáveis que as ligações P-O-P, B-O-B e P-O-B, causando contração do volume do vidro. Além disso, a formação de ligações cruzadas por cátions modificadores exerce efeitos

dominantes nas características físico-químicas do material, como densidade (e consequentemente no volume molar),  $T_g$  e solubilidade [39,57].

#### **5.2.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

Na Figura 33 estão inseridas as curvas DSC para as amostras Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10. A determinação da Temperatura de Transição Vítrea ( $T_g$ ) foi feita pelo *onset*, onde são traçadas duas retas tangenciais à curva (no ponto de inflexão) e a interseção dessas retas é atribuída como a temperatura aproximada do evento térmico observado ( $T_g$ ).

Para melhor visualização do deslocamento da  $T_g$ , causado pela variação da concentração de MgO nos vidros, os valores foram extraídos das curvas DSC e inseridos na Figura 34 e na Tabela 8.

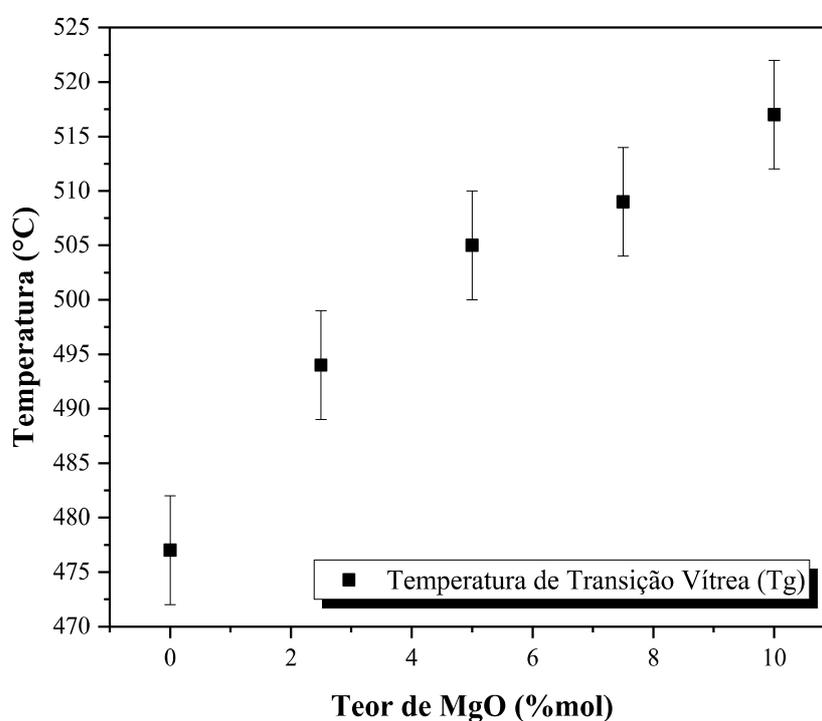


**Figura 33.** Curvas DSC obtidas para as amostras Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10 contendo indicação da temperatura do evento térmico de Transição Vítria ( $T_g$ ). As linhas em alaranjado representam as retas tangentes às curvas. **Fonte:** Elaboração própria.

**Tabela 8.** Valores de temperatura de transição vítrea ( $T_g \pm 5^\circ\text{C}$ ) para as amostras Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10 a partir das curvas DSC.

Amostra	$T_g$ ( $^\circ\text{C}$ ) ( $\pm 5^\circ\text{C}$ )
Mg_0	477
Mg_2,5	494
Mg_5	505
Mg_7,5	509
Mg_10	517

Fonte: Elaborado pelo autor.



**Figura 34.** Temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) em função do teor de MgO (%mol). Fonte: Elaboração própria.

Por meio da análise DSC foi possível observar o primeiro evento endotérmico das amostras sintetizadas na faixa de temperatura analisada, correspondente ao evento térmico de transição vítrea ( $T_g$ ).

A verificação da temperatura de início de cristalização ( $T_x$ ) não foi possível devido às limitações experimentais do equipamento utilizado. Como consequência, a determinação do parâmetro de estabilidade térmica ( $\Delta T$ ) que consiste na diferença entre a  $T_x$  e  $T_g$  ( $\Delta T = T_x - T_g$ ) não foi possível para as amostras deste estudo.

Contudo, a  $T_g$  correlaciona-se diretamente com outras propriedades físicas em discussão (como a perda de massa e a densidade), sendo, portanto, um parâmetro térmico importante para colaborar com a compreensão da estrutura dos vidros sintetizados [57].

As análises DSC das amostras demonstraram o aumento da temperatura de transição vítrea com o decréscimo da razão  $\text{Na}_2\text{O}/\text{MgO}$  [39]. O comportamento era esperado devido ao efeito de cátions bivalentes de alta força de campo, tal como o  $\text{Mg}^{2+}$ , em vidros já relatados na bibliografia, que colaboram para o aumento da  $T_g$  com sua maior força de ligação e menor força de repulsão sobre íons vizinhos quando comparado ao  $\text{Na}^+$  [39,57,107,129].

O aumento da  $T_g$  também é atribuído ao aumento da densidade da reticulação da rede vítrea, como justificado nos estudos feitos por Ahmed *et al.* e Othman *et al.* e concordando com os resultados de densidade obtidos para as amostras deste estudo [39,130].

### 5.3 Testes de Bioatividade *in vitro* em SBF

Para realização dos testes de bioatividade dos materiais sintetizados, a solução simuladora de fluido corpóreo (SBF) foi criteriosamente preparada conforme o procedimento proposto por Kokubo e Takadama [16].

As amostras da Figura 27 foram fixadas em suportes de polipropileno (Figura 35) e inseridas em tubos de Falcon para permanecerem em posição vertical durante todo o período de teste, conforme pode ser visto na Figura 36.

Foram adicionados 25 ml de solução SBF (volume calculado com uso da Equação 3) nos tubos de Falcon contendo amostras para o teste de bioatividade. Em seguida, os tubos foram postos em um banho-maria contendo água deionizada, ajustado na temperatura de 36,5 °C e fixados em um suporte de isopor (conforme já apresentado na Figura 25).



**Figura 35.** Visualização da fixação em suporte de polipropileno de uma amostra fatiada, de 10 mm de diâmetro, preparada para teste de bioatividade. **Fonte:** Acervo próprio.



**Figura 36.** Representação de uma amostra fixada em suporte de polipropileno inserida em um tubo de Falcon na posição vertical. **Fonte:** Acervo próprio.

Cada tubo de Falcon recebeu uma identificação, com a nomenclatura da amostra contida e o período de imersão correspondente, para o controle das medidas de pH.

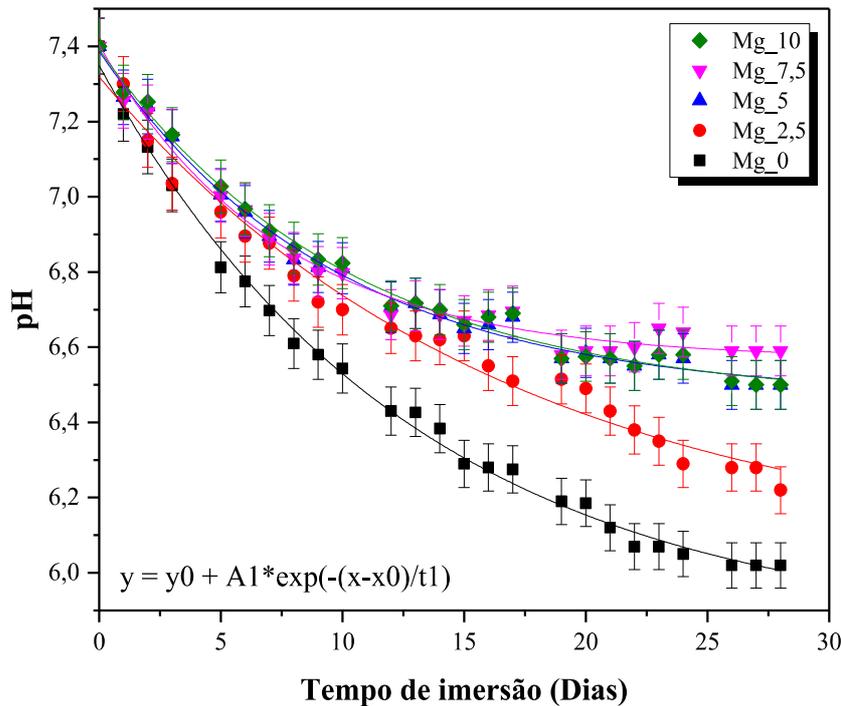
Após os períodos de imersão de 7, 14, 21 e 28 dias em solução SBF, as amostras foram retiradas dos tubos de Falcon, lavadas com água deionizada para paralização das reações superficiais e, posteriormente, colocadas para secagem ao ar. Após secas, todas as amostras foram guardadas em dessecador (no intuito de preservar a superfície das amostras após imersão) para posterior caracterização.

## **5.4 Caracterizações das amostras após imersão em SBF**

### **5.4.1 Medidas de pH**

Durante o teste de bioatividade das amostras, o potencial hidrogeniônico (pH) das soluções SBF contendo amostras foram aferidos diariamente com a utilização de um pHmetro microprocessado de bancada (vide Figura 26). A verificação da calibragem do pHmetro foi diariamente realizada com a utilização de soluções tampão (pH 4, 7 e 10) em temperatura ambiente. O *SLOPE* do eletrodo impresso pelo pHmetro após cada verificação de calibração foi de 100%.

A evolução das trocas iônicas entre os vidros e a solução SBF é refletida nos valores de potencial hidrogeniônico ao longo do tempo. Na Figura 37 é possível visualizar os valores experimentais de pH das soluções SBF contendo as amostras (Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10) durante 28 dias de imersão.



**Figura 37.** Medidas de pH das amostras vítreas (Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10) durante 28 dias de imersão em solução SBF. **Fonte:** Elaboração própria.

O pH inicial da solução SBF no dia da imersão (dia 0) foi de 7,40. Para todos os tubos contendo amostras imersas em SBF, foi observado o aumento da acidez das soluções, exibindo graficamente um comportamento exponencial decrescente em função do tempo.

A redução dos valores de pH para todas as soluções contendo amostras foi acentuada nos primeiros 7 dias, seguindo com o decréscimo menos acentuado até os 21 dias. Notou-se aproximação dos valores de pH observados após 21 dias para cada amostra, indicando possível equilíbrio de reações na solução à medida que o experimento se aproximou dos 28 dias.

A amostra Mg\_0 exibiu maior decréscimo de pH para 28 dias de imersão, variando de 7,40 a 6,02; em seguida, a amostra Mg\_2,5 exibiu variação de pH de 7,40 a 6,22. Na sequência, a amostra Mg\_5 apresentou variação de pH de 7,40 a 6,50; a amostra Mg\_7,5 teve seu pH variando de 7,40 a 6,59; e, por fim, a amostra Mg\_10 exibiu valores de pH que variaram de 7,40 a 6,50.

Analisando o percentual de decréscimo do pH das soluções contendo amostras após 28 dias de imersão, para a amostra Mg\_0 foi observado uma variação de 18% em relação ao valor

inicial de pH; a amostra Mg\_2,5 exibiu variação correspondente a 15,94%; as amostras Mg\_5 e Mg\_10 exibiram variação aproximada de 12,16% em relação ao valor do pH de partida e, por fim, a amostra Mg\_7,5 exibiu o percentual de decréscimo igual a 10,94% do valor inicial.

A amostra que exibiu maior troca com o meio aquoso consistiu na amostra que não continha adição de óxido de magnésio (Mg\_0). Na sequência, a amostra Mg\_2,5 exibiu troca iônica considerável com o meio, sendo seguida das amostras Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10, como inicialmente esperado [38,131].

Os valores experimentais de pH das amostras Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10 evoluíram com suas leituras alternando entre os períodos de imersão, evidenciando um comportamento similar de interação iônica com o SBF para essas amostras. Assim, verificou-se que a crescente adição de óxido de magnésio – em substituição ao óxido de sódio nos vidros – influenciou o comportamento de solubilidade das amostras sintetizadas, tornando-as mais estáveis ao processo de dissolução, concordando com bibliografia e com os resultados obtidos para densidade e  $T_g$  das amostras testadas [39].

É importante destacar que a adição de MgO nas amostras não colabora com a tendência de acidificação das soluções SBF observados neste estudo. O decréscimo do pH verificado é atribuído aos efeitos da dissolução de cadeias de fosfato – dada a alta concentração do formador  $P_2O_5$  nas amostras vítreas – somado aos efeitos do reagente  $CaF_2$ , que incorpora o elemento flúor aos vidros [46,55,107,130,132–136].

Em relação ao formador  $P_2O_5$ , a quebra das ligações P-O-P da rede fosfato nas reações de hidrólise causam redução do pH da solução, como demonstram explicitamente estudos anteriores [46,55,107,130]. O consumo de hidroxilas ( $OH^-$ ) presentes na solução resulta na acidificação do meio. Somado a isso, o aumento da acidez do SBF acelera a degradação das cadeias de fosfato da rede vítrea (que são favorecidas em meio ácido). Assim, verifica-se o comportamento de redução contínua dos valores de pH à medida que o vidro sofre lixiviação (tal como ocorre com as amostras Mg\_0 e Mg\_2,5).

