

Influência da incorporação da HAp e β -TCP no cimento ósseo wollastonita/brushita

Influence of Hap incorporation and β -TCP in the wollastonite/brushite bone cement

Matheus Araújo Santos^{1,3}, Márcio José Batista Cardoso^{2,3},
Klaidson Antonio Sousa Farias^{2,3}, Kleilton Oliveria Santos³,
Otto Cumberbatch Morúa^{2,3}, Marcus Vinicius Lia Fook^{1,2,3}

¹ Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais (UAEMa), Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

³ Laboratório de Desenvolvimento e Avaliação de Biomateriais – CERTBIO, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

e-mail: matheus.santos@certbio.ufcg.edu.br, marcioufcg@hotmail.com, kfariascg@hotmail.com, kleilton.oliveira@certbio.ufcg.edu.br, cumberbatch.otto@gmail.com, viniciusliafook@yahoo.com.br

RESUMO

O elevado número de pacientes com problemas de saúde por doenças ósseas ou traumas tem promovido o desenvolvimento de pesquisas em biomateriais de modo a garantir uma melhor qualidade de vida. Dentre os diversos biomateriais, os cimentos ósseos poliméricos (PMMA) ou cerâmicos (fosfatos e silicatos de cálcio) destacam-se para aplicações em cirurgias ortopédicas e odontológicas, tais como: reconstrução óssea, artroplastia. Diante do exposto o objetivo da pesquisa foi avaliar a influência da incorporação de fosfatos de cálcio (β -TCP (amostra 1 - A1) e hidroxiapatita - HAp (amostra 2 - A2) na proporção de 2% (m/m) para a formação de cimento ósseo de silicato de cálcio (wollastonita/brushita) pelo método de dissolução/precipitação. A mistura do pó (wollastonita) foi homogeneizada, posteriormente uma solução de ácido fosfórico adicionada para formação do cimento ósseo, foram colocadas em um molde de teflon baseado com a norma ABNT NBR ISO 5833, e finalmente deixados a 25°C por 24 horas obtendo os corpos de prova. A análise por DRX das amostras indicaram a presença das fases cristalinas do fosfato de cálcio (β -TCP e HAp) e silicato de cálcio (wollastonita e Brushita). As imagens das amostras por MEV apresentaram tamanho de partículas características da wollastonita/brushita/HAp/ β -TCP. Foi realizado uma análise granulométrica a partir das micrografias, onde se observou que a incorporação dos fosfatos influencia na aglomeração dos tamanhos das partículas quando comparados ao cimento ósseo puro. O ensaio de compressão indica que a incorporação dos fosfatos melhora a propriedade mecânica, devido à redução das partículas o qual provoca uma maior compactação. Conclui-se que a A2 com a incorporação da HAp essa melhora da resistência mecânica foi mais intensa em relação a A1, no entanto, às duas amostras tiveram melhorias significativas em comparação ao cimento ósseo de silicato de cálcio.

Palavras-chave: Cimento ósseo. Brushita. Hidroxiapatita. β -TCP. Wollastonita.

ABSTRACT

The high number of patients with health problems due to bone diseases or trauma has promoted the development of biomaterial research to ensure a better quality of life. Among the various biomaterials, polymeric (PMMA) or ceramic bone cements (phosphates and calcium silicates) stands out for such application. In view of the above, the objective of the research was to evaluate the incorporation of calcium phosphates (β -TCP (sample 1-A1) and hydroxyapatite-HAp (sample 2-A2) in the proportion of 2% (m/m) for the formation of calcium silicate bone cement (wollastonite / brushite) by the method of dissolution/precipitation. The powder mixture (wollastonite) was homogenized, subsequently a solution of phosphoric acid added to form the bone cement were placed in a teflon mold based on the ISO 5833 ABNT NBR standard, and finally left at 25°C for 24 hours ob-

taining the specimens. XRD analysis of the samples indicated the presence of the crystalline phases of calcium phosphate (β -TCP and HAp) and calcium silicate (wollastonite and Brushite). The MEV images showed particle size wollastonite/brushite/HAp/ β -TCP. A granulometric analysis was carried out from the micrographs, where it was observed that the incorporation of the phosphates influenced the agglomeration of the particle sizes when compared to the pure bone cement. The compression test indicates that the incorporation of the phosphates improves the compressive strength, due to the reduction of the particles which causes a greater compression. It is concluded that A2 with the incorporation of HAp this improvement of mechanical resistance was more intense in relation to A1, however the two samples had significant improvements in relation to calcium silicate bone cement.

Keywords: Bone cement. Brushite. Hydroxyapatite. β -TCP. Wollastonite.

1. INTRODUÇÃO

O elevado número de pacientes com problemas de saúde por doenças ósseas ou traumas tem promovido o desenvolvimento de pesquisas em biomateriais com o propósito de garantir uma melhor qualidade de vida, em virtude de estes apresentarem características como bioatividade, biocompatibilidade e adaptação ao tecido ósseo [1, 2]. Os metais, cerâmicas e polímeros são cada vez mais usados na forma sintética, devido suas características de bioatividade, biocompatibilidade e adaptação ao tecido ósseo [3].

