INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS SUSTENTÁVEIS
MESTRADO PROFISSIONAL EM TECNOLOGIAS SUSTENTÁVEIS

**CIARA BARCELOS ZANELATO**

# DESENVOLVIMENTO DE CIMENTO ÓSSEO DE FOSFATO DE CÁLCIO A PARTIR DO RESÍDUO DA CASCA DE OVO DE GALINHA

Vitória
2019

CIARA BARCELOS ZANELATO

# DESENVOLVIMENTO DE CIMENTO ÓSSEO DE FOSFATO DE CÁLCIO A PARTIR DO RESÍDUO DA CASCA DE OVO DE GALINHA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Sustentáveis do Instituto Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Tecnologias Sustentáveis.

Orientador: Dr. André Gustavo de Sousa Galdino
Coorientador: Dr. Sidney Nicodemos da Silva

Vitória
2019

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Nilo Peçanha do Instituto Federal do Espírito Santo)

Z28d Zanelato, Ciara Barcelos.
Desenvolvimento de cimento ósseo de fosfato de cálcio a partir do resíduo da casca de ovo de galinha / Ciara Barcelos Zanelato. – 2019.
109 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: André Gustavo de Sousa Galdino.
Coorientador: Sidney Nicodemos da Silva.

Dissertação (mestrado) – Instituto Federal do Espírito Santo, Programa de Pós-graduação em Tecnologias Sustentáveis, Vitória, 2019.

1. Resíduos sólidos -- Reaproveitamento. 2. Materiais biomédicos. 3. Hidroxiapatita. 4. Casca de ovo – Reaproveitamento. 5. Fosfato de cálcio. 6. Cimentos para ossos. 7. Sustentabilidade. I. Galdino, André Gustavo de Sousa. II. Silva, Sidney Nicodemos da. III. Instituto Federal do Espírito Santo. IV. Título.

CDD – 21: 628.44

Elaborada por Marcileia Seibert de Barcellos – CRB-6/ES – 656

**CIARA BARCELOS ZANELATO**

**DESENVOLVIMENTO DE CIMENTO ÓSSEO DE FOSFATO DE CÁLCIO A PARTIR DO RESÍDUO DA CASCA DE OVO DE GALINHA.**

Dissertação apresentada ao Mestrado Profissional em Tecnologias Sustentáveis, vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Sustentáveis do Instituto Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologias Sustentáveis.

Aprovada em 26 de agosto de 2019

**COMISSÃO EXAMINADORA**

Doutor André Gustavo de Sousa Galdino
Instituto Federal do Espírito Santo - Ifes
Orientador

Doutor Sidney Nicodemos da Silva
Instituto Federal do Espírito Santo - Ifes
Coorientador
(Telepresença: Portaria Nº 561 de 11/06/18 - Campus Vitória)

Doutora Rosana Vilarim da Silva
Instituto Federal do Espírito Santo - Ifes
Membro Interno

Doutora Georgia Serafim Araújo - Membro Interno
Instituto Federal do Espírito Santo – Ifes

Doutora Cecília Amélia de Carvalho Zavaglia
Universidade Estadual de Campinas - Unicamp
Membro Externo
(Telepresença: Portaria Nº 561 de 11/06/18 - Campus Vitória)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado força, sabedoria e por ter me sustentado até aqui.

ao Instituto Federal do Espírito Santo, pela oportunidade, desde a graduação, em me encontrar dentro da pesquisa científica.

Ao programa de Pós-graduação em Tecnologias Sustentáveis, pela flexibilidade de horários e atendimentos no mestrado para alcançar àqueles que trabalham e querem se capacitar.

Também, ao orientador André Gustavo de Sousa Galdino, que por seu trabalho incansável pela pesquisa, ensino e extensão, me desenvolveu completamente no campo científico e profissional. À inicianda Alice Fernandes Pires, que em todas as etapas deste trabalho ajudou sem medir esforços.

Agradeço ao CEFET-MG, na pessoa do coorientador Sidney Nicodemos da Silva, que foi essencial para a concretização deste trabalho.

Agradeço à minha família, em especial, meus pais, Nilza e Neilson, por serem por serem minha inspiração e alicerce.

Aos meus tios, Silsa e Izaias, por me darem todo o suporte e incentivo durante a realização do mestrado.

Ao meu noivo, Lucas Marquardt, por ter me dado apoio e se orgulhar tanto quanto eu da conclusão deste sonho.

Enfim, agradeço a todos os amigos e colegas que compartilharam comigo toda essa trajetória.

