

**Produção e Caracterização de Macroporosos de Bonelike® pelo  
Método de Replicação de Espumas de Poliuretano**

**MedMat Innovation - Materiais Médicos, Lda.**

*Hugo Belarmino Leal Tavares*

**Relatório de Dissertação do MIEMM**

Orientador na MedMat Innovation: *Doutora Marta Alves da Silva*

Orientador na FEUP: *Professor José Domingos da Silva Santos*



**FEUP**

**Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto  
Mestrado Integrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais**

Porto, Julho de 2009

<i>CANDIDATO</i>	Hugo Belarmino Leal Tavares	<i>Código</i>	020508010
<i>Título</i>	Produção e Caracterização de Macroporosos de Bonelike <sup>®</sup> pelo Método de Replicação de Espumas de Poliuretano		
<i>DATA</i>	15 de Setembro de 2009		
<i>LOCAL</i>	Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto - Sala C603 - 14:30h		
<i>JÚRI</i>	<i>Presidente</i>	Professor Doutor José Roberto Tinoco Cavalheiro	DEMM/FEUP
	<i>Arguente</i>	Professora Doutora Maria Elisabete Jorge Vieira da Costa	DECV/UA
	<i>Orientador</i>	Professor Doutor José Domingos da Silva Santos	DEMM/FEUP

## Resumo

Os biomateriais sintéticos para regeneração óssea são, actualmente, alvo de intensa investigação e desenvolvimento, pois a necessidade de encontrar alternativas e combater desvantagens associadas a autoenxertos, devido à reduzida quantidade de material disponível, ou aloenxertos, que implicam um risco de transmissão de doenças, pode ser eliminada com a utilização dos referidos materiais, permitindo uma maior qualidade de vida aos pacientes.

As estruturas tridimensionais (3D) macroporosas permitem o crescimento ósseo eficaz, visto possuírem poros com tamanhos entre 150 e 900  $\mu\text{m}$  (macroporosidade), que facilitam a chegada de nutrientes às células, e poros com tamanhos inferiores a 10  $\mu\text{m}$  (microporosidade), que aumentam a área de superfície do material, possibilitando maior área de adesão e crescimento celular, sendo que a porosidade total deve estar compreendida entre os 60 e 80%.

O objectivo do presente trabalho centrou-se no desenvolvimento e optimização de estruturas 3D macroporosas de Bonelike® pelo método de replicação de espumas de poliuretano (PU), pois permite uma interconectiva e distribuição homogénea dos poros, bem como o controlo do seu tamanho.

Para tal, a definição e variação de parâmetros, como a escolha de espumas de PU, a quantidade de ligante, dispersante e sólidos da suspensão, tempos de impregnação, taxas de compressão nos rolos e tipos de corte, foram algumas das condições testadas.

Constatou-se a obtenção da estrutura macroporosa pretendida quando a suspensão foi composta por 4 a 6% de policloreto vinílico (PVA), 2 a 3% de polietilenoglicol (PEG) e 25 a 40% de sólidos, utilizando uma espuma de poliuretano HR 30D Vr.

Verificou-se que a quantidade de sólidos influenciou a viscosidade da suspensão, havendo um aumento com o acréscimo da quantidade de sólidos presentes, apresentando as suspensões um comportamento reopexante.

Através de microscopia electrónica de varrimento (MEV), observou-se que a estrutura 3D obtida, apresenta interconectividade entre os seus macroporos, apresentando igualmente microporosidade. Os tamanhos dos macroporos obtidos estão na gama entre 150 e 750 $\mu\text{m}$ , estando dentro dos parâmetros referidos anteriormente.

A análise fásica por difracção de raios-X (DRX) mostrou igualmente que as fases presentes no Bonelike® poroso (Hidroxiapatite,  $\alpha$ -Fosfato de Tricálcio e  $\beta$ -Fosfato de Tricálcio) não sofreram qualquer alteração, encontrando-se dentro das especificações. Por espectrofotometria de absorção atómica, não foram identificados quaisquer resíduos provenientes dos aditivos usados.

Para a preparação de peças com geometrias regulares bem definidas, o corte das espumas após secagem revelou-se mais eficiente, comparado com o corte após sinterização.

Recorrendo à técnica de porosimetria de mercúrio, verificou-se que a porosidade total do macroporoso é sensivelmente 60%, que está na gama de valores pretendidos.

Pode-se concluir que o método de replicação por espumas de PU para a produção do Bonelike® poroso é eficiente, pois permite fabricar uma estrutura 3D (blocos e cunhas) com macro e microporosidade, poros interconectivos e com tamanhos controlados, mantendo as propriedades do material dentro das especificações.

## Abstract

The synthetic biomaterials for bone regeneration are currently object of intense research and development, therefore the need to find alternatives and opposing disadvantages associated with autografts, because of the small amount of material available, or allografts, which carry a risk of disease transmission, can be eliminated with the use of these materials, allowing a higher quality of life for patients.

The macroporous scaffolds enable an effective bone growth because they have pores sizes between 150 to 900  $\mu\text{m}$  (macroporosity), allowing the arrival of nutrients to the cells, and pores with sizes smaller than 10  $\mu\text{m}$  (microporosity), which increase the surface area of the material, allowing a larger area of adhesion and cell growth, having total porosity between 60 to 80%.

The aim of this work was the development and optimization of macroporous scaffolds of Bonelike<sup>®</sup> by replication method of polyurethane foams (PU) because it allows an interconnected and uniform pore distribution and control size.

To achieve the aim of the work, the definition and variation of parameters such as the choice of PU foam, the amount of binder, dispersant and solids in suspension, time of impregnation, compression ratios on the rolls and cut types, were some of the conditions tested.

A suspension composed with 4 to 6% of polyvinyl alcohol (PVA), 2 to 3% of polyethylene glycol (PEG) and 25 to 40% of solids, using a HR 30D Vr polyurethane foam permit the formation of desirable porous network.

The raise of solids amount increased the viscosity of the suspension, providing rheopexant behaviour.

Through scanning electron microscopy (SEM) showed that the scaffold obtained provides interconnectivity between macropores, and also provides microporosity. The size of the macropores obtained in the range between 150 and 750 $\mu\text{m}$ , and is within the parameters.

Phasic analysis by X-ray diffraction (XRD) also showed that the phases present in the macroporous Bonelike<sup>®</sup> (hydroxyapatite,  $\alpha$ -tricalcium phosphate and  $\beta$ -tricalcium phosphate) were not changed and is within specifications. By energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS), were not identified any residues from the additives used.

For the preparation of parts with well-defined regular geometries, cutting the foam after drying was more efficient compared with the cut after sintering.

Using the technique of mercury porosimetry, it was found that the porosity of the macroporous is roughly 60%, which is in the range of desired values.

It can be concluded that the method of replication by PU foam for the production of macroporous Bonelike® is efficient because it allows to create a scaffold (bricks and wedges) with macro and microporosity, interconnected pores with controlled sizes, keeping the specifications of material.

## Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer à MedMat Innovation - Materiais Médicos, Lda., e ao meu orientador, Professor José Domingos da Silva Santos, pela oportunidade de usufruir de todos os recursos disponíveis na empresa, bem como o auxílio e dedicação demonstrados.

Da MedMat gostaria de realçar 3 pessoas: o Eng. Bruno Sá pela total disponibilidade e apoio em relação aos processos de corte realizados neste trabalho. À Dra Sofia Meireles pela ajuda permanente em facultar todo o material necessário para a realização do trabalho. E em especial à minha orientadora, Dra Marta Alves da Silva, que demonstrou total dedicação, auxílio e cooperação para que fosse realizado um trabalho repleto de mais valias, tanto para mim como para a empresa. Aos restantes, um obrigado pela camaradagem e boa disposição evidenciada todos os dias em que convivemos.

Gostaria de deixar agradecimentos gerais ao Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, em especial à professora Maria Ascensão Lopes, pela ajuda e auxílio em dissipar dúvidas, disponibilizar recursos e contribuir para a realização deste projecto.

Da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, agradeço ao Dr Paulo Costa, pela disponibilização do equipamento necessário e auxílio para a realização dos ensaios reológicos.

E por fim, aos meus pais e irmã, que durante todo o tempo de realização do trabalho apoiaram-me, sacrificando-se para que o meu desempenho pudesse ser o melhor, bem como agradecimentos gerais a todos os amigos e demais familiares que ajudaram a que a realização deste projecto fosse uma realidade.





# Índice

1. Introdução .....	1
1.1. Biomateriais .....	1
1.2. Tecido ósseo .....	1
1.2.1. Renovação do tecido ósseo .....	3
1.3. Engenharia de tecido ósseo .....	4
1.4. Bonelike® .....	6
1.5. Método de replicação por espumas de poliuretano .....	8
1.5.1. Preparação da suspensão .....	8
1.5.1.1. Efeito da concentração de sólidos .....	9
1.5.1.2. Efeito da granulometria e distribuição granulométrica .....	10
1.5.1.3. Efeito do tempo de desaglomeração .....	11
1.5.1.4. Efeito da quantidade de dispersantes .....	11
1.5.2. Impregnação das espumas .....	12
1.5.3. Secagem, queima e sinterização da espuma .....	13
2. Materiais e Métodos .....	15
2.1. Produção de matérias-primas .....	15
2.2. Seleção de espumas de PU .....	16
2.3. Preparação das espumas de PU .....	17
2.4. Preparação de suspensão cerâmica de Bonelike® .....	17
2.5. Impregnação da suspensão cerâmica na espuma de PU .....	18
2.6. Secagem .....	19
2.7. Queima e Sinterização .....	20
2.8. Corte .....	21
2.9. Identificação das várias experiências .....	22
2.10. Caracterização dos materiais .....	25
2.10.1. Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM) e Espectroscopia de Dispersão de Energia (EDS) .....	25
2.10.2. Espectroscopia de Infra-Vermelhos (FTIR) .....	25
2.10.3. Análise química quantitativa .....	25
2.10.4. Difraccção de raios-X (DRX) .....	26
2.10.5. Análise Reológica .....	26
2.10.6. Contração .....	27
2.10.7. Porosidade e densidade aparente .....	27
3. Resultados .....	29
4. Discussão .....	43
5. Conclusões .....	51
6. Referências bibliográficas .....	52



# 1.Introdução

## 1.1.Biomateriais

Os biomateriais são materiais que têm como função tratar, substituir ou avaliar tecidos, órgãos ou funções do corpo humano, sendo que, actualmente, materiais utilizados para cultura de células são igualmente considerados como biomateriais. De uma forma geral, biomateriais são todos os materiais naturais modificados ou sintéticos que interagem com sistemas biológicos [1,2].

As aplicações são as mais diversas, desde lentes de contacto, cimentos ósseos, cateteres ou tendões e ligamentos artificiais, originando um gama infindável de materiais utilizados, tais como metais, polímeros, cerâmicos, compósitos, entre outros [2].

Porém, necessitam obedecer a especificações muito rigorosas, obrigando a que características como toxicidade, biocompatibilidade, design ou requisitos mecânicos sejam de extrema importância [2].

Uma das áreas médicas onde estes materiais são usualmente utilizados é na transplantologia. O transplante ósseo é o segundo mais efectuado no mundo, sendo somente superado pelo transplante de sangue. A existência de 2,2 milhões de transplantes ósseos, por ano, mundialmente, faz com que esta área esteja em constante evolução. A necessidade de combater problemas relacionados com defeitos ósseos estimulou a investigação de diversos materiais que permitissem a regeneração óssea, pois, o enxerto autógeno, sendo o mais utilizado e mais eficaz, não permite solucionar todos os problemas, pois o fornecimento deste enxerto é limitado e existem possíveis complicações associadas [3,4,5].

## 1.2.Tecido ósseo

O osso é um tecido complexo e dinâmico, providencia suporte mecânico para junções, tendões e ligamentos, protege órgãos vitais, funciona como reserva de cálcio e fosfato para preservação da homeostase mineral e no seu interior (medula óssea) transporta células estaminais mesenquimais que dão origem a vários tipos de tecidos (osso, cartilagem, tendões, músculos, etc.) [6,7].

É constituído por uma matriz maioritariamente composta por colagénio do tipo I (providencia a estrutura do osso), bem como algumas proteínas não-colagénicas que regulam os factores de crescimento e minerais, que se manifestam na forma de

hidroxiapatite ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), responsáveis pela resistência que faz do osso um compósito natural único [6,8,9].

Existem dois gêneros de ossos no corpo humano: ossos longos, no caso do fêmur e da tíbia, e ossos chatos sendo a mandíbula e os ossos do crânio alguns dos exemplos. Ambos apresentam dois tipos de estruturas: osso cortical, que constitui cerca de 80% do esqueleto humano, sendo os restantes 20% compostos por osso trabecular. O osso cortical é caracterizado por uma estrutura densa, com alta resistência mecânica e baixa área de superfície, envolvendo a cavidade medular. Inversamente, o osso trabecular apresenta uma elevada área de superfície, apresentando uma densidade bastante inferior. Estas diferenças podem ser em grande parte explicadas pela diferença de porosidades entre ambos. Apenas 10% do osso cortical é poroso, ao passo que o osso trabecular apresenta porosidade entre 50 a 90% (sendo que os poros são interconectivos). Este facto reflecte-se na resistência à tracção e compressão, sendo para o osso cortical na ordem dos 79 a 151 MPa e 131 a 224 MPa, respectivamente, baixando consideravelmente no caso do osso trabecular (5 a 10MPa para ambos os casos). Porém a porosidade apresenta um papel fundamental na função do osso pois permite a circulação de fluidos e células em toda a estrutura, influenciando também a anisotropia mecânica [1,6,7,8].

Sendo um tecido vivo, a necessidade de renovação é essencial, sendo um processo contínuo ao longo da vida do indivíduo, de forma a manter um equilíbrio óptimo entre a sua forma e função, bem como a homeostase mineral. Este processo é regulado pela actuação simultânea de duas células integrantes do osso: osteoclastos e osteoblastos [9,10].

Os osteoclastos são células responsáveis pela reabsorção de osso (processo de fagocitose). Estão contidos nas lacunas superficiais do osso calcificado, resultantes da sua própria actividade de reabsorção [9,10].

Os osteoblastos têm como função formar novo osso, sendo a função principal estabelecer a matriz extracelular, que é chamada de osteoide, regulando a sua mineralização [9,10].

Existem ainda osteócitos que são células diferenciadas dos osteoblastos, cercadas pela matriz extracelular, e constituem 90% do osso. A sua principal função é manter a massa do osso constante, respondendo a tensões aplicadas, deformações mecânicas e fluxo de líquidos [7,9,10].

### 1.2.1. Renovação do tecido ósseo

O processo de renovação óssea, na presença das referidas células, é indispensável para substituir tecido morto ou danificado, proporcionar ao osso a capacidade de se adaptar a alterações de cargas aplicadas e responder a mudanças metabólicas e nutricionais [9].

A bibliografia refere como sendo 5 as etapas para a regeneração óssea (Figura 1): quiescência, activação, reabsorção, inversão e formação [6,7,9,11].

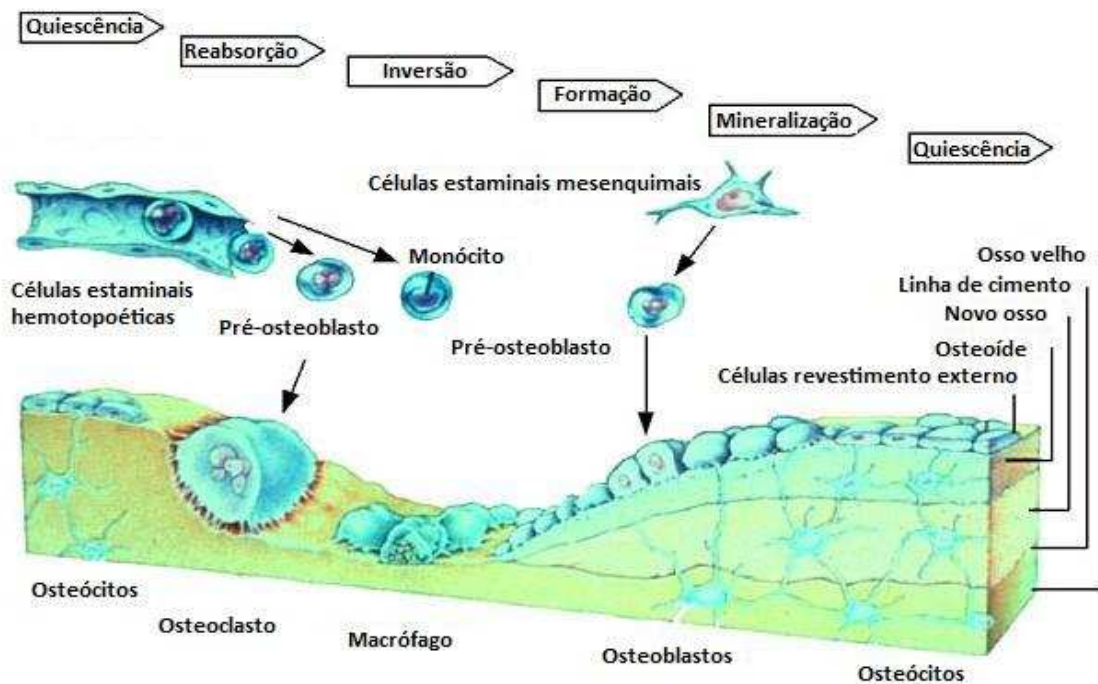


Figura 1 - Representação esquemática da renovação do tecido ósseo [11]

**Quiescência:** este estado inicial caracteriza-se pela inactividade das células à superfície do osso (células de revestimento externo).