Os Biomateriais são inerentes e diversas áreas, pertencendo a um campo multidisciplinar como química, engenharia química, engenharia mecânica, ciências dos materiais, bioengenharia, biologia, medicina e com diversas considerações, como ética, bioética e regulação governamental [4]. Dentre as cerâmicas de fosfato de cálcio, a hidroxiapatita (HAp) recebe destaque na área de pesquisa por ser o principal componente na fase mineral dos ossos, com ampla utilização nas áreas médicas e odontológicas. A HAp é um fosfato de cálcio hidratado do grupo mineral das apatitas de fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ e razão Ca/P igual a 1,67 [5]. Os biomateriais empregados como substitutos ósseos foram as biocerâmicas à base de silicato de cálcio e o beta fosfato tricálcico, sendo por isso frequentemente empregado como biomaterial β TCP - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ que apresenta uma composição química semelhante à composição do tecido ósseo capaz de promover a osteointegração [6].

O cimento ósseo cerâmico tem como base os precursores sais de cálcio e fosfato, e por meio do processo de dissolução/precipitação, apresenta características que o qualificam cada vez mais a ser utilizado, tendo em vista sua bioatividade e capacidade de reabsorção no organismo. Podemos destacar que a temperatura obtida causa uma reação de menor impacto em comparação ao cimento ósseo polimérico [7]. Sendo o silicato de cálcio o principal componente do cimento ósseo de wollastonita/brushita, em que o pó de wollastonita (CaSiO_3) reage com uma solução de ácido fosfórico, obtendo uma massa homogênea, que após a secagem, forma a fase de brushita [8].

Assim, o cimento com fase brushita ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) resultante na formulação de sais de cálcio, em comparação aos obtidos por sais de fosfato, apresentam: melhor controle reacional, tempo mais curto de preparação, além de uma melhor propriedade físico-química, por conta de sua melhor homogeneização, destacando-se sua maior regeneração óssea, devido a elevada reabsorção do cimento de brushita [9].

A resistência a compressão do cimento ósseo de brushita, varia entre 1 até 24 MPa, sendo menores em relação a outros cimentos encontrados [9], mas em detrimento a suas aplicações em ossos humanos esponjosos, cuja resistência encontra-se na faixa de 2 até 12 MPa, tornando cada vez mais viável sua implementação [10].

A utilização das biocerâmicas, amplamente empregada na área médica, são uma classe importante de biomateriais, que recebem essa denominação por sua origem cerâmica [11], por conseguinte, o desenvolvimento de materiais bioativos com propriedades mecânicas melhoradas tem sido proposto [12–15]. Dentre as biocerâmicas de fosfato de cálcio, a hidroxiapatita (HAp) [16–19]. Uma das principais características para a utilização das cerâmicas bioativas na elaboração de compósitos, está na melhora das suas propriedades mecânicas, principalmente tenacidade à fratura e dureza. Com isso, tem-se a consequente ampliação das indicações para utilização da mesma [20–25].

A HAp é um fosfato de cálcio hidratado do grupo mineral das apatitas de fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ e razão Ca/P igual a 1,67 [26,27]. Pode-se destacar também o fosfato tricálcico-TCP ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) um biomaterial de grande importância, pois, como todos os fosfatos de cálcio, apresenta similaridade com a fase mineral de ossos e dentes; além de sua excelente biocompatibilidade; bioatividade e ausência de toxicidade local [28]. Sua utilização como biomaterial tem uma grande área de aplicação, pois, já foi empregado com sucesso no preenchimento de defeitos e extensão de contornos do tecido ósseo [29,30], bem como em sistemas de liberação controlada de fármacos. Sua importância também se deve, ao fato deste

ser um dos precursores mais utilizados na síntese para obtenção da hidroxiapatita, além de ser empregado, em certos casos, em misturas bioativas de estímulo ao crescimento ósseo [31,32]. Mediante o exposto o objetivo deste trabalho foi a incorporação de fosfatos de cálcio no cimento ósseo de silicato de cálcio, avaliando suas propriedades mecânicas e morfológicas para o uso da área biomédica.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Avaliação e desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste – CERTBIO, localizado na Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – UAEMA da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG.

2.1 Materiais

Os materiais empregados no desenvolvimento deste trabalho foram:

- Silicato de cálcio (wollastonita) – (VANSIL W-40. Vanderbilt Co.);
- Fosfato de cálcio – Hidroxiapatita – (Vansil);
- Fosfato tricálcico β -TCP – CertBio;
- Ácido fosfórico 85% - (VETEC);
- Etanol (VETEC);
- Água destilada;
- Ácido acético (SIGMA – ALDRICH).

2.2 Métodos

A Figura 1 ilustra o fluxograma dos procedimentos realizados para a obtenção do cimento ósseo com a incorporação de fosfatos de cálcio: hidroxiapatita (HAp) e fosfato tricálcico (β -TCP).