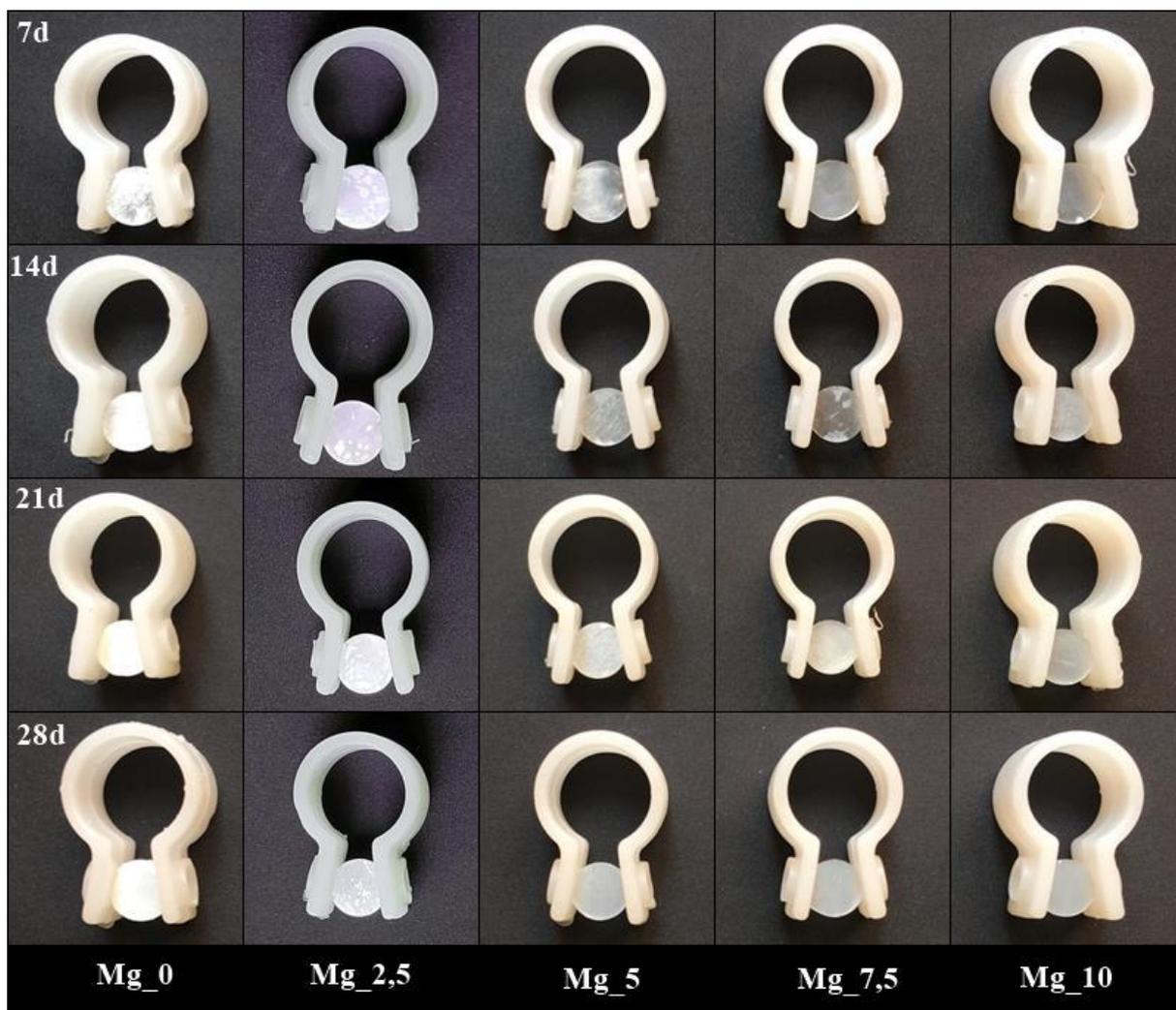
Somado a isso, a bibliografia reporta que a presença de Fluoreto ( $CaF_2$ ) nos vidros é capaz de reduzir o pH de soluções SBF. No estudo de Al-Noaman *et al.* [135] verificou-se o decréscimo do pH das soluções contendo vidros bioativos com adição de  $CaF_2$  ocorrendo devido às trocas iônicas entre os íons  $F^-$  nos vidros por  $OH^-$  da solução. Com isso, o aumento do pH com as reações de hidratação da rede vítrea (liberando íons alcalinos/alcalinos-terrosos e hidroxilas na solução) é atenuada com a liberação de  $F^-$ . Os resultados de Al-Noaman *et al.* concordaram com os obtidos por Brauer *et al.* em diferentes publicações [134,136].

Por fim, analisando apenas a influência da adição de magnésio nos vidros sintetizados – com base no comportamento do pH das soluções SBF e na representação gráfica da Figura 37 – foi verificado que a adição de MgO tornou os vidros mais quimicamente estáveis aos processos cinéticos de dissolução da rede borofosfato (hidratação e hidrólise), concordando com trabalhos anteriores [38,39,46,130,132].

#### **5.4.2 Análise visual das amostras após imersão em SBF**

A análise visual das amostras após imersão é feita aqui apenas com um parâmetro indicador de reatividade entre amostra e solução. A observação de alterações superficiais nos vidros, sua opacificação ou constatação de material depositado na sua superfície após um período de imersão estabelecido é um indicador da ocorrência de reações que desencadeiam na dissolução da rede e que possibilitam a precipitação de apatitas ou outras formas de fosfato de cálcio nos vidros [62].

Contudo, a identificação de fases superficiais formadas só é realizada por meio da caracterização por difratometria de raios-X, não podendo ser feita qualquer atribuição de fase apenas por meio do seu aspecto visual [16]. A fotografia das amostras pós-imersão em SBF (Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10), após secagem em ar, pode ser vista na Figura 38.



**Figura 38.** Aspecto visual das amostras (ainda fixas nos suportes de polipropileno) após imersão em SBF durante os períodos de: 7 dias (7d), 14 dias (14d), 21 dias (21d) e 28 dias (28d). Identificação das amostras da esquerda para a direita da figura: Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10. **Fonte:** Acervo próprio.

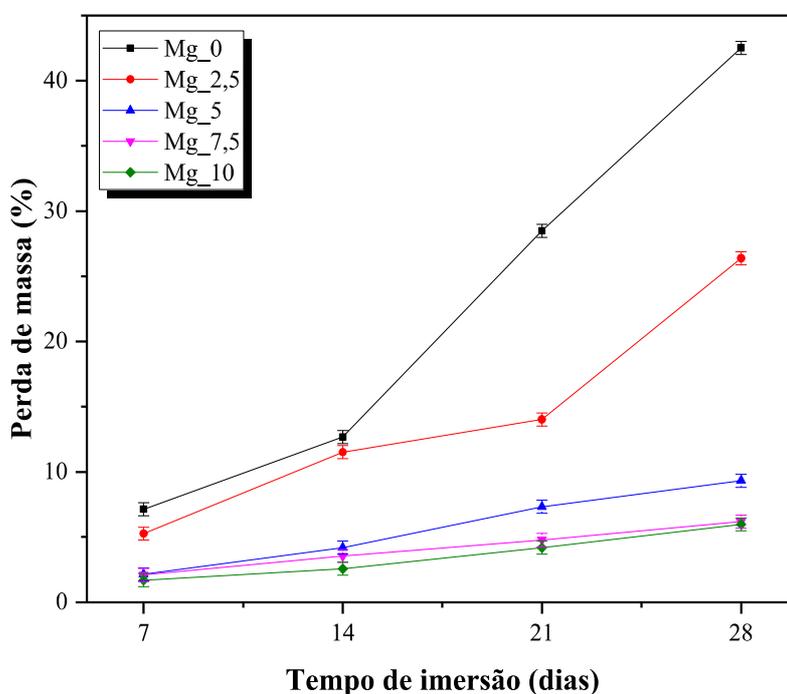
Foi observado que, em todas as amostras, ocorreram alterações morfológicas para todos os períodos de imersão, evidenciando interação entre a interface vidro-SBF. As mudanças no aspecto visual das amostras se intensificaram conforme o experimento se aproximou dos 28 dias de imersão (visto nas medidas de pH) e a formação de material superficial também foi observada em algumas amostras.

As amostras Mg\_0 e Mg\_2,5 exibiram mudanças superficiais mais acentuadas aos 7 dias, com crescente formação de material por toda a superfície em contato com a solução SBF à medida que houve o aumento do tempo de imersão. As amostras Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10 exibiram menor evolução das alterações superficiais visíveis comparadas às amostras Mg\_0 e

Mg<sub>2,5</sub>, concordando com os valores de pH medidos para essas amostras que indicaram menor troca iônica com o SBF.

### 5.4.3 Perda de Massa

Após secagem, as amostras retiradas das soluções SBF foram pesadas e a perda de massa para cada composição testada até 28 dias de imersão foi determinada. Os resultados foram expressos em porcentagem de massa perdida em função do tempo de imersão e podem ser visualizados na Figura 39. O erro estimado é de 0,5%.



**Figura 39.** Perda de massa (%) em função do tempo de imersão em SBF das amostras Mg<sub>0</sub>, Mg<sub>2,5</sub>, Mg<sub>5</sub>, Mg<sub>7,5</sub> e Mg<sub>10</sub>. As linhas são um guia para os olhos. **Fonte:** Elaboração própria.

A Figura 39 evidencia o comportamento cinético de degradação das amostras durante os períodos de imersão. Para a amostra Mg<sub>0</sub>, uma perda de massa de 7,1% foi verificada aos 7 dias de experimento. Aos 14 dias, verificou-se uma perda de 12,7% em relação ao valor da massa inicial, aumentando para o valor de 28,5% aos 21 dias de imersão. Por fim, aos 28 dias, a perda de massa exibida pela amostra foi de 42,5%.

Para a amostra Mg<sub>2,5</sub>, foi verificada a perda de 5,2% da massa inicial aos 7 dias de imersão. Para 14 dias, houve perda de 11,5% da massa da amostra, aumentando para 14% aos

21 dias. Por fim, aos 28 dias a amostra exibiu perda de massa igual à 26,4% em relação ao valor da massa inicial.

Para a amostra Mg\_5, aos 7, 14, 21 e 28 dias de imersão foram verificados os valores de perda de massa de: 2,2; 4,2; 7,3 e 9,3%, respectivamente. Um comportamento de menor perda de massa aos 28 dias foi verificado para a composição contendo 5%mol de MgO em relação à amostra que não contém magnésio.

Para a amostra Mg\_7,5, verificou-se os respectivos valores de 2,1; 3,5; 4,8 e 6,2% de perda de massa em relação ao valor inicial da amostra para os períodos de 7, 14, 21 e 28 dias. Por fim, para a amostra Mg\_10, foram observados os valores de: 1,7; 2,6; 4,2 e 5,9% de perda de massa (para 7, 14, 21 e 28 dias, respectivamente).

Os resultados de perda de massa obtidos mostraram que à medida que o magnésio foi adicionado em maiores concentrações, foi visto a redução da perda de massa em todos os períodos de imersão analisados. Assim, a tendência observada na Figura 39 evidenciou o comportamento de aumento da estabilidade química dos vidros contendo MgO em SBF, concordando com a literatura [38,39,57].

#### 5.4.4 Difractometria de Raios-X (DRX)

Nas Figuras 40, 41, 42 e 43 podem ser verificados os difratogramas de DRX obtidos para as amostras (Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10) após imersão por 7, 14, 21 e 28 dias em SBF. A detecção e identificação das fases cristalinas precipitadas na superfície das amostras foram realizadas comparando picos e intensidades dos difratogramas com as fichas catalogadas no banco de dados ICSD e na literatura.

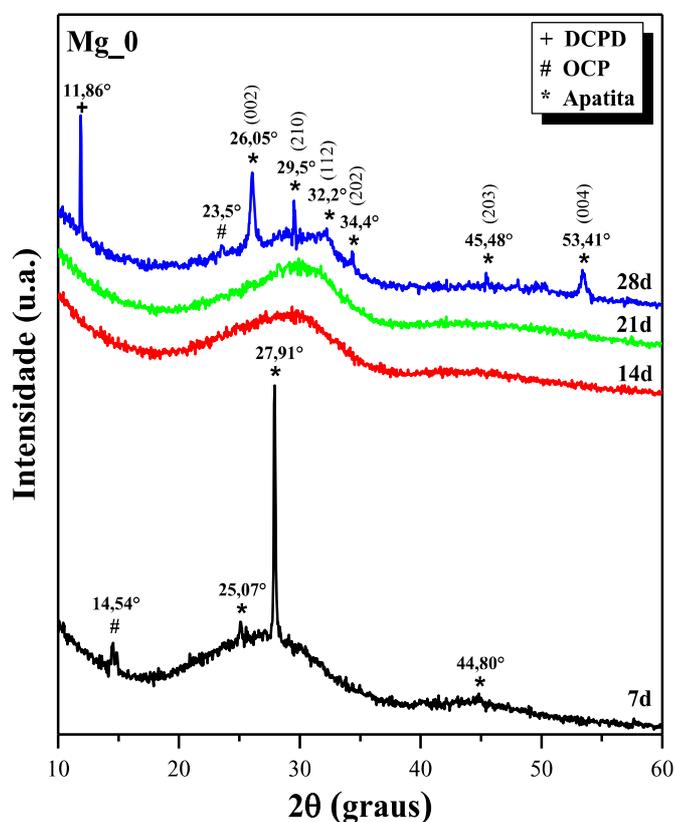
Na Tabela 9 encontram-se os padrões utilizados na comparação com os difratogramas de DRX obtidos, contendo o nome da fase, fórmula química e código de referência ICSD.

**Tabela 9.** Relação de fases de fosfato de cálcio utilizadas para comparação com os difratogramas DRX das amostras (Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10) obtidos após imersão em SBF por até 28 dias.

Fosfato de Cálcio	Fórmula Química	Código ICSD
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio diidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	16132
Octafosfato de cálcio (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	27050
Hidroxiapatita (HAp)	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	34457
Fluorapatita (FAP)	$\text{Ca}_5\text{F}(\text{PO}_4)_3$	9445

**Fonte:** Elaboração própria.

A Figura 40 exibe os difratogramas de DRX após imersão da amostra Mg\_0 para todos os períodos de imersão testados, contendo as atribuições de fases.



**Figura 40.** Difratogramas DRX da amostra Mg\_0 para os períodos de imersão de 7, 14, 21 e 28 dias em SBF.

**Fonte:** Elaboração própria.

Para 7 dias de imersão (Difratograma 7d) foram observados picos em aproximadamente  $14,54^\circ$ ,  $25,07^\circ$ ,  $27,91^\circ$  e  $44,80^\circ$  ( $2\theta$ ). O ângulo de difração  $2\theta$  igual a  $14,54^\circ$  é correspondente a presença de octafosfato de cálcio (OCP), fase precursora da formação de apatitas cristalinas [14]. Os picos verificados em  $25,07^\circ$ ,  $27,91^\circ$  e  $44,80^\circ$  ( $2\theta$ ) são atribuídos à formação de fase cristalina de hidroxiapatita (HAp), referentes aos planos (2 0 1), (1 0 2) e (2 0 3), respectivamente [137].

Para o difratograma de DRX da amostra imersa por 14 dias (Difratograma 14d), observou-se o desaparecimento dos picos intensos de HAp vistos aos 7 dias, ocorrendo estreitamentos de baixa intensidade em torno de  $2\theta \sim 27,17^\circ$  e  $29,41^\circ$  (HAp ou FAp) [133,134]. O desaparecimento do pico intenso em  $27,91^\circ$  aos 14 dias pode ser decorrente da dissolução da

fase cristalina de HAp na solução, podendo ocorrer em razão da solução SBF tornar-se ácida com o passar dos dias de imersão (verificado nas medidas de pH) originando novos precipitados de fosfato de cálcio amorfo (ACP) que não são detectados como picos na superfície do vidro [62,133,134].