**Activação:** existe a activação das referidas células, permitindo a adesão de osteoclastos à superfície do osso.

**Reabsorção:** nesta fase os osteoclastos começam a degradar a matriz mineralizada, formando uma lacuna de reabsorção (esta etapa decorre durante uma a duas semanas).

**Inversão:** imediatamente depois, ocorre migração dos osteoblastos para a lacuna criada, começando a preencher a falha.

**Formação:** finalmente, os osteoblastos completamente diferenciados formam uma matriz calcinada (osteoide), sendo que ao fim de dez dias toda a zona está calcificada,

dando origem a osso mineralizado maduro. Nesta fase ocorre também o aprisionamento de alguns osteoblastos dentro da matriz, que dá origem aos já referidos osteócitos.

No fim do processo, o osso volta a entrar em fase de quiescência [6,7,9,11].

### **1.3.Engenharia de tecido ósseo**

Apesar da regeneração óssea ocorrer naturalmente em cada indivíduo, existem problemas associados, tanto com a regeneração, como o próprio osso. Problemas relacionados com insuficiência na regeneração óssea (osteoporose) ou regeneração excessiva (doença de Paget), como outro tipo de patologias (cancro) e fracturas (provocadas por acidentes vários) podem provocar descontinuidades no osso que não podem ser corrigidas naturalmente pelo corpo, sendo necessário muitas vezes recorrer a cirurgias para debelar os referidos problemas. Estes problemas são geralmente solucionados com enxertos ósseos [7,10].

Devido às particularidades do osso, os enxertos necessitam exibir algumas características próprias, como é o caso da osteogénese, osteoindução, osteocondução e osteointegração, bem como garantir a melhor resposta por parte do hospedeiro [3].

A utilização de autoenxertos (secções do tecido ósseo retiradas de outras parte do corpo do paciente que não a zona afectada) ainda é de longe o enxerto mais utilizado na transplantologia. As suas propriedades osteogénicas e osteocondutivas proporcionam a melhor adaptação ao paciente mas os problemas em realizar uma cirurgia dolorosa para retirar o enxerto, bem como as questões estéticas relacionadas, entre outros vários problemas associados, proporcionam a procura de outras soluções [3,9,10].

Uma das soluções pode passar pelos aloenxertos (retirados de dadores humanos, que não o paciente em causa) que providenciam alguns tipos de formas pré-definidas mas implicam uma maior possibilidade de rejeição por parte do paciente, bem como a possibilidade de transmissão de doenças [3,9].

Presentemente, os substitutos ósseos (naturais modificados ou sintéticos) revelam-se uma excelente alternativa aos métodos referidos.

Um potencial dispositivo a ser utilizado em engenharia de tecido ósseo, tem de obedecer a parâmetros pré-estabelecidos: providenciar resistência mecânica temporária na zona afectada, actuar como substrato para a deposição e crescimento do osteóide, conter uma estrutura porosa para permitir a vascularização e crescimento do osso, encorajar a migração das células para a zona do defeito e melhorar a actividade regenerativa, sofrer degradação controlada de modo a facilitar a transferência de cargas para o novo osso, originar produtos de degradação não-tóxicos que possam facilmente ser

removidos do corpo, impedir uma resposta inflamatória muito intensa e possibilitar a sua esterilização sem perder biocompatibilidade [7,8].

As estruturas 3D porosas utilizadas são matrizes para o crescimento do osso, garantindo um ambiente específico e suporte para o seu desenvolvimento. A composição do material, bem como as características estruturais, no caso o design interno e externo, são essenciais para um desempenho eficaz das suas funções [5].

A necessidade de proporcionar a fixação e potenciar o crescimento e diferenciação das células faz com que este tipo de biomateriais tenha de exibir características muito próprias. Uma das mais importantes baseia-se na necessidade de existir macro e microporosidade. É essencial apresentarem porosidade bastante elevada, com poros abertos e uma geometria que propicie a total interligação entre eles. A microporosidade (poros com tamanho inferior a 10  $\mu\text{m}$ ) potencia a interacção entre as células e facilita o desenvolvimento da capilaridade. A macroporosidade (poros com tamanhos entre os 150 e 900  $\mu\text{m}$ ) providencia o abastecimento de nutrientes e permite a remoção dos resíduos originados pelo crescimento das células [5,9].

Actualmente, vários materiais podem ser utilizados para este fim, sendo que as estruturas 3D porosas à base de cerâmicos são as mais importantes, estando entre eles a hidroxiapatite, o fosfato tricálcio e o biovidro [5,12].

Estes são alguns dos tipos de cerâmicos utilizados como estruturas 3D para substituição óssea (Tabela 1):

Tabela 1: Lista de alguns materiais utilizados como enxertos ósseos disponíveis no mercado[13-17]

Nome do produto	Características	Empresa
<b>Hidroxiapatite (HA)</b>		
Pro Osteon™	HA macroporosa, 55% de macroporosidade	Interpore Int., USA
<b>Fosfatos de Tricálcio (TCP)</b>		
Chronos/Ceros 82	Fosfato tricálcio, 60% de porosidade	Mathys Suisse
Biosorb	Fosfato tricálcio, 45-70% de porosidade	SBM S.S, Lourdes
Vitoss	B-TCP ultraporoso, 88-92% de porosidade, poros interligados	Orthovita, USA
Cerasorb® M	Fosfato tricálcio, 65% de porosidade	Curasan AG, Germany
<b>Vidro bioactivo</b>		
Bioglass®	Vidro bioactivo, 90-95% de porosidade	Novabone, USA
<b>Hidroxiapatite ou Fosfato Tricálcio reforçados com Vidro</b>		
ActiFuse™/Pore-Si®	Si-HA, 80% de porosidade, poros interligados	ApaTech, Ltd., U.K.
OsteoStim®	Si-TCP, 60-75% de porosidade, poros interligados	EBI Medical, USA

#### 1.4. Bonelike®

Da autoria de J. D. Santos, G. W. Hastings e J. C. Knowles, e propriedade exclusiva da MedMatInnovation - Materiais Médicos, Lda. do grupo Biosckin S.A., este material é uma apatite sintética, com percentagens controladas de hidroxiapatite e fosfato tricálcio ( $\alpha$ -TCP e  $\beta$ -TCP) e espécies iónicas que reproduzem a composição e estrutura do osso natural [18,19].

A sua preparação pode ser descrita sucintamente da seguinte forma: é preparado um vidro do sistema  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$  que é moído em partículas finas e misturado com um pó de hidroxiapatite (fase pura). Em seguida o material é sinterizado a uma temperatura entre



1200 e 1350°C, fazendo com que o vidro funda, difundindo-se para a estrutura da hidroxiapatite, havendo a substituição de vários íons na rede da HA [9].

A introdução do vidro do sistema CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> origina uma melhoria das propriedades mecânicas, pois reduz a porosidade e o tamanho de grão da HA. Além disso, a sua composição química permite uma libertação controlada de íons F<sup>-</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Na<sup>+</sup> que causa a activação das células ósseas que promovem a formação do novo osso (Figura 2) [9,18].



Figura 2 - Mecanismo de regeneração óssea no Bonelike® [18]

Neste momento, o Bonelike® é comercializado em grânulos microporosos, deve ser combinado com sangue autólogo (sangue proveniente do paciente) ou com uma mistura de solução fisiológica e sulfato de cálcio (estabilizador). Estes materiais são necessários para conferir a estabilidade inicial ao enxerto, que pode ser moldado conforme a necessidade. As suas aplicações médicas baseiam-se nas áreas de oral/maxilofacial, ortopédica e implantologia [9,18].

Alguns estudos preliminares já foram realizados, tendo em vista a concepção de estruturas 3D macroporosos de Bonelike® com 40% e 65% de porosidade. Na Tabela 2 apresentam-se algumas características mecânicas do macroporoso em comparação com osso cortical e trabecular [12,18,20]:

Tabela 2: Propriedades mecânicas do osso cortical, trabecular e Bonelike (65% porosidade) [12,18,20]

Propriedades	Osso cortical	Osso trabecular	Bonelike® (65% porosidade)
Módulo de Young (GPa)	7-30	0,05-0,5	65-89
Tenacidade à fractura (MPam <sup>1/2</sup> )	2-12	-	1,16-1,18
Tensão de compressão (MPa)	100-230	2-12	2

### 1.5.Método de replicação por espumas de poliuretano

Existem vários métodos para a produção de porosos cerâmicos, como o método de *Gel casting*, *Foam casting*, *Slip casting*, *Freeze casting*, *Fiber compacting*, *Solid free form fabrication*, *Hollow beads*, entre outros. Contudo, o método de produção mais utilizado é o método de replicação por espumas de poliuretano, tanto na produção de estruturas 3D de hidroxiapatite, como de fosfatos tricálcio [21].

O método pode ser dividido em 3 etapas diferentes:

- Preparação da suspensão
- Impregnação da espuma
- Secagem, queima e sinterização

#### 1.5.1.Preparação da suspensão

A preparação de uma suspensão adequada está dependente de vários factores. Parâmetros como a concentração de sólidos, granulometria e distribuição granulométrica, tempo de desaglomeração e quantidade de dispersantes são alguns dos factores que alteram as propriedades reológicas da suspensão.

Geralmente, as suspensões são classificadas de Newtonianas ou Não-Newtonianas do ponto de vista reológico. Os sistemas Newtonianos são caracterizados por obedecerem a uma proporcionalidade entre a tensão de corte,  $\tau$  (Pa) e a velocidade de corte,  $\gamma$  (s<sup>-1</sup>), possuindo uma viscosidade única,  $\eta$  (Pa.s). Esta relação é dada pela Equação 1 [22]:

$$\tau = \eta \cdot \gamma \quad [\text{Equação 1}]$$

Quando temos suspensões diluídas desfloculadas de partículas isométricas e a velocidade de corte é reduzida, estas comportam-se como fluídos Newtonianos [22].

Mas os aspectos que são indicados como responsáveis pelas propriedades de escoamento das suspensões podem proporcionar uma alteração no comportamento reológico, deixando de se comportar como fluídos Newtonianos (proporcionalidade da tensão e velocidade de corte deixa de se verificar), passando para outros tipos de comportamentos. Devido a este facto, não se pode falar em viscosidade em sistemas Não-Newtonianos, falando-se de viscosidade aparente (relação entre tensão e velocidade para um determinado ponto da curva), podendo verificar-se vários tipos de comportamentos: Binghamianos, pseudoplásticos, dilatantes, tixotrópicos e reopexante (ou tixotrópico negativo) [22,23].

### 1.5.1.1.Efeito da concentração de sólidos

A viscosidade de um líquido puro é inferior à de uma suspensão com comportamento Newtoniano devido à perturbação das linhas de deslocamento causadas pela presença das partículas em suspensão. A equação de Einstein (Equação 2) relaciona a viscosidade da suspensão com a do meio suspensor [22]:

$$\eta_r = \frac{\eta_s}{\eta_0} = (1 + k\phi) \quad \text{[Equação 2]}$$

Onde,  $\eta_r$  é a viscosidade relativa,  $\eta_s$  a viscosidade da suspensão e  $\eta_0$  a viscosidade do meio suspensor.  $\Phi$  é a fracção volumétrica e  $k$  uma constante (2,5) aplicada para partículas esféricas, sendo superior se a geometria for alongada. Porém, esta teoria não tem em conta a ausência de interações hidrodinâmicas porque se aumentada a concentração de sólidos, a viscosidade sobe mais rapidamente que o previsto pela equação [22].

Foram então desenvolvidas novas teorias tendo em conta concentrações elevadas de sólidos, como é o caso das expressões de Mooney e Pivinskii. Actualmente, a equação de Dougherty e Kriger é a mais utilizada para descrever a viscosidade de suspensões bimodais (Equação 3) [22]:

$$\eta_r = \frac{\eta_s}{\eta_0} = \left( \frac{1 - \phi}{\phi_m} \right)^{-k\phi_m} \quad \text{[Equação 3]}$$

Sendo  $k$  o coeficiente de Einstein (2.5 para partículas esféricas) e  $\phi_m$  o inverso da densidade relativa máxima. Verifica-se então que para suspensões desfloculadas, a variação da viscosidade relativa é acompanhada por uma alteração do comportamento reológico, quando ocorre um aumento da concentração de sólidos. Existe então uma fluidificação ou espessamento quando as partículas são deslocadas, porque estando inicialmente individualizadas, tornam-se interactivas com a diminuição da distância de separação [22].

No caso de suspensões de hidroxiapatite para impregnação de espumas de PU, a quantidade de sólidos deve ser suficientemente elevada para conseguir preencher todos os poros disponíveis da espuma de PU. Contudo, esse valor deve estar abaixo de um certo patamar pois uma quantidade de sólidos elevada impede a remoção do excesso de suspensão, bloqueando os poros da espuma [24, 25].

Sabendo que a viscosidade das suspensões aumenta com o aumento da percentagem de sólidos em suspensão, essa elevação pode ser mais ou menos acentuada, dependendo do dispersante utilizado, como vemos na Figura 3 [25, 26]:

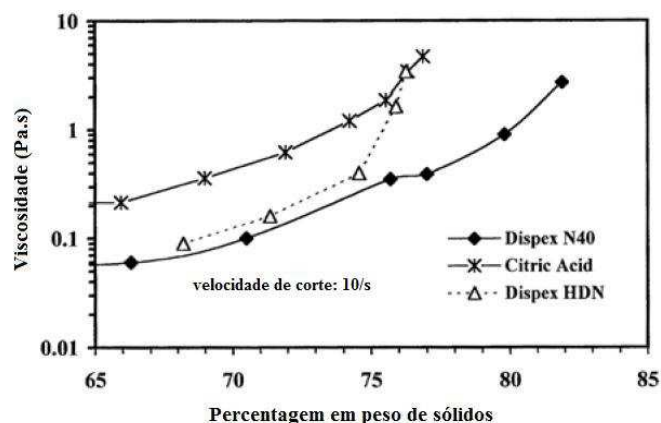


Figura 3 - Variação da viscosidade de uma suspensão de HA com o aumento da percentagem mássica de sólidos (para 3 dispersantes diferentes) [26]

### 1.5.1.2. Efeito da granulometria e distribuição granulométrica

A redução do tamanho das partículas proporciona um aumento da viscosidade relativa das suspensões, pois a fracção de finos torna-se superior, originando um aumento da área de contacto sólido/líquido [22].

O facto de existir maior área de contacto propicia que mais moléculas de água sejam adsorvidas, bem como outras espécies químicas. Estes valores dependem das propriedades de superfície do coloíde, entre os quais o carácter hidrofóbico/hidrofílico. A fracção de sólidos efectiva ( $\phi_m$ ) pode ser dada pela Equação 4 [22]:

$$\phi_{efec} = \phi \left[ 1 + \frac{\delta}{r} \right]^3 \quad \text{[Equação 4]}$$

Sendo  $\delta$  a espessura da camada adsorvida e  $r$  o raio das partículas. Confirma-se que a uma dada concentração de sólidos, a viscosidade aumenta quanto mais elevada for a quantidade de partículas finas (esta expressão só é válida se  $\delta$  e  $r$  tiverem grandezas compatíveis). Porém, se existir distribuição de tamanhos alargadas origina a redução da viscosidade [22].

A relação entre o tamanho de finos e grossos ( $R_{cf}$ ), para um decréscimo da viscosidade deve rondar os 6.46, por método teórico. Todavia, os valores experimentais indicam que esta relação tem de estar próxima dos 10, porque a rugosidade dificulta o empacotamento das partículas finas [22].

### **1.5.1.3.Efeito do tempo de desaglomeração**

O tempo de desaglomeração em suspensões pode também influenciar as propriedades reológicas, mais propriamente em suspensões à base de hidroxiapatite. Os pós têm tendência a aglomerar-se, e quanto maior o aglomerado, mais difícil será a capacidade da suspensão fluir (maior viscosidade), originando a diminuição de sólidos que pode ser utilizada. Quanto maior for o tempo de desaglomeração, maior será a capacidade do material fluir, logo a viscosidade diminui [27,28].

### **1.5.1.4.Efeito da quantidade de dispersantes**

A fluidez de uma suspensão pode ser alterada pela introdução de desfloculantes. Estas substâncias aumentam a fluidez, pois proporcionam um desenvolvimento de forças repulsivas entre as partículas e estabiliza-as em relação à reaglomeração [22].

A adição destas substâncias permite a modificação e inversão da natureza das interações entre as partículas de uma suspensão, provocando também uma redução progressiva do estado de agregação. A quantidade de desfloculante adicionada permite uma diminuição da viscosidade aparente de um sistema, atingindo um valor mínimo correspondente ao grau de desfloculação máximo permitido pelo desfloculante utilizado. Se a adição for para além deste valor mínimo, volta a ocorrer um aumento de viscosidade,

pois a refloculação é efectiva, uma vez que existe um aumento da força iónica do meio suspensor ou interacção entre cadeias poliméricas adsorvidas e em solução [22].

O critério de selecção de desfloculantes deve ser cuidado. A composição química, a eficácia, preço e o controlo das propriedades reológicas (obtenção de um bom compromisso entre valores de viscosidade, tixotropia e densidade) devem ser parâmetros a ter em conta quando se realiza a selecção [22].

No caso particular da preparação de suspensões para a produção de um material cerâmico de elevada pureza, devem ser usados desfloculantes que sejam facilmente libertados durante a sinterização (desfloculantes poliméricos) [22].