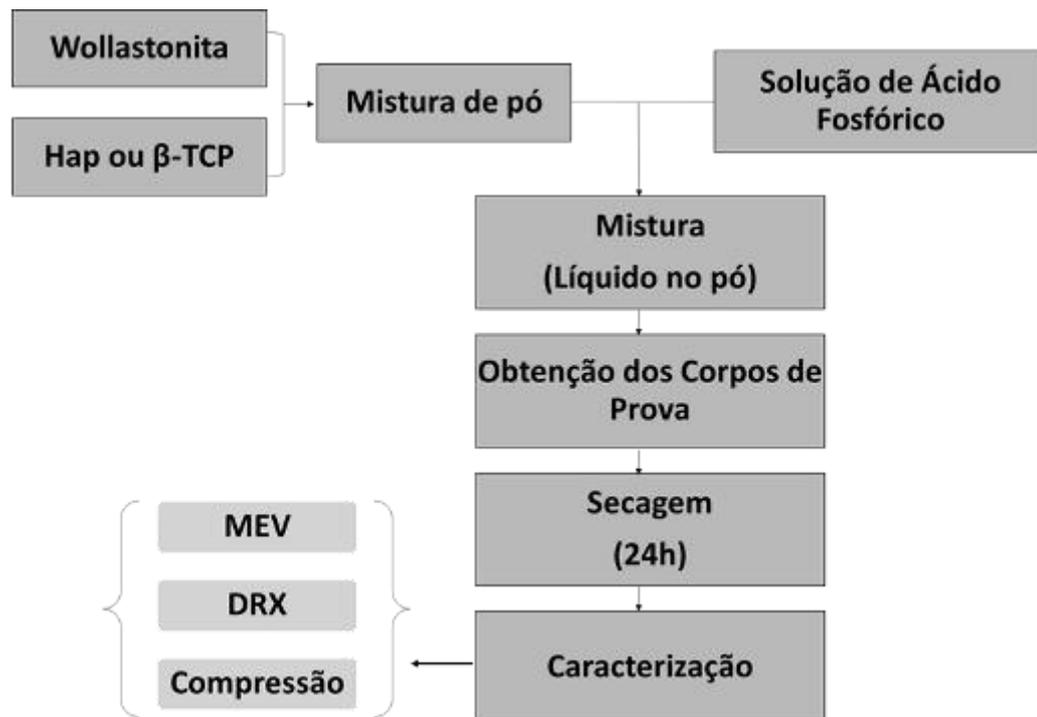


Figura 1: Fluxograma dos procedimentos experimentais.

2.2.1 Preparo das amostras

Para a obtenção dos corpos de prova de cimento ósseo de wollastonita/brushita, foi seguida a metodologia de reação de dissolução/precipitação do pó de wollastonita com a solução aquosa de ácido fosfórico. Inicialmente foram preparadas as misturas de pó, para wollastonita/brushita (amostra padrão - AP), wollastonita/brushita/ β -TCP (amostra 1 - A1) e wollastonita/brushita/HAp (amostra 2 - A2), em seguida, por meio dos

cálculos estequiométricos baseados a 5g do pó de wollastonita, preparou-se a solução de ácido fosfórico de 2,9ml.

A partir da composição de pó e da solução, foi realizada a mistura do líquido e sólido por 90 segundos, obtendo uma massa homogênea, e em seguida o preenchimento do molde de 'teflon' para obtenção dos corpos de prova com base a norma ABNT NBR ISO 5833 (Anexo E). Em seguida, os materiais foram encaminhados para as devidas caracterizações.

2.3 Caracterizações

2.3.1 Microscopia eletrônica de varredura

Para a visualização das estruturas das fases formadas, a morfologia interna das amostras e a aglomeração das partículas, foi utilizado um Microscópio Eletrônica de Varredura (MEV) da marca PHENOM, mo-delo – TM PRO-X, com magnificação de 2000 X.

2.3.2 Difração de raios X

A identificação das amostras por difração de raios X foi efetuada em um difratômetro Shimadzu XRD-7000, no qual foram empregados sets up experimentais de tensão de 40kV, corrente de 30mA e faixa de observação compreendida entre $5^\circ \leq 2\theta \leq 60^\circ$ com passo de $0,02^\circ$, velocidade de varredura de $1^\circ/\text{min}$ e metal alvo de $\text{Cu-K}\alpha$ que fornece raios X com $\lambda = 1,5406\text{\AA}$.

2.3.3 Resistência a compressão

Para avaliar o comportamento mecânico, as amostras foram submetidas ao ensaio de compressão, com o objetivo de determinar a tensão máxima suportada. O ensaio foi realizado em uma máquina universal INSTRON, modelo – 3366, com célula de carga de 10 kN e velocidade constante de 1 mm/min. O teste foi conduzido com base a norma ABNT NBR ISO 5833. Sendo 5 corpos de prova foram ensaiados em 7 dias após a cura.

3. RESULTADOS

3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

Na Figura 2 se observa as imagens de MEV com magnificação de 2000 X dos cimentos ósseos nas amostras com diferentes proporções (AP, A1 e A2), respectivamente. No qual se verifica uma morfologia superficial irregular formada por aglomerados de partículas que constituídas por estruturas lamelares e esféricas em todas as amostras analisadas, típico da Wollastonita (W) e Brushita (B) corroborando com Colorado [33] e Hou [34] que confirmaram as formas de agulhas da wollastonita [35].