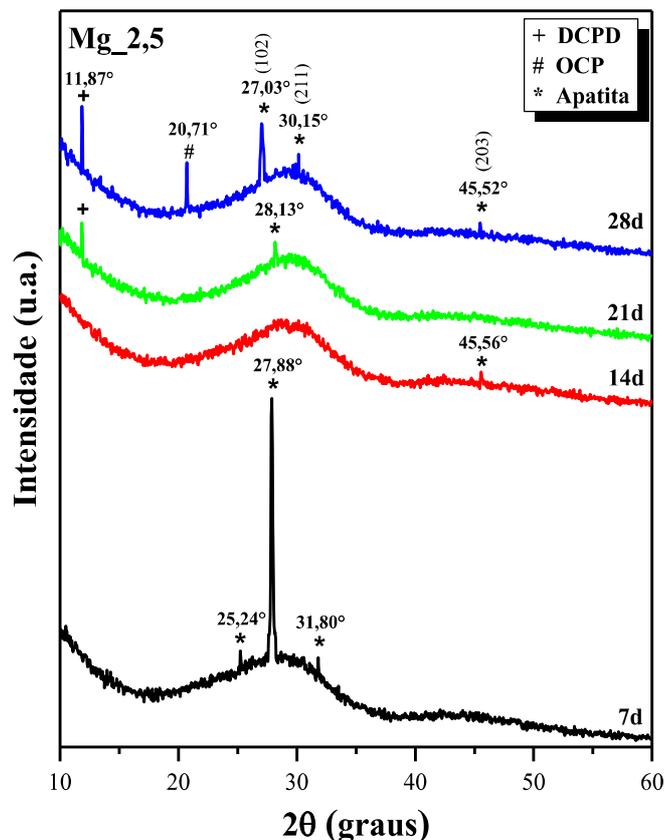
Da mesma forma, no difratograma de DRX da amostra aos 21 dias (Difratograma 21d) é observada a evolução de estreitamentos nas bandas que tornam-se picos intensos e bem definidos aos 28 dias de imersão. No difratograma de DRX aos 28 dias (Difratograma 28d), são verificados picos em  $2\theta \sim 11,86^\circ, 23,50^\circ, 26,05^\circ, 29,56^\circ, 32,27^\circ, 34,39^\circ, 45,48^\circ$  e  $53,41^\circ$ .

O pico intenso em  $2\theta \sim 11,86^\circ$  é atribuído à formação de Mono-hidrogênio fosfato de cálcio diidratado (DCPD), também conhecido como brushita, que consiste em um fosfato de cálcio extremamente bioabsorvível pelo organismo [62,77,138,139]. O pico em  $2\theta 23,50^\circ$  é atribuído ao OCP e os picos em  $2\theta 26,05^\circ$  e  $29,56^\circ$  são referentes à formação de Fluorapatita (FAp) na superfície da amostra, correspondendo aos planos (0 0 2) e (2 1 0), respectivamente [14,62,133].

Picos estreitos e de baixa intensidade verificados em  $32,27^\circ, 34,39^\circ, 45,48^\circ$  e  $53,41^\circ$  ( $2\theta$ ) são correspondentes aos planos (1 1 2), (2 0 2), (2 0 3) e (0 0 4) de HAp depositada na superfície dos vidros [133,137,140]. Os dois últimos picos citados (em  $2\theta 45,48^\circ$  e  $53,41^\circ$ ) também ocorrem para a FAp pouco cristalina [133].

O DCPD é relatado como uma fase metaestável e considerado um importante precursor da HAp ou FAp (ou de compostos intermediários na formação de apatita). Os relatos bibliográficos reportam que a precipitação das fases OCP e DCPD são favorecidas em meios ácidos de  $\text{pH} < 6,5$ , concordando com a faixa de pH da solução SBF (contendo a amostra Mg\_0 aos 28 dias) e com as atribuições de fases feitas no difratograma de DRX [62,63].

A Figura 41 exibe os difratogramas de DRX da amostra Mg\_2,5 para todos os períodos de imersão avaliados.



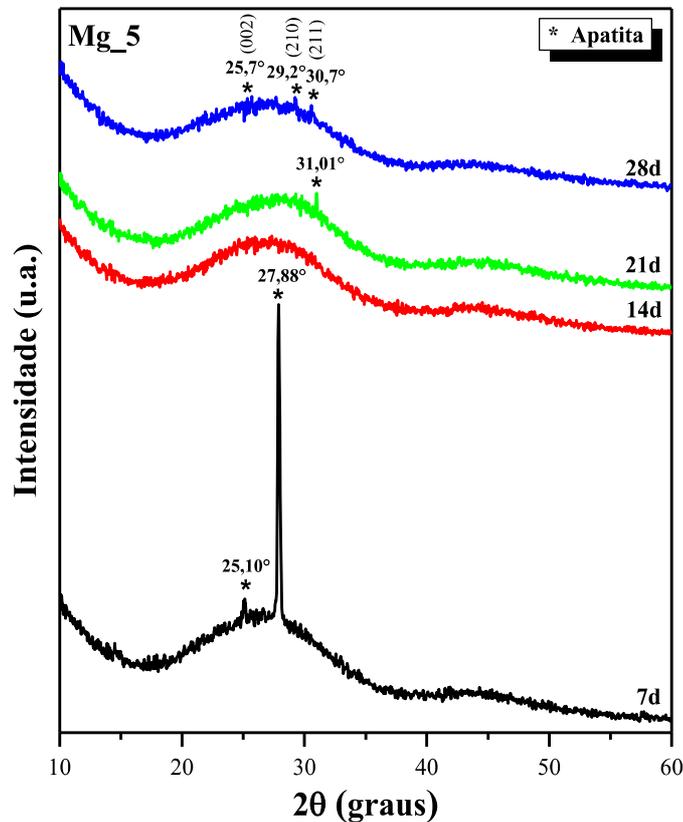
**Figura 41.** Difratomogramas DRX da amostra Mg\_2,5 para os períodos de imersão de 7, 14, 21 e 28 dias em SBF.

**Fonte:** Elaboração própria.

Aos 7 dias de imersão, foram verificados picos estreitos posicionados em  $25,24^\circ$ ,  $27,88^\circ$  e  $31,80^\circ$  ( $2\theta$ ), atribuídos aos respectivos planos (2 0 1), (1 0 2) e (2 1 1) de apatitas [137]. Aos 14 dias, no difratograma 14d é visto o surgimento de um pico de baixa intensidade em  $2\theta$   $45,56^\circ$ , que corresponde ao plano (2 0 3) de apatita. Contudo, os picos vistos aos 7 dias não reaparecem no difratograma obtido aos 14 dias [133,137,140].

Para 21 dias de imersão, o difratograma 21d exibiu a precipitação de duas fases na superfície da amostra: em ( $2\theta$ )  $11,87^\circ$  (atribuído à formação de brushita) e em  $28,13^\circ$  (atribuído à formação de apatita pouco cristalina). Para 28 dias de imersão, o difratograma 28d exibiu picos atribuídos à brushita e ao octafosfato de cálcio (fases intermediárias). Os picos atribuídos às apatitas são verificados em  $27,03^\circ$ ,  $30,15^\circ$  e  $45,5^\circ$  ( $2\theta$ ) [62,77,138,139].

Na Figura 42 estão dispostos os difratogramas de DRX da amostra Mg\_5 para todos os períodos de imersão em SBF verificados, contendo as respectivas atribuições de fases.



**Figura 42.** Difratogramas DRX da amostra Mg\_5 para os períodos de imersão de 7, 14, 21 e 28 dias em SBF.

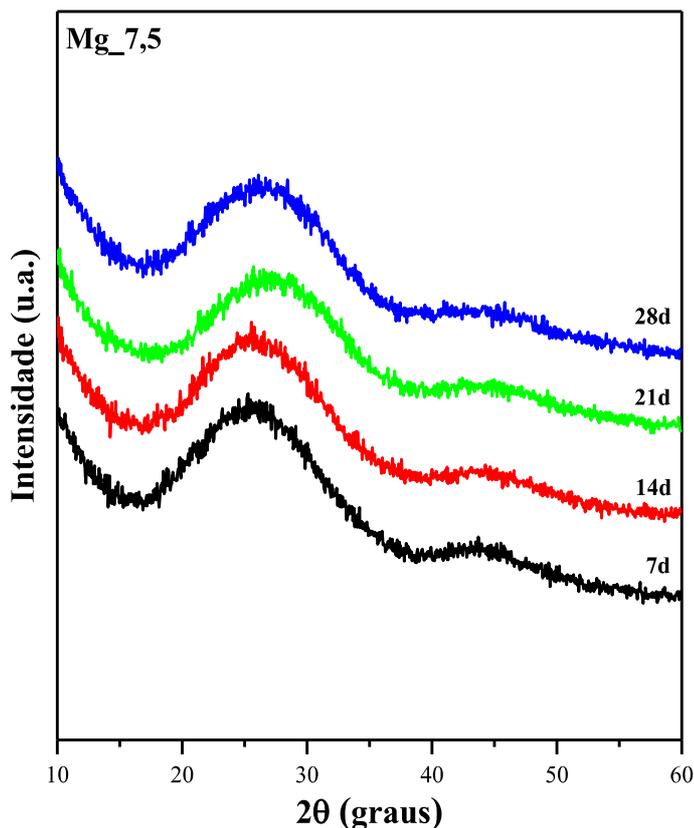
**Fonte:** Elaboração própria.

Na amostra imersa por 7 dias são observados picos intensos em  $25,10^\circ$  e  $27,88^\circ$  ( $2\theta$ ) referentes aos planos (2 0 1) e (1 0 2) da HAp, respectivamente [137]. Aos 14 dias de imersão, foi verificado o desaparecimento dos picos de hidroxiapatita já formados, sugerindo dissolução do material precipitado ou precipitação de fosfato de cálcio amorfo sobre as fases já formadas [62].

Aos 21 dias, verificou-se o aparecimento de um pico de baixa intensidade em  $31,01^\circ$  ( $2\theta$ ), correspondente ao plano (2 0 1) que pode ser atribuído tanto a HAp quanto a FAp [134,140]. Aos 28 dias, verificou-se no difratograma 28d bandas e picos de baixa intensidade em  $25,70^\circ$ ,  $29,27^\circ$  e  $30,57^\circ$  ( $2\theta$ ) atribuídos a precipitação de FAp pouco cristalina nos planos

(0 0 2), (2 1 0) e (2 1 1). O estreitamento da banda em torno de  $25,70^\circ$  ( $2\theta$ ) também pode ser atribuído à formação de HAp pouco cristalina [137].

Os difratogramas de DRX para todos os períodos de imersão em SBF da amostra Mg\_7,5 estão inseridos na Figura 43.



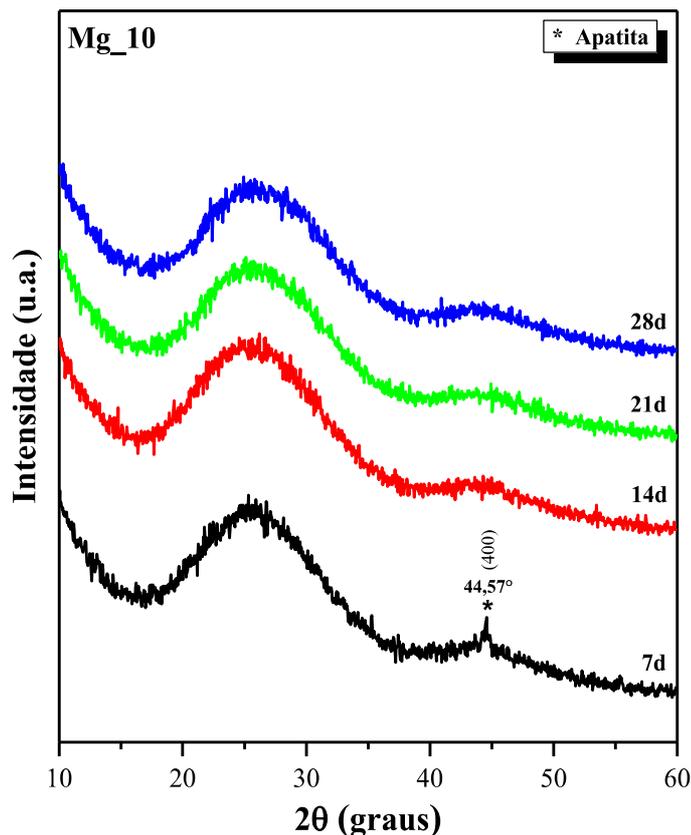
**Figura 43.** Difratogramas de DRX da amostra Mg\_7,5 para os períodos de imersão de 7, 14, 21 e 28 dias em SBF. **Fonte:** Elaboração própria.

Os difratogramas de DRX após imersão em SBF da amostra contendo 7,5% de adição de MgO não exibiu picos intensos e bem definidos de fases cristalinas na superfície do vidro, com caráter amorfo sendo predominante nos difratogramas.

A inobservância de fase cristalina precipitada na amostra Mg\_7,5 para todos os períodos de imersão pode ser atribuída ao efeito de redução da solubilidade do vidro com a alta concentração de MgO (7,5% mol), que reduziu as trocas iônicas com a solução SBF e retardou os processos de hidratação e hidrólise do vidro. Conseqüentemente, a eventual formação de

fosfatos de cálcio ou apatitas cristalinas na superfície das amostras imersas foi comprometida [39].

Na sequência, os difratogramas de DRX para a amostra Mg<sub>10</sub> obtidos após imersão em SBF estão colocados na Figura 44.

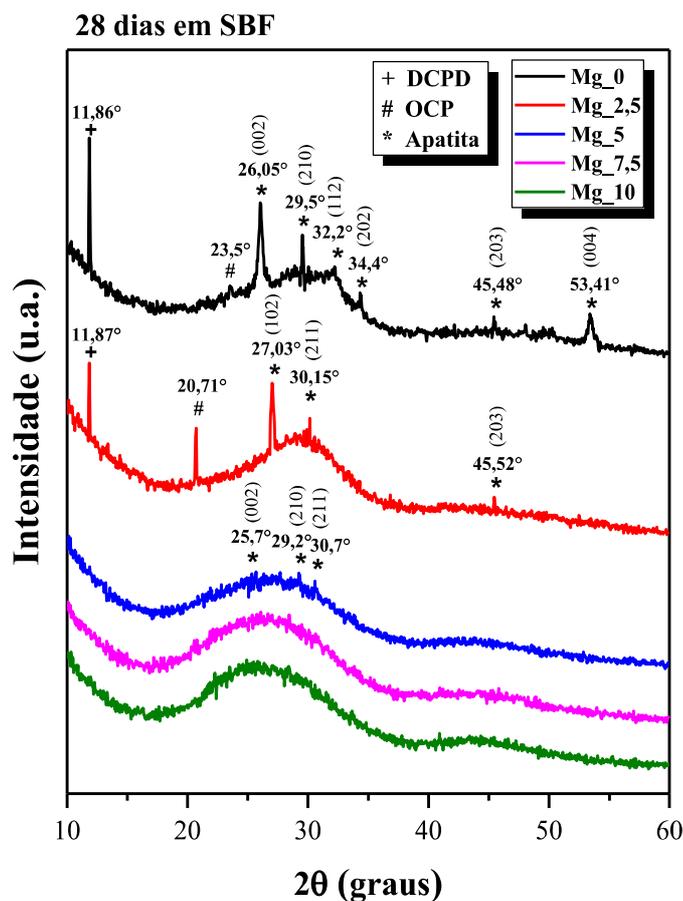


**Figura 44.** Difratogramas DRX da amostra Mg<sub>10</sub> para os períodos de imersão de 7, 14, 21 e 28 dias em SBF.

**Fonte:** Elaboração própria.

No difratograma de DRX da amostra após 7 dias de imersão, um pico de baixa intensidade foi observado em  $44,57^\circ$  ( $2\theta$ ), atribuído ao plano (4 0 0) da HAp ou FAp [137]. Os demais difratogramas (de 14, 21 e 28 dias) não exibiram picos definidos, apenas bandas largas e amorfas. Tal como ocorreu na amostra Mg<sub>7,5</sub>, a concentração de MgO para amostra contendo 10% em mol de MgO reduziu significativamente a solubilidade da rede vítrea e a formação de fases na superfície do vidro [39].