A quantidade de dispersante a ser utilizada varia, dependendo da viscosidade pretendida. A quantidade de dispersante adicionada tem de ser controlada, pois em excesso pode resultar num novo aumento da viscosidade. Este facto constata-se na Figura 4a, contudo, para valores reduzidos a viscosidade decresce até estabilizar, como se verifica na Figura 4b [26,29]:

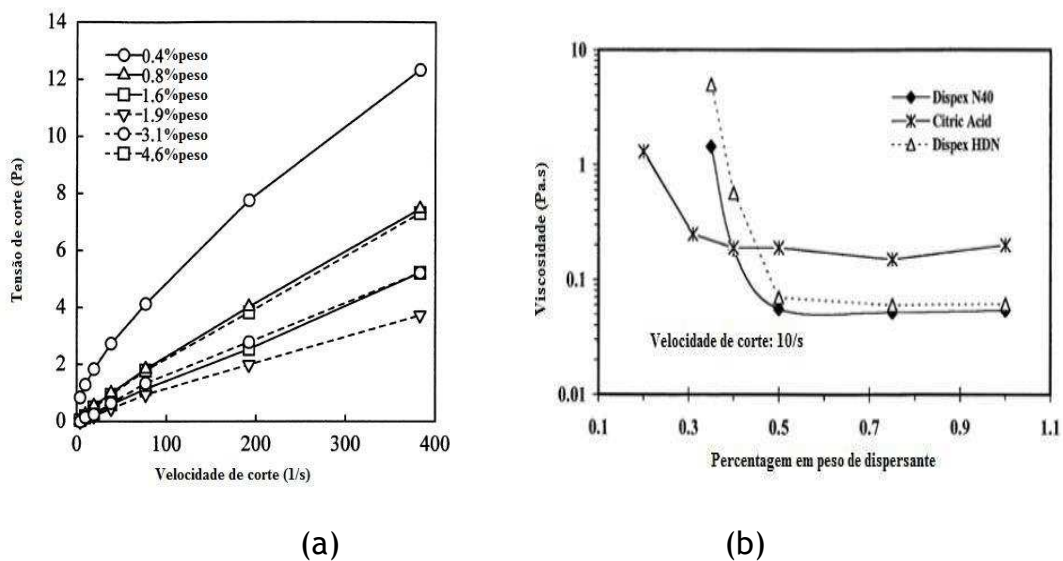


Figura 4 - a) Viscosidade de uma suspensão aquosa com 25% de HÁ para várias quantidades de dispersante b) Viscosidade de uma suspensão aquosa com 57% HA para várias quantidades de dispersante [26,29]

### 1.5.2. Impregnação das espumas

A escolha das espumas de poliuretano deve ser tida em conta. Este material é o mais indicado porque apresenta resiliência e flexibilidade apropriadas para serem comprimidas e depois voltarem ao seu volume e forma originais. As espumas de PU são propícias para

esta aplicação porque a sua temperatura de degradação é relativamente reduzida (~350°C) e gradual [24,30-32].

A geometria e tamanho dos poros, bem como a densidade destas espumas, têm de ser conhecida pois condicionam a porosidade e densidade final do macroporoso de Bonelike®. Segundo a bibliografia, a densidade de poros deve estar compreendida entre 1,2 a 3,2 poros/mm, sendo preferível que estes valores se situem, se possível, entre 1,8 a 2,4 poros/mm. Os poros devem também estar interligados, com células abertas e distribuição homogênea. A estrutura deve ser semelhante à apresentada na Figura 5 [24,33]:

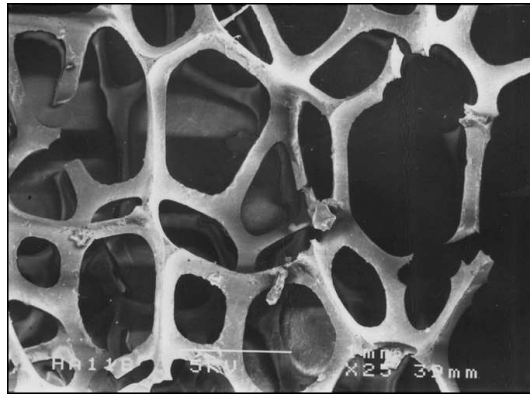


Figura 5 - estrutura dos poros de uma espuma de poliuretano [33]

A necessidade de utilizar um método de eliminação da suspensão reprodutível e fiável, pode levar à utilização de uma laminador mecânico.

A percentagem de compressão que é aplicada na espuma é um dos factores a ter em conta. Porém, inicialmente a espuma de PU deve ser comprimida para retirar o ar, e mergulhada na suspensão. Este processo deve ser repetido até a maior parte das bolhas de ar contidas dentro da espuma terem sido eliminadas. Este passo origina um excesso de suspensão na espuma. É então aplicada uma taxa ideal de compressão de modo a permitir a eliminação da quantidade correcta de suspensão [34,35].

### 1.5.3. Secagem, queima e sinterização da espuma

O ciclo térmico imposto à espuma impregnada tomará papel decisivo para obter uma estrutura macroporosa.

A secagem e consequente extracção do líquido suspensor representam um factor bastante importante. Segundo a bibliografia, a eliminação do líquido quando em excesso, durante a queima da espuma, pode provocar fissuras no material [24].

Se o líquido suspensor utilizado for a água, então deve-se deixar repousar durante 24 horas numa estufa, de forma a existir uma eliminação total do líquido, sendo que a temperatura utilizada deve rondar os 100°C [24,35].

Posteriormente, é necessário queimar a espuma de PU. Segundo a bibliografia, os valores das taxas de aquecimento podem variar entre os 0,5 até os 5°C/min, sendo ideal um valor a rondar os 0,5°C/min. Porém, este passo deve ser gradual e lento, evitando ao máximo o possível colapso da estrutura de hidroxiapatite. O patamar de temperaturas de queima deve situar-se entre os 550 a 650°C, mantendo-se nesse patamar durante 1 a 2 horas [1,22,36].

Por fim, o aquecimento até à temperatura de sinterização deve corresponder a uma taxa de 4°C/min, até atingir temperaturas próximas de 1300°C (durante aproximadamente 1 hora). O arrefecimento é natural, dentro do forno. A utilização de placas de alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) densa nesta etapa, bem como na queima da espuma de poliuretano é essencial. Evitar atritos entre as placas de suporte de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  e o material reduz a possibilidade de ocorrência de fissuras no material [22,35].



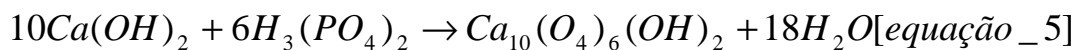
## 2. Materiais e Métodos

A produção de macroporosos pela técnica de replicação de espumas de PU foi precedida pelo fabrico das matérias-primas do Bonelike<sup>®</sup>, utilizadas em todo o processo. Seguidamente encontram-se descritos os procedimentos de produção de hidroxiapatite e biovidro (matérias-primas do Bonelike<sup>®</sup>).

### 2.1. Produção de matérias-primas

#### Produção de hidroxiapatite

Preparou-se a hidroxiapatite por um método de precipitação em que o hidróxido de cálcio (Ca(OH)<sub>2</sub>) e o ácido ortofosfórico (H<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) reagem de acordo com a reacção descrita na seguinte equação (Equação 5):



O processo de preparação de hidroxiapatite realizou-se em dois recipientes concebidos para o efeito, preparando primeiro a suspensão de hidróxido de cálcio em água, a qual fica a agitar durante 30 minutos. De seguida, no outro recipiente, dissolveu-se o ácido ortofosfórico em água (as proporções do reagentes são definidas segundo cálculos estequiométricos da equação 5). Com o auxílio de uma bomba peristáltica, transferiu-se a solução de ácido ortofosfórico para o recipiente contendo a suspensão de hidróxido de cálcio (esta transferência dura aproximadamente 5 horas).

Durante a transferência da solução ácida foi necessário controlar o pH da solução, pois a solução não pode descer para valores inferiores a 10,5. Para isso, foi utilizada uma solução de amónia (NH<sub>3</sub>).

Depois de toda a solução ácida ter sido transferida, manteve-se a agitação durante mais 2 horas. Ao fim deste tempo, desligou-se o agitador tendo-se iniciado a fase de maturação (repouso da solução durante 16 horas). Finalizado o período de maturação, procedeu-se à filtração da hidroxiapatite. Depois de filtrada, retira-se a hidroxiapatite para recipientes de secagem, que são colocados numa estufa a 60°C, durante 2 dias.

Ao fim destes 2 dias, moeu-se a HA com a ajuda de um almofariz de ágata, de forma a evitar contaminações, e com um moinho planetário. Crivou-se o pó de forma a obter uma granulometria abaixo de 75 µm.

## Produção de biovidro

Preparou-se o biovidro do sistema  $P_2O_5$ -CaO a partir da adição de quantidades apropriadas de hidrogenofosfato de cálcio ( $CaHPO_4$ ), carbonato de sódio ( $Na_2CO_3$ ), fluoreto de cálcio ( $CaF_2$ ) e pentóxido de difósforo ( $P_2O_5$ ). Procedeu-se à mistura dos reagentes num cadinho de platina reiniciou-se o respectivo ciclo térmico (aquecimento a aproximadamente  $16^\circ C/min$  até os  $1450^\circ C$  e estágio a esta temperatura durante 30 minutos). No fim do ciclo, vazou-se o conteúdo do cadinho para água à temperatura ambiente. Retirou-se o vidro rapidamente da água e colocou-se na estufa a secar (24 horas a  $60^\circ C$ ). Moeu-se o biovidro, num almofariz de ágata ou num moinho planetário. Crivou-se o pó resultante abaixo dos  $75\mu m$ .

Seguidamente, descreve-se o método de produção de macroporosos por impregnação de espumas de poliuretano, desde a escolha das espumas de PU até ao corte final para produção de pré-formas. No final da descrição do processo, apresenta-se uma tabela com todas as experiências realizadas, bem como todos os parâmetros utilizados em cada uma delas.

### ***2.2. Seleção de espumas de PU***

Com a gentileza da empresa Flexipol (Portugal), foram fornecidas 3 tipos de espumas (células abertas) que foram usadas neste trabalho. Os seus nomes comerciais são HR 30D VR (cor verde), 20 AM/DURA (cor amarela) e 28 SGF (cor preta) (Figura 6). As dimensões das espumas ensaiadas foram de  $100 \times 25 \times 25$  mm e  $100 \times 50 \times 25$  mm. Efectuou-se também um teste com uma espuma de dimensões superiores ( $150 \times 125 \times 25$  mm). Na tabela seguinte (Tabela 3) apresentam-se algumas das características mais relevantes das espumas (em concordância com a ficha técnica fornecida pela empresa Flexipol):

Tabela 3: Densidade e resiliência das espumas utilizadas no estudo

Espuma de Poliuretano (cor)	Densidade ( $Kg/m^3$ )	Resiliência (%)
HR 30D Vr (verde)	27,5 - 32,5	$\geq 55$
20 AM/DURA (amarela)	18,5 - 21,5	$\geq 30$
28 SGF (preta)	27,5 - 32,5	$\geq 40$



Figura 6 - Espumas de poliuretano utilizadas

### ***2.3. Preparação das espumas de PU***

A impregnação das espumas com a suspensão preparada foi precedida da realização de um tratamento de hidrofilição das mesmas. Para tal realizou-se uma lavagem com uma solução 2% de NaOH (Fluka, Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, EUA), durante 20 minutos num sistema de ultrasons. Posteriormente, houve a necessidade da lavagem das espumas para retirar possíveis impurezas. Realizou-se uma limpeza das espumas com água destilada, posterior à lavagem com a suspensão de NaOH, de modo a ajustar o pH para próximo de 7 (pH neutro).

### ***2.4. Preparação de suspensão cerâmica de Bonelike<sup>®</sup>***

Procedeu-se à preparação de uma suspensão de Bonelike<sup>®</sup> com a adição de álcool polivinílico (PVA 10-98, Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, EUA), polietilenoglicol (PEG 600, Fluka, Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, EUA), biovidro e hidroxiapatite (estes reagentes foram utilizados devido a consulta bibliográfica) [37].

Inicialmente procedeu-se à dissolução do PVA em água ultra-pura, a uma temperatura de aproximadamente 80°C (Figura 7a), com agitação constante (a dissolução total efectuou-se ao fim de 2h - 2h30m). Neste passo deve garantir-se que o recipiente se encontra vedado de forma a não permitir a evaporação de água. As percentagens adicionadas de PVA variaram entre 4 a 6%.

Depois de realizada a dissolução, a solução arrefeceu até à temperatura ambiente, sempre com agitação, e acrescentou-se posteriormente o PEG (dissolução praticamente imediata, entre 5 a 10 minutos). As quantidades utilizadas variaram entre 2 e 3%

Esta etapa terminou com a adição do BV e da HA (2,5% de BV e 97,5% de HA de acordo com a literatura [19] para a preparação do Bonelike<sup>®</sup>). Adicionou-se inicialmente o BV

(adição imediata), sendo acrescentada posteriormente a HA. Neste passo deve ser utilizado uma maior agitação, de forma a conseguir realizar uma melhor dispersão dos sólidos introduzidos (no caso utilizou-se um mecanismo de pás rotativas) (Figura 7b). Esta adição prolongou-se por 1h - 1h30min. As percentagens de sólidos introduzidos variaram entre 25 e 40%.



Figura 7 - a) Dissolução do PVA b) Incorporação da hidroxiapatite

## ***2.5. Impregnação da suspensão cerâmica na espuma de PU***

A impregnação das espumas efectuou-se, inicialmente, de forma manual. Nesses casos, as espumas eram mergulhadas e espremidas dentro do recipiente com suspensão manualmente. Posteriormente, a impregnação passou a ser feita em vácuo. Desta forma, efectuou-se inicialmente vácuo somente na suspensão, tentando retirar a maior parte de bolhas de ar contidas na suspensão (este passo realiza-se durante 10 minutos, tentando retirar-se bolhas de ar incorporadas durante a preparação da suspensão). De seguida submergiu-se a espuma de PU na suspensão (manualmente pode-se comprimir a espuma quando imersa) e deixou-se efectuar o vácuo a -850 mbar (Figura 8). Neste passo, verificou-se a libertação das bolhas de ar que estariam retidas dentro da espuma, quando se procedeu à submersão. Os tempos de impregnação em vácuo variaram entre 5 a 60 minutos. Em todos os casos, a meio de cada impregnação, virou-se a espuma.



Figura 8 - Sistema de impregnação utilizado

Depois de efectuada a impregnação das espumas, removeu-se o excesso de suspensão contida na espuma (Figura 9a). A máquina de rolos concebida para o efeito (Figura 9b), propriedade do grupo Biosskin Molecular and Cell Therapies S.A., é composta por 2 pares de rolos que actuam a uma velocidade máxima de 22,50 r.p.m.. As taxas de compressão utilizadas nos primeiros rolos variaram entre 30 e 60%, sendo que no segundo par de rolos a variação foi entre os 50 e os 70%.

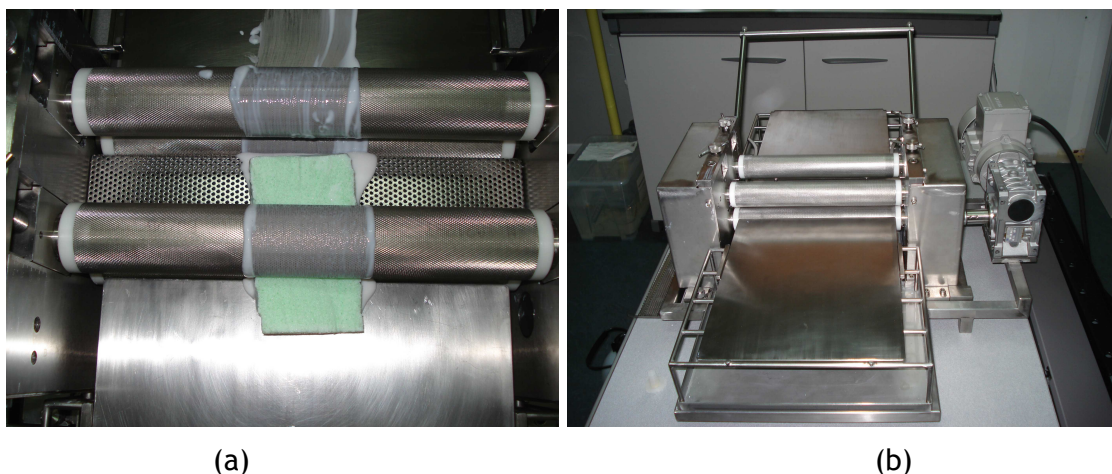


Figura 9 - a) Laminador mecânico b) Remoção do excesso de suspensão da espuma de PU

## 2.6. Secagem

A secagem das espumas efectuou-se numa estufa Binder, seguindo o ciclo térmico representado na Figura 10. De referir que as espumas foram colocadas em bases de

alumina, sendo necessário ao fim de algum tempo (entre 1 a 2 horas) virar as espumas de forma a não colarem à base.