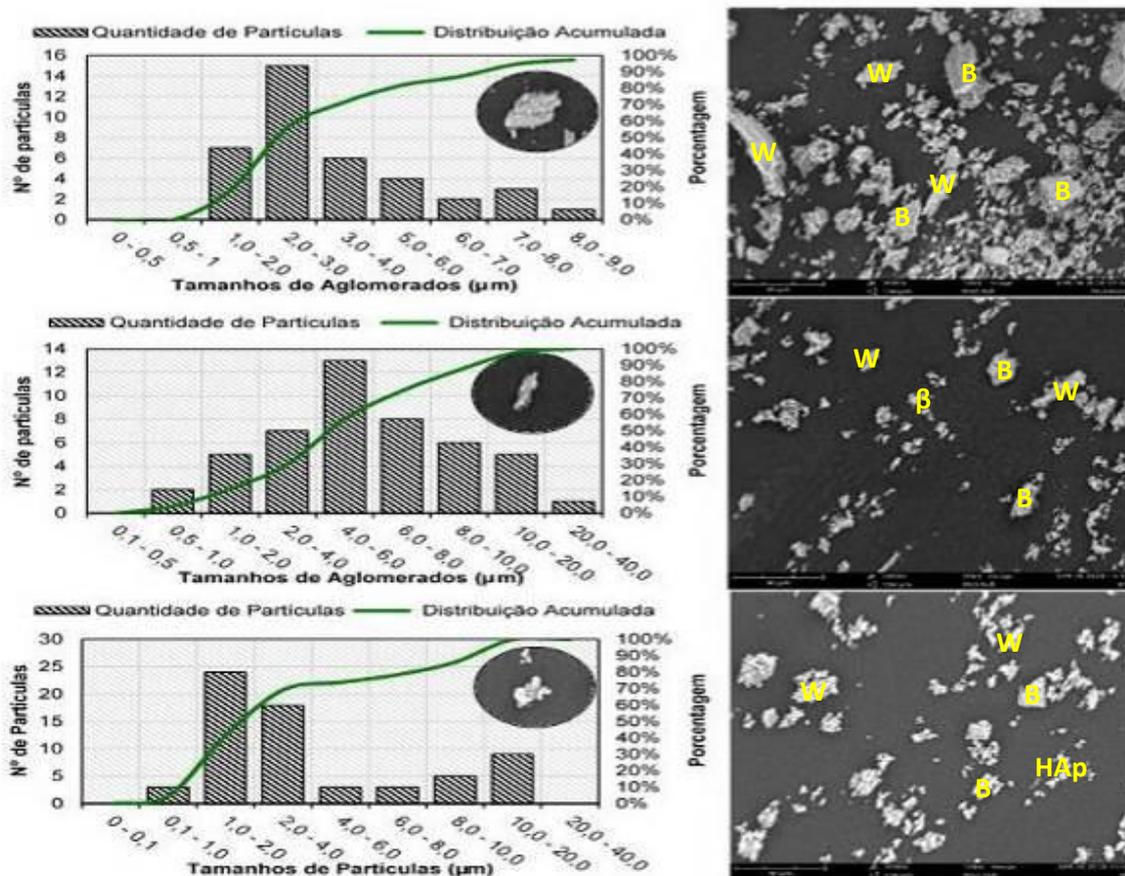


Figura 2: Imagens de MEV e distribuição granulométrica normal e acumulada dos cimentos ósseos das amostras AP, A1 e A2 com magnificação de 2000 X.

Com auxílio do software livre de tratamento de imagens o “imagem J” [36] foi possível calcular os tamanhos dos aglomerados de partículas formadas pelo processo de síntese apresentado no gráfico de distribuição granulométrica normal e acumulada na Figura 2, onde pode-se constatar que nas amostras padrão (AP), (A1) e (A2) que os tamanhos de aglomerados de partículas inferiores a 2 µm foram de 18%, 15% e 42% respectivamente. Isso indica que a dopagem com HAp promove uma redução dos tamanhos dos aglomerados de partículas formados devido o referido fosfato apresentar característica de aglomeração por possuírem tamanhos de partículas menores, corroborando com Azevedo [37], enquanto o β-TCP ocorre um aumento dos tamanhos dos aglomerados de partículas, corroborando com Cardoso [38], visto que, os tamanhos de partículas são maiores que a HAp.

3.2. Difração de Raios X

A Figura 3 ilustra o perfil de difração, com o ajuste pelo refinamento de Rietveld das amostras AP, A1 e A2 obtidas pelo método de dissolução-precipitação, respectivamente. De acordo com os difratogramas foi observado nas amostras as fases cristalinas (wollastonita e brushita; β-TCP e HAp), com as fichas de identificação cristalográfica: nº JCPDS 96-153-3076 (brushite) [39] JCPDS 96-900-5778 (wollastonita) [40], JCPDS- 01-070-2065 (β-TCP) [41] e JCPDS-01-072-1243 (HAp) [42], obtidas do banco de dados Inorganic Crystal Structure Database (ICSD).