Para fins de comparação, os difratogramas de DRX para todas as amostras (Mg<sub>0</sub>, Mg<sub>2,5</sub>, Mg<sub>5</sub>, Mg<sub>7,5</sub> e Mg<sub>10</sub>) aos 28 dias foram inseridos na Figura 45.



**Figura 45.** Difratogramas de DRX das amostras (Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10) para 28 dias de imersão em solução SBF. **Fonte:** Elaboração própria.

Na região compreendida entre 20°-35° (2θ), foram observadas as maiores alterações nos padrões de DRX das amostras. Na Figura 45 foi possível perceber a considerável redução da intensidade dos picos formados aos 28 dias com o aumento da concentração de MgO (em até 10% em mol).

Para maiores teores de MgO, verificou-se a formação de picos pouco intensos ou formação de bandas completamente amorfas, podendo ser atribuídos à presença de fases de baixa cristalinidade ou formação de material amorfo na superfície das amostras como o fosfato de cálcio amorfo (ACP) [39,62]. O ACP é relatado como a primeira fase a precipitar em solução supersaturada contendo íons de cálcio e ortofosfato, porém sua estrutura não exhibe picos nos difratogramas, o que dificulta sua caracterização pela técnica DRX [62].

No estudo realizado por Aparecida *et al.* [63], o mecanismo de formação de octafosfato de cálcio a partir do fosfato de cálcio amorfo foi analisado, verificando a influência de diferentes

concentrações iônicas do SBF (de íons  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $SO_4^{2-}$  e  $CO_3^{2-}$ ) na cristalização de OCP. O estudo concluiu que a presença de  $Mg^{2+}$  e de  $CO_3^{2-}$  na solução favorece a formação de OCP, que é obtido pela conversão de fase  $ACP \rightarrow OCP$  (posteriormente, podendo converter-se em apatita). Tal fato foi observado no presente trabalho por meio da evolução das bandas até a formação de picos cristalinos nos difratogramas de DRX da Figura 45.

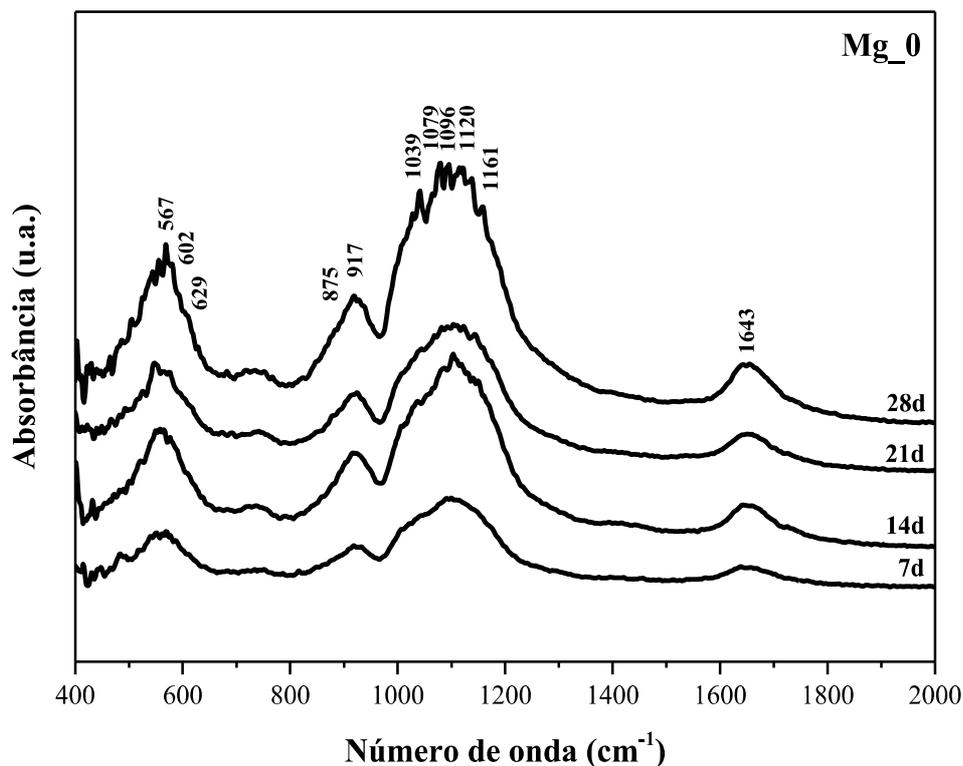
Portanto, com base nas análises dos difratogramas de DRX após imersão em SBF, as amostras Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5 e Mg\_10 exibiram bioatividade a partir de 7 dias de imersão, enquanto a amostra Mg\_7,5 não exibiu bioatividade até os 28 dias. Os mecanismos de precipitação, dissolução e formação de novas fases na superfície das amostras foi diretamente sensível às concentrações iônicas disponíveis no meio, às espécies iônicas lixiviadas da rede vítrea e ao pH da solução [39,63,137,141,142].

#### **5.4.5 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)**

No intuito de complementar os dados estruturais de DRX após imersão, foram obtidos os espectros FTIR das amostras (Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10) para os períodos de imersão de 7, 14, 21 e 28 dias em SBF. As formações superficiais nos vidros foram qualitativamente analisadas por meio dos modos vibracionais dos grupos presentes.

A Figura 46 exibe os espectros FTIR da amostra vítrea Mg\_0, sendo possível notar a evolução das espécies químicas presentes nas amostras em função do tempo de imersão. Aos 28 dias, são verificados picos e bandas centrados nos números de onda: 567, 875, 917, 1039, 1077, 1096, 1120, 1161 e 1643 ( $\pm 4 \text{ cm}^{-1}$ ).

As respectivas atribuições das bandas estão inseridas na Tabela 10.



**Figura 46.** Espectros FTIR da amostra Mg\_0 para todos os períodos de imersão em SBF avaliados. **Fonte:** Elaboração própria.

Aos 7 dias de imersão, as bandas de absorção já são aparentes no espectro e tornam-se mais intensas à medida que o tempo do experimento se aproxima dos 28 dias.

**Tabela 10.** Atribuições FTIR após imersão em SBF para a amostra Mg\_0 com base na literatura.

Posição da banda (cm <sup>-1</sup> ) (±4cm <sup>-1</sup> )	Atribuições	Referências
567 e 602	Modos vibracionais do tipo <i>bending</i> dos íons PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> .	[31,143–145]
629	Estiramento de OH <sup>-</sup> da HAp.	[62]
875	Modo vibracional do grupo HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .	[62,143]
917	Modo vibracional do grupo HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> e modo vibracional de íons PO <sub>4</sub> em octafosfato de cálcio (OCP).	[143]
1039	Modo interno de vibração do tetraedro PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> da HAp.	[146]
1079 e 1096	Vibrações do tipo <i>stretching</i> de ligações P-O.	[25]
1120	Vibrações assimétricas dos íons PO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	[31]
1161	Vibrações simétricas do tipo <i>stretching</i> de ligações P-O.	[147]
1643	Modo vibracional do grupo OH <sup>-</sup> (em H <sub>2</sub> O)	[62,143,147]

**Fonte:** Elaboração própria.

As vibrações em  $567\text{ cm}^{-1}$  e  $602\text{ cm}^{-1}$  são devido aos modos vibracionais do tipo *bending* ( $\nu_4$ ) dos íons  $\text{PO}_4^{3-}$ , característicos das impressões vibracionais da HAp [31,143–145]. A evolução do pico situado em  $567\text{ cm}^{-1}$  é visto nos espectros com o aumento do tempo de imersão, sendo correspondente a flexão das ligações O-P-O dos tetraedros de fosfato.

As vibrações localizadas em  $\sim 1039\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas ao modo interno de vibração do tetraedro  $\text{PO}_4^{3-}$ , característico de HAp e FAp [146]. A atribuição concorda com os dados de DRX da amostra aos 28 dias exibindo formação de picos de baixa intensidade que podem ser atribuídos para as duas fases.

A banda estreita verificada em  $917\text{ cm}^{-1}$  não é atribuída às apatitas, mas sim às vibrações de íons  $\text{PO}_4$  em octafosfatos de cálcio (OCP), fase precursora à formação de HAp, sendo um indicador da evolução da formação de apatita na superfície das amostras em função do tempo de imersão [62]. O pequeno ombro em  $\sim 875\text{ cm}^{-1}$ , sobreposto à banda de  $917\text{ cm}^{-1}$ , pode ser atribuído à presença de apatitas contendo íons  $\text{HPO}_4^{2-}$  incorporados na sua estrutura, devido às vibrações de alongamento da ligação P-OH [62].

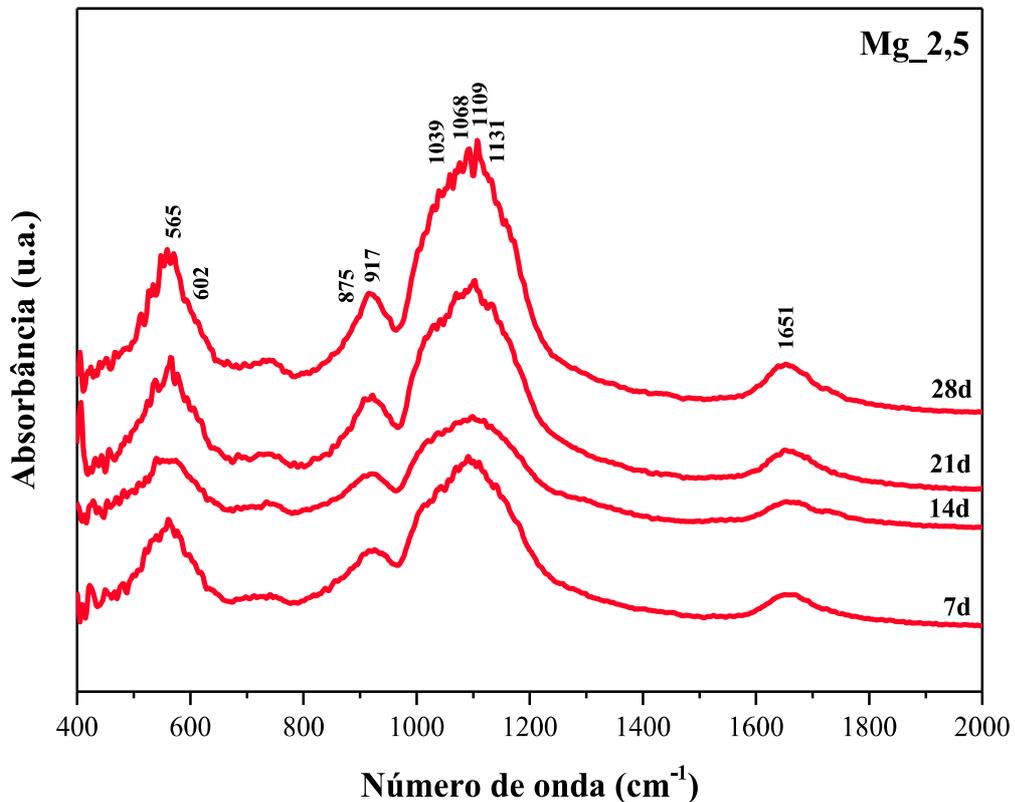
As absorções na forma de picos em  $1079$  e  $1096\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas às vibrações do tipo *stretching* das ligações P-O [25], enquanto o pico intenso em  $1120\text{ cm}^{-1}$  é associado às vibrações assimétricas dos íons  $\text{PO}_4^{2-}$  [31]. Já a banda de absorção em  $1161\text{ cm}^{-1}$  é atribuída a vibrações simétricas do tipo *stretching* de ligações P-O [147] e as vibrações referentes ao grupo  $\text{OH}^-$  estão situadas nos números de onda  $629$  e  $1643\text{ cm}^{-1}$ , sendo a primeira característica da HAp e última pertencente à molécula de  $\text{H}_2\text{O}$  [62,143,147].

Ao compararmos os espectros FTIR na região compreendida entre  $1000\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ , verifica-se que aos 28 dias de imersão os picos de absorção são mais pronunciados, sugerindo maior presença de fosfatos de cálcio na superfície da amostra. Em contrapartida, na análise DRX da amostra Mg\_0 aos 7 dias de imersão, picos intensos são verificados no difratograma, mas perdem intensidade com o aumento do tempo de imersão até os 28 dias.

O comportamento dos difratogramas de DRX e dos espectros FTIR para a amostra Mg\_0 podem ser justificados na formação de novas fases amorfas (ou pouco cristalinas) de fosfato de cálcio, precipitadas sobre camadas cristalinas já formadas, ou em razão da decomposição de apatitas inicialmente precipitadas devido à redução do pH do SBF [62].

A formação de outros fosfatos de cálcio durante o tempo de imersão – que absorvem energia na mesma região do infravermelho que as apatitas – causam sobreposição de bandas nos espectros FTIR. Assim, tem-se redução da intensidade de picos no DRX e a sobreposição de bandas no FTIR com maiores absorções para 28 dias [62].

Os espectros FTIR obtidos para a amostra Mg\_2,5 podem ser observados na Figura 47.



**Figura 47.** Espectros FTIR da amostra Mg\_2,5 para todos os períodos de imersão em SBF avaliados. **Fonte:** Elaboração própria.

Assim como verificado na amostra Mg\_0, as bandas espectrais de absorção da amostra Mg\_2,5 são bastante pronunciadas nos primeiros 7 dias de imersão em SBF, com picos que emergiram nas mesmas posições nos espectros FTIR para todos os períodos de imersão avaliados.