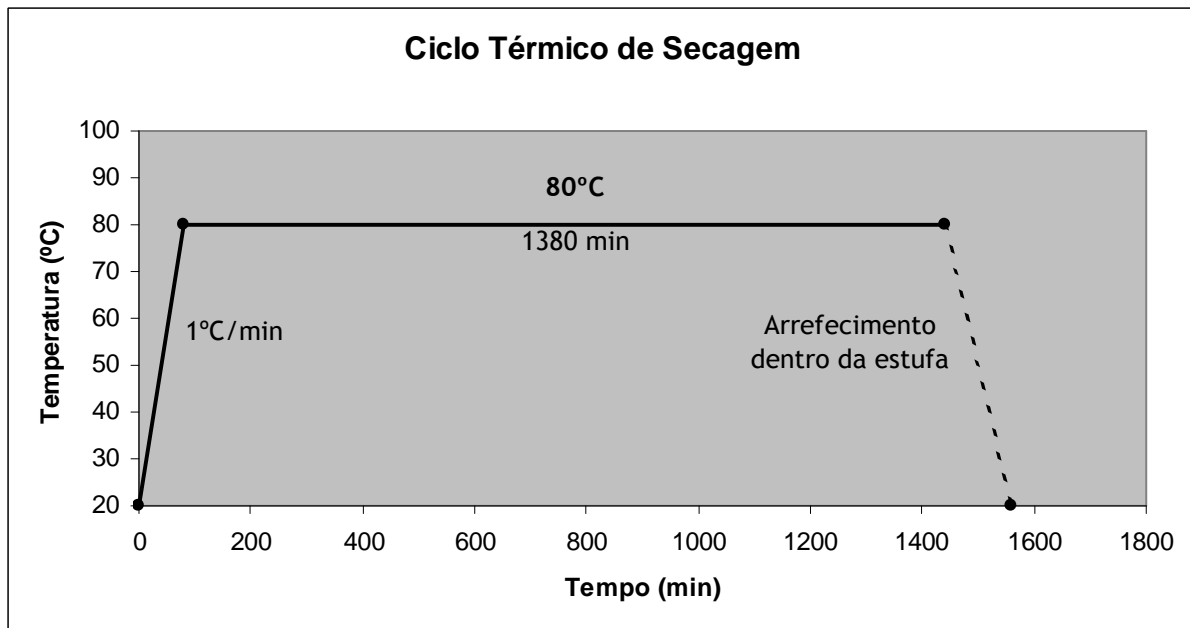


Figura 10 - Ciclo térmico de secagem imposto nas espumas

## 2.7. Queima e Sinterização

A queima da espuma de PU e posterior sinterização obedeceu ao ciclo térmico representado pela Figura 11, tendo sido utilizado o forno MLR 62/2001 da empresa ThermoLab, Portugal (tal como na secagem, as amostras são colocadas em bases de alumina). É necessário ter em atenção a alguns factores aquando deste passo. Em primeiro lugar, é indispensável iniciar o ciclo térmico a uma temperatura estabilizada (entre 40 e 60°C) sem colocar as amostras dentro do forno antes deste atingir esta temperatura. Como são fornos de altas temperaturas, desde a inércia inicial (temperatura ambiente) até estabilizar a temperatura definida, o forno aumenta bastante a sua potência até atingir temperaturas perto dos 150°C. Nesta gama de temperaturas as espumas de PU entram em ignição e queimam. De referir também que a porta do forno deve estar entreaberta até 600°C para ocorrer ventilação, e libertar os gases resultantes da queima do PU que podem queimar a porta do forno (chapa exterior).

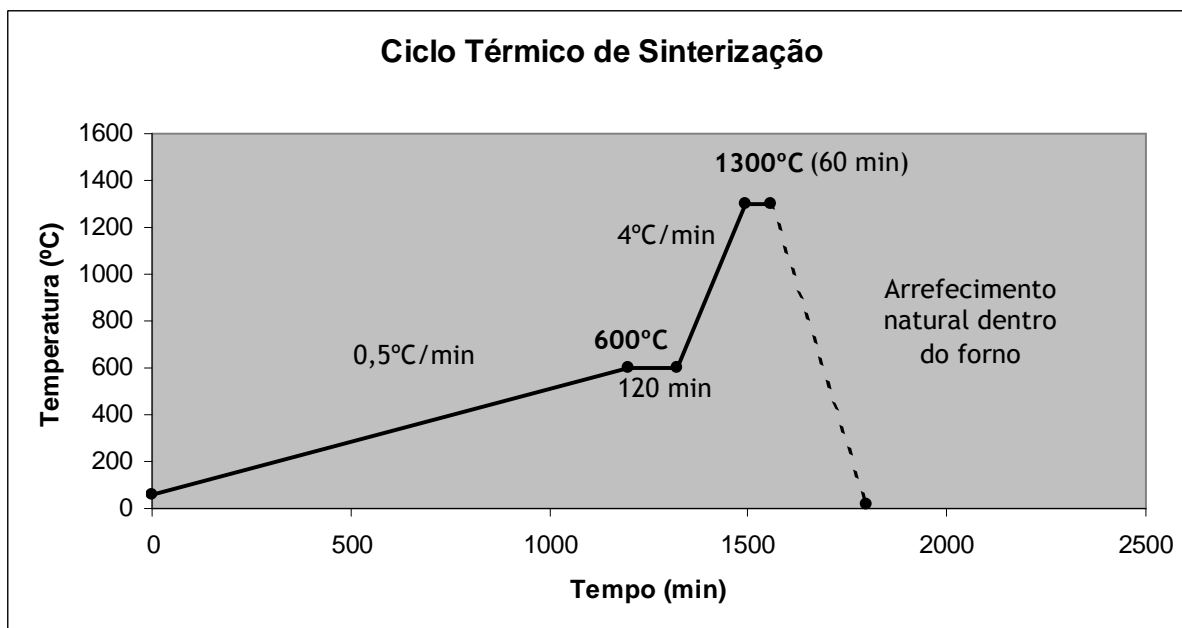
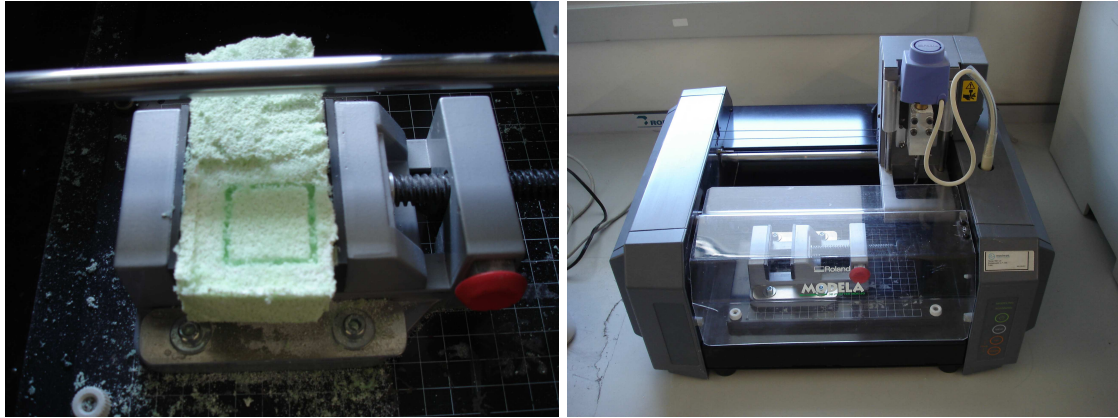


Figura 11 - Ciclo térmico de queima e sinterização utilizado nas espumas

## 2.8.Corte

A obtenção de formas pré-definidas (paralelepípedos e cunhas) levou à necessidade da realização de cortes para alcançar as formas desejadas. O corte foi realizado de duas formas distintas: corte após a secagem das espumas (Figura 12a) e corte após a sinterização. Os cortes foram realizados com uma fresadora Modela 3D Plotter MDX-20, da empresa Roland (Figura 12b). A ferramenta de corte foi uma fresa de carboneto de tungstênio com 6 mm de diâmetro e 20 de comprimento de área de corte. De referir que existiu uma tentativa para cortar a espuma de PU antes de impregnar (num bloco de espuma realizaram-se cortes para dar as formas desejadas, ficando contidas dentro do bloco). Esta tentativa foi realizada com corte a laser, tendo sido efectuado pela empresa Edaetech Engenharia e Tecnologia S.A, que gentilmente se disponibilizou a efectuar os testes. Esta hipótese foi abandonada devido aos maus resultados obtidos.



(a)

(b)

Figura 12 - a) Fresadora utilizada para realizar os testes de corte b) corte de uma espuma após secagem

## ***2.9. Identificação das várias experiências***

Nas tabelas 4<sup>a</sup>) e 4b) apresentam-se todas as condições experimentais que foram estudadas ao longo do estudo.

De referir que se omitiram algumas condições por se realizarem em todas as experiências:

- Lavagem com NaOH
- Ciclo de secagem
- Ciclo de queima e sinterização



Tabela 4a - Identificação das várias experiências realizadas durante o trabalho experimental

Experiência	Espuma PU	Tamanho espuma	Lavagem com H <sub>2</sub> O	% PVA	% PEG	% Sólidos	Tipo de impregnação	Duração de impregnação	Taxas de compressão	Corte (após)
1	20 AM/DURA	25x25x100	Não	5%	3%	25%	Manual	-	60%-70%	-
2	HR 30D VR	25x25x100	Não	5%	3%	25%	Manual	-	60%-70%	-
3	28 SGF	25x25x100	Não	5%	3%	25%	Manual	-	60%-70%	-
4	HR 30D VR	25x25x100	Não	5%	3%	30%	Manual	-	60%-70%	-
5	28 SGF	25x25x100	Não	5%	3%	30%	Manual	-	60%-70%	-
6	HR 30D VR	25x25x100	Não	6%	3%	30%	Manual	-	60%-70%	-
7	HR 30D VR	25x25x100	Não	6%	2%	30%	Manual	-	60%-70%	-
8	HR 30D VR	25x25x100	Não	6%	2%	35%	Manual	-	60%-70%	-
9	HR 30D VR	25x25x100	Não	6%	2%	40%	Manual	-	60%-70%	-
10	HR 30D VR	25x25x100	Não	6%	2%	35%	Vácuo	15 min	60%-70%	-
11	HR 30D VR	25x25x100	Não	4%	2%	35%	Vácuo	15 min	60%-70%	-
12	HR 30D VR	25x25x100	Não	5%	2%	35%	Vácuo	15 min	60%-70%	-
13	HR 30D VR	25x25x100	Não	6%	2%	35%	Vácuo	15 min	50%-70%	-

Tabela 4b - Identificação das várias experiências realizadas durante o trabalho experimental

Experiência	Espuma PU	Tamanho espuma	Lavagem com H <sub>2</sub> O	% PVA	% PEG	% Sólidos	Tipo de impregnação	Duração de impregnação	Taxas de compressão	Corte (após)
14	HR 30D VR	25x25x100	Não	6%	2%	35%	Vácuo	15 min	30%-50%	-
15	HR 30D VR	25x25x100	Não	6%	2%	35%	Vácuo	15 min	50%-70%	Sinterização
16	HR 30D VR	25x50x100	Não	6%	2%	35%	Vácuo	15 min	50%-70%	-
17	HR 30D VR	25x50x100	Não	6%	2%	35%	Vácuo	15 min	50%-70%	Secagem
18	HR 30D VR	25x50x100	Não	6%	2%	35%	Vácuo	10 min	50%-70%	-
19	HR 30D VR	25x50x100	Não	6%	2%	35%	Vácuo	60 min	50%-70%	-
20	HR 30D VR	25x50x100	Sim	6%	2%	35%	Vácuo	10 min	50%-70%	-
21	HR 30D VR	25x50x100	Sim	6%	2%	35%	Vácuo	60 min	50%-70%	-
22	HR 30D VR	25x50x100	Sim	6%	2%	35%	Vácuo	30 min	50%-70%	Sinterização
23	HR 30D VR	25x50x100	Sim	6%	2%	35%	Vácuo	30 min	50%-70%	Secagem
24	HR 30D VR	150x125x25	Sim	6%	2%	35%	Vácuo	30 min	50-70%	

## **2.10. Caracterização dos materiais**

### **2.10.1. Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM) e Espectroscopia de Dispersão de Energia (EDS)**

A análise em microscopia electrónica de varrimento foi efectuada no aparelho FEI QUANTA 4000 FEG ESEM, no Centro de Materiais da Universidade do Porto (CEMUP). A montagem das amostras foi efectuada num suporte de alumínio com auxílio de cola Araldite, sendo posteriormente realizado um revestimento em ouro. A análise de espectroscopia de dispersão de energia foi igualmente executada no aparelho referido. Esta análise tem em vista a aquisição de imagens microscópicas das espumas de PU e dos macroporosos, bem como a análise química dos últimos.

### **2.10.2. Espectroscopia de Infra-Vermelhos (FTIR)**

Para realizar a análise de espectroscopia de infra-vermelhos foi necessário preparar as amostras previamente. Para os 2 tipos de pós analisados (Bonelike<sup>®</sup> comercial e Bonelike<sup>®</sup> poroso), a elaboração consistiu na concepção de uma pastilha com 2 mg de pó e 200 mg de brometo de potássio, prensada uniaxialmente numa prensa Graseby Special (força utilizada: 8 toneladas). De seguida, a análise foi efectuada num sistema FTIR 2000 da Perkin-Elmer, com resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  e 100 varrimentos por análise.

### **2.10.3. Análise química quantitativa**

Para determinar a presença de metais pesados nas amostras macroporosas, efectuaram-se análises de espectrofotometria de absorção atómica. Estas análises foram realizadas no Centro Tecnológico da Cerâmica e do Vidro (CTCV), em Coimbra, Portugal. Para analisar a presença de arsénio (As), cádmio (Cd) e chumbo (Pb) foi efectuada uma espectrofotometria de absorção atómica por câmara de grafite, sendo que o mercúrio (Hg) foi analisado por espectrofotometria de absorção atómica - técnica de vapor frio. A amostra necessitou de ser preparada, passando por uma moagem a seco, seguida de peneiração a 400 mesh ASTM ( $38\ \mu\text{m}$ ) e secagem a  $100\text{-}110^\circ\text{C}$ . Por fim foi realizada uma solubilização por digestão ácida de acordo com a norma ISO DIS 13778-3.2. Os valores obtidos terão de ser analisados segundo a norma 13779-3 [38].

#### 2.10.4. Difraccção de raios-X (DRX)

Após sinterização, foi efectuada a moagem das amostras macroporosas de Bonelike® obtida para análise fásica por difracção de raios-X. O estudo foi realizado num difractómetro de raios-X Siemens D5000, utilizando uma radiação Cu-K $\alpha$  ( $K\alpha = 1,54056 \text{ \AA}$ ). Na aquisição de dados, o ângulo variou entre 20 e 55° ( $2\theta = 20\text{-}55^\circ$ ), a uma velocidade de aquisição de 0,05°/s. A identificação das fases procedeu-se comparando a posição dos picos do difractograma, com picos padrão ICDD (JCPDS). O teste foi efectuada no Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro da Universidade de Aveiro (DECV-UA) (a comparação dos picos de cada fase foi efectuada após recepção do teste).

#### 2.10.5. Análise Reológica

Este tipo de análise visou aferir a viscosidade da suspensão, bem como a possível tixotropia do sistema. Esta análise foi realizada num viscosímetro rotacional Haake VT 550, da empresa Thermo Scientific, EUA. O ensaio foi efectuada na Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (FFUP).

Utilizaram-se 20 ml de suspensão em cada análise, sendo que o ensaio foi realizado a uma temperatura de  $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , com estabilização da suspensão em repouso, a esta temperatura durante 30 minutos, e com velocidades de corte entre 0,1 a  $500 \text{ s}^{-1}$ . A sonda de análise utilizada foi uma SV-DIN. A aquisição dos dados foi efectuada no software Haake Rheowin Job Manager.

O ciclo de ensaio utilizado passou por uma estabilização da suspensão durante 30 minutos, aplicação de uma velocidade de corte crescente, entre 0,1 a  $500 \text{ s}^{-1}$  (20 pontos adquiridos), e aplicação imediata de uma velocidade de corte entre 0,1- $500 \text{ s}^{-1}$ , mas neste caso decrescentes (20 pontos adquiridos). Este ciclo está explícito na Figura 13.

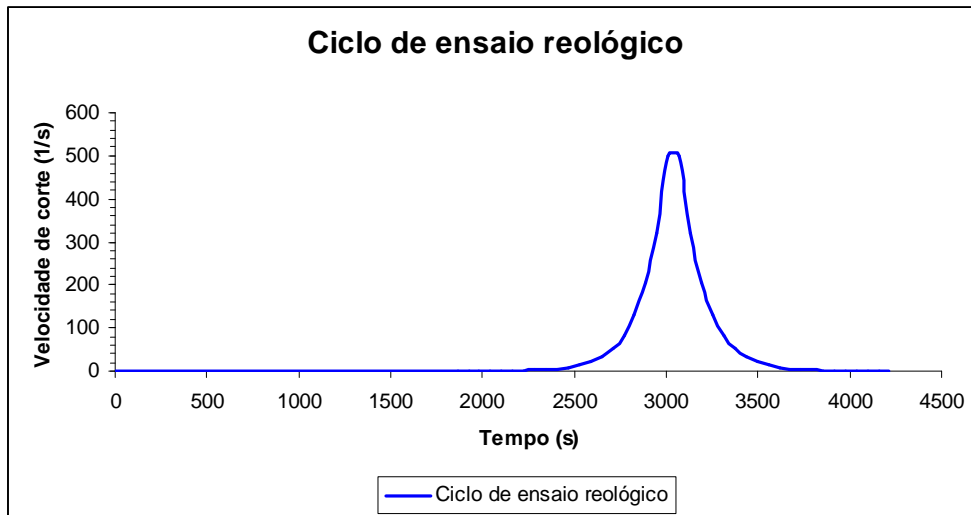


Figura 13 - Ciclo de ensaio realizado nas análises reológicas das suspensões

### 2.10.6. Contração

No caso das amostras cortadas após sinterização, efectuou-se um estudo da contração das peças. A análise foi feita utilizando a expressão (Equação 6):

$$\% \text{contração} = \frac{l_{\text{antes}} - l_{\text{depois}}}{l_{\text{antes}}} \times 100 \text{ [Equação 6]}$$

Sendo  $l_{\text{antes}}$  o comprimento/largura/espessura antes de sinterização e  $l_{\text{depois}}$  o comprimento/largura/espessura após sinterização.

### 2.10.7. Porosidade e densidade aparente

Para realizar a análise da densidade aparente do poroso realizou-se a medição segundo o método de Arquimedes, que é dado pela seguinte expressão (Equação 7):

$$\rho_2 = \frac{A}{A - B} \times \rho_0 \text{ [Equação 7]}$$

Sendo  $\rho_2$  a densidade aparente do poroso,  $A$  o peso da amostra no ar,  $B$  o peso da amostra imersa no líquido de análise e  $\rho_0$  a densidade do líquido a uma dada temperatura.