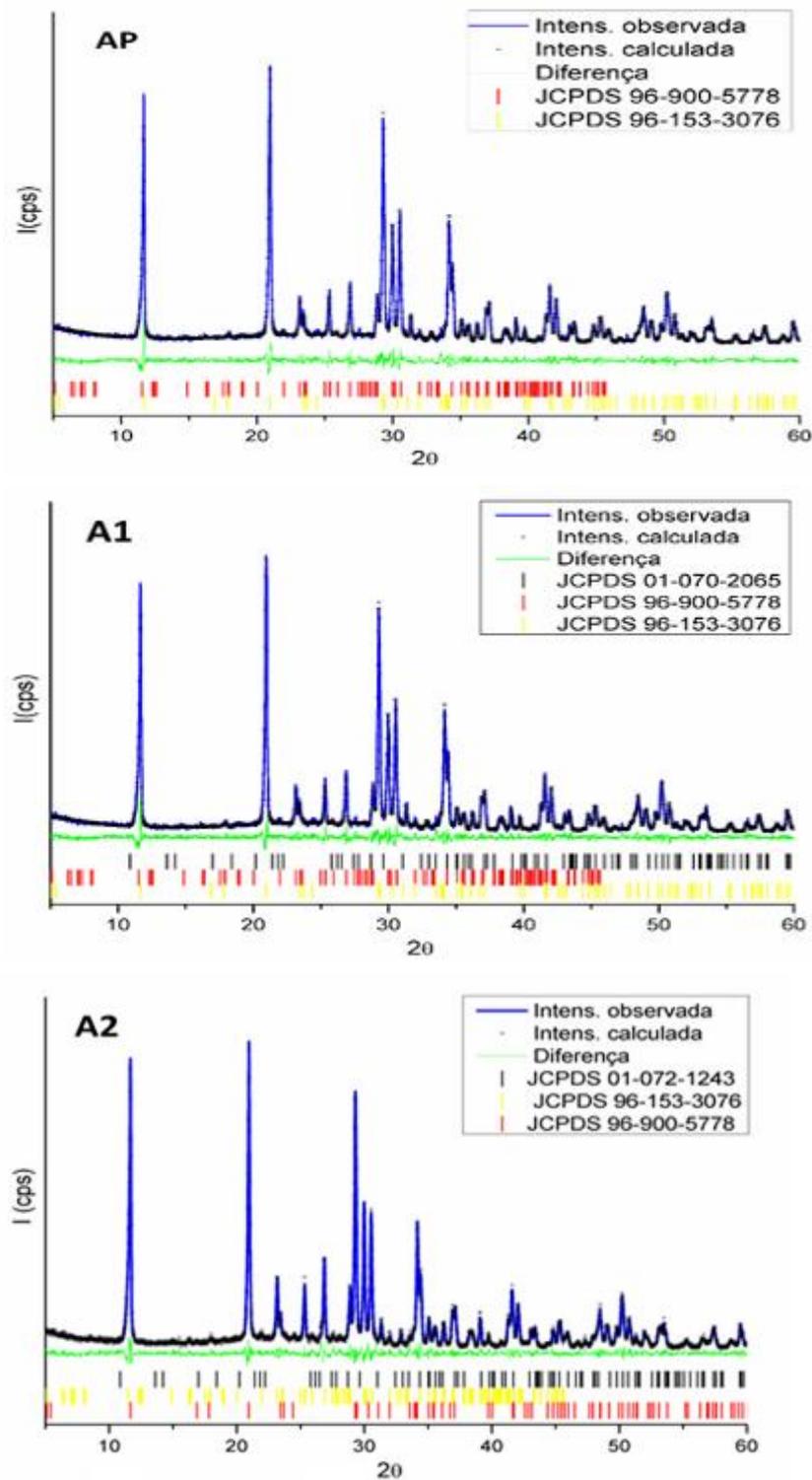


Figura 3: Difratoograma dos cimentos ósseos das amostras AP, A1 e A2.

Na Figura 4 observou-se a quantificação das fases cristalinas dos cimentos ósseos (wollastonita e brushita apresentou 35% e 65%, respectivamente corroborando com Moruá 2017 [8] e a fase dos fosfatos de cálcio (HAp: 1,6% e β -TCP: 3,6%), diante a incorporação sugerida neste trabalho (2%). Está variação se deve aos cálculos matemáticos relacionados a orientação preferencial, picos sobrepostos aos das fases cristalinas do cimento ósseo e a presença de amorfo, dificultando a sua quantificação. Os valores dos parâmetros cristalográficos obtidos através do refinamento de Rietveld estão apresentados na Tabela 1, onde se verifica que as amostras obtidas possuem fases cristalinas correspondentes, com seus respectivos sistemas cristalinos, grupo espacial e Rwp.

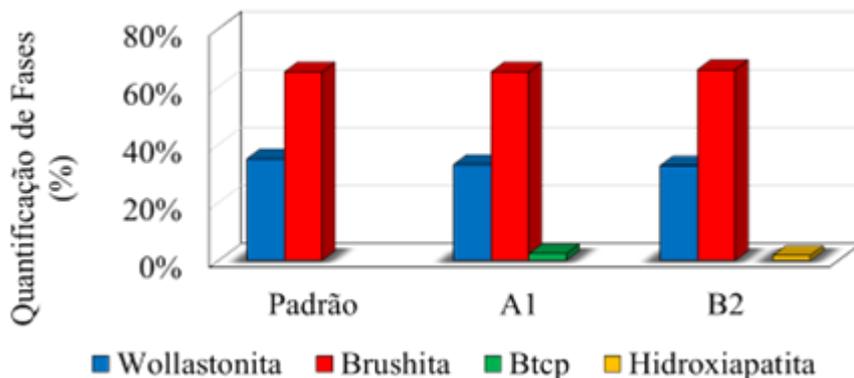


Figura 4: Quantificação de fases cristalinas dos cimentos ósseos das amostras AP, A1 e B2.