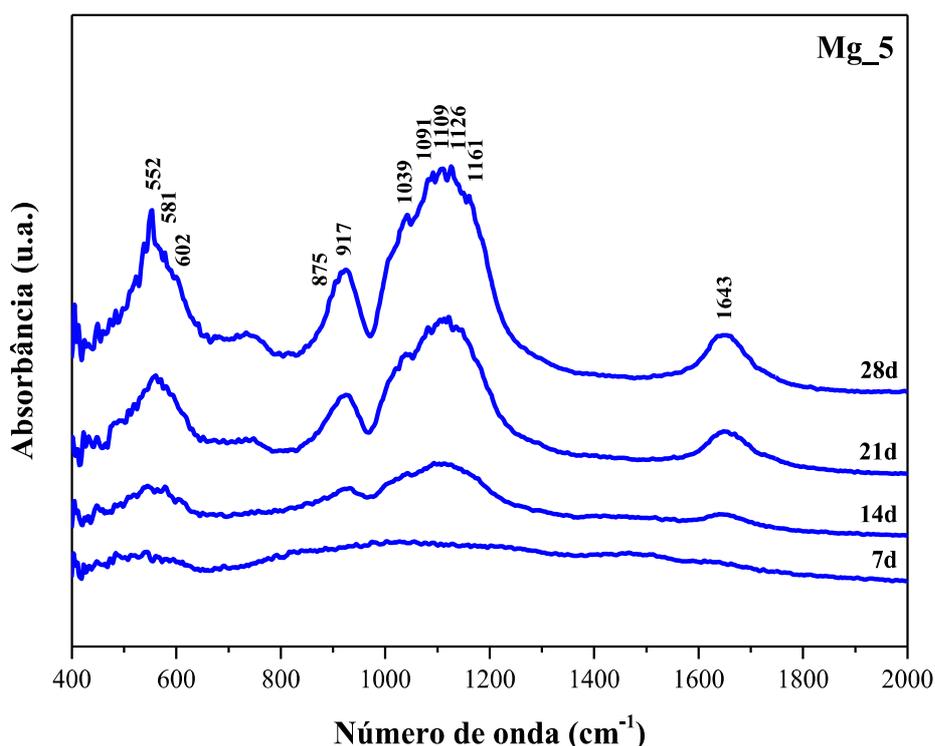
As absorções em torno de 563 e em 602 cm<sup>-1</sup> são atribuídas aos modos vibracionais dos fosfatos em apatitas [31,143–145]. As bandas verificadas em torno de 917 cm<sup>-1</sup> em todos os espectros, juntamente ao ombro em ~875cm<sup>-1</sup>, são atribuídas ao modo vibracional de HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> que sugere a presença de OCP precipitado na amostra [143].

Na região do espectro compreendida entre 1000–1200 cm<sup>-1</sup>, os picos referentes às vibrações de fosfatos em apatitas são verificados nos números de onda 1039, 1068, 1109 e 1131

$\text{cm}^{-1}$ . Ainda, a vibração referente ao grupo  $\text{OH}^-$  da água é observada na banda situada em  $1651 \text{ cm}^{-1}$  [62,143,147].

Do modo geral, a amostra Mg\_2,5 exibiu as mesmas absorções no infravermelho que a amostra Mg\_0, indicando bioatividade aos 28 dias em SBF.

Na sequência, os espectros FTIR obtidos para a amostra Mg\_5 podem ser observados na Figura 48.



**Figura 48.** Espectros FTIR da amostra Mg\_5 para todos os períodos de imersão em SBF avaliados. **Fonte:** Elaboração própria.

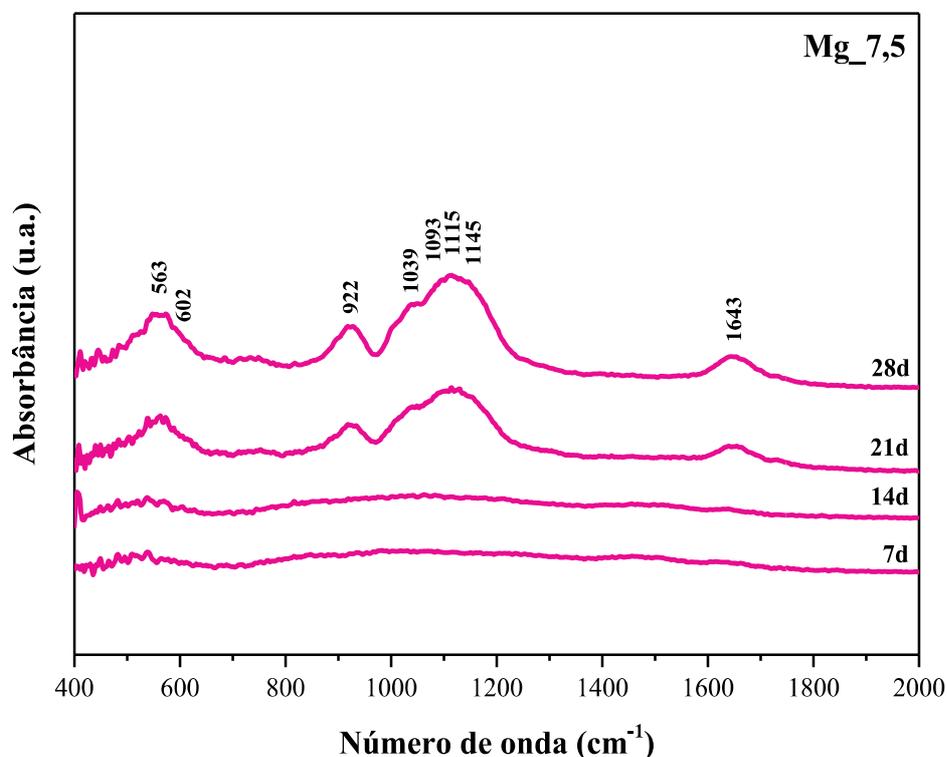
As bandas de absorção tornaram-se mais pronunciadas a partir dos 14 dias em SBF. Com o aumento do tempo de imersão, foi visto a intensificação do pico em  $552 \text{ cm}^{-1}$ , que juntamente às absorções em  $581$  e  $602 \text{ cm}^{-1}$  são atribuídos aos modos vibracionais dos fosfatos, característicos de apatita. A banda é torno de  $917 \text{ cm}^{-1}$  e o ombro em  $\sim 875 \text{ cm}^{-1}$  são atribuídas à presença de OCP na superfície da amostra [143].

Para a faixa espectral entre  $1000\text{--}1200 \text{ cm}^{-1}$ , picos referentes às vibrações de fosfatos em apatitas são verificados em  $1039$ ,  $1091$ ,  $1109$ ,  $1126$  e  $1161 \text{ cm}^{-1}$ . A vibração referente ao grupo  $\text{OH}^-$  da água é observada apenas na banda situada em  $1643 \text{ cm}^{-1}$ . A vibração da  $\text{OH}^-$

associada a apatitas – situada em  $\sim 630\text{ cm}^{-1}$  na forma de ombro em  $\nu_4(\text{PO}_4)$  – não foi observada nos espectros, possivelmente devido à sobreposição de bandas na região entre  $500\text{--}650\text{ cm}^{-1}$  [62,143,147].

Do modo geral, para a amostra Mg\_5 foram observadas as mesmas absorções no infravermelho que a amostra Mg\_0 e Mg\_2,5, indicando bioatividade aos 28 dias de imersão em SBF para a amostra, concordando com as modificações estruturais observadas nos difratogramas de DRX (Figura 45).

Para a amostra Mg\_7,5, foram obtidos os espectros FTIR que podem ser visualizados na Figura 49.



**Figura 49.** Espectros FTIR da amostra Mg<sub>7,5</sub> para todos os períodos de imersão em SBF avaliados. **Fonte:** Elaboração própria.

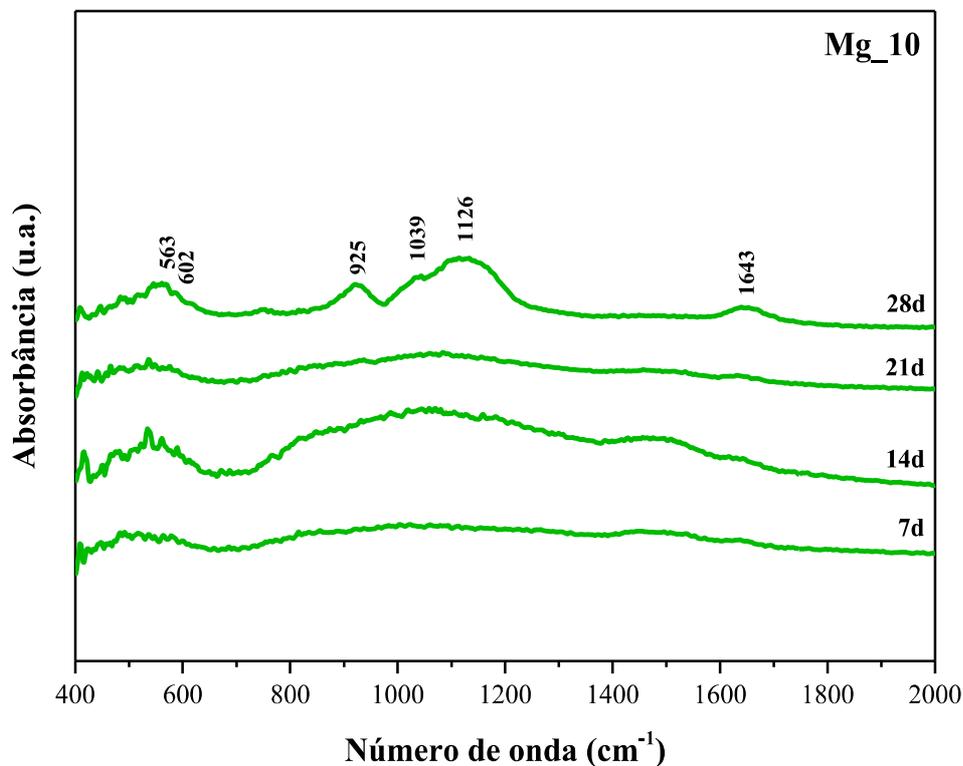
Foram verificados nos espectros da amostra Mg<sub>7,5</sub> a formação de bandas largas nas regiões compreendidas entre  $500\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ ,  $870\text{--}960\text{ cm}^{-1}$  e  $1000\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ , centradas em números de onda similares às bandas verificadas nas amostras contendo de 0 a 5% (em mol) de MgO.

As vibrações em 563 e 602  $\text{cm}^{-1}$  que são atribuídas aos fosfatos tornaram-se evidentes apenas aos 21 dias de imersão. Em 922  $\text{cm}^{-1}$  é centralizada uma banda referente ao modo vibracional assimétrico do tipo *stretching* de ligações P-O-P [148]. As maiores absorções encontram-se em torno de 1039  $\text{cm}^{-1}$  e 1125  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas aos modos vibracionais de fosfatos [31,146]. Por fim, em 1643  $\text{cm}^{-1}$  verifica-se a banda de absorção referente à  $\text{OH}^-$  da água no espectro a partir de 21 dias [62,143,147].

Para a amostra contendo 7,5% de MgO (em mol), foi visto que a intensidade das vibrações se tornaram mais pronunciadas apenas aos 21 dias de imersão, evidenciando um comportamento lento de liberação de espécies iônicas do vidro para a solução SBF. Tal verificação concorda com os dados de pH e perda de massa que indicam menor degradação da amostra em SBF em relação as amostras Mg\_0, Mg\_2,5 e Mg\_5 [113].

Nos difratogramas de DRX da amostra Mg\_7,5 não foram detectadas fases cristalinas superficiais, conforme mostra a Figura 43. Nos espectros FTIR da amostra aos 28 dias é possível observar a semelhança com o espectro FTIR característico do fosfato de cálcio amorfo (ACP) sugerindo evolução de formação do referido material (que não exhibe picos no difratograma de DRX) [62]. Portanto, as verificações de DRX, medidas de pH e perda de massa estão em concordância com a análise qualitativa dos espectros FTIR para amostra Mg\_7,5.

Os espectros FTIR obtidos para a amostra Mg\_10 estão inseridos na Figura 50.

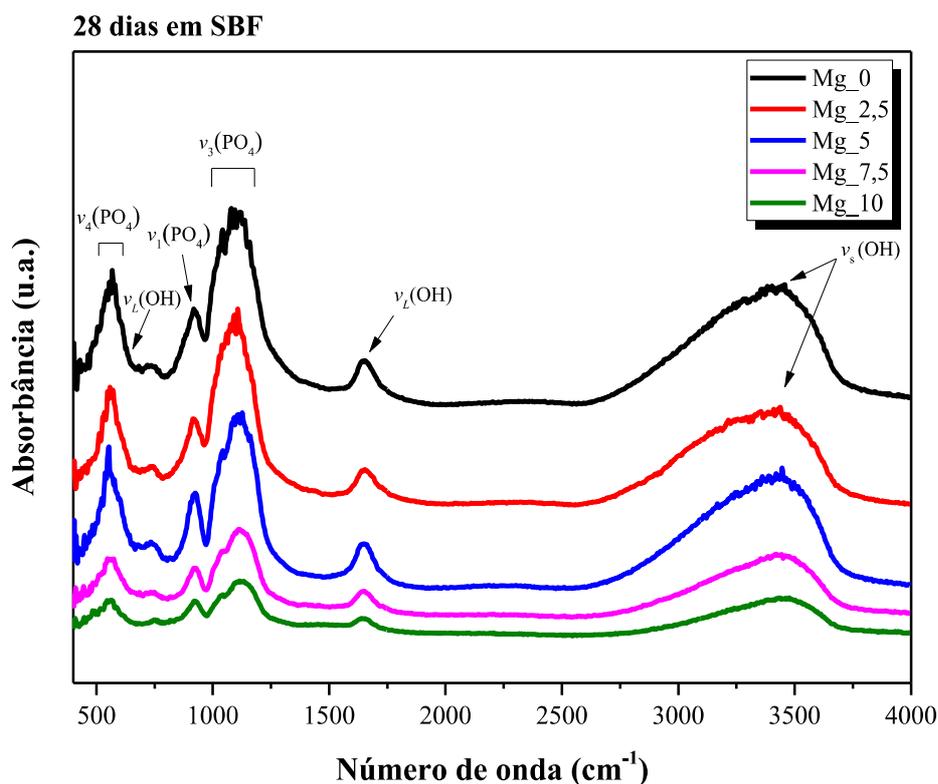


**Figura 50.** Espectros FTIR da amostra Mg<sub>10</sub> para todos os períodos de imersão em SBF avaliados. **Fonte:** Elaboração própria.

De modo similar às bandas verificadas para a amostra Mg<sub>7,5</sub>, a amostra Mg<sub>10</sub> exibe absorções mais evidentes apenas aos 28 dias em SBF. Bandas pouco intensas e largas são observadas em torno de 563, 602, 925, 1039 e 1126  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas aos diferentes modos vibracionais dos fosfatos [31,143–145]. Em 1643  $\text{cm}^{-1}$  é visto o estreitamento da banda referente à  $\text{OH}^-$  [62,143,147].

Os espectros FTIR da Figura 50 mostraram que as formações superficiais da amostra foram retardadas com o aumento da concentração de MgO, reduzindo consideravelmente a reatividade entre o vidro e o SBF. A reatividade superficial lenta para 10% em mol de MgO também foi verificada nas medidas de pH e perda de massa no presente estudo.