A análise foi efectuada numa balança analítica AB204-S, da empresa Mettler Toledo, EUA. O líquido de análise foi água destilada, tendo sido efectuado o teste a uma temperatura entre 23 e 28°C.

A percentagem de poros nestas amostras pode ser analisada utilizando a seguinte fórmula (Equação 8):

$$\% \text{ poros} = \left( 1 - \frac{\rho_{\text{aparente}}}{\rho_{\text{denso}}} \right) \times 100 \quad [\text{Equação 8}]$$

Sendo,  $\% \text{poros}$  a percentagem de poros no Bonelike<sup>®</sup> poroso (fechada),  $\rho_{\text{aparente}}$  a densidade aparente do Bonelike poroso e  $\rho_{\text{denso}}$  a densidade do Bonelike<sup>®</sup> denso. A densidade do Bonelike<sup>®</sup> denso é 3,1 g/cm<sup>3</sup> (este valor está dependente da composição física que o Bonelike<sup>®</sup> possa apresentar, contudo o valor a utilizar será o referido).

Realizou-se também uma análise da densidade real de um macroporoso com geometria definida (bloco), utilizando as equações 9 e 10:

$$\rho = \frac{m}{V} \quad [\text{Equação 9}] \quad ; \quad \% \text{ poros} = \frac{\rho_{\text{denso}} - \rho}{\rho_{\text{denso}}} \times 100 \quad [\text{Equação 10}]$$

Sendo  $\rho$  a densidade real do macroporoso,  $m$  a massa do macroporoso e  $V$  o volume do poroso.

De forma a conseguir uma análise mais precisa e exacta da densidade aparente e % de poros, realizou-se um teste de porosimetria de mercúrio. O ensaio foi realizado num porosímetro de mercúrio modelo AUTO PORE IV 9500, da empresa Micromeritics. As pressões utilizadas estão na gama dos 3,5 kPa a 228 MPa, de forma a analisar tamanhos de poros no intervalo 360  $\mu\text{m}$  a 0,0005  $\mu\text{m}$ .

### 3. Resultados

#### Considerações gerais sobre as várias experiências

As experiências 1 a 3, com a mesma suspensão (5%PVA, 3%PEG, 25%BL), foram utilizadas com os 3 tipos de espumas. A espuma AM/DURA colapsou por completo (Figura 14a). A amostra 2 (Figura 14a) e amostra 3 (Figura 14b), apesar de possuírem a estrutura inicial da espuma seca, desagregavam-se ao toque.

De seguida, nas experiências 4 e 5, o aumento da percentagem de sólidos possibilitou o manuseamento das amostras, contudo, à mais pequena tensão exercida, a amostra partia-se, sendo que a experiência com a espuma HR 30D VR (experiência 4) pareceu apresentar maior resistência em relação à espuma 28 SGF (experiência 5).

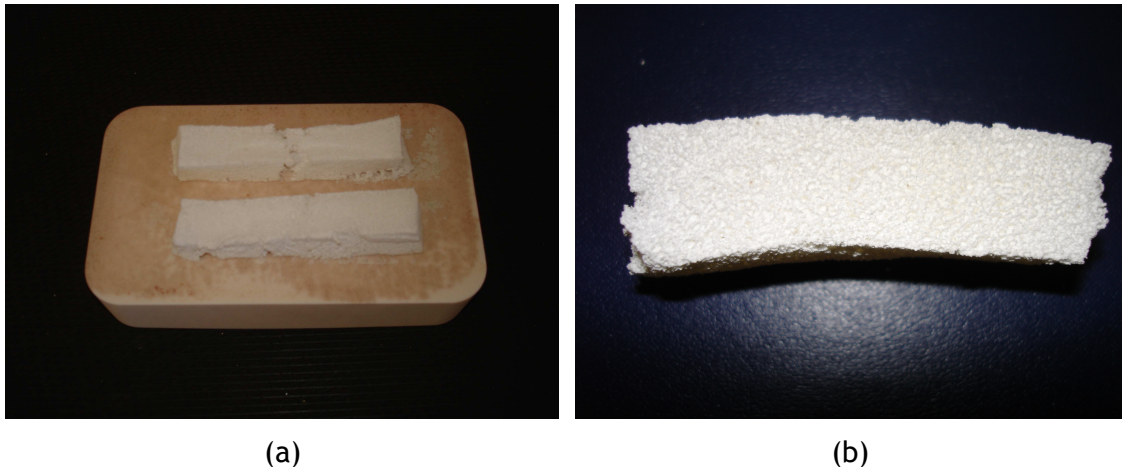


Figura 14 - a) Aspecto visual dos macroporosos de Bonelike® da experiência 1 (em cima) e experiência 2 (em baixo) b) Aspecto visual do macroporoso Bonelike® da experiência 3

Na experiência 6, o aumento do PVA não alterou as características básicas dos poros anteriores, sendo que se tornava algo demorado adicionar os sólidos (a viscosidade da suspensão aparentava ser muito elevada).

A diminuição do PEG (de 3 para 2%) permitiu que a adição dos sólidos fosse mais eficiente (experiência 7). Porém, as amostras continuavam bastantes frágeis para permitir um manuseamento eficaz.

O passo seguinte incidiu num novo aumento da quantidade de sólidos (experiência 8). Neste caso, o poroso apresentou alguma resistência, sendo possível o seu manuseamento, sendo que a zona interior do poroso era mais frágil que a exterior.

O novo acréscimo da quantidade de sólidos (experiência 9), resultou numa suspensão aparentemente muito viscosa, não conseguindo impregnar a parte interior da espuma de poliuretano (facto verificado com um corte na espuma, após secagem).

Com a suspensão relativa à experiência 8, realizaram-se alterações nas restantes variáveis. Inicialmente foram efectuadas experiências visando a melhoria da impregnação da suspensão. Nas experiências 10 a 12, com diferentes quantidades de PVA, a impregnação foi efectuada em vácuo (espuma introduzida dentro da suspensão, realizando vácuo em seguida para retirar as bolhas de ar contidas dentro da espuma). Esta medida permitiu um melhor manuseamento das espumas obtidas em relação às experiências anteriores, sendo que a mais resistente aparentava ser a amostra resultante da experiência 13 (6%PVA, 2%PEG, 35%Sólidos).

A redução da 1ª taxa de compressão na máquina dos rolos (de 60% para 50%), permitiu uma melhor introdução da espuma no aparelho, sendo que não se notava uma alteração nas propriedades mecânicas aparentes do material. Uma redução mais drástica nas duas taxas de compressão (1ª taxa de 60 para 30% e 2ª taxa de 70 para 50%) originou um poroso com poros fechados (experiência 14), parecendo muito denso em relação às anteriores experiências.

Após a definição das condições anteriores (experiência 13), iniciou-se o estudo sobre o dimensionamento de peças com volumes regulares (blocos, cunhas, cilindros). Após a sinterização de algumas peças, experimentou-se o corte (Figura 15a), sendo que neste caso foi ineficaz, visto a superfície ficar muito irregular (experiência 15).

Foi então efectuado um aumento do tamanho da espuma de poliuretano (experiência 16). Este aumento proporcionou uma dificuldade em sinterizar a amostra, pois a zona interior da espuma mostrava-se muito frágil. Contudo, tentou-se efectuar o corte das amostras após a secagem das espumas (experiência 17) (Figura 15b). Neste caso, após a sinterização, as amostras apresentavam uma geometria regular, sendo que a fragilidade era elevada.



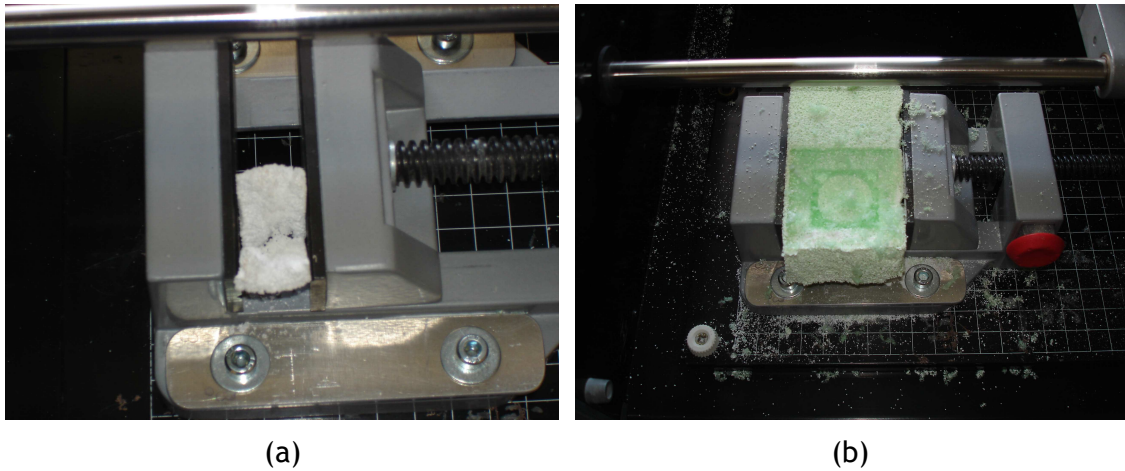


Figura 15 - a) Amostra após sinterização cortada b) Amostra após secagem cortada

Posteriormente, em espumas com dimensões de 25x50x100, tentou-se efectuar a lavagem das mesmas com água ultra-pura (baixando o pH da espuma) e comparar com espumas não-lavadas, sendo que o tempo de impregnação foi também alterado (para ciclos de 10 e 60 minutos de impregnação). No caso das espumas sem lavagem (experiências 18 e 19), com 10 minutos de impregnação, verificou-se que a amostra era frágil, e no caso da impregnação durar 60 minutos, a amostra apresentava uma estrutura com poucos poros abertos (os poros ficaram colmatados). Nas experiências com as espumas pré-lavadas (experiências 20 e 21), tanto com 10 e 60 minutos, as amostras, após sinterização, apresentavam uma resistência razoável, não se verificando grandes diferenças em termos de porosidade.

Foi então realizado corte nas condições definidas anteriormente (experiências 22 e 23), alterando somente o tempo de impregnação para 30 minutos. No caso do corte após sinterização, quando a ferramenta de corte entrava em contacto com o poroso, arrancava material, deixando muitas irregularidades na superfície. No caso do corte após secagem, as amostras apresentavam dimensões bem definidas, tanto o bloco (Figura 16a), como a cunha (Figura 16b), resistência suficiente para serem manuseadas, sem porosos colmatados.

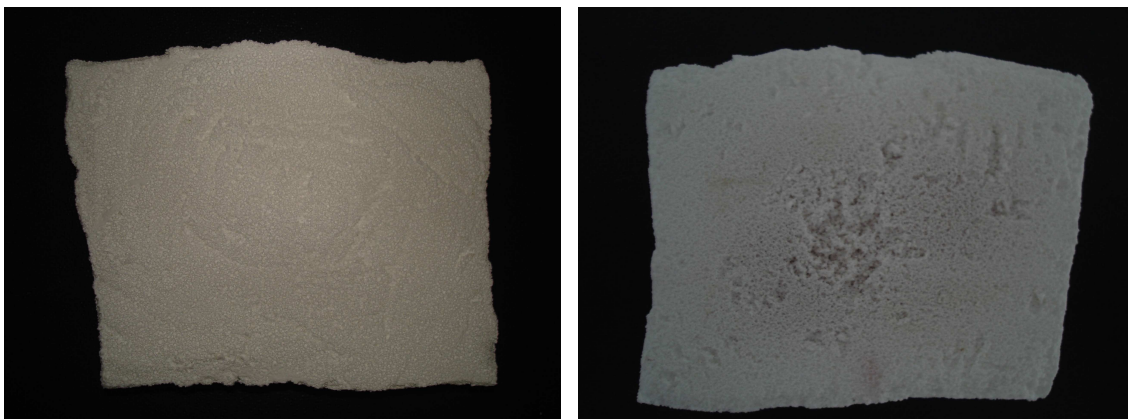


(a)

(b)

Figura 16 - a) Aspecto final de um bloco cortado com a formulação da experiência 23  
b) Aspecto final de uma cunha cortada com a formulação da experiência 23

Por fim, na experiência 24, realizou-se a impregnação e sinterização de amostras com dimensões superiores das utilizadas até agora (150x125x25mm) (Figura 17). Após a sinterização da espuma, verificou-se que toda a amostra apresentava uma estrutura uniforme e resistente, contudo continha resíduos vermelhos na região que esteve em contacto com a placa de alumina.



(a)

(b)

Figura 17 - a) Aspecto visual da espuma após sinterização da formulação 24 (116x90x17mm, parte superior) b) Parte inferior da espuma, após sinterização, com a presença de resíduos vermelhos

## Microscopia Electrónica de Varrimento (MEV) e Espectroscopia de Dispersão de Energia (EDS)

A análise microestrutural das espumas de poliuretano realizou-se por microscopia electrónica de varrimento (Figura 18).

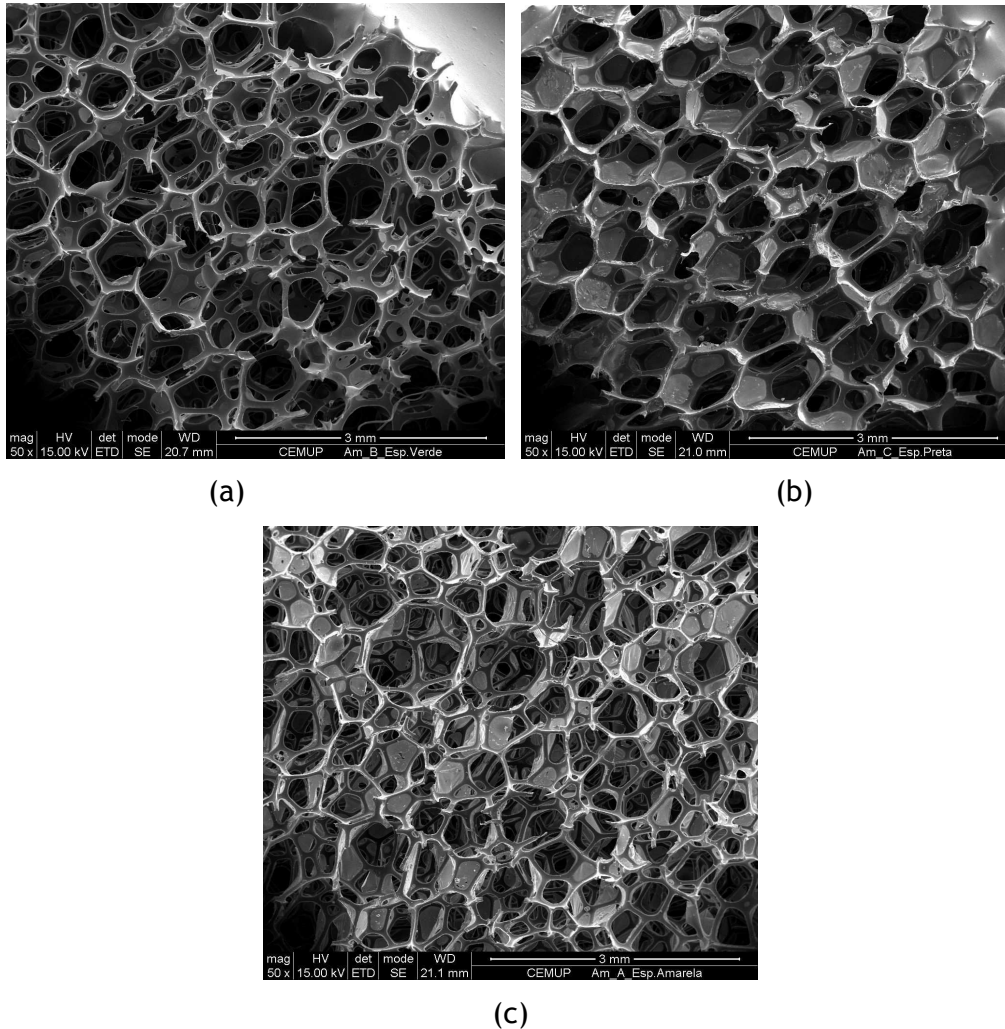


Figura 18 - a) Imagens de MEV da espuma HR 30D VR (tamanho médio dos poros:  $450\mu\text{m}$ ) b) Espuma 28 SGF (tamanho médio dos poros:  $500\mu\text{m}$ ) c) Espuma AM/DURA (tamanho médio dos poros:  $450\mu\text{m}$ )

Conforme se pode ver nas Figuras 18a, 18b e 18c, as espumas de PU apresentam células abertas, com uma estrutura interconectiva, sendo que o tamanho médio dos poros é aproximadamente  $450\mu\text{m}$  (no caso das espumas HR 30D VR e AM/DURA) e  $500\mu\text{m}$  (no caso da espuma 28 SGF)

O estudo da estrutura interna dos macroporosos de Bonelike<sup>®</sup> foi efectuado por microscopia electrónica de varrimento (Figuras 19 e 20). Com auxílio do software, realizou-se a aquisição dos tamanhos dos poros (Figura 19).