**RESUMO**

O Brasil gera grande quantidade de resíduo proveniente de cascas de ovos de galinha, sendo que Estado do Espírito Santo representa parcela significativa neste ramo agrossilvopastoril, o que gera impacto socioambiental. Por outro lado, sabe-se que as cascas de ovos de galinhas são ricas em nutrientes que possibilitam aplicações que vão desde a área alimentícia até aplicações mais nobres, como matéria prima para fabricação de fosfatos de cálcio aplicados à área biomédica. Neste contexto, os fosfatos de cálcio são largamente utilizados como cimento ósseo, o qual é um biomaterial utilizado no tratamento de traumas e/ou doenças ortopédicas e dentárias. Contudo, a principal fonte de obtenção de fosfato de cálcio é jazidas de rochas calcárias, que é um recurso natural finito. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi obter um biocimento bifásico de fosfato de cálcio a base de Hidroxiapatita (HA) e Monetita (DCPA) a partir do resíduo da casca de ovo de galinha. O pó de fosfato de cálcio foi obtido conforme patente US9776870 a partir da calcinação da casca de ovo de galinha. O fosfato de cálcio obtido foi caracterizado por Difração de Raios X e Miscroscopia Eletrônica de Varredura. Para obter a pasta cimentícia, utilizou-se a água como fase líquida, variando a razão líquido:pó entre 1,0 e 1,1 mL/g, onde o $Na_2HPO_4$ foi utilizado como acelerador de reação a 2,5% e 5,0% em massa e o carboximetilcelulose (CMC) como adição na mistura, variando as proporções em massa de 1,6% e 3,2%. Propriedades de tempo de pega, resistência à compressão e porosidade aparente foram avaliadas no cimento ósseo obtido. Os resultados de porosidade aparente e limite de resistência à compressão são comparáveis com os descritos na literatura e cimentos comerciais, entretanto o tempo de pega obtido foi mais elevado quando comparado com esses. A adição de CMC e acelerador de reação não apresentaram interferência significativa nos valores de resistência a compressão, porosidade e tempo de pega, sendo a razão líquido:pó o fator mais determinante para essas respostas. Dessa forma pode-se obter um cimento ósseo pastoso à base de HA e DCPA obtido pela casca de ovo de galinha.

Palavras-chave: Biomaterial. Hidroxiapatita. Casca de ovo de galinha. Cimento ósseo.

**ABSTRACT**

Brazil generates a large amount of residue from hens' eggshells, and the State of Espírito Santo represents a significant part of this agrosilvopastoral industry, which has a socioenvironmental impact. On the other hand, chicken hulls are known to be rich in nutrients that enable applications ranging from the food area, to more noble applications, as raw material for the manufacture of calcium phosphates applied to the biomedical area. In this context, calcium phosphates are widely used as bone cement, which is a biomaterial used in the treatment of trauma and / or orthopedic and dental diseases. However, the main source of calcium phosphate is calcareous rock deposits, which is a finite natural resource. Thus, the objective of this work is to obtain a biphasic calcium phosphate (HA + DCPA) from the residue of the eggshell. Calcium phosphate powder was obtained according to Oliveira's patent (2017), based on the calcination of the chicken eggshell. The calcium phosphate obtained will be characterized by XRD and SEM. To obtain the cementitious slurry, water was used as the liquid phase, varying the liquid ratio: powder to 1.0 and 1.1 mL / g, Na2 HPO4 was as a 2.5% and 5.0% reaction accelerator in mass and CMC (carboxymethyl cellulose) as addition in the blend, varying the bulk proportions of 1.6% and 3.2%. Time properties of the handle, compressive strength and apparent porosity were evaluated in the obtained bone cement. The results of apparent porosity and compressive strength limit are comparable to those described in the literature and commercial cement, however the gripping time obtained was higher when compared to these. The addition of CMC and reaction accelerator showed no significant interference on the compressive strength, porosity and grip time values, being the liquid: dust ratio the most determining factor for these responses. In this way a pasty bone cement based on HA and DCPA can be obtained from chicken eggshell.

Keywords: Biomaterial. Hydroxyapatite. Eggshell. Bone cement.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ovo de galinha: Casca e membrana. ..... 22
Figura 2 - Classificação dos biomateriais quanto à composição química e suas aplicações. ..... 25
Figura 3 - Estrutura espacial da Hidroxiapatita na célula unitária. ..... 31
Figura 4 - Cadeia dupla de íons de cálcio e fosfato que formam a base da estrutura DCPA. ..... 34
Figura 5 - Radiografia de paciente com próteses no quadril assentada com cimento PMMA (lado esquerdo) e parafusos metálicos (lado direito). ..... 41
Figura 6 - Processo de obtenção do cimento ósseo. ..... 43
Figura 7 - Representação esquemática do uso de cimento de fosfato de cálcio. (A) ocorrência de defeito ósseo, (B) injeção do cimento, e (C) restauração e remodelação óssea. ..... 44
Figura 8 - Parte frontal do crânio com processo de cimentação por HA ..... 45
Figura 9 - Cimento ósseo de fosfato de cálcio da empresa Shanghai *Rebone Company®*. ..... 46
Figura 10 - Esquema das etapas experimentais propostas para este trabalho ..... 49
Figura 11 - Etapas de processamento e caracterização da COG ..... 50
Figura 12 - Parte da Matéria-prima como recebida. ..... 51
Figura 13 - Esquema de obtenção e caraterização do óxido de cálcio ..... 52
Figura 14 - Analise Termogravimétrica para a casca de ovo branco ..... 53
Figura 15 - Comparação entre os pós de casca de ovo cominuída (a esquerda) e do CaO obtido após a calcinação (a direita) ..... 54
Figura 16 - Etapas da obtenção e caracterização do fosfato de cálcio obtido. ..... 55
Figura 17 - Metodologia de obtenção do fosfato de cálcio e ..... 56
Figura 18 - Fosfato de cálcio obtido no processo de precipitação ..... 58
Figura 19 - (a) Estufa utilizada no processo de secagem. (b) interior da estufa com o fosfato de cálcio hidratado. ..... 58
Figura 20 - (a) Fosfato de cálcio imediatamente após 24h na estufa. (b) Placas obtidas com o processo de secagem ..... 59
Figura 21 - Agitador magnético para peneiras ..... 60
Figura 22 - Adição de água ao cimento de fosfato de cálcio ..... 63
Figura 23 - Moldes dos corpos de prova do cimento ósseo ..... 64