Para fins de comparação, os espectros FTIR aos 28 dias de todas as amostras testadas estão inseridos na Figura 51, para a faixa de 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ , contendo as indicações dos grupos presentes em apatitas [62].



**Figura 51.** Espectros FTIR das amostras (Mg\_0, Mg\_2,5, Mg\_5, Mg\_7,5 e Mg\_10) para 28 dias de imersão em SBF. **Fonte:** Elaboração própria.

Na Figura 51 é possível notar que todos os espectros aos 28 dias exibem absorções centradas em números de onda aproximados. Entretanto, com o aumento da concentração de MgO nos vidros, a intensidade das absorções para o material superficial formado nas amostras foi consideravelmente reduzida [34,113].

O retardo na formação de CaP ocorreu devido à maior compactação da rede vítrea com a substituição de Na<sup>+</sup> por Mg<sup>2+</sup>, também verificado nos valores de densidade e volume molar para as amostras. As ligações cruzadas feitas pelo cátion Mg<sup>2+</sup> afetaram consideravelmente as propriedades superficiais do vidro, decorrendo em uma menor troca iônica com a solução SBF e menor perda de massa aos 28 dias, concordando com os resultados deste trabalho e com a bibliografia [34,55,103,104,113].

A análise qualitativa dos espectros FTIR constatou que todas as amostras exibiram absorções nas regiões características de fosfatos de cálcio e apatitas [62]. Contudo, o aumento da concentração de óxido de magnésio nos vidros ocasionou retardo da deposição de fosfatos de cálcio na superfície das amostras – devido ao comportamento de lenta lixiviação com o meio – sendo evidenciado pela mudança na intensidade das absorções espectrais [34,113].

## CAPÍTULO 6: CONCLUSÃO

No presente trabalho, vidros borofosfatos do sistema  $40\text{B}_2\text{O}_3-25\text{P}_2\text{O}_5-(20-x)\text{Na}_2\text{O}-15\text{CaF}_2-x\text{MgO}$  ( $x = 0, 2,5, 5, 7,5$  e  $10\%$  em mol) foram sintetizados pelo método de fusão/resfriamento. Posteriormente, técnicas de caracterização foram empregadas para investigar alterações (estruturais, térmicas e vibracionais) causadas pela substituição do  $\text{Na}_2\text{O}$  por  $\text{MgO}$  e testes de bioatividade em solução SBF foram conduzidos por até 28 dias para as amostras sintetizadas.

A natureza amorfa das amostras foi confirmada por análise DRX. A adição de  $\text{MgO}$  em até  $10\%$  mol causou aumento da densidade e redução do volume molar das amostras, evidenciando o aumento da compactação da rede vítrea. Em concordância, as análises DSC exibiram o aumento da  $T_g$  para os vidros com maiores concentrações de  $\text{MgO}$ , devido à valência e a maior força de campo do cátion adicionado, concordando com a bibliografia.

Os espectros FTIR os vidros demonstraram a ocorrência de quebra da rede vítrea borofosfato com o aparecimento de ligações cruzadas feitas pelo  $\text{Mg}^{2+}$ , justificando o aumento da rigidez das amostras vítreas vistos na densidade e na análise DSC. Durante os testes de bioatividade conduzidos por 7, 14, 21 e 28 dias, todas as amostras mostraram-se reativas em SBF, visto nas medidas de pH e perda de massa percentual. Verificou-se menor variação de pH nas soluções SBF contendo amostras com  $\text{MgO}$  e redução da perda de massa percentual com a crescente incorporação de magnésio nos vidros.

Os resultados de DRX após imersão em SBF mostraram formação de apatitas nos vidros  $\text{Mg}_0$ ,  $\text{Mg}_{2,5}$ ,  $\text{Mg}_5$  e  $\text{Mg}_{10}$  aos 7 dias, não sendo detectados picos para a amostra  $\text{Mg}_{7,5}$  até 28 dias. Contudo, os espectros FTIR obtidos para as amostras após imersão sugeriram bioatividade para todas as amostras sintetizadas aos 28 dias, com absorções no infravermelho em regiões típicas das apatitas e outros fosfatos de cálcio de interesse biológico.

Com base nos resultados deste trabalho, constatou-se que o óxido de magnésio em até  $10\%$  mol aumentou a estabilidade química dos vidros borofosfatos sintetizados, retardando o tempo de deposição de apatita na superfície das amostras. Os vidros contendo adição de até  $5\%$  em mol de  $\text{MgO}$  exibiram bioatividade e resultados promissores para atuação como biomateriais, enquanto as amostras contendo  $7,5\%$  e  $10\%$  em mol de  $\text{MgO}$  poderiam ser estudadas para períodos de imersão em SBF mais longos, pois exibiram indícios de bioatividade aos 28 dias.

## CAPÍTULO 7: PERSPECTIVAS

Para que um vidro bioativo seja comercialmente utilizado em aplicações como reconstituições ósseas, dentárias ou em terapias direcionadas, várias investigações se fazem necessárias, de modo que a aplicação do material seja segura e eficaz.

Considerando os resultados obtidos, abaixo estão inseridas as perspectivas para a sequência deste estudo e sugestões para trabalhos futuros:

- a) Realizar a análise da citotoxicidade dos vidros sintetizados neste estudo (em andamento);
- b) Realizar a análise da atividade antibacteriana dos vidros sintetizados neste estudo;
- c) Realizar o teste de bioatividade das amostras deste estudo para tempos de imersão em solução SBF maiores que 28 dias;
- d) Estudo da bioatividade “*in vivo*” dos vidros borofosfatos bioativos com MgO;
- e) Desenvolvimento de *scaffolds* porosos de vidros borofosfatos bioativos com MgO e análise da bioatividade “*in vitro*”.

## REFERÊNCIAS

- [1] M.M. Pereira, A.E. Clark, L.L. Hench, Calcium phosphate formation on sol-gel-derived bioactive glasses in vitro, *Journal of Biomedical Materials Research* 28 (1994) 693–698. <https://doi.org/10.1002/jbm.820280606>.
- [2] 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* 7 (2011) 2355–2373. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.03.016>.
- [3] Â.L. Andrade, R.Z. Domingues, Cerâmicas bioativas - Estado da arte, *Quimica Nova* 29 (2006) 100–104. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000100019>.
- [4] P. Balasubramanian, A. Grünwald, R. Detsch, L. Hupa, B. Jokic, F. Tallia, A.K. Solanki, J.R. Jones, A.R. Boccaccini, Ion Release, Hydroxyapatite Conversion, and Cytotoxicity of Boron-Containing Bioactive Glass Scaffolds, *Int J Appl Glass Sci* 7 (2016) 206–215. <https://doi.org/10.1111/ijag.12206>.
- [5] M.T. Islam, R.M. Felfel, E.A. Abou Neel, D.M. Grant, I. Ahmed, K.M.Z. Hossain, Bioactive calcium phosphate-based glasses and ceramics and their biomedical applications: A review, *Journal of Tissue Engineering* 8 (2017). <https://doi.org/10.1177/2041731417719170>.
- [6] E.J. Lee, F.K. Kasper, A.G. Mikos, Biomaterials for tissue engineering, *Annals of Biomedical Engineering* 42 (2014) 323–337. <https://doi.org/10.1007/s10439-013-0859-6>.
- [7] S. Bose, M. Roy, A. Bandyopadhyay, Recent advances in bone tissue engineering scaffolds, *Trends in Biotechnology* 30 (2012) 546–554. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.07.005>.
- [8] L.L. Hench, R.J. Splinter, W.C. Allen, T.K. Greenlee, Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials, *Journal of Biomedical Materials Research* 5 (1971) 117–141. <https://doi.org/10.1002/jbm.820050611>.
- [9] L.L. Hench, Opening paper 2015- some comments on bioglass: Four eras of discovery and development, *Biomedical Glasses* 1 (2015) 1–11. <https://doi.org/10.1515/bglass-2015-0001>.

- [10] M. Brink, The influence of alkali and alkaline earths on the working range for bioactive glasses, *J Biomed Mater Res* 36 (1997) 109–117. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199707\)36:1<109::AID-JBM13>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199707)36:1<109::AID-JBM13>3.0.CO;2-D).
- [11] L.L. Hench, The story of Bioglass®, *J Mater Sci Mater Med* 17 (2006) 967–978. <https://doi.org/10.1007/s10856-006-0432-z>.
- [12] L.L. Hench, Bioceramics: from concept to clinic. *J Am Ceram Soc.* 1993;72:93-98., *Journal of the American Ceramic Society* 74 (1991) 1487–1510. <https://doi.org/10.1111/j.1151-2916.1991.tb07132.x>.
- [13] A. Saranti, I. Koutselas, M.A. Karakassides, Bioactive glasses in the system CaO-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: Preparation, structural study and in vitro evaluation, *J Non Cryst Solids* 352 (2006) 390–398. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2006.01.042>.
- [14] 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. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2013.10.001>.
- [15] 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. <https://doi.org/10.1002/jbm.820240607>.
- [16] T. Kokubo, H. Takadama, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials* 27 (2006) 2907–2915. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>.
- [17] M. Vallet-Regí, D. Arcos, Bioceramics for drug delivery, *Acta Materialia* 61 (2013) 890–911. <https://doi.org/10.1016/j.actamat.2012.10.039>.
- [18] J.R. Jones, D.S. Brauer, L. Hupa, D.C. Greenspan, Bioglass and Bioactive Glasses and Their Impact on Healthcare, *Int J Appl Glass Sci* 7 (2016) 423–434. <https://doi.org/10.1111/ijag.12252>.
- [19] J.R. Jones, Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to hybrids, *Acta Biomater* 23 (2015) S53–S82. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.07.019>.
- [20] A.A. El-Rashidy, J.A. Roether, L. Harhaus, U. Kneser, A.R. Boccaccini, Regenerating bone with bioactive glass scaffolds: A review of in vivo studies in bone defect models, *Acta Biomater* 62 (2017) 1–28. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.08.030>.

- [21] M.C. Crovace, M.T. Souza, C.R. Chinaglia, O. Peitl, E.D. Zanotto, Biosilicate® - A multipurpose, highly bioactive glass-ceramic. *in vitro*, *in vivo* and clinical trials, *Journal of Non-Crystalline Solids* 432 (2016) 90–110. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2015.03.022>.
- [22] K. Schuhladden, X. Wang, L. Hupa, A.R. Boccaccini, Dissolution of borate and borosilicate bioactive glasses and the influence of ion (Zn, Cu) doping in different solutions, *Journal of Non-Crystalline Solids* 502 (2018) 22–34. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2018.08.037>.
- [23] N. Sharmin, M.S. Hasan, A.J. Parsons, D. Furniss, C.A. Scotchford, I. Ahmed, C.D. Rudd, Effect of boron addition on the thermal, degradation, and cytocompatibility properties of phosphate-based glasses, *Biomed Res Int* (2013) 1–12. <https://doi.org/10.1155/2013/902427>.
- [24] J.E. Shelby, *Introduction to Glass Science and Technology*, 2005. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- [25] Manupriya, K.S. Thind, K. Singh, V. Kumar, G. Sharma, D.P. Singh, D. Singh, Compositional dependence of *in-vitro* bioactivity in sodium calcium borate glasses, *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 70 (2009) 1137–1141. <https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2009.05.025>.
- [26] K. Zheng, S. Yang, W. Liang, C. Rüssel, Bioactivity and biocompatibility of Na<sub>2</sub>O-K<sub>2</sub>O-CaO-MgO-SrO-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> borophosphate glass, *Adv Mat Res* 335–336 (2011) 1250–1256. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.335-336.1250>.
- [27] S.M. Abo-Naf, E.S.M. Khalil, E.S.M. El-Sayed, H.A. Zayed, R.A. Youness, *In vitro* bioactivity evaluation, mechanical properties and microstructural characterization of Na<sub>2</sub>O-CaO-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> glasses, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 144 (2015) 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.02.076>.
- [28] P. Sobhanachalam, V.R. Kumar, N. Venkatramaiah, Y. Gandhi, N. Veeraiah, Synthesis and *in vitro* characterization of cerium oxide mixed calcium oxy fluoro borophosphate bioactive glasses by means of spectroscopic studies, *J Non Cryst Solids* (2018) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2018.02.035>.
- [29] 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, *J Mater Sci Mater Med* 17 (2006) 583–596. <https://doi.org/10.1007/s10856-006-9220-z>.
- [30] 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, *Journal of the American Ceramic Society* 90 (2007) 303–306. <https://doi.org/10.1111/j.1551-2916.2006.01358.x>.
- [31] I.J. Hidi, G. Melinte, R. Stefan, M. Bindea, L. Baia, The study of the structure and bioactivity of the  $B_2O_3 \cdot Na_2O \cdot P_2O_5$  system, *Journal of Raman Spectroscopy* 44 (2013) 1187–1194. <https://doi.org/10.1002/jrs.4330>.
- [32] M. Ren, S. Cai, W. Zhang, T. Liu, X. Wu, P. Xu, D. Wang, Preparation and chemical stability of  $CaO-P_2O_5-Na_2O-B_2O_3$  porous glass ceramics, *J Non Cryst Solids* 380 (2013) 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2013.09.007>.
- [33] T.J. Webster, C. Ergun, R.H. Doremus, R. Bizios, Hydroxylapatite with substituted magnesium, zinc, cadmium, and yttrium. II. Mechanisms of osteoblast adhesion, (2001) 0–5.
- [34] A. Al-noaman, S.C.F. Rawlinson, R.G. Hill, The role of MgO on thermal properties, structure and bioactivity of bioactive glass coating for dental implants, *J Non Cryst Solids* 358 (2012) 3019–3027. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2012.07.039>.
- [35] R.K. Rude, H.E. Gruber, Magnesium deficiency and osteoporosis: Animal and human observations, *Journal of Nutritional Biochemistry* 15 (2004) 710–716. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.08.001>.
- [36] T. Okuma, Magnesium and Bone Strength, *Nutrition* 17 (2001) 679–680. [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(01\)00551-2](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(01)00551-2).
- [37] J.M. Oliveira, R.N. Correia, M.H. Fernandes, J. Rocha, Influence of the CaO / MgO ratio on the structure of phase-separated glasses: a solid state  $^{29}Si$  and  $^{31}P$  MAS NMR study, 265 (2000) 221–229.
- [38] K. Franks, V. Salih, J.C. Knowles, The effect of MgO on the solubility behavior and cell proliferation in a quaternary soluble phosphate based glass system, *J Mater Sci Mater Med* 13 (2002) 549–556. <https://doi.org/10.1023/A:1015122709576>.
- [39] I. Ahmed, A. Parsons, A. Jones, G. Walker, C. Scotchford, C. Rudd, Cytocompatibility and Effect of Increasing MgO Content in a Range of Quaternary Invert Phosphate-based

Glasses, J Biomater Appl 24 (2010) 555–575.  
<https://doi.org/10.1177/0885328209102761>.