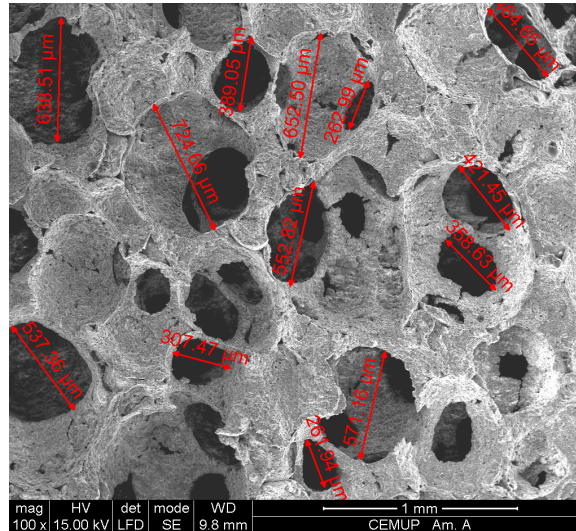


Figura 19 - Imagem MEV do macroporoso de Bonelike<sup>®</sup> resultante da experiência 13, com a medição do diâmetro dos poros

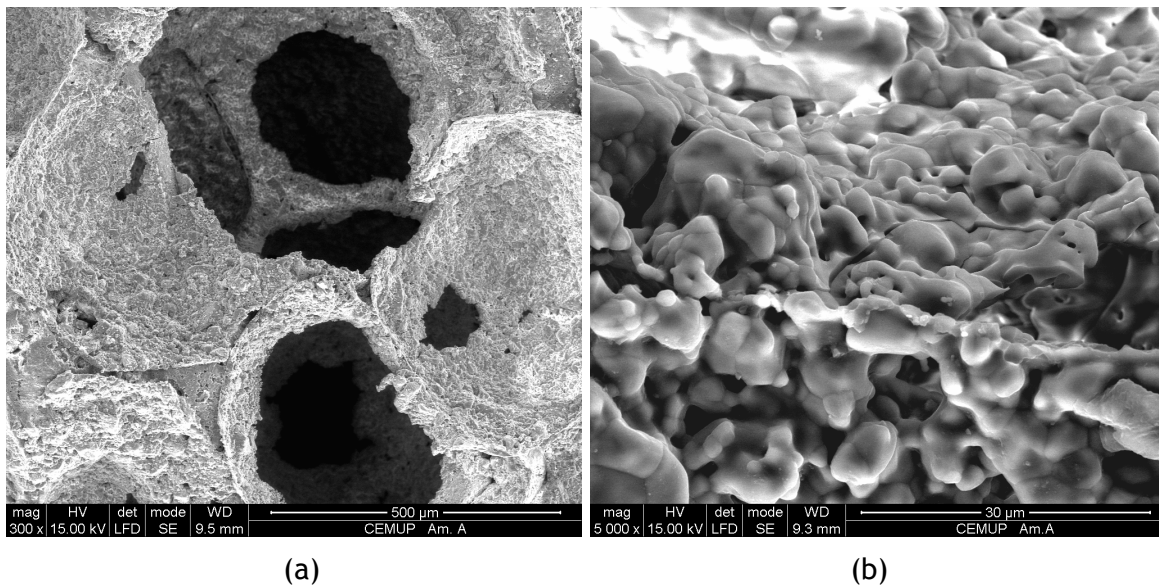


Figura 20 - a) Imagem SEM representativa da interconectividade do poroso resultante da experiência 13 b) Imagem SEM representativa da microporosidade da mesma experiência

Verificou-se que os poros, medidos com o auxílio do software disponível, estão compreendidos entre valores próximos de 250 e 700 µm. Estes valores estão dentro dos previstos (entre 150 e 900 µm), sendo que se verificou a presença de poros interconetivos, bem como a existência de macro e microporosidade.

A análise química qualitativa dos elementos presentes nos macroporosos de Bonelike® está representada na Figura 21:

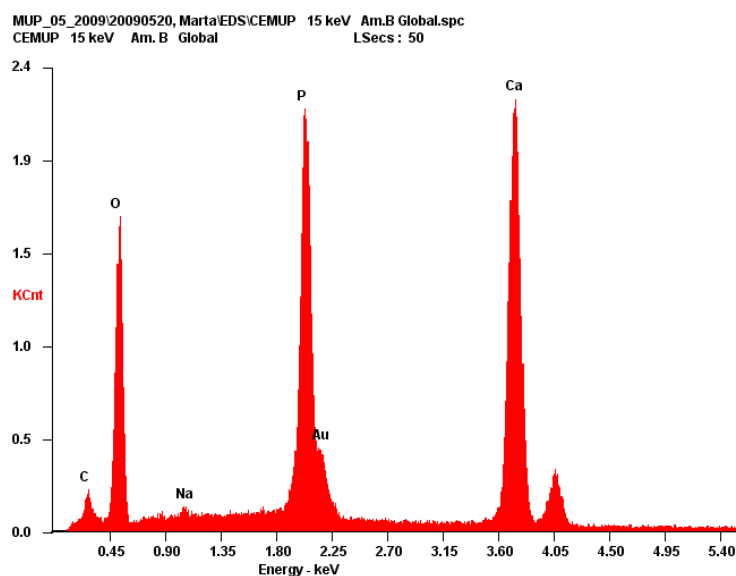


Figura 21 - Espectro de dispersão de energia da experiência 13

Verificam-se picos bem definidos de oxigênio (O), fósforo (P) e cálcio (Ca). Conseguem-se ainda identificar picos de carbono (C), sódio (Na) e ouro (Au). A identificação dos picos de oxigênio, fósforo e cálcio estão de acordo com os elementos que se esperavam encontrar, sendo que a presença de ouro deveu-se ao revestimento utilizado para tornar a amostra condutora. O pico do sódio é irrelevante e a identificação de carbono está relacionada com algum tipo de contaminação, que não resíduos do material.

### Espectroscopia de Infra-vermelhos (FTIR)

Os espectros obtidos na análise em espectroscopia de infra-vermelhos estão indicados na Figura 22. Para determinar a presença de grupos provenientes de possíveis resíduos existentes, a análise foi realizada em 2 amostras: amostra de Bonelike® macroporoso resultante do trabalho experimental e amostra de Bonelike® comercial (esferas com granulometria entre 250-500 µm, funcionando como controle).

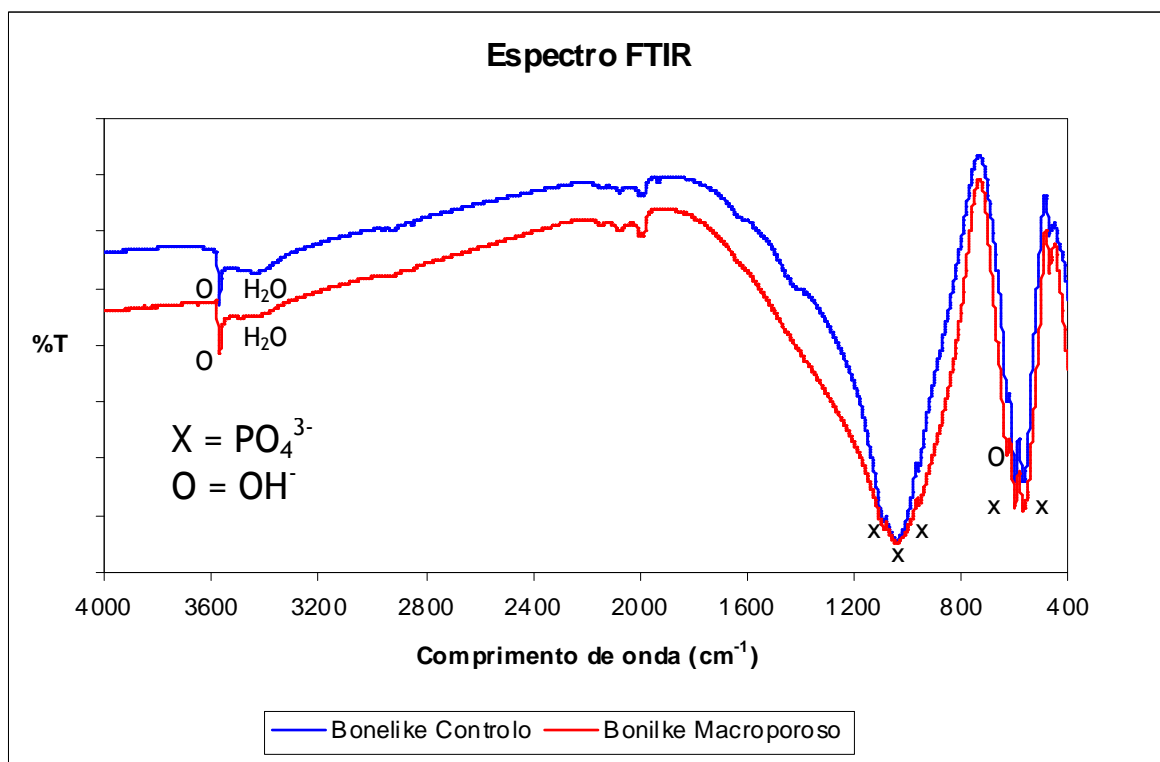


Figura 22 - Espectros FTIR de amostras de Bonelike<sup>®</sup> Controllo (comercial) e Bonilke<sup>®</sup> macroporoso

Verificou-se a presença dos grupos  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{OH}^-$  e  $\text{H}_2\text{O}$  na amostra de Bonelike<sup>®</sup> poroso, tal como na amostra de Bonelike<sup>®</sup> comercial. Os picos de  $\text{OH}^-$  são detectados a  $3570$  e  $630\text{cm}^{-1}$ . Entre o intervalo  $3600\text{-}3200$  verifica-se  $\text{H}_2\text{O}$  adsorvido no material. O pico do grupo  $\text{PO}_4^{3-}$  é detectado em  $1086$ ,  $1041$ ,  $958$ ,  $597$  e  $566\text{ cm}^{-1}$ . Neste caso, os espectros de Bonelike<sup>®</sup> comercial e Bonelike<sup>®</sup> poroso são perfeitamente idênticos, apresentando os mesmos picos, nas mesmas posições [39].

### Análise química quantitativa

Os resultados obtidos na análise aos metais pesados por espectrofotometria de absorção atômica foram (Tabela 5):

Tabela 5: Valores da quantidade de metais pesados presentes no macroporoso

Elemento químico	Quantidade presente (ppm)
Arsénio (As)	< 1,0
Cádmio (Cd)	< 0,5
Chumbo (Pb)	$1,4 \pm 0,3$
Mercúrio (Hg)	< 0,5

De referir que as quantidades de arsénio, cádmio e mercúrio apresentam valores inferiores aos apresentados uma vez que esse é o valor limite de detecção do aparelho utilizado. Todos os valores encontram-se abaixo dos valores requeridos pela norma (ISO 13779-3). A quantidade de chumbo detectada, 1,4ppm, encontra-se abaixo do limite permitido (<10 ppm).

### Difracção raios-X

A análise da composição física efectuou-se por difracção de raios-X, estando representado o difractograma na Figura 23:

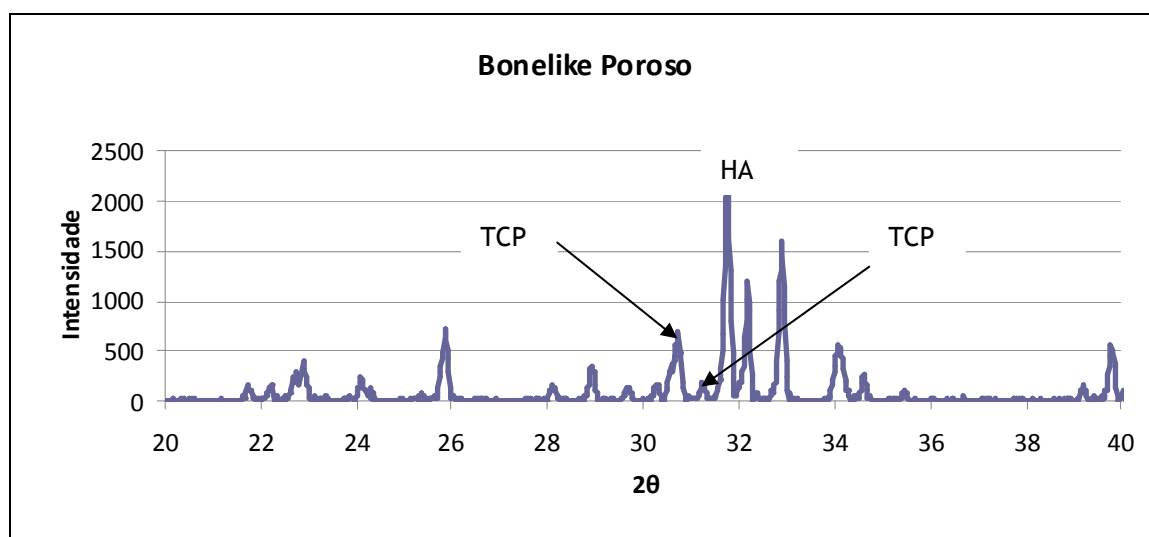


Figura 23 - Difractograma de raios-X da experiência 13

Recorrendo à análise comparativa com os espectros padrão das várias fases presentes (HA - JCPDS 72-1243; CaO - JCPDS 82-1690; α-TCP - JCPDS 9-348; β-TCP - JCPDS 09-0169), verificou-se a composição descrita na Tabela 6:

Tabela 6 - Composição física obtidas pela análise do difractograma de raios-X

Fase	Percentagem obtida no macroporoso (%)
Hidroxiapatite (HÁ)	74,9
CaO	Inexistente
TCP (α-TCP + β-TCP)	25,1
CaO <sub>4</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	Inexistente

Esta análise permitiu identificar os vários picos (sem ruído), não existindo desfazamento em relação aos picos teóricos. A soma de todos os valores (HÁ,  $\alpha$ -TCP e  $\beta$ -TCP) permite em seguida calcular os valores da percentagem fásica de cada fase. Os valores situam-se dentro da especificação do material (>50% HÁ, <50% TCP).

### Propriedades reológicas

Em relação às propriedades reológicas, realizaram-se gráficos de tensão de corte em função da velocidade de corte (Figura 24) e viscosidade em função da tensão de corte (Figura 25).

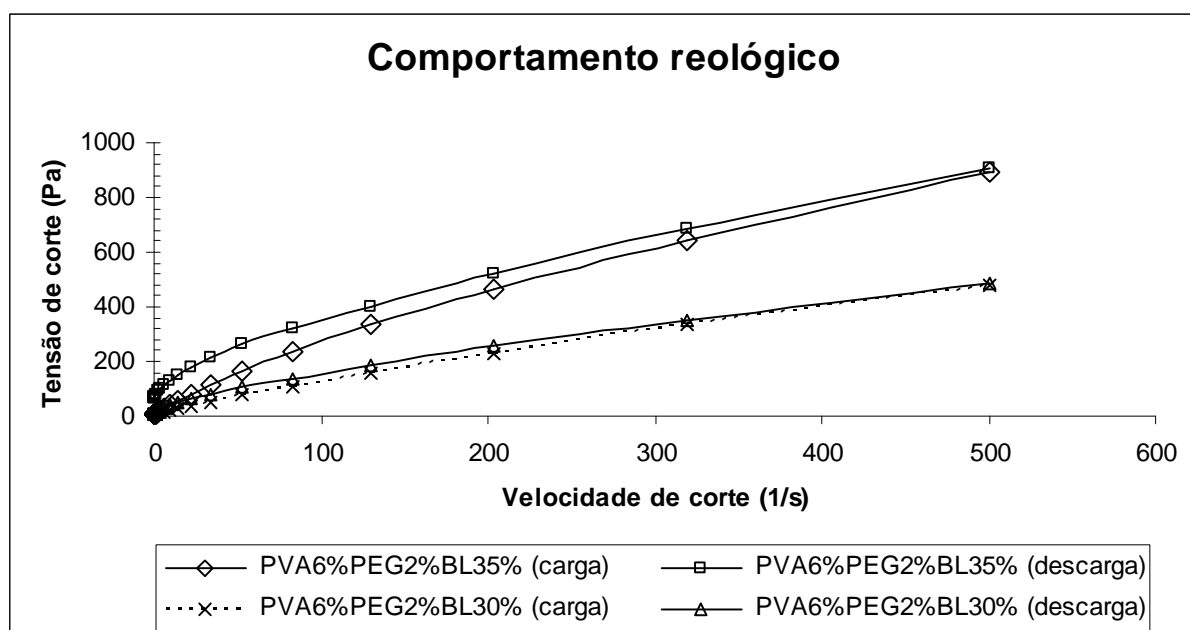


Figura 24 - Tensão de corte em função da velocidade de corte para 2 formulações distintas (6%PVA,2%PEG,35%BL e 6%PVA,2%PEG,30%BL)



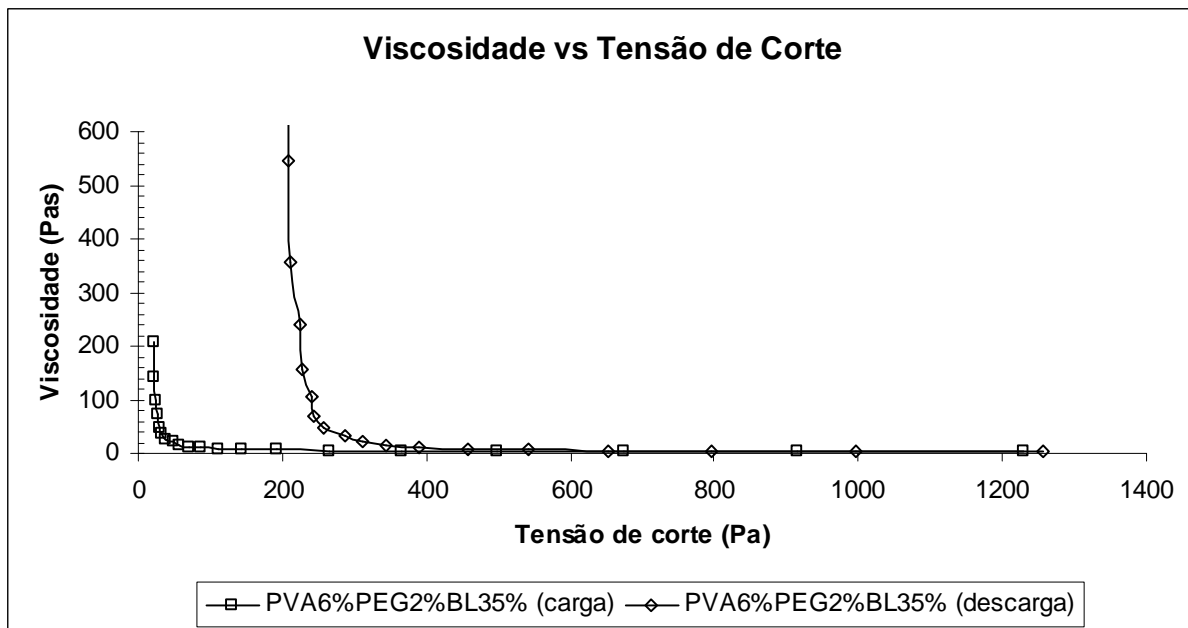


Figura 25 - Viscosidade em função da tensão de corte para a suspensão com 6%PVA,2%PEG,35%BL

Na Figura 24, verificou-se um aumento da tensão de corte (para a mesma velocidade de corte), quando se realiza a descarga das suspensões. Verificou-se também um aumento da tensão de corte para sistemas com 35% de sólidos, em comparação com sistemas com 30% de sólidos, tal como seria de esperar.