Tabela 1: Parâmetros cristalográficos do cimento ósseo.

Fases	Wollastonita	Brushita	β -TCP	HAp
Grupo espacial	P-1	C 1 c 1	R3c	P63/m
Sistema Cristalino	Triclínica	Monoclínica	Romboédrica	Hexagonal
Rwp	11,71%			

3.3 Resistência a compressão

Na Figura 5 foi observado no gráfico de coluna as médias dos esforços de compressão (MPa) obtidas para cada variação de amostras (AP, A1 e A2), avaliada no 7º dia de tempo de cura.

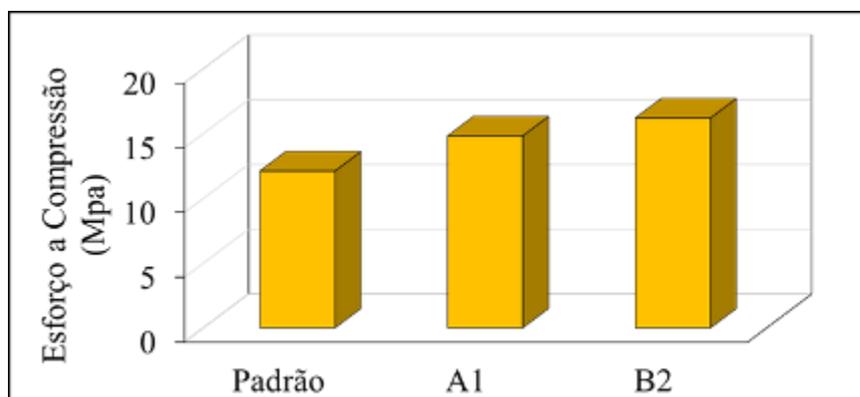


Figura 5: Tensão média suportada no 7º dia de cura dos cimentos ósseos das amostras AP, A1 e A2.

Nos diferentes tipos de cimentos ósseos constatou que o cimento da amostra AP apresentou uma alta resistência mecânica, corroborando com os estudos de Luo, 2016 [43], Zhao 2014 [44] e Zyman, 2008 [45], entretanto, com a incorporação de 2% dos fosfatos de cálcio (β TCP) e (HAp) corroborando com Bonan [46] nas amostras A1 e B2, foi possível observar um aumento exponencial nas propriedades mecânicas.

4. CONCLUSÕES

Diante dos resultados expostos, foi destacado que o cimento de silicato de cálcio com a incorporação de fosfatos de cálcio (β -TCP ou HAp), obteve na análise fases dopantes nos aglomerados de partículas. Os cimentos ósseos confirmaram a presença das fases de wollastonita, brushita, β -TCP e HAp, com as respectivas quantificações das fases presentes por meio da técnica de refinamento de Rietveld, no qual permitiu observar que a dopagem com as fases (β -TCP ou HAp), melhoraram a resistência compressiva do cimento, que passou de 12,1 MPa na amostra (padrão) para 14,8 e 16,2MPa na A1 e B2 respectivamente. Por meio dos resultados