Figura 24 - Punção para extrair o corpo de prova. .....65
Figura 25 - Aparelho de Vicat para análise do tempo de pega.....66
Figura 26 - Kit de densidade da balança Shimadzu .....67
Figura 27 - Amostras enumeradas para ensaio físico de porosidade .....68
Figura 28 - Difratograma de raios X das cascas de ovos de galinha .....70
Figura 29 - Difratograma do material calcinado.....72
Figura 30 - Difratograma do fosfato de cálcio obtido pela rota de Oliveira (2017).....74
Figura 31 - Micrografia eletrônica de varredura do fosfato de cálcio obtido: (a) 100X de aumento e (b) 500X de aumento .....77

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção de ovos (Mil Dúzias). .....22
Tabela 2 - Tipos de fosfato de cálcio e suas características .....28
Tabela 3 - Características da hidroxiapatita .....30
Tabela 4 - Condições experimentais do planejamento fatorial. .....62
Tabela 5 - Composição química de cascas de ovos de galinha. .....71
Tabela 6 - Composição química do material Calcinado .....73
Tabela 7 - Refinamento pelo Método Rietveld .....75
Tabela 8 - Comparação entre os pH exigidos conforme Oliveira (2017) e os trabalhados.....75

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Resultados de limite de resistência à compressão para as composições C1 a C8 ..... 78
Gráfico 2 - Resultados de Porosidade Aparente (%) das amostras ..... 81
Gráfico 3 - Resultados para o tempo de pega por agulhas de Vicat das pastas cimentícias ..... 84

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação do resíduo de acordo com a origem.....21

## LISTA DE SIGLAS

α-TCP - Alfa fosfato tricálcico

β-TCP – Beta fosfato tricálcico

µm - micrometro

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

AGAR – Polissacarídeo de Algas Vermelhas

AR – Acelerador de reação

ASTM - *American Society for Testing and Materials*

Ca/P – Relação Cálcio/Fósforo

CEFET – Centro Federal de Educação Tecnológica

CFC – Cimento de fosfato de Cálcio

CMC – Carboximetilcelulose

COG – Casca de Ovo de Galinha

DRX – Difração de Raios X

EUA – Estados Unidos da América

FRX – Fluorescência de Raios X

GOF – *Goodness of fit*

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatistica

ICDD – *International Centre for Diffraction Data*

IFES – Instituto Federal do Espírito Santo

LRC – Limite de Resistencia à Compressão

L:P – Razão líquido:pó

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MG – Minas Gerais

mL – mililitro

MPa – Megapascal

MR – Método Rietveld

nm - nanometro

PA – Porosidade Aparente (%)

PMMA - Polimetilmetacrilato

RPM – Rotações por Minuto

UAEMa – Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

**SUMÁRIO**


**1 INTRODUÇÃO** ..... 15
**2 OBJETIVOS** ..... 19
2.1 OBJETIVO GERAL ..... 19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS ..... 19
**3 REVISÃO DE LITERATURA** ..... 20
3.1 RESÍDUO SÓLIDO ..... 20
3.2 BIOMATERIAIS ..... 23
**3.2.1 Fosfato de cálcio** ..... 26
3.2.1.1 Hidroxiapatita (HA) ..... 30
3.2.1.2 Monetita (DCPA) ..... 33
3.2.1.3 Métodos para obtenção de Fosfato de Cálcio ..... 35
3.3 CIMENTOS ÓSSEOS ..... 40
**3.3.1 Cimentos ósseos poliméricos** ..... 40
**3.3.2 Cimentos ósseos de fosfato de cálcio** ..... 42
**4 METODOLOGIA** ..... 49
4.1 PROCESSAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DA CASCA DE OVO DE GALINHA (COG) ..... 49
**4.1.1 Processamento da casca de ovo de galinha** ..... 50
**4.1.2 Caracterização do pó da Casca de Ovo de Galinha** ..... 51
4.1.2.1 Difração de raios-X (DRX) ..... 51
4.1.2.2 Fluorescência de raios X (FRX) ..... 52
4.2 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓXIDO DE CÁLCIO ..... 52
**4.2.1 Obtenção do óxido de cálcio (CaO) por Calcinação** ..... 53
**4.2.2 Caracterização do CaO** ..... 54
4.2.2.1 Difração de raios-X (DRX) ..... 54
4.2.2.2 Fluorescência de raios X (FRX) ..... 55
4.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO FOSFATO DE CÁLCIO ..... 55
**4.3.1 Obtenção do fosfato de cálcio bifásico** ..... 56
**4.3.2 Caracterização do Fosfato de cálcio** ..... 60
4.3.2.1 DRX ..... 60
4.3.2.2 Método de Rietveld (MR) ..... 60
4.3.2.3 MEV ..... 61