Na Figura 25, verificou-se que a viscosidade aparente é superior quando é retirada a tensão de corte diminui (curva de descarga). Este fenómeno indica um sistema reopexante, sendo que o esperado seria um sistema tixotrópico (diminuição da viscosidade com a diminuição da tensão de corte). Constatou-se também que a viscosidade aparente, com tensões de corte muito reduzidas, situa-se perto dos 200 Pa.s.

### Contração

A contração das peças foi efectuada em blocos obtidos da experiência 23. Os cálculos foram realizados para as três dimensões distintas dos blocos (Comprimento, Largura, Espessura). As dimensões serão representadas por letras, para facilitar a análise (Figura 26), sendo os resultados apresentados na Tabela 7:

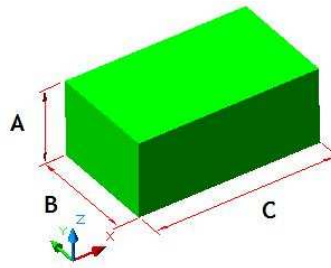


Figura 26 - Imagem representativa das arestas analisadas para medição da contracção

Tabela 7 - Valores de contracção para as diferentes arestas analisadas

Amostra	Contracção A (%)	Contracção B (%)	Contracção C (%)
1	35,0	30,0	30,0
2	37,6	26,4	26,6
3	30,3	21,2	27,9
4	29,6	24,9	28,3
5	33,3	29,5	27,3
6	33	31,4	27,7
7	35,1	26,6	29,3
8	29,9	32,6	27,7
9	31	27,4	28,4
10	28,2	30,5	29,5
11	31	28,9	28
12	25,1	25	27,3
Média	31,6 ± 2,7	27,9 ± 2,6	28,2 ± 0,8

Em relação à contracção verificada, constatou-se que o valor de contracção no eixo dos ZZ é mais acentuada, comparando com os valores verificados no eixo dos XX e YY (32%>28%).

#### Densidade aparente e percentagem de poros (Método de Arquimedes)

A análise da densidade aparente e da percentagem de poros resultou nos valores apresentados na Tabela 8:

Tabela 8 - Valores da densidade aparente e da percentagem de poros de diferentes amostras

Amostras analisadas	Temperatura H <sub>2</sub> O (°C)	Densidade aparente (g/cm <sup>3</sup> )	% poros (fechados)
Exp. 13	23	2,55	17,8
Exp. 19	26	2,57	17,1
Exp. 20	26	2,46	20,8
Exp. 21	27	2,63	15,0
Exp. 23	28	2,71	9,85

De forma a obter uma caracterização da porosidade total dos macroporosos, analisou-se a densidade geométrica em peças com volume regular (experiência 23) e verificou-se que os valores de porosidade (aberta + fechada) são os seguintes (Tabela 9):

Tabela 9 - Valores da densidade geométrica e %poros total para amostras da experiência 23

Amostra	Massa (g)	Volume (cm <sup>3</sup> )	Densidade geométrica (g/cm <sup>3</sup> )	%poros (abertos + fechados)
1	2,005	2,80	0,716	76,9
2	1,3293	2,05	0,648	79,1
3	1,2598	2,18	0,579	81,3
4	1,4015	2,22	0,630	79,7
5	1,3383	2,14	0,626	79,8
6	0,9745	1,72	0,567	81,7
7	1,2897	2,18	0,593	80,9
Média	-	-	0,623	79,9

Com os valores da porosidade fechada obtidos pelo cálculo do método de Arquimedes, e da porosidade total obtidos a partir da densidade geométrica, determina-se o valor da porosidade aberta. Esta é de aproximadamente 70%.

### Densidade aparente e percentagem de poros (Porosimetria de Mercúrio)

A análise realizada por Porosimetria de Mercúrio revelou os seguintes resultados (Tabela 10):

Tabela 10 - Valores obtidos através da análise realizada por Porosimetria de Mercúrio

Amostra analisada	Densidade aparente (g/cm <sup>3</sup> )	% poros fechados	% poros abertos	% poros total
Experiência 23	2,66	14,22	44,65	58,87

Verificou-se que depois do cálculo, tanto da porosidade fechada, como da porosidade aberta, os valores da porosidade total do macroporoso situam-se na região dos 60% de porosidade.

## 4. Discussão

A proposta de trabalho visava a produção de estruturas 3D macroporosas de Bonelike<sup>®</sup> através do método de replicação de espumas de poliuretano. Para tal, foi necessário avaliar o processo produtivo, bem como o produto final obtido.

A análise dos parâmetros do processo levou à obtenção de uma formulação ideal, tendo em conta as características finais que se pretendiam no produto, tais como:

- Porosidade elevada (60-80%) [31,35]
- Porosidade interconectiva e estrutura homogénea [31,36,40,41]
- Macro e microporosidade [40,42]
- Poros com tamanhos entre 150 e 900  $\mu\text{m}$  [5,9,33,35]

Para obter um macroporoso por este método, segundo as características referidas, a molhabilidade de todas as paredes da espuma deve ser efectiva, queimando posteriormente o polímero por pirólise, deixando uma réplica da estrutura inicial da espuma de poliuretano [31]

A escolha de uma espuma de poliuretano com células abertas e poros interconectivos [24], bem como o seu tratamento e lavagem, a definição das concentrações dos reagentes da suspensão, tempos de impregnação e percentagens de laminagem, bem como o corte, permitiu adquirir algumas propriedades imprescindíveis para obter estruturas 3D macroporosas de Bonelike<sup>®</sup> [24,31,33,35,36,40].

Inicialmente a escolha da espuma de poliuretano mais indicada para utilizar no processo de produção foi realizada em 2 passos:

- Nas experiências 1, 2 e 3, a experimentação de 3 espumas diferentes (20 AM/DURA, HR 30D Vr e 28 SGF) utilizando a mesma suspensão, levou à tentativa de definir uma delas como a mais indicada para realizar os macroporosos. Com o colapso da experiência com a espuma 20 AM/DURA, verificou-se que esta não seria a mais indicada para realizar futuras experiências. Neste caso, a baixa resiliência (30%) em comparação com as espumas HR 30D Vr e 28 SGF (55 e 40%, respectivamente) leva a que a recuperação à forma inicial fosse mais lenta, não permitindo que a suspensão fosse distribuída de forma homogénea, originando então ao colapso verificado. A densidade das espumas podem também explicar este factor, pois uma maior densidade permite uma maior quantidade de material que é retido na espuma quando esta passa no laminador (densidade 20 AM/DURA é 18,5 a 21,5  $\text{Kg}/\text{m}^3$ , quanto as HR 30D Vr e 28 SGF é 27,5 a 32,5  $\text{Kg}/\text{m}^3$ ) [24,33,36].

- Nas experiências 4 e 5, tentou-se optar entre a espuma HR 30D Vr e 28 SGF, verificando-se que o poroso mais consistente seria o resultante da experiência com a espuma HR 30D Vr. Este fenómeno pode estar relacionado com a estrutura da própria espuma, uma vez que nas imagens de microscopia electrónica de varrimento, as células da espuma 28 SGF, apesar de serem mais uniformes, mostram películas que podem prejudicar o escoamento da suspensão pela espuma (células fechadas), impedindo a impregnação de certas zonas, e dando origem a um macroporoso com problemas em ser manuseado. Por sua vez, a espuma HR 30D Vr apresenta uma estrutura interna que deixaria escoar toda a suspensão pelas células (células abertas e interconectivas), possuindo uma resiliência de 55%, mais elevada em relação às 28 SGF (40%), permitindo à espuma retomar de uma forma eficaz à sua forma inicial [24,33].

Ou seja, depois de realizadas as experiências anteriores, a melhor solução em termos de espumas de poliuretano era a HR 30D Vr, visto apresentar células abertas e interconectivas, originando um estrutura permeável e oferece uma resiliência de 55%, capaz de, depois de impregnado e retirado o excesso de suspensão, voltar à sua estrutura inicial rapidamente.

Na etapa seguinte, definiu-se uma suspensão que proporcionou o manuseamento do macroporoso, apresentando poros abertos e interconectivos. Para tal, foram realizados os seguintes passos:

- Nas experiências 4 e 5, existiu a tentativa de introduzir uma quantidade de sólidos na suspensão superior, dado que quanto maior a quantidade de sólidos, as características mecânicas do poroso serão mais adequadas, pois a probabilidade de preencher todos os poros da espuma é também superior (permite o preenchimento de todas as paredes da espuma de PU por sólidos). Contudo nestas experiências, o macroporoso continuou a apresentar uma consistência muito reduzida, quebrando ao mínimo toque.
- Na experiência 6, a tentativa de aumentar a quantidade de PVA (ligante) foi efectuada, possibilitando uma boa consistência da suspensão e proporcionar uma distribuição homogénea dos sólidos. Este passo proporcionou um aumento da viscosidade da suspensão (por análise simplesmente visual). A dificuldade em impregnar a espuma foi um problema a ter em conta, verificando-se então que o poroso obtido continuava com problemas de consistência.
- Com o objectivo de reduzir a viscosidade da suspensão, reduziu-se a quantidade de dispersante (experiência 7), pois o excesso de dispersante poderia estar a provocar um aumento indesejado da viscosidade da suspensão. Com a

diminuição de 3% para 2% de PEG, verificou-se uma diminuição aparente da viscosidade (avaliação simplesmente visual). Este facto está relacionado com a refloculação provocada pelo aumento da força iónica do meio suspensor ou possivelmente por interacções entre a solução e cadeias poliméricas adsorvidas. Contudo, o macroporoso resultante continuou com consistência reduzida.

- Desta forma, aumentou-se novamente a quantidade de sólidos na suspensão (experiência 8). Este aumento originou um macroporoso com consistência moderada, sendo possível o seu manuseamento. De seguida, experimentou-se um novo aumento da quantidade de sólidos (experiência 9), que originou um macroporoso mais denso, com poros aparentemente fechados (colmatados). Esta quantidade de sólidos terá sido exagerada, tapando a saída de suspensão quando comprimida, originando então os poros fechados e maior densidade.

Foi então definida a suspensão com 6% de PVA, 2% de PEG e 35% de sólidos como a suspensão a utilizar para os testes seguintes, pois permite uma adesão efectiva a todas as paredes da espuma de poliuretano, conseguindo ser extraído o seu excesso quando comprimida a espuma no laminador.

Analisando as características reológicas das suspensões, verifica-se que o sistema é reopexante, aumentando a viscosidade com o aumento da concentração de sólidos. O aumento da viscosidade seria um aspecto a esperar com o aumento da quantidade de sólidos, pois existe menos líquido suspensor disponível, que origina um aumento da viscosidade. Porém o comportamento tixotrópico (diminuição da viscosidade com a tensão de corte, recuperação da viscosidade, ainda que inferior, quando libertada a tensão de corte), que é característico das suspensões utilizadas neste tipo de método, não se verifica. No caso, a suspensão apresenta um comportamento reopexante, com uma diminuição da viscosidade com a aplicação de uma tensão de corte e recuperação da viscosidade quando libertada a tensão, sendo que neste caso, a recuperação dá-se com valores superiores de viscosidade. Este comportamento pode favorecer a impregnação, pois quando a espuma passa nos rolos, a suspensão diminui a viscosidade, fluindo para todos as células da espuma de PU, e à saída dos rolos, a libertação da tensão proporciona um aumento considerável da viscosidade, que permite a permanência da suspensão nos vários poros da espuma [22,23,25,26]. Estes factos indicam que a solução apresenta uma viscosidade aparente ideal de 200 Pa.s (para tensões de corte próximas de zero), sendo que o comportamento reopexante que exhibe, permite aumentar a viscosidade quando retirada a tensão de corte aplicada.

Contudo, um dos factos que se verificou ao longo das várias experiências anteriores prendeu-se com a diferença de consistência entre o exterior e o interior dos poros

obtidos. Esse aspecto poderia estar relacionado com a dificuldade em impregnar a espuma com uma suspensão com viscosidade elevada. A necessidade de retirar todas as bolhas de ar contidas dentro da espuma levou à realização de novas experiências:

- A utilização de vácuo para impregnar as espumas [43,44], deixando para trás o método manual (este facto foi também alterado devido à necessidade de desenvolver um método de impregnação que possa ser utilizado industrialmente). Foram então experimentadas algumas suspensões com diferentes quantidades de PVA, tentando perceber se o vácuo poderia facilitar a incorporação de suspensões com viscosidades inferiores (experiências 10, 11 e 12). Porém, esta tentativa de redução do PVA, como tinha acontecido anteriormente, fez com que as suspensões com menor quantidade de PVA mostrassem ser menos aptas para impregnar a espuma, sendo a suspensão já definida anteriormente (6% PVA, 2% PEG e 35% Sólidos), a que apresentou melhor performance. Em comparação com a impregnação manual, o macroporoso impregnado em vácuo mostrou uma consistência mais homogénea.

Logo, o vácuo revelou-se um bom método para utilizar como técnica de impregnação. A eliminação de possíveis bolhas de ar contidas dentro da espuma quando submergida na suspensão podem ser eliminadas com este passo, permitindo que todas as paredes da espuma estejam em contacto com a suspensão [44].

Durante o processo de impregnação, verificou-se que a espuma impregnada tinha dificuldades em passar no primeiro conjunto de rolos (por vezes ficava retida entre os 2 pares de rolos, só avançando com ajuda manual). Como tal, voltou-se a realizar novas experiências que levaram aos seguintes passos:

- A diminuição da taxa de compressão verificada na primeira passagem dos rolos (experiência 13), permitiu uma maior facilidade para introduzir a espuma no sistema de rolos, sendo que a entrada no segundo par de rolos foi também facilitado. Uma posterior redução das taxas de compressão mostrou um excesso de suspensão nas espumas (experiência 14), originando então um poroso com maior quantidade de sólidos do que o desejável (não elimina o excesso de suspensão), originando poros fechados e pouco homogéneos [30].

Logo, a utilização de taxas de compressão de 50 e 70% foi adoptada, pois permite a remoção do excesso de suspensão da espuma de poliuretano, conseguindo preencher todas as paredes da espuma.

Em seguida, a necessidade de obter peças com geometrias regulares levou à tentativa de cortar as espumas. Como tal, foram utilizados 2 tipos de corte diferentes:



- O corte após sinterização revelou-se ineficaz (experiência 15), pois a superfície que entrava em contacto com a ferramenta de corte revelava-se muito frágil, arrancando o material. Este facto pode estar relacionado com a baixa resistência que as ligações entre poros possuem, que não permitem a aplicação de tensões tão elevadas.
- Foi então proposto um método de corte menos agressivo para o material, sendo efectuado após a secagem das espumas (experiências 16 e 17). Contudo, foi indispensável aumentar o tamanho das espumas, de forma a cortar amostras com tamanhos superiores. O aumento do tamanho não afectou a impregnação das espumas. O teste de corte revelou-se de certa forma eficaz, originando porosos com geometrias regulares (cunhas e blocos). Contudo estes apresentavam-se relativamente frágeis. Este facto pode estar relacionado com a necessidade de inverter a espuma. O corte inicial é realizado por cima, na espuma, dando a forma da geometria, mas é obrigatório virar a espuma para ser cortada a parte inferior da espuma. Essa inversão, bem como a vibração da peça quando sujeita ao corte, origina uma queda acentuada de sólidos, podendo fragilizar a estrutura.

Apesar dos macroporosos não estarem a apresentar a consistência desejada, verificou-se que o corte após a secagem das espumas seria o mais indicado, comprovando-se isso posteriormente. De referir que os testes para cortar a espuma antes da impregnação (realizar as formas de blocos e cunhas na espuma de poliuretano através de corte a laser) não foi bem sucedido, pois a espuma entrava em ignição quando em contacto com o feixe de laser.

Uma vez que os porosos ainda não apresentavam uma boa consistência na etapa anterior, foi testada a lavagem da espuma com água, acompanhada por uma diminuição e aumento do tempo de impregnação (experiências 18 a 21):

- As amostras das experiências 20 e 21 (lavagem com água) demonstravam uma estrutura semelhante no seu interior e exterior (com boa resistência), sendo que o tempo de impregnação não demonstrava alterações significativas. Em sentido contrário, as experiências 18 e 19 (sem lavagem com água), apresentavam muito fragilidade para o caso de baixos tempos de impregnação (experiência 18) ou macroporosos muito densos para tempos elevados de impregnação (experiência 19). A lavagem das amostras revelou-se efectiva pois a incorporação do NaOH pode ter levado a um aumento de impurezas na superfície da espuma de poliuretano, originando uma heterogeneidade do revestimento que a suspensão proporciona [37].