obtidos, se conclui que houve a incorporação do β -TCP e HAP no cimento ósseo, o que comprova que a influência da dopagem apresentara melhorias nas propriedades mecânicas desse biomaterial para regeneração óssea.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (CEMat-UFCG), Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), ao Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste - CERTBIO/UAEMA/CCT.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] POOLOGASUNDARAMPILLAI, G., WANG, D., LI, S., “Cotton-wool-like bioactive glasses for bone regeneration”, *Acta Biomater.*, v. 10, n. 8, p. 3733-3726, 2014.
- [2] ALVES, H.L.R., *Cimento ósseo de fosfato tricálcico: síntese e influência de aditivos na sua injetabilidade*, Tese de M. Sc UFRGS, - Rio Grande do Sul, RS, Brasil, 2005.
- [3] ROOZBAHANI, M., KHARAZIHA, M., EMADI, R. “Fabrication and characterization of laponite-calcium phosphate based cement for filling bone defects”, *Mater. Today Proc.* v. 5, n. 7, p. 15754-15760, 2018.
- [4] RATNER, B.D., HOFFMAN, A.S., SCHOEN, F.J., *et al.*, “Biomaterials Science: na introduction to materials in medicine”, 3 ed. chapter 1, San Diego, USA, Ed. Oxford: *Elsevier Academic Press*, 2012.
- [5] BONAN, R. F., BONAN, P. R. F., BATISTA, A. U. D., “Métodos de reforço microestrutural da hidroxiapatita”, *Cerâmica*, v. 60, p. 402-410, 2014.
- [6] GUASTALDI, A. C., APARECIDA, A. H. “*Calcium phosphates of biological interest: Importance as biomaterials, properties and methods for coatings obtaining*”, *Quim. Nova*, v. 33, n. 6, p. 1352-1358, 2010.
- [7] DUNNE, N. “11 - Mechanical properties of bone cements”, In: S. Deb (eds.), *Orthop. Bone Cem*, Woodhead Publishing Limited. Cambridge, Reino Unido, 2008.
- [8] MORÚA, O.C., CARDOSO, M.J.B., FARIAS, K.A.S., *et al.*, “Síntese e Avaliação de Cimento Ósseo com Diferentes Concentrações de Brushita”, *Revista eletrônica de materiais e processos*, v.12, p. 58-63, n. 1, 2017.
- [9] RAMALHO, A.C.A. “Desenvolvimento e caracterização de cimentos ósseos inovadores”, Tese de D.Sc, Universidade da Beira Interior, Portugal, 2010.
- [10] SOUSA, E., MOTISUKE, M., BERTRAN, C.A. “Obtenção e caracterização de espumas de cimento de fosfato de cálcio: avaliação dos métodos de emulsão e gelcasting”, *Cerâmica*. v. 58, p. 500-503, 2012.
- [11] DOROZHKIN, S. V. “Nanosized and nanocrystalline calcium orthophosphates”, *Acta Biomater.* v. 6, n. 3, p. 715-734, 2010.
- [12] WANG, M. “Developing bioactive composite materials for tissue replacement”, *Biomaterials.* v. 24, n.13, p. 2133-2151, 2003.
- [13] KOKUBO, T., KIM, H.M., KAWASHITA, M. “Novel bioactive materials with different mechanical properties”, *Biomaterials.*, v. 24, n.13, p. 2161-2175, 2003.
- [14] SHEN, Z., ADOLFSSON, E., NYGREN, M. “Dense hydroxyapatite–zirconia ceramic composites with high strength for biological applications”, *Advanced Materials*, v. 13, n. 3, p. 214-216, 2001.
- [15] HU, Y., MIAO, X. “Comparison of hydroxyapatite ceramics and hydroxyapatite/borosilicate glass composites prepared by slip casting”, *Ceram. Int.* v. 30, n.7, p.1787-1791, 2004.
- [16] DOREMUS, R H, “Bioceramics”, *J. Mater. Sci.*, v. 27, n. 2, p. 285-297, 1992.
- [17] DOROZHKIN, S. V., CARRODEGUAS, R.G., AZA, S., *et al.*, “Self-Setting Calcium Orthophosphate Formulations”, *J. Funct. Biomater.* v. 4, p. 91-112, 2011.
- [18] ZHOU, H., LEE, J., “Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering”, *Acta Biomater.* v. 7, n. 7, p. 2769-2781, 2011.
- [19] OKADA, M., FURUZONO, T., “Hydroxylapatite nanoparticles: Fabrication methods and medical applications”, *Sci. Technol. Adv. Mater.*, v. 13, n. 6, p. 064-103, 2012.
- [20] MOBASHERPOUR, I., SOLATI HASHJIN, M., RAZAVI TOOSI, S.S., *et al.*, “Effect of the addition $ZrO_2-Al_2O_3$ on nanocrystalline hydroxyapatite bending strength and fracture toughness”, *Ceram. Int.* v. 35, n. 4, p. 1569-1574, 2009.