4.4 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO CIMENTO ÓSSEO.....61
**4.4.1 Obtenção do cimento ósseo** .....61
4.4.1.1 Obtenção dos corpos de prova.....62
**4.4.2 Caracterização do cimento ósseo**.....65
**5 RESULTADOS E DISCUSSÕES** .....70
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA CASCA DE OVO DE GALINHA.....70
**5.1.1 Difração de Raios-X** .....70
**5.1.2 Fluorescência de Raios-X**.....71
5.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓXIDO DE CÁLCIO .....72
**5.2.1 Difração de Raios X**.....72
**5.2.2 Fluorescência de raios-X** .....73
5.3 CARACTERIZAÇÃO DO FOSFATO DE CÁLCIO .....74
**5.3.1 Difração de Raios X**.....74
**5.3.2 Análise pelo Método Rietveld (MR)**.....75
**5.3.3 Microscopia eletrônica de varredura** .....76
5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS PASTAS CIMENTÍCEAS OBTIDAS .....78
**5.4.1 Resistencia Máxima a Compressão**.....78
**5.4.2 Porosidade Aparente** .....81
**5.4.3 Tempo de pega**.....83
**6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**.....87
**REFERENCIAS**.....88

# 1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade os materiais são utilizados para reparar ou restaurar tecidos ou órgãos do corpo humano. Os primeiros indícios são por volta de 4.000 anos, descrevendo o uso de suturas para reparar feridas e transplantes de ossos de animais para humanos (JESUS, 2012). Desde então a busca pelo aperfeiçoamento de materiais que possam ser utilizados no campo da saúde é crescente.

Os materiais utilizados na área de saúde são denominados biomateriais e podem ser de natureza metálica, polimérica ou cerâmica. As cerâmicas apresentam estabilidade química e uma grande vantagem: a relação de semelhança com os minerais do tecido ósseo humano, como o fosfato de cálcio na estrutura apatita, que compõe a parte inorgânica dos tecidos duros (DOROZHKIN, 2013; FIGUEIREDO *et al*., 2009; WILLIAMS, 2008).

O fosfato de cálcio é obtido principalmente a partir da matéria-prima carbonato de cálcio ($CaCO_3$), a qual é extraída de jazidas de rochas calcárias. Contudo, estas são recursos naturais, que levam anos para se formarem através do processo natural. Devido a esse fator, há pesquisas que propõem novos meios de obtenção de $CaCO_3$, como a utilização do resíduo da casca de ovo galináceo (RODRIGUES; ÁVILA, 2017).

No Brasil, cerca de 900 mil dúzias de ovos foram produzidas no último trimestre de 2016, dos quais 90 mil destas foram produzidas no estado do Espírito Santo, sendo o principal subproduto da indústria alimentícia e de toda sua cadeia relacionada (IBGE, 2018). O descarte inadequado deste resíduo sólido pode originar graves problemas ambientais e econômicos, visto que a degradação de sua parte orgânica pode causar odores, atrair vetores e demais doenças associadas, o que é um risco à saúde humana (FERREIRA, 2008).

Em 2015, a Cúpula do Desenvolvimento Sustentável na sede da Organização das Nações Unidas em New York (EUA) reuniu mais de 150 estados representantes para firmar a Agenda 2030, sobre o desenvolvimento sustentável. O texto trouxe 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, o qual um deles trata seriamente do esgotamento dos recursos naturais (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS, 2017).

Dessa forma, utilizar um resíduo rico em cálcio para aplicações nobres torna-se viável para ir ao encontro de decisões de órgãos de responsabilidade a nível mundial.

Inúmeros direcionamentos podem ser fornecidos ao resíduo da casca de ovo de galinha, como por exemplo, como fonte de cálcio para humanos e até mesmo como catalisador em produção de biodiesel (MILBRADT *et al*., 2015; YUSUFF *et al*., 2018). Contudo, a casca do ovo de galinha é rica em carbonato de cálcio, o qual pode ser utilizado como matéria-prima para obtenção de fosfato de cálcio por diversas rotas de fabricação amplamente difundidas, sem prejuízo à biocompatibilidade (KAMALANATHAN *et al*., 2014; WAGH *et al*., 2016; FIHRI *et al*., 2017; HAMIDI *et al*., 2017; VIDHYA *et al*., 2019;).

Os fosfatos de cálcio têm aplicações em distintas áreas, como, por exemplo, para suporte de medicamentos no tratamento de câncer e na dessalinização de água por membranas (BHARATH *et al*., 2019; ABO-ALMAGED; GABER, 2017). Entretanto, este material se destaca como biomaterial devido à sua semelhança química com o constituinte natural de ossos e dentes e, por isso, há uma larga aplicação de fosfato de cálcio como condutor de crescimento do tecido ósseo (LEGEROS, 2008; CORREA, 2015).

Para isto, o fosfato de cálcio pode ser utilizado na forma de cimento ósseo, que consiste em pó de fosfato de cálcio com ou sem presença de fase líquida. A adição aquosa visa fornecer propriedades de plasticidade, moldabilidade e facilidade no manuseio durante a intervenção cirúrgica. Sua vantagem em relação ao pó seco é a característica de injetabilidade, que contribui para a aplicação do material em traumas de difícil acesso. Ressalta-se, porém, que após o tempo de pega, este cimento pastoso ganha resistência mecânica, devido à reação de precipitação e conduz ao crescimento do tecido local, podendo ser absorvido pelo corpo (ZHANG *et al*., 2014).

Há diversos tipos de fosfatos de cálcio, que se diferenciam pela relação Ca/P de sua fórmula química. A maior parte deles pode ser utilizada como biomateriais. Dentre eles, o mais difundido no mercado biomédico é a hidroxiapatita (HA), cuja relação Ca/P é igual a 1,67, pois ossos e dentes são constituídos em maior parte por este mineral (LEGEROS, 2008). As propriedades mecânicas da hidroxiapatita se tornam

relevantes comparadas com as dos demais tipos de fosfatos de cálcio devido à sua estabilidade química no organismo humano, cuja taxa de absorção é mais lenta se comparada, por exemplo, com a monetita.