Como tal, foi adoptada a lavagem das espumas com água após o tratamento de NaOH, para retirar quaisquer resíduos que impedissem o contacto da suspensão com as paredes da espuma de poliuretano, sendo o tempo de impregnação utilizado de 30 minutos (tempo intermédio), pois não existiam diferenças significativas nos porosos com 10 ou 60 minutos de impregnação [43,44].

Foi então testado de novo o corte das espumas (experiências 22 e 23):

- O corte após sinterização não se revelou eficaz, arrancando material, sendo que o corte após secagem originou amostras com geometria regular, e consistência bastante razoável.

Como referido anteriormente, o corte após secagem será o mais indicado para obter estruturas 3D com geometrias regulares. Porém, o corte deve ser efectuado numa fresadora que possa manter a espuma imóvel durante todo o processo (fresadora com mais de 3 eixos), evitando ao máximo a perda de sólidos durante o processo de corte.

A contracção das peças terá de ser levada em conta neste passo. Analisando a contracção sofrida em vários blocos na experiência 23, constatou-se que existem taxas de contracção diferentes, dependendo do eixo em estudo. Os valores associados ao eixo dos XX e dos YY rondam os 28% de contracção, enquanto no eixo dos ZZ a taxa de contracção é aproximadamente 32%. Verificou-se que o efeito da gravidade aumenta a taxa de contracção associada a esse eixo. Estes valores são superiores aos valores de contracção para peças sinterizadas (os valores da bibliografia referem contracções próximas dos 24% para blocos sinterizados) [45]. Este aumento deve-se à presença da estrutura de poliuretano, pois quando queimada, a suspensão que está em contacto com a parede da espuma, irá ocupar o vazio deixado pela queima do PU, proporcionando aumentos de 4% para arestas não influenciadas pela gravidade, e 8% para as arestas influenciadas pela gravidade. A projecção de peças com medidas exactas será influenciada por estes valores, obrigando a uma colocação orientada dentro do forno.

De referir que a necessidade dos ciclos térmicos impostos está relacionado com a necessidade de eliminar a espuma de PU e o PVA de forma gradual e garantida. Ao fim de 500°C o poliuretano está completamente eliminado (início da degradação aos 200°C), e o PVA subsiste até 600°C (degrada-se preferencialmente entre os 200 e 500°C). Logo, até 600°C, a taxa de aquecimento deve ser lenta, para não proporcionar o colapso da estrutura, e estágio durante 2 horas para garantir que não existe nenhum tipo de resíduos de PU e PVA no poroso. A utilização de PVA de grau médico não foi possível, mas mostra-se essencial para garantir que possíveis resíduos presentes não estejam relacionados com o PVA [32].

Foi também efectuado o aumento do tamanho da espuma (experiência 24), de forma a perceber se a impregnação de espumas de grandes dimensões poderia trazer algum problema associado.

- Verificou-se que a espuma apresentava uma boa consistência, contudo a presença de resíduos vermelhos poderá indicar a queima parcial da espuma de poliuretano. Este facto pode ser alterado com a permanência durante mais tempo à temperatura de queima (2 horas a 600°C) ou diminuir a taxa de aquecimento imposta (0,5°C/min). Porém, este problema não será relevante, se as espumas forem cortadas após a secagem.

Desta forma, definiu-se os parâmetros para a obtenção de uma estrutura 3D macroporosa, Contudo, a análise do produto final é essencial de forma a perceber se todos os passos realizados anteriormente levaram à obtenção de um poroso de Bonelike® com estrutura macroporosa óptima, percentagens fásicas coerentes e sem presença de resíduos.

Em relação às imagens de microscopia electrónica de varrimento, verifica-se que a estrutura apresenta macroporos abertos com geometrias circulares, tal como as espumas de PU, sendo também interconectivos. A estrutura é muito semelhante à pretendida, pois permite a migração das células para todo o material, facilitando a regeneração óssea [31,40].

A presença de poros entre 150 e 750 µm facilita igualmente o fenómeno referido anteriormente, bem como a microporosidade (aumento da área superficial, ajudando a adesão das células). Neste caso, as imagens MEV indicam que o material apresenta características estruturais ideais para ser utilizado como substituto ósseo [1,31,35].

A determinação da porosidade pelo método de Arquimedes demonstra que o material apresenta uma densidade elevada, pois a diferença entre a densidade aparente do material poroso (cerca de 2,7 g/cm<sup>3</sup>) não difere muito da densidade do material denso (3,1 g/cm<sup>3</sup>). Este valor implica uma porosidade fechada de aproximadamente 10% no caso dos poros obtidos pela experiência 23 (a porosidade fechada nas restantes experiências aproxima-se de 20%). Conjugando este valor, com o valor da porosidade total obtida pela densidade geométrica (80% porosidade total), implica um valor de aproximadamente 70% de porosidade aberta. Este valor seria ideal para obter um macroporoso com a porosidade pretendida [35].

Contudo, os valores da porosidade e densidade aparente, segundo porosimetria de mercúrio, são inferiores. A porosidade aberta cifra-se nos 45%, sendo que com uma densidade aparente de 2,66 g/cm<sup>3</sup>, obteve-se uma porosidade fechada de aproximadamente 15%. Este valores originam uma porosidade total de sensivelmente 60%

(sendo que este método é mais preciso), valores idênticos ou superiores a produtos já existentes no mercado [14,16]. A diferença de valores poderá estar relacionada com alguma irregularidade nas faces dos blocos utilizados para calcular a densidade geométrica, que tenham influenciado a porosidade total do macroporoso.

A porosidade total obtida está dentro dos valores pretendidos, contudo, o valor da porosidade aberta está sensivelmente abaixo do esperado (não deveria existir porosidade fechada). Porém, este facto pode permitir uma resistência mecânica do material superior, sendo que a degradação gradual do macroporoso quando implantado permite que os poros fechados se tornem acessíveis às células passado algum tempo, permitindo a ancoramento das mesmas [5,9,20].

A apresentação de valores elevados de oxigénio, fósforo e cálcio, obtidos por EDS, indicam que os compostos presentes são os indicados pela especificação. A análise FTIR revela também que os grupos funcionais detectados no macroporoso de Bonelike® coincidem com o Bonelike® comercial (Bonelike® esferas com tamanhos entre 250 e 500  $\mu\text{m}$ )[39].

Pela análise química quantitativa, verificou-se que a existência de metais pesados é residual (não detectados arsénio, cádmio e mercúrio), quantificando somente o chumbo ( $1,4 \pm 0,3$  ppm). Estes valores estão bastante abaixo da norma[38]. Esta indicação permite assegurar que não existem resíduos deixados pela espuma de poliuretano, bem como dos reagentes utilizados.

A presença das fases HA e TCP em percentagens abrangidas pela especificação do material (percentagem de HA igual ou superior a 50% e percentagem de TCP igual ou inferior a 50%), indicam que a inclusão do biovidro antes da hidroxiapatite na suspensão é um método viável para produzir a estrutura fásica pretendida. A inexistência das fases CaO e  $\text{CaO}_4(\text{PO}_4)_2$  são requisitos também exigidos pelas especificações, que se verificam neste caso.

## 5. Conclusões

A obtenção de estruturas 3D macroporosas regulares (blocos e cunhas) de Bonelike<sup>®</sup> é conseguida a partir dos seguintes parâmetros:

- Escolha de uma espuma de poliuretano HR 30D Vr
- Tratamento da espuma com uma solução aquosa de 2% NaOH durante 20 minutos, seguida de lavagem com água
- Utilização de uma suspensão composta por 6% de PVA, 2% de PEG e 35% de sólidos
- Impregnação em vácuo durante 30 minutos
- Laminagem da espuma utilizando taxas de compressão de 50 e 70%
- Secagem da espuma a 80°C durante 24 horas
- Queima da espuma de poliuretano a 600°C durante 2 horas (taxa de aquecimento de 0,5°C/min), sinterização a 1300°C durante 1 hora (taxa de aquecimento de 4°C/min) e arrefecimento dentro do forno até à temperatura ambiente

Considerando a estrutura física final, bem como a ausência de qualquer tipo de resíduos no material, e a presença de organização homogénea e interconectiva, com macroporosidade (tamanhos entre 150 e 750  $\mu\text{m}$ ) e microporosidade, indica que este processo poderá ser seguido para utilizar em escala industrial.

Contudo, em futuros trabalhos deve-se realizar mais análises, como por exemplo:

- Verificar se existem problemas em impregnar espumas com dimensões “industriais”
- Realizar o corte em centros de maquinaria especializados, de forma a obter formas variadas (incluindo cilindros), com as cotas desejadas
- Encontrar alternativas para o corte das espumas após sinterização
- Proceder à caracterização das propriedades mecânicas do macroporoso
- Utilizar reagentes que constam da Farmacopeia Europeia, verificando se não alteram as propriedades finais do macroporoso
- Realizar testes *in vitro* de modo a compreender se existe resposta favorável do tecido ósseo

## 6.Referências bibliográficas

[1] - Lemos I. Fabrication and characterization of modified macroporous bioceramics for bone regeneration [dissertação]. Porto (POR): Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto; 2008

[2] - Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE. Biomaterials Science - An Introduction to Materials in Medicine; 1996. Academic Press

[3] - Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E; Bone substitutes - An update. Injury, Int. J. Care Injured. 2005; 36S: S20-S27

[4] - Ilan DI, Ladd AL; Bone graft substitutes. Operative Techniques in Plastic and Reconstructive Surgery. 2003; 9 (4): 151-160

[5] - Schieker M, Seitz H, Drosse, Inga S, Sebastian M; Biomaterials as scaffolds for bone tissue engineering. European Journal of Trauma. 2006; 32: 114-124

[6] - Ralston SH; Structure and metabolism of bone. The Medicine Publishing Company. 2005; 33 (12): (58-60)

[7] - Mistry AS, Mikos, AG; Tissue engineering strategies for bone regeneration. Advanced Biochemical Engineering/Biotechnology. 2005; 94: 1-22

[8] - Jones JR, Hench LL; Regeneration of trabecular bone using porous ceramics. Current Opinion in solid State and Materials Science. 2003; 7: (301-307)

[9] - Jackson M, Hamed W. Bonelike® graft for regenerative bone applications. In: Surface Engineered Surgical Tools and Medical Devices. USA: Springer. 2007; 13: (477-511)

[10] - Hing KA. Bioceramic bone graft substitutes: Influence of porosity and chemistry. Int. J. Appl. Ceram. Technol.. 2005; 2(3): 184-199

[11] - Roche. F. Hoffmann-La Roche Ltd [acedido pela última vez a 28 de Julho de 2009] URL: <http://www.roche.com/pages/facets/11/ostedefe.htm>

[12] - Hutmacher D; Schantz J, Lam C, Tan K, Lim,T; State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective; Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine. 2007; 1: 245-260

[13] - Mathys European Orthopaedics. Mathys AGBettlach: Ceros® TCP Granulat. [acedido pela última vez a 28 de Julho de 2009] URL: <http://www.mathysmedical.com/index.php?id=920&L=1>

[14] - Science for Biomaterials. Matériaux synthétiques biosorb, duosorb, synatite, duocage, Science for BioMaterials, S-b-m France. [acedido pela última vez a 28 de Julho de 2009] URL: <http://www.s-b-m.fr/en/material/BIOSORB.asp>

[15] - Orthovita. Orthovita Corporate Site. [acedido pela última vez a 28 de Julho de 2009] URL: <http://www.orthovita.com/>

- [16] - Curasan Regenerative Medicine. Curasan AG, International [acedido pela última vez a 28 de Julho de 2009] URL: <http://www.curasan.com/com/>
- [17] - Hing KA. Bioceramic bone graft substitutes: Influence of porosity and chemistry. *Int. J. Appl. Ceram. Technol.*. 2005; 2(3): 184-199
- [18] - MedmatInnovation. MEDMAT - Medical solutions for better life [acedido pela última vez a 28 de Julho de 2009] URL: <http://www.medmatinnovation.com/>
- [19] - Santos JD, Hastings GW, Knowles JC, inventors; Sintered hydroxyapatite compositions and method for the preparation thereof. *Worldwide Application (PCT) WO0068164*, 1999.
- [20] - da Silva M, Lemos A, Ferreira J, Santos J. Mechanical characterisation of porous glass reinforced hydroxyapatite ceramics - Bonelike®. *Materials Research*. 2003; 6(3): 321-325
- [21] - Teixeira S, Rodriguez MA, Pena P, De Aza AH, De Aza S, Ferraz MP, Monteiro FJ. Physical characterization of hydroxyapatite porous scaffolds for tissue engineering. *Materials Science & Engineering*. 2008; C 29: 1510-1514.
- [22] - Ferreira JMF. *Reologia de Suspensões Coloidais de Sistemas Cerâmicos*. (Material de apoio à cadeira *Matérias-Primas Cerâmicas e Reologia*, leccionada no Mestrado em Engenharia Cerâmica e do Vidro, da Universidade de Aveiro)
- [23] - Chhabra RP, Richardson JF. *Non-Newtonian Flow and Applied Rheology - Engineering Applications: Second Edition*; 2008. Institution of Chemical Engineers. Butterworth-Heinemann.
- [24] - Knowles J, Callcut, S, inventors. University College London, assigned. Foamed Ceramics. Patent WO 01/94274. 2001 Dec 13.
- [25] - Gardi D, Galassi C. Rheology of Hydroxyapatite dispersions. *Journal for American Ceramic Society*. 2005; 88 (2): 271-276.
- [26] - Bao Y, Senos MR, Almeida M. Rheological behaviour of aqueous suspensions of hydroxyapatite (HAP). *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2002; 13: 639-643
- [27] - Sadeghian Z, Heinrich JG, Moztafzadeh F. Influence of powder pre-treatments and milling on dispersion ability of aqueous hydroxyapatite-based suspensions. *Ceramics International*. 2006; 32: 331-337
- [28] - Lemos AF, Santos JD, Ferreira JMF. Influence of characteristics of the starting hydroxyapatite powders and of deagglomeration procedure on rheological behaviour of HA suspensions. *Materials Science Forum*. 2004; 455-456: 361-365

- [29] - Yasuda HY, Mahara S, Umakoshi Y, Imazato S, Ebisu S. Microstructure and mechanical property of synthesized hydroxyapatite prepared by colloidal process. *Biomaterials*. 2000; 21: 2045-2049
- [30] - Yarwood JC, James ED, Robert KP, inventors, Swiss Aluminium Ltd., assignee. Method of preparation of ceramic foam. US Patent 4,075,303. 1978 Feb 21.
- [31] - Ranito CMS, Costa Oliveira FA, Borges JP. Hydroxyapatite foams for bone replacement. *Key Engineering Materials*. 2005; 284-286: 341-344
- [32] - Han Y, Li J, Chen Y, Wei Q; A study on the factors involved in the collapse of macroporous  $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> structure. *Journal of Materials Processing Technology*. 2002; 128: (313-317)
- [33] - Tian J, Tian J. Preparation of porous hydroxyapatite. *Journal of Materials Science*. 2001; 36: 3061-3066
- [34] - Alves R. Laminador mecânico para fabrico de macroporosos para regeneração óssea [dissertação]. Porto (POR): Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto; 2008
- [35] - Ranito C; Fabrico de espumas de hidroxiapatite para aplicações médicas; *Ciência e Tecnologia dos Materiais*; 2003; 15 (3-4): 1-15
- [36] - Fook ACBM, Aparecida AH, Fidéles TB, Costa RC, Fook MVL. Porous hydroxyapatite scaffolds by polymer sponge method. *Key Engineering Materials*. 2009; 396-398: 703-706
- [37] - Park Y, Kim K, Kim K, Choi S, Kim C, Legeros R, Lee Y; Feasibility of three-dimensional macroporous scaffold using calcium phosphate glass and polyurethane sponge. *Journal of Material Science*. 2006; 41: (4357-4364)
- [38] - International Organization for Standardization. Implants for surgery – Hydroxyapatite – Part 3: Chemical analysis and characterization of crystallinity and phase purity. ISO 13779-3 (2008), ISO.
- [39] - Laranjeira MS, Dias AG, Santos JD, Fernandes MH. In vitro biological characterization of macroporous 3D Bonelike® structures prepared through a 3D machining technique. *Materials Science and Engineering*. 2008; C (29): 930-935
- [40] - Teixeira S, Oliveira S, Ferraz MP, Monteiro FJ. Three dimensional macroporous calcium phosphate scaffolds for bone tissue engineering. *Key Engineering Materials*. 2008; 361-363: 947-950
- [41] - Gittings JP, Turner IG, Miles AW. Calcium phosphate open porous scaffold bioceramics. *Key Engineering Materials*. 2005; 284-286: 349-350
- [42] - Lee YK, Park YS, Kim MC, Kim KM, Kim KN, Choi SH, Kim CK, Jung HS, You CK, LeGeros RZ. Fabrication of macroporous scaffold using calcium phosphate glass for bone regeneration. *Key Engineering Materials*. 2004; 254-256: 1079-1082



[43] - Hsu YH, Turner IG, Miles AW. Fabrication of porous bioceramics with porosity gradients similar to the bimodal structure of cortical and cancellous bone. *Journal of Material Science*. 2007; 18: 2251-2256.

[44] - Ramay HR, Zhang M. Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination the gel-casting and polymer sponge method. *Biomaterials*. 2003; 24: 3293-3302

[45] - Machado PAP. Desenvolvimento e caracterização mecânica de estruturas 3D micro e macroporosas de bonelike para regeneração óssea [dissertação] Porto (POR): Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto; 2008