- [40] J.M. Nedelec, E. Jallot, J. Soulie, Influence of Mg doping on the early steps of physico-chemical reactivity of sol – gel derived bioactive glasses in biological medium, (2009).  
<https://doi.org/10.1039/b913771h>.
- [41] Y. Zhang, J.D. Santos, Crystallization and microstructure analysis of calcium phosphate-based glass ceramics for biomedical applications, *J Non Cryst Solids* 272 (2000) 14–21.  
[https://doi.org/10.1016/S0022-3093\(00\)00115-0](https://doi.org/10.1016/S0022-3093(00)00115-0).
- [42] G. Walter, J. Vogel, U. Hoppe, P. Hartmann, The structure of CaO-Na<sub>2</sub>O-MgO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> invert glass, *J Non Cryst Solids* 296 (2001) 212–223. [https://doi.org/10.1016/S0022-3093\(01\)00912-7](https://doi.org/10.1016/S0022-3093(01)00912-7).
- [43] C. Zhu, I. Ahmed, A. Parsons, K.Z. Hossain, C. Rudd, J. Liu, X. Liu, Structural, thermal, in vitro degradation and cytocompatibility properties, *J Non Cryst Solids* 457 (2017) 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrsol.2016.11.001>.
- [44] N. Sharmin, A.J. Parsons, C.D. Rudd, I. Ahmed, Effect of boron oxide addition on fibre drawing, mechanical properties and dissolution behaviour of phosphate-based glass fibres with fixed 40, 45 and 50 mol% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, *Journal of Biomaterials Applications* 29 (2014) 639–653. <https://doi.org/10.1177/0885328214539824>.
- [45] N. Sharmin, M.S. Hasan, C.D. Rudd, D. Boyd, U. Werner-zwanziger, I. Ahmed, A.J. Parsons, Effect of boron oxide addition on the viscosity-temperature behaviour and structure of phosphate-based glasses, *J Biomed Mater Res Part B* 0 (2016) 1–14. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33610>.
- [46] N. Sharmin, M.S. Hasan, A.J. Parsons, C.D. Rudd, I. Ahmed, Cytocompatibility, mechanical and dissolution properties of high strength boron and iron oxide phosphate glass fibre reinforced bioresorbable composites, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 59 (2016) 41–56. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2015.12.011>.
- [47] S.C. Rasmussen, *How Glass Changed the World: The History and Chemistry of Glass from Antiquity to the 13th Century*, Springer, 2012. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-28183-9>.
- [48] O.L. Alves, I.F. Gimenez, I.O. Mazali, Vidros, in: *CADERNOS TEMÁTICOS – QUÍMICA NOVA NA ESCOLA*, 2001: pp. 9–20.

- [49] E.D. Zanotto, J.C. Mauro, The glassy state of matter: Its definition and ultimate fate, *Journal of Non-Crystalline Solids* (2017). <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2017.05.019>.
- [50] J.F. Shackelford, Y.-H. Han, S. Kim, S.-H. Kwon, *CRC Materials Science and Engineering Handbook*, 2016. <https://doi.org/10.1201/b18971>.
- [51] W.H. Zachariasen, THE ATOMIC ARRANGEMENT IN GLASS, *Journal of the American Chemical Society* 50 (1932) 3841–3851. <https://doi.org/10.1021/ja01349a006>.
- [52] M.H. Wan, P.S. Wong, R. Hussin, H.O. Lintang, S. Endud, Structural and luminescence properties of Mn<sup>2+</sup> ions doped calcium zinc borophosphate glasses, *Journal of Alloys and Compounds* 595 (2014) 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2014.01.153>.
- [53] C.P. Aranha, Estudo das propriedades microestruturais e ópticas dos vidros BaO-BaF<sub>2</sub>-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 2011. 70 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Física) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011.
- [54] V. Stanić, *Boron-Containing Bioactive Glasses for Bone Regeneration*, 2019. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102196-5.00008-2>.
- [55] R.N. Oosterbeek, K.I. Margaritis, X.C. Zhang, S.M. Best, R.E. Cameron, Non-linear dissolution mechanisms of sodium calcium phosphate glasses as a function of pH in various aqueous media, *Journal of the European Ceramic Society* 41 (2021) 901–911.
- [56] N. Kim, S. Im, D. Kim, D. Yoon, B. Ryu, Structure and Properties of Borophosphate Glasses, *Electronic Materials Letters* 6 (2010) 103–106. <https://doi.org/10.3365/eml.2010.09.103>.
- [57] M. Seshadri, C. Batestin, I.L. Silva, M.J.V. Bell, V. Anjos, Effect of compositional changes on the structural properties of borophosphate glasses: ATR-FTIR and Raman spectroscopy, *Vib Spectrosc* 110 (2020) 103137. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2020.103137>.
- [58] A.L.R. Pires, A.C.K. Bierhalz, A.M. Moraes, BIOMATERIAIS: TIPOS, APLICAÇÕES E MERCADO, *Quimica Nova* 38 (2015) 957–971. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150094>.

- [59] B.O.B. Brier, P. Vinh, M. Schuster, H. Mayforth, A Radiologic Study of an Ancient Egyptian Mummy with a Prosthetic Toe, *Anat Rec* 298 (2015) 1047–1058. <https://doi.org/10.1002/ar.23135>.
- [60] R. Murugan, S. Ramakrishna, Development of nanocomposites for bone grafting, *Composites Science and Technology* 65 (2005) 2385–2406. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2005.07.022>.
- [61] M. Vallet-Regí, Ceramics for medical applications, *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* (2001) 97–108. <https://doi.org/10.1039/b007852m>.
- [62] C. Drouet, Apatite Formation: Why It May Not Work as Planned, and How to Conclusively Identify Apatite Compounds, *Biomed Res Int* (2013) 1–12. <https://doi.org/10.1155/2013/490946>.
- [63] A.H. Aparecida, M.V.L. Fook, M.L. Dos Santos, A.C. Guastaldi, ESTUDO DA INFLUÊNCIA DOS ÍONS  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $(SO_4)^{2-}$  E  $(CO_3)^{2-}$  NA CRISTALIZAÇÃO BIOMIMÉTICA DE FOSFATO DE CÁLCIO AMORFO (ACP) E CONVERSÃO A FOSFATO OCTACÁLCICO (OCP), *Química Nova* 30 (2007) 892–896. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000400024>.
- [64] M. Iafisco, L.D. Esposti, G.B. Ramírez-Rodríguez, F. Carella, J. Gómez-Morales, A.C. Ionescu, E. Brambilla, A. Tampieri, J.M. Delgado-López, Fluoride-doped amorphous calcium phosphate nanoparticles as a promising biomimetic material for dental remineralization, *Scientific Reports* 8 (2018) 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35258-x>.
- [65] A.S. KAY, M. I.; YOUNG, R. A.; POSNER, CRYSTAL STRUCTURE OF HYDROXIAPATITE, *Nature* 204 (1964) 1050–1052.
- [66] A. Shavandi, A.E.D.A. Bekhit, Z. Sun, A. Ali, A review of synthesis methods, properties and use of hydroxyapatite as a substitute of bone, *Journal of Biomimetics, Biomaterials and Biomedical Engineering* 25 (2015) 98–117. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/JBBBE.25.98>.
- [67] K. Lin, J. Chang, Structure and properties of hydroxyapatite for biomedical applications, Elsevier Ltd., 2015. <https://doi.org/10.1016/b978-1-78242-033-0.00001-8>.
- [68] R.O. Ritchie, M.J. Buehler, P. Hansma, Plasticity and toughness in bone, (2009).

- [69] J. Gómez-morales, M. Iafisco, J.M. Delgado-lópez, C. Drouet, J. Gómez-morales, M. Iafisco, J.M. Delgado-lópez, S. Sarda, Progress on the preparation of nanocrystalline apatites and surface characterization: Overview of fundamental and applied aspects, *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials* 59 (2013) 1–46. <https://doi.org/10.1016/j.pcrysgrow.2012.11.001>.
- [70] M. Todo, S.D. Park, K. Arakawa, Y. Takenoshita, Relationship between microstructure and fracture behavior of bioabsorbable HA/PLLA composites, *Composites: Part A* 37 (2006) 2221–2225. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2005.10.001>.
- [71] S.C. Mojumdar, J. Kozánková, J. Chocholoušek, J. Majling, D. Fábryová, FLUOROAPATITE - MATERIAL FOR MEDICINE: Growth, morphology and thermoanalytical properties, *Journal Of Thermal Analysis and Calorimetry* 78 (2004) 73–82.
- [72] A. Al-noaman, N. Karpukhina, S.C.F. Rawlinson, R.G. Hill, Effect of FA on bioactivity of bioactive glass coating for titanium dental implant. Part I: Composite powder, *J Non Cryst Solids* 364 (2013) 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2012.11.051>.
- [73] A. Kinnari, K.A.G. Bhadang, Influence of fluorapatite on the properties of thermally sprayed hydroxyapatite coatings, *Biomaterials* 25 (2004) 4935–4945.
- [74] K. Bastos, A.P. Oliveira, D. Hotza, S.O. Rogero, AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE DE VIDRO E VITROCERÂMICA DO SISTEMA SNCP (SiO<sub>2</sub>-Na<sub>2</sub>O-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), *Quim Nova* 35 (2012) 665–670.
- [75] J.M. Oliveira, R.N. Correia, M.H. Fernandes, Surface modifications of a glass and a glass-ceramic of the MgO-3CaO.P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-SiO<sub>2</sub> system system in a simulated body fluid, *Biomaterials* 16 (1995) 849–854.
- [76] T. Kokubo, H. Takadama, Simulated Body Fluid (SBF) as a Standard Tool to Test the Bioactivity of Implants, in: *Handbook of Biomineralization*, M. Epple a, WILEY - VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2007: pp. 97–108.
- [77] J.A. Juhasz, S.M. Best, A.D. Auffret, W. Bonfield, Biological control of apatite growth in simulated body fluid and human blood serum, *J Mater Sci Mater Med* 19 (2008) 1823–1829. <https://doi.org/10.1007/s10856-007-3344-7>.
- [78] A. JILLAVENKATESA; A. CONDRATE, Sol – gel processing of hydroxyapatite, *J Mater Sci* 33 (1998) 4111–4119.

- [79] T. Kokubo, Bioactive glass ceramics: properties and applications, *Biomaterials* 12 (1991) 155–163. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(91\)90194-F](https://doi.org/10.1016/0142-9612(91)90194-F).
- [80] R.Z. Legeros, *Properties of Osteoconductive Biomaterials: Calcium Phosphates*, (2002) 81–98.
- [81] E.A.A. Neel, D.M. Pickup, S.P. Valappil, J. Newport, J.C. Knowles, Bioactive functional materials: a perspective on phosphate-based glasses, *J Mater Chem* 19 (2009) 690–701. <https://doi.org/10.1039/b810675d>.
- [82] V. Miguez-Pacheco, L.L. Hench, A.R. Boccaccini, Bioactive glasses beyond bone and teeth: Emerging applications in contact with soft tissues, *Acta Biomater* 13 (2015) 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.11.004>.
- [83] 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* 432 (2016) 15–30. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2015.02.015>.
- [84] V. Salih, K. Franks, M. James, G.W. Hastings, J.C. Knowles, I. Olsen, Development of soluble glasses for biomedical use Part II: The biological response of human osteoblast cell lines to phosphate-based soluble glasses, *J Mater Sci Mater Med* 11 (2000) 615–620. <https://doi.org/10.1023/A:1008901612674>.
- [85] M.E. Maguire, J.A. Cowan, Magnesium chemistry and biochemistry, *BioMetals* 15 (2002) 203–210. <https://doi.org/10.1023/A:1016058229972>.
- [86] R.K. Rude, J.S. Adams, E. Ryzen, D.B. Endres, H. Niimi, R.L. Horst, J.G. Haddad, F.R. Singer, Low Serum Concentrations of 1,25-Dihydroxyvitamin D in Human Magnesium Deficiency, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 61 (1985) 933–940.
- [87] R.K. Rude, Magnesium Deficiency: A Cause of Heterogenous Disease in Humans, *Journal of Bone and Mineral Research* 13 (1998) 749–758. <https://doi.org/10.1359/jbmr.1998.13.4.749>.
- [88] S. Wallach, Effects of magnesium on skeletal metabolism, *Magnes Trace Elem* 9 (1990) 1–14.
- [89] H. Rubin, Central role for magnesium in coordinate control of metabolism and growth in animal cells, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 72 (1975) 3551–3555.

- [90] F.I. Wolf, A. Cittadini, Magnesium in cell proliferation and differentiation, *Front Biosci* 4 (1999) D607-17. <https://doi.org/10.2741/wolf>.
- [91] M.H. Salimi, J.C. Heughebaert, G.H. Nancollas, Crystal Growth of Calcium Phosphates in the Presence of Magnesium Ions, (1985) 119–122.
- [92] J.W.L. Wilson, P.G. Werness, L.H. Smith, INHIBITORS OF CRYSTAL GROWTH OF HYDROXYAPATITE: CONSTANT COMPOSITION APPROACH, *J Urol* 134 (1985) 1255–1258. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)47706-8](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)47706-8).
- [93] J.M. Burnell, C. Liu, A.G. Miller, E. Teubner, J.M.C. Liu, A.G. Miller, E. Teubner, Effects of dietary alteration of bicarbonate and magnesium on rat bone, (2018) 302–307.
- [94] A.L. Boskey, C.M. Rimnac, M. Bansal, M. Federman, J. Lian, B.D. Boyan, Effect of Short-Term Hypomagnesemia on the Chemical and Mechanical Properties of Rat Bone, *Journal of Orthopaedic Research* 10 (1992) 774–783.
- [95] L. Cohen, R. Kitzes, Infrared spectroscopy and magnesium content of bone mineral in osteoporotic women, *Isr J Med Sci* 17 (1981) 1123—1125.
- [96] C.C. Lai, L. Singer, W.D. Armstrong, Bone composition and phosphatase activity in magnesium deficiency in rats., *J Bone Joint Surg Am* 57 (1975) 516–522.
- [97] B.Y.J. Duckworth, W. Godden, 17. THE EFFECT OF ACUTE MAGNESIUM DEFICIENCY ON BONE FORMATION IN RATS, 34 (1940) 97–108.
- [98] M.C. Wang, E.C. Moore, P.B. Crawford, M. Hudes, Z.I. Sabry, R. Marcus, Influence of Pre-adolescent Diet on Quantitative Ultrasound Measurements of the Calcaneus in Young Adult Women, *Osteoporosis International* 1 (1999) 532–535.
- [99] F. Barrere, C.A. Van Blitterswijk, K. De Groot, P. Layrolle, Influence of ionic strength and carbonate on the Ca-P coating formation from SBF  $\hat{A}$  5 solution, 23 (2002) 1921–1930.
- [100] S. Lopez-esteban, E. Saiz, S. Fujino, T. Oku, K. Suganuma, A.P. Tomsia, Bioactive glass coatings for orthopedic metallic implants, 23 (2003) 2921–2930. [https://doi.org/10.1016/S0955-2219\(03\)00303-0](https://doi.org/10.1016/S0955-2219(03)00303-0).
- [101] S.J. Watts, R.G. Hill, M.D. O’Donnell, R. V Law, Influence of magnesia on the structure and properties of bioactive glasses, *J Non Cryst Solids* 356 (2010) 517–524. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2009.04.074>.