A monetita (DCPA) é um fosfato de cálcio com relação Ca/P igual a 1 e que tem demonstrado excelentes propriedades de reabsorção local e condução óssea. Entretanto, se comparada mecanicamente com as propriedades da HA, as respostas serão inferiores. Dessa forma, do ponto de vista biológico, a DCPA mostra-se tão interessante quanto a HA (BOROUJENI, 2012).

A obtenção de quaisquer fosfatos de cálcio, como a DCPA ou HA, pode ser a partir do CaO, proveniente de uma matéria prima como a casca de ovo de galinha ou de rochas calcárias. Entretanto o processo de sintetização pode variar e depende da característica desejada ao fosfato de cálcio. Simplificadamente, as rotas são denominadas secas e úmidas, sendo essa última a mais difundida devido à baixa temperatura de processo e facilidade da rota. Percebe-se, entretanto, que a metodologia utilizada necessita de controle preciso de temperatura, umidade, pH e outros fatores, produzindo pequenas quantidades de fosfato de cálcio em tempos longos (baixa escala de produção) (FIHRI *et al*., 2017).

Por isso, patentes sugerem a fabricação de fosfatos de cálcio em larga escala com controle de poucas variáveis no processo a partir de CaO. Algumas patentes fornecem excelentes rotas de obtenção de uma fase, como a patente de Palmer e Rosenstiel (1989), enquanto outras fornecem a possibilidade fosfatos de cálcio bifásicos (FCB), como o HA+DCPA, na patente de Oliveira (2017). Entretanto, poucos estudos científicos concentram-se em fosfatos bifásicos para cimento ósseo obtidos por rotas descritas em patentes.

Ao direcionar estes fosfatos de cálcio bifásicos para aplicação como cimento pastoso, propriedades de limite de resistência à compressão, porosidade e tempo de pega podem ser trabalhadas pela alternância das variáveis: razão líquido:pó; acelerador de reação e aditivo, pois estes interferem diretamente nas características físico-mecânicas e de tempo de pega (DOROZHKIN, 2013; SZCZEŚ; HOIYSZ; CHIBOWSKI, 2017). Entretanto, nota-se uma carência de estudos que levantem a

interferência mútua destas três variáveis na resposta de limite de resistência à compressão, porosidade, e tempo de pega do cimento.

Dessa forma, um estudo de desenvolvimento de cimento ósseo obtido a partir de casca de ovo de galinha torna-se viável tanto do ponto de vista sustentável quanto biológico, com rota de elevado rendimento, variando-se taxas de líquido pó, acelerador de reação e adição para entender a resposta em diferentes solicitações.

# 2 OBJETIVOS

## 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar cimento ósseo de fosfato de cálcio bifásico (DCPA+HA) a partir da casca de ovo de galinha com diferentes formulações de líquido:pó (L:P), acelerador de reação e aditivo para entender seu comportamento em relação ao limite de resistência à compressão, porosidade aparente e tempo de pega.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

i. Verificar a possibilidade de obtenção de óxido de cálcio a partir da casca de ovo de galinha por calcinação;
ii. Analisar a efetividade da obtenção de fosfatos de cálcio bifásico pelo óxido de cálcio, utilizando a rota descrita na patente US9776870 (2017);
iii. Desenvolver cimento ósseo de fosfatos de cálcio com diferentes proporções de pó:líquido, acelerador de pega e aditivo;
iv. Estabelecer relação entre a variação de líquido:pó, acelerador de reação e aditivo nas propriedades de resistência mecânica a compressão, porosidade aparente e tempo de pega.

# 3 REVISÃO DE LITERATURA

## 3.1 RESÍDUO SÓLIDO

De acordo com a NBR 10004 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2004), resíduos sólidos são todos aqueles encontrados no estado semissólido e sólido, provenientes de atividades diversas como, por exemplo: doméstica, hospitalar, comercial, industrial, agrícola, de serviços e de varrição. Além destas, estão incluídas as substancias oriundas do sistema de tratamento de água.

Também é possível classificar os resíduos sólidos, conforme a NBR 10004 (2004), em relação a sua periculosidade e a origem. Em relação à periculosidade os resíduos são classificados em:

- Perigosos: devido suas características são considerados tóxicos, patogênicos ou inflamáveis. Este tipo de resíduo pode causar danos à saúde humana e ao meio ambiente se forem gerenciados de forma incorreta.
- Não perigosos: Estão subdivididos em duas classes. A primeira chamada de inertes são os resíduos que não alteram a potabilidade da água, enquanto não inertes são aqueles que são solúveis em água.

O Quadro 1 representa a classificação quanto ao tipo de resíduo e sua origem.

Quadro 1 - Classificação do resíduo de acordo com a origem

| Tipo de resíduo | Origem |
|---|---|
| Domiciliar | Atividade doméstica em residências urbanas. |
| Limpeza urbana | Serviços de limpeza urbana |
| Sólidos urbanos | Resíduos domiciliares somados aos de limpeza urbana |
| Estabelecimentos comerciais e prestadoras de serviços | Saneamento básico, construção civil, serviços de saúde e transporte. |
| Serviços públicos de saneamento básico | Tratamento de água. |
| Industriais | Gerado pelos processos produtivos e instalações industriais. |
| Serviços de saúde | Assistência sanitária a população ou a animais. |
| Construção civil | Construções, reformas, reparos e demolições de obras. |
| Agrossilvopastoris | Atividades agropecuárias e silvilculturais. |
| Transporte | Portos, aeroportos, ferrovias, rodovias e passagens de fronteira. |
| Mineração | Extração e beneficiamento de minérios. |

Fonte: NBR 10004 (2004) adaptado pelo autor (2019)

Dentre esses tipos, os resíduos agrosilvopastoris são provinientes das atividades agropecuárias e silviculturais incluindo desde os insumos utilizados até os resíduos dos produtos finais. Um bom exemplo é o resíduo da casca de ovo de galinha gerado tanto por seleção em granjas, quanto por indústrias alimentícias.

O ovo de galinha é um produto de baixo custo e consumido pela maioria da população brasileira. A produção dos ovos no Brasil foi de aproximadamente 900 mil dúzias no último trimestre de 2018, sendo que cerca de 90 mil dúzias são produzidas no estado do Espirito Santo (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2019). Nota-se um crescimento da produção de ovos a cada trimestre, conforme

Tabela 1, o que conjectura a demanda comercial deste produto. A Tabela 1 mostra a produção de ovos em 2018 no Brasil e no Espírito Santo.

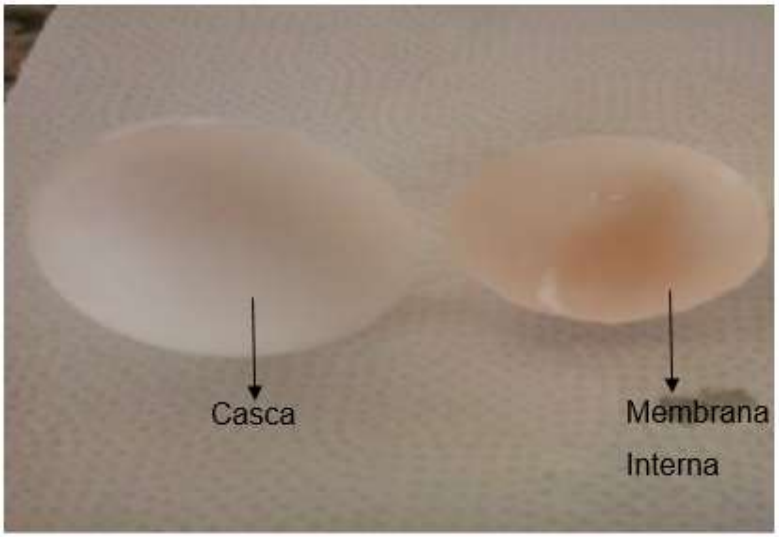
Tabela 1 - Produção de ovos (Mil dúzias).

| | **1°Trimestre de 2018** | **2°Trimestre de 2018** | **3°Trimestre de 2018** | **4°Trimestre de 2018** |
|---|---|---|---|---|
| **Brasil** | 861.067 | 879.535 | 924.730 | 941.415 |
| **Espírito Santo** | 81.138 | 83.231 | 88.079 | 89.462 |

Fonte: IBGE (2019) adaptado pelo autor (2019).

A casca de ovo de galinha é constituída por uma membrana interna e pela casca (Figura 1). A primeira é considerada uma parte orgânica, enquanto a segunda é um material inorgânico. A casca, em particular, tem elevada concentração de carbonato de cálcio, aproximadamente 94%, material que após tratamento pode ser utilizado na obtenção de variados fosfatos de cálcio e sua respectiva aplicação no campo de biomateriais (ÁVILA; SANTOS, 2017; GOMES *et al*., 2012).

Figura 1 - Ovo de galinha: Casca e membrana.




Fonte: Corrêa (2015) adaptado pelo autor (2019).

Atualmente, as fontes de fosfato de cálcio são matérias primas, consideradas recursos naturais finitos. Nayar e Guha (2009) estudaram a utilização de resíduos ricos em carbonato de cálcio, como a casca de ovo de galinha, para a síntese de hidroxiapatita. Os autores ressaltam a importância da utilização destes não somente devido ao seu acúmulo no meio ambiente e problemas associados, mas também devido a disponibilidade de matéria-prima na natureza, que atualmente provém de jazidas de rochas calcárias.

Literaturas trazem a obtenção de fosfastos de cálcio para aplicação em biomedicina a partir de cascas de ovo de galináceos (galinha, avestruz etc.), como descritos por Caliman (2011), Gomes (2012), Tomaselli (2014), Corrêa (2015) e Spelta (2018), que sintetizaram óxido de cálcio a partir do resíduo da casca de ovo, para posterior sintetização de um tipo de fosfato de cálcio específico utilizando métodos de obtenção distintos. Em todas as literaturas citadas foi possível obter com sucesso o fosfato de cálcio, mas nem todas trataram a exploração de seu potencial para aplicação em biomedicina ou outra área relevante.

## 3.2 BIOMATERIAIS

O conceito de biomaterial foi apresentado em 1986 pela *European Society for Biomaterials Consensus Conference,* como “um material que é utilizado como um dispositivo ou aparelho médico destinado à interação com os sistemas biológicos”. Contudo, percebeu-se que, com a evolução de na própria área de biomedicina, tal definição tornou-se ultrapassada. Então, Williams (2008) trouxe um novo contexto que se baseou nas novas substâncias e recursos biomédicos, referindo-se a biomaterial como uma substância que desde seu projeto é concebida para ser parte ou um todo de um sistema amplo, utilizado para fornecer diretriz por controles de interações em componentes vivos, desde sua aplicação, procedimento ou diagnóstico, em seres humanos ou medicina veterinária.

O estudo na área de biomateriais aborda desde o diagnóstico até a aplicação do material no organismo do paciente, englobando diversas áreas como biologia, química, física, engenharia e medicina. Contudo, ressalta-se que um biomaterial antes

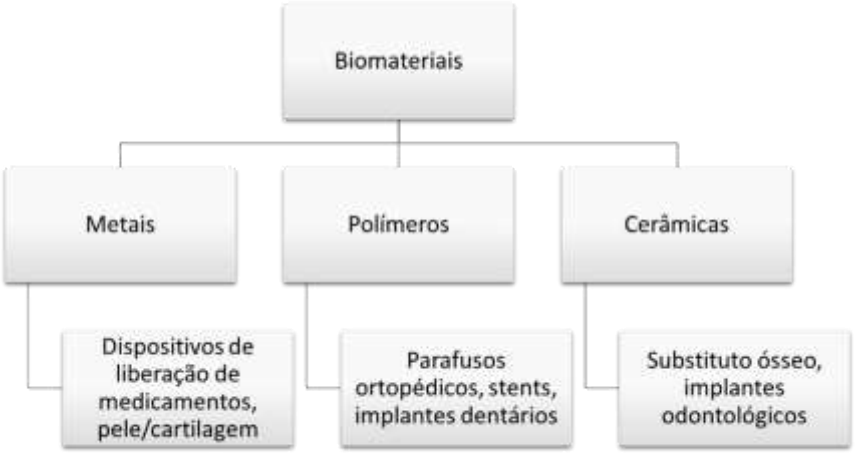
de efetivar sua comercialização deve passar por importantes etapas de nível hierárquico (Ratner *et al.*, 2013):

> 1) Ensaios *in vitro*, feito com utilização de células em meio que simulem o fluido corporal;
> 2) Ensaios *in vivo*: ensaios realizados após comprovada a não toxicidade do material *in vitro* onde o biomaterial é implantado em animais e, com autorização do órgão e comissões responsáveis, pode ser ensaiado em seres humanos para demonstração de realidade clínica;
> 3) Envolvimento da indústria permitindo o desenvolvimento e a comercialização de produtos.

Portanto, até chegar a comercialização de biomateriais tem-se uma série de procedimentos rigorosos a serem seguidos e fatores que são necessários serem comprovados, como, por exemplo, a não toxicidade do material e o efeito a longo prazo no organismo implantado, sendo que o efeito de cada um deles depende diretamente de sua classe.

Os biomateriais, segundo Ratner *et al*. (2013), podem ser divididos em quatro grandes classes de materiais: polímeros, metais, cerâmicas (incluindo carbonos e vidros), e materiais naturais, sendo todos de ampla e destinada aplicação, conforme Figura 2.

Figura 2 - Classificação dos biomateriais quanto à composição química e suas aplicações.




Fonte: Oréfice, Pereira; Mansur (2006) adaptado pelo autor (2019).

Os metais e polímeros, aparentemente, destacam-se em aplicações biomédicas quando comparados às cerâmicas, pois essas apresentam fragilidade. Contudo, principalmente para a área ortopédica, os materiais cerâmicos são altamente indicados, uma vez que o osso humano é constituído basicamente de colágeno (polímero) e hidroxiapatita, que é a parte mineral (cerâmica) (CAREW *et al.*, 2013).

Quanto a relação à resposta biológica, os biomateriais também podem ser classificados em (PIERETTI, 2012):

- **Bioinertes:** não provocam reação no tecido hospedeiro e estão em contato direto com o tecido receptor. Exemplos: zircônia e alumina.
- **Bioativos:** há uma ligação direta aos tecidos devido aos íons, por exemplo, cálcio e fosfato presentes nos substitutos ósseos, os quais favorecem a ligação com o tecido ósseo. Exemplo: hidroxiapatita e biovidros.
- **Biotolerados:** moderadamente aceitos pelo tecido receptor e geralmente são envolvidos por tecido fibroso. Exemplos: aço inoxidável, ligas cromo-cobalto e polimetilmetacrilato (PMMA).
- **Reabsorvíveis:** são degradados de forma lenta e gradualmente são substituídos pelos tecidos. Exemplos: fosfato de tricálcio (TCP).

Entre as categorias citadas, os materiais bioativos e reabsorvíveis são de grande interesse devido à sua capacidade em não produzir ações tóxicas ou nocivas ao meio referente ao implante e serem aceitos pelo tecido hospedeiro, ocorrendo integração em forma de reações químicas entre o tecido ósseo e o material implantado, também chamado de osteointegração. O motivo pelo qual esse processo advém é a similaridade química entre essa categoria e os minerais presentes no meio implantado, sendo que o tecido ósseo se liga a eles permitindo a osteocondução por meio do recobrimento de células ósseas, como é o caso de materiais à base de fosfato de cálcio (OSTROWSKI *et al.*, 2015).

As cerâmicas de fosfato de cálcio são estudadas para se tornarem possíveis reparadores e repositores de material ósseo, uma vez que apresentam similaridade

mineral com o tecido ósseo humano, biocompatibilidade e osteocondutividade (CANILLAS *et al*., 2017). Seu interesse decorre de pesquisas que mostram o potencial para trabalhar como materiais bioativos e que apresentam elevada biocompatibilidade, como condutores de fármacos, suportes porosos ativos, redução bacterial e principalmente biocimentos (SZCZEŚ; HOŁYSZ; CHIBOWSKI, 2017; MBARKI *et al*., 2017; KENSCHE *et al*., 2017; WAGH *et al*., 2016).

### 3.2.1 Fosfato de cálcio

No ano de 2013, Dorozhkin realizou um excelente estudo cronológico, incomparável, onde descreve a história do fosfato de cálcio, desde sua descoberta em ossos e dentes até suas últimas aplicações na medicina. Segundo este trabalho, desde o século XVII há evidências sobre os primeiros estudos da composição de ossos, dentes e outros tipos de tecidos calcificados. Porém, só em 1769 é que foi comprovada a existência de fosfato de cálcio nos tecidos duros do corpo humano.

Em 1920, houve o primeiro registro de aplicação do fosfato de cálcio como biomaterial, o qual foi apresentado por Albee e Morrison. Nessa pesquisa, os autores direcionaram esse mineral para reparação de defeitos em ossos de coelhos, obtendo razoáveis resultados. Já na década de 1970, as pesquisas se voltaram para a utilização do fosfato de cálcio para a odontologia: Nery e Lynch (1978) estudaram o efeito em local da utilização de fosfato de cálcio para enxerto ósseo e comprovaram que houve crescimento de células ósseas em uma taxa maior que naqueles pacientes sem o tratamento. Já Denissen e Groot (1979) estudaram a recuperação de raiz de dentes implantados diretamente após a extração dos dentes naturais. Os implantes de raiz foram feitos de hidroxiapatita densamente sinterizada e os resultados apontaram para uma recuperação local mais sadia e rápida.

Dessa forma, o fosfato de cálcio tornou-se um composto interessante em muitos campos da ciência, incluindo geologia, química, biologia e medicina devido à sua abundância na natureza e presença em organismo vivo (DOROZHKIN, 2013). Comprovadamente, este mineral tornou-se atrativo devido às suas propriedades de bioatividade e biocompatibilidade quando comparado com os outros biomateriais

largamente utilizados atualmente na área de biomedicina, como alumina, zircônia, titânio e platina (BEN-NISSAN; LEGEROS, 2014).

Por intermédio da utilização de fosfatos de cálcio foi possível que áreas de medicina e odontologia se desenvolvessem. Luryi, Bulsara e Michaelides (2017), trabalharam com um tipo específico de fosfato de cálcio, que é a hidroxiapatita, para tratamento em cranioplastia, trazendo sucesso para a aplicação nesta área neurológica. Anastasiou *et al*., (2017), tratou a hipersensibilidade em dentes de jovens e idosos utilizando o fosfato de cálcio em formato de betapirofosfato de cálcio e obteve sucesso em uma parcela significativa dos pacientes.

Os fosfatos de cálcio continuam direcionados na área odontológica e ortopédica com comprovado desempenho. Chen *et al*. (2017), na área de engenharia tecidual, estudaram o efeito de reparo ósseo com cimento ósseo a base de fosfato de cálcio e obtiveram alta taxa de osteointegração. Ginebra (2008) na área de fármacos, discorre sobre o carregamento de medicamentos com a contribuição do fosfato de cálcio para aumentar a biofuncionalidade para qualquer contexto patológico, como tumores, osteoporose e infecções. Já na área odontológica, Kramer *et al*. (2014) aplicaram uma técnica de associação de fosfato de cálcio e aluminossilicato para tratamento em pacientes com pulpotomia, enquanto Arafa *et al*., (2017) trabalharam com remineralização de dentes de crianças a partir de fosfato de cálcio.

Esta variedade de aplicação do fosfato de cálcio no campo de biomedicina decorre de sua possibilidade em formar compostos distintos, ou seja, há um grupo de fosfatos de cálcio o qual a característica que diferencia um composto do outro é, basicamente, a relação Ca/P, fator que afeta diretamente a solubilidade e aplicação biológica. A Tabela 2 ilustra os principais tipos de fosfato de cálcio, a razão (Ca/P) em função de sua solubilidade a 25 °C e faixa de pH, bem os respectivos nomes, siglas e fórmulas químicas (CORREA, 2015; OKULUS; VOELKEL, 2017).

Tabela 2 - Tipos de fosfato de cálcio e suas características

| Razão Ca/P | Fosfatos de Cálcio | Sigla | Fórmula química | Solubilidade 25°C g/L | Faixa de pH estável em solução aquosa (25°C) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,5 | Fosfato de cálcio mono-hidratado | MCPM | $Ca(H_2PO_4)_2\ H_2O$ | ~18 | 0,0-2,2 |
| 0,5 | Fosfato de mono cálcico anidro | MCPA ou MCP | $Ca\ (H_2PO_4)_2$ | ~17 | [a] |
| 1,0 | Mono-hidrogênio fosfato de cálcio di-hidratado, brushita | DCPD | $CaHPO_4\ .\ 2H_2O$ | ~0,088 | 2,0-6,0 |
| 1,0 | Mono-hidrogênio fosfato de cálcio, monetita | DCPA ou DCP | $CaHPO_4$ | ~0,048 | [a] |
| 1,33 | Fosfato octacálcico | OCP | $Ca_8H_2(PO_4)_6H_20$ | ~0,0081 | 5,5-7,0 |
| 1,5 | Fosfato tricálcico | α-TCP | $\alpha\