- [21] KHOR, K.A., GU, Y.W., PAN, D., *et al.*, “Microstructure and mechanical properties of plasma sprayed HA/YSZ/ Ti-6Al-4V composite coatings”, *Biomaterials*. v. 25, n. 18, p. 4009-4017, 2004.
- [22] SEBDANI, M.M., FATHI, M.H. “Preparation and characterization of hydroxyapatite-forsterite-bioactive glass nanocomposite coatings for biomedical applications”, *Ceram. Int.* v. 38, n. 2, p. 1325-1330, 2012.
- [23] SALMAN, S., GUNDUZ, O., YILMAZ, S., *et al.*, “Sintering effect on mechanical properties of composites of natural hydroxyapatites and titanium”, *Ceram. Int.* v. 35, n. 7, p. 2965-2971, 2009.
- [24] KUMAR, R., PRAKASH, K.H., CHEANG, P., *et al.*, “Microstructure and mechanical properties of spark plasma sintered zirconia-hydroxyapatite nano-composite powders”, *Acta Mater.* v. 53, n. 8, p. 2327-2335, 2005.
- [25] BONAN, R.F., BONAN, P.R.F., BATISTA, A.U.D., *et al.*, “Methods of microstructural strengthening of hydroxyapatite”, *Cerâmica*. v. 60, n. 355, p. 402-410, 2014.
- [26] SILVA, N.M.P., ESPITALIER, F., NZIHOU, A. “Precipitation Process of Calcium Phosphate from Calcium Carbonate Suspension”, *KONA Powder Part. J.* v. 33, p. 219-227, 2016.
- [27] BONAN, R.F., BONAN, P.R.F., BATISTA, A.U.D., *et al.*, “Métodos de reforço microestrutural da hidroxiapatita (Methods of microstructural strengthening of hydroxyapatite)”, *Cerâmica*. v. 60, n. 355, p. 402-410, 2014.
- [28] GOMES-CORNÉLIO, A.L., RODRIGUES, E.M., MESTIERI, L.B., *et al.*, “Cytotoxicity and genotoxicity of calcium silicate-based cements on an osteoblast lineage”, *Braz. Oral Res.* v. 30, n. 1, p. 1-10, 2016.
- [29] CHEN, F.M., LIU, X., “Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering”, *Prog. Polym. Sci.* v. 53, pp. 86-168, 2016.
- [30] SILVA, V.V., “Ósseo biomaterial applications as orthopedic devices and bone tissue engineering introdução A necessidade de reestabelecer funções perdidas de órgãos ou tecidos afetados por alguma doença ou trauma vem contribuindo para grandes avanços na Medicina Regener”, *Revista Saúde e Meio Ambiente*. v. 5, n. 2, p. 14-27, 2017.
- [31] LEE, J.H., KIM, Y.J., “Hydroxyapatite nanofibers fabricated through electrospinning and sol-gel process”, *Ceram. Int.* v. 40, n. 2, p. 3361-3369, 2014.
- [32] PEREIRA, T.C.S. “Síntese e caracterização de beta fosfato tricálcico obtido por mistura a seco em moinho”, *Blucher Chemical Engineering Proceedings*, v. 1, n. 3, p. 2266-2271, 2015.
- [33] COLORADO, H.A., HIEL, C., HAHN, T., “Wollastonite-Based Chemically Bonded Phosphate Ceramic Composites”, in: *Met. Ceram. Polym. Compos. Var. Uses*, 2011.
- [34] HOU, X., DING, H., LIANG, Y., *et al.*, “Mechanism of surface hydrophobicity modification of wollastonite powder”, *Material Research Innovation*. v. 17, n. 1, p. 260-266, 2013.
- [35] CAMA, G., BARBERIS, F., BOTTER, R., *et al.*, “Preparation and properties of macroporous brushite bone cements”, *Acta Biomater.* v. 5, n. 6, p. 2161-2168, 2009.
- [36] MARCOMINI, R.F., SOUZA, D.M.P.F. “Caracterização microestrutural de materiais cerâmicos utilizando o programa de processamento digital de imagens Image J”, *Cerâmica*, v. 57, n. 341, p. 100-105, 2011.
- [37] AZEVEDO, A.G.S. “Avaliação das mudanças cristalográficas e morfológicas com o aumento da temperatura de sinterização de pós de hidroxiapatita”, *Rev. Da Univ. Val. Do Rio Verde*, v. 10, n. 2, p. 297-307, 2012.
- [38] CARDOSO, H.A.I., MOTISUKE, M., ZAVAGLIA, C.A.C., “Análise da influência de dois processos distintos de moagem nas propriedades do pó precursor e do cimento de beta-TCP”, *Cerâmica*, v. 58, n. 346, p. 225-228, 2012.
- [39] TAMIMI, F., KUMARASAMI, B., DOILLON, C., *et al.*, “Brushite-collagen composites for bone regeneration”, *Acta Biomater.*, v. 4, n. 5, p. 1315-1328, 2008.
- [40] LI, X., CHANG, J., “Synthesis of Wollastonite Single Crystal Nanowires by a Novel Hydrothermal Route”, *Chem. Lett.*, v. 33, n. 11, p. 1458-1459, 2004.
- [41] LIN, K., CHANG, J., SHEN, R., “The effect of powder properties on sintering, microstructure, mechanical strength and degradability of β -tricalcium phosphate/calcium silicate composite bioceramics”, *Biomed. Mater.*, v. 4, n.6, 2009.
- [42] AZEVEDO, A.G.S., STRECKER, K., GORGULHO, H.F. “Effect of temperature in process of sintering of hydroxyapatite powders”, *Cerâmica*, v. 61, n. 357, p. 52-59, 2015.
- [43] LUO, J., AJAXON, I., GINEBRA, M.P., *et al.*, “Compressive, diametral tensile and biaxial flexural

strength of cutting-edge calcium phosphate cements”, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* v. 60, p. 617-627, 2016.

[44] ZHAO, J., ZHAO, J., CHEN, J., *et al.*, “Rietveld refinement of hydroxyapatite, tricalcium phosphate and biphasic materials prepared by solution combustion method”, *Ceram. Int.*, v. 40, n. 2, p. 3379-3388, 2014.

[45] ZYMAN, Z.Z., TKACHENKO, M. V., POLEVODIN, D. V., “Preparation and characterization of biphasic calcium phosphate ceramics of desired composition”, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, v. 19, n. 8, p. 2819-2825, 2008.

[46] BONAN, R.F., BONAN, P.R.F., BATISTA, A.U.D., “Methods of microstructural strengthening of hydroxyapatite”, *Cerâmica*, v. 60, n. 355, 402-410, 2014.

ORCID

Matheus Araújo Santos <https://orcid.org/0000-0002-9655-8978>

Márcio José Batista Cardoso <https://orcid.org/0000-0001-8756-1377>

Klaidson Antonio Sousa Farias <https://orcid.org/0000-0002-9337-6386>

Kleilton Oliveira Santos <https://orcid.org/0000-0001-7104-7701>

Otto Cumberbatch Morúa: <https://orcid.org/0000-0001-5981-8913>

Marcus Vinicius Lia Fook <https://orcid.org/0000-0002-8566-920X>