- [102] C. Zhu, I. Ahmed, A. Parsons, K.Z. Hossain, C. Rudd, J. Liu, X. Liu, Structural, thermal, in vitro degradation and cytocompatibility properties of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-CaO-MgO-Na<sub>2</sub>O-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> glasses, *Journal of Non-Crystalline Solids* 457 (2017) 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2016.11.001>.
- [103] S.M. Salman, S.N. Salama, H. Darwish, E.A. Mahdy, The role of MgO on the structural properties of CaO–Na<sub>2</sub>O(MgO)–P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>–CaF<sub>2</sub>–SiO<sub>2</sub> derived glass ceramics, *Ceramics International* 36 (2010) 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2009.06.021>.
- [104] J. Massera, L. Hupa, M. Hupa, Influence of the partial substitution of CaO with MgO on the thermal properties and in vitro reactivity of the bioactive glass S53P4, *Journal of Non-Crystalline Solids* 358 (2012) 2701–2707. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2012.06.032>.
- [105] G. Rajkumar, V. Rajendran, S. Aravindan, Role of MgO on the HAp forming ability in phosphate based glasses, *Ceramics International* 38 (2012) 3781–3790. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2012.01.026>.
- [106] L. Ma, K. Brow, M.E. Schlesinger, Dissolution behaviour of sodium calcium polyphosphate glasses, 59 (2018) 205–212. <https://doi.org/10.13036/17533562.59.5.018>.
- [107] N.A. Wójcik, S. Ali, J.L. Karczewski, B. Jonson, M. Bartmanski, R.J. Barczynski, DC and AC Conductivity, Biosolubility and Thermal Properties of Mg-Doped Na<sub>2</sub>O–CaO–P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Glasses, *Materials* 14 (2021) 2626. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ma14102626>.
- [108] Y. Wang, C. Zhu, A. Parsons, C. Rudd, I. Ahmed, N. Sharmin, Effects of ZnO addition on thermal properties, degradation and biocompatibility of P<sub>45</sub>Mg<sub>24</sub>Ca<sub>16</sub>Na<sub>(15-x)</sub>Zn<sub>x</sub> glasses, *Biomedical Glasses* 5 (2019) 53–66. <https://doi.org/10.1515/bglass-2019-0005>.
- [109] M.T. Islam, K.M.Z. Hossain, N. Sharmin, A.J. Parsons, I. Ahmed, Effect of magnesium content on bioactivity of near invert phosphate based glasses, *International Journal of Applied Glass Science* 8 (2017) 391–402. <https://doi.org/10.1111/ijag.12320>.
- [110] C.V. Kumari, V.R. Kumar, P. Sobhanachalam, P.V. Rao, G.S. Baskaran, N. Veeraiah, In vitro degradation studies on bioactive calcium fluoroborophosphate glasses mixed with some modifier oxides-influence of therapeutically active vanadium ions, *Mater Chem Phys* 205 (2018) 376–390. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.11.029>.

- [111] K. Zheng, S. Yang, J. Wang, C. Russel, C. Liu, W. Liang, Characteristics and biocompatibility of Na<sub>2</sub>O-K<sub>2</sub>O-CaO-MgO-SrO-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> borophosphate glass fibers, *J Non Cryst Solids* 358 (2012) 387–391. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2011.10.004>.
- [112] P. Sobhanachalam, C. Vijaya Kumari, G. Sahaya Baskaran, P. Syam Prasad, N. Veeraiah, V. Ravi Kumar, On identifying efficient modifier oxide in improving bioactivity of Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> doped calcium oxy fluoro borophosphate glasses, *Journal of Alloys and Compounds* 692 (2017) 219–226. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2016.09.037>.
- [113] R. Wetzel, O. Bartzok, D.S. Brauer, Influence of low amounts of zinc or magnesium substitution on ion release and apatite formation of Bioglass 45S5, *J Mater Sci Mater Med* 31 (2020) 1–10. <https://doi.org/10.1007/s10856-020-06426-1>.
- [114] F. Sharifianjazi, M. Moradi, A. Abouchenari, A.H. Pakseresht, A. Esmailkhanian, M. Shokouhimehr, M.S. Asl, Effects of Sr and Mg dopants on biological and mechanical properties of SiO<sub>2</sub>-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bioactive glass, *Ceramics International* (2020). <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.06.030>.
- [115] M. Karimi, A. Jodaei, A. Sadeghinik, M. Rastegar, T.M. Hafshejani, M. Shamsi, F. Orand, F. Lotfi, Deep eutectic choline chloride-calcium chloride as all-in-one system for sustainable and one-step synthesis of bioactive fluorapatite nanoparticles, *Journal of Fluorine Chemistry* 204 (2017) 76–83. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2017.10.011>.
- [116] U.B. Chanshetti, V.A. Shelke, S.M. Jadhav, S.G. Shankarwar, T.K. Chondhekar, A.G. Shankarwar, V. Sudarsan, M.S. Jogad, Density and molar volume studies of phosphate glasses, *Facta Universitatis - Series: Physics, Chemistry and Technology* 9 (2011) 29–36. <https://doi.org/10.2298/fupct1101029c>.
- [117] J.S. GAFFNEY, N.A. MARLEY, D.E. JONES, FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR) SPECTROSCOPY, *Characterization of Materials* (2012) 1104–1135. <https://doi.org/10.1016/c2009-0-22072-1>.
- [118] L.C.A. da Silva, F.G. Neto, S.S.C. Pimentel, R. da S. Palácios, F. Sato, K.M. Retamiro, N.S. Fernandes, C.V. Nakamura, F. Pedrochi, A. Steimacher, The role of Ag<sub>2</sub>O on antibacterial and bioactive properties of borate glasses, *J Non Cryst Solids* 554 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2020.120611>.

- [119] E.P. Erasmus, R. Sule, O.T. Johnson, J. Massera, I. Sigalas, In vitro Evaluation of Porous borosilicate, borophosphate and phosphate Bioactive Glasses Scaffolds fabricated using Foaming Agent for Bone Regeneration, *Scientific Reports* (2018) 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22032-2>.
- [120] D. Roy, In vitro reactivity of Na<sub>2</sub>O–MgO–SiO<sub>2</sub> glasses, *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 68 (2007) 2321–2325. <https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2007.06.026>.
- [121] S. Agathopoulos, M.C. Ferro, J.Y. Xu, J.M. Oliveira, P.A.A.P. Marques, R.N. Correia, M.H. V. Fernandes, Structural Interpretation of the In Vitro Reactivity of SiO<sub>2</sub>-MgO-Na<sub>2</sub>O Glasses, *Key Engineering Materials* 240–242 (2003) 217–220. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.240-242.217>.
- [122] S.D. De Campos, C. Espíndola, C.B. da Silveira, RESISTÊNCIA QUÍMICA DE VITRO-CERÂMICOS PERTENCENTES A SISTEMAS Li<sub>2</sub>O-ZrO<sub>2</sub>-BaO-SiO<sub>2</sub> FRENTE AO TRATAMENTO COM SOLUÇÕES ÁCIDAS E BÁSICAS, *Quimica Nova* 25 (2002) 186–190. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000200003>.
- [123] R. Brückner, M. Tylkowski, L. Hupa, D.S. Brauer, Controlling the ion release from mixed alkali bioactive glasses by varying modifier ionic radii and molar volume, *Journal of Materials Chemistry B* 4 (2016) 3121–3134. <https://doi.org/10.1039/C5TB02426A>.
- [124] F. Wang, Q. Liao, K. Chen, S. Pan, M. Lu, Glass formation and FTIR spectra of CeO<sub>2</sub>-doped 36Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-10B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-54P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> glasses, *J Non Cryst Solids* 409 (2015) 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2014.11.020>.
- [125] P. Pascuta, G. Borodi, A. Popa, V. Dan, E. Culea, Influence of iron ions on the structural and magnetic properties of some zinc-phosphate glasses, *Mater Chem Phys* 123 (2010) 767–771. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2010.05.056>.
- [126] M. Seshadri, M. Radha, M.J.V. Bell, V. Anjos, Structural and spectroscopic properties of Yb<sup>3+</sup> doped borophosphate glasses for IR laser application, *Ceram Int* 44 (2018) 20790–20797. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.08.080>.
- [127] A. Bhogi, R. Vijaya Kumar, P. Kistaiah, Effect of alkaline earths on spectroscopic and structural properties of Cu<sup>2+</sup> ions-doped lithium borate glasses, *Journal of Non-Crystalline Solids* 426 (2015) 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2015.06.012>.
- [128] Y.M. Moustafa, K. El-Egili, Infrared spectra of sodium phosphate glasses, *J Non Cryst Solids* 240 (1998) 144–153. [https://doi.org/10.1016/S0022-3093\(98\)00711-X](https://doi.org/10.1016/S0022-3093(98)00711-X).

- [129] X. Chen, X. Chen, D.S. Brauer, R.M. Wilson, R. V. Law, R.G. Hill, N. Karpukhina, Sodium is not essential for high bioactivity of glasses, *Int J Appl Glass Sci* 8 (2017) 428–437. <https://doi.org/10.1111/ijag.12323>.
- [130] H. Othman, H. Elkholy, M. Rita, D. Palles, D. De Ligny, E.I. Kamitsos, D. Möncke, Spectroscopic study of the role of alkaline earth oxides in mixed borate glasses-site basicity, polarizability and glass structure, *J Non Cryst Solids* 533 (2020) 119892. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2020.119892>.
- [131] J.S. Moya, A.P. Tomsia, A. Pazo, C. Santos, F. Guitián, In vitro formation of hydroxylapatite layer in a MgO-containing glass, *J Mater Sci Mater Med* 5 (1994) 529–532. <https://doi.org/10.1007/BF00124885>.
- [132] J. Massera, Y. Shpotyuk, F. Sabatier, T. Jouan, C. Boussard-Plédel, C. Roiland, B. Bureau, L. Petit, N.G. Boetti, D. Milanese, L. Hupa, Processing and characterization of novel borophosphate glasses and fibers for medical applications, *J Non Cryst Solids* 425 (2015) 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2015.05.028>.
- [133] M. Mneimne, R.G. Hill, A.J. Bushby, D.S. Brauer, High phosphate content significantly increases apatite formation of fluoride-containing bioactive glasses, *Acta Biomater* 7 (2011) 1827–1834. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.11.037>.
- [134] 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. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.01.043>.
- [135] A. Al-noaman, S.C.F. Rawlinson, R.G. Hill, The influence of CaF<sub>2</sub> content on the physical properties and apatite formation of bioactive glass coatings for dental implants, *J Non Cryst Solids* 358 (2012) 1850–1858. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2012.05.039>.
- [136] D.S. Brauer, M. Mneimne, R.G. Hill, Fluoride-containing bioactive glasses: Fluoride loss during melting and ion release in tris buffer solution, *J Non Cryst Solids* 357 (2011) 3328–3333. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2011.05.031>.
- [137] 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, *Journal of*

- Biomedical Materials Research 44 (1998) 416–421. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199911\)47:23.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199911)47:23.0.CO;2-S).
- [138] X. Zhang, X. Guo, J. Zhang, X. Fan, M. Chen, Nucleation, crystallization and biological activity of Na<sub>2</sub>O-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-SiO<sub>2</sub> bioactive glass, *J Non Cryst Solids* 568 (2021) 120929. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrsol.2021.120929>.
- [139] Y. Li, M.N. Rahaman, B.S. Bal, D.E. Day, Q. Fu, Early Stages of Calcium Phosphate Formation on Bioactive Borosilicate, 1533 (2008) 1528–1533. <https://doi.org/10.1111/j.1551-2916.2007.02140.x>.
- [140] D. Sriranganathan, N. Kanwal, K.A. Hing, R.G. Hill, Strontium substituted bioactive glasses for tissue engineered scaffolds: the importance of octacalcium phosphate, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* (2016) 1–10. <https://doi.org/10.1007/s10856-015-5653-6>.
- [141] G. Kaur, G. Pickrell, G. Kimsawatde, D. Homa, H.A. Allbee, N. Sriranganathan, Synthesis, cytotoxicity, and hydroxyapatite formation in 27-Tris-SBF for sol-gel based CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-SiO<sub>2</sub>-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-ZnO bioactive glasses, *Scientific Reports* 4 (2014) 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep04392>.
- [142] D.S. Brauer, N. Karpukhina, V. Law, R.G. Hill, Structure of fluoride-containing bioactive glasses, (2009) 5629–5636. <https://doi.org/10.1039/b900956f>.
- [143] I. Nikčević, V. Jokanović, M. Mitrić, Z. Nedić, D. Makovec, D. Uskoković, Mechanochemical synthesis of nanostructured fluorapatite/fluorhydroxyapatite and carbonated fluorapatite/fluorhydroxyapatite, *J Solid State Chem* 177 (2004) 2565–2574. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2004.03.024>.
- [144] V. Anand, K.J. Singh, K. Kaur, H. Kaur, D.S. Arora, B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-MgO-SiO<sub>2</sub>-Na<sub>2</sub>O-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-ZnO bioactive system for bone regeneration applications, *Ceram Int* 15 (2016) 3638–3651. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2015.11.029>.
- [145] F. Mohandes, M. Salavati-Niasari, M. Fathi, Z. Fereshteh, Hydroxyapatite nanocrystals: Simple preparation, characterization and formation mechanism, *Materials Science and Engineering C* 45 (2014) 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.08.058>.
- [146] G.D. Webler, M.J.M. Zapata, L.C. Agra, E. Barreto, A.O.S. Silva, J.M. Hickmann, E.J.S. Fonseca, Characterization and evaluation of cytotoxicity of biphasic calcium phosphate

synthesized by a solid state reaction route, *Current Applied Physics* 14 (2014) 876–880. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2014.03.026>.

- [147] A.A. Rocha de Oliveira, D. Alves de Souza, H. Sander Mansur, M. De Magalhães Pereira, Synthesis, characterization and cytocompatibility of spherical bioactive glass nanoparticles for potential hard tissue engineering applications, *Biomed. Mater.* 8 (2013) 1–14. <https://doi.org/10.1088/1748-6041/8/2/025011>.
- [148] L.C.S. Belusso, G.F. Lenz, E.E. Fiorini, A.J. Pereira, R. Sequinel, R.A. Bini, J.F. Felix, R. Schneider, Synthesis of silver nanoparticles from bottom up approach on borophosphate glass and their applications as SERS, antibacterial and glass-based catalyst, *Applied Surface Science* 473 (2019) 303–312. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.12.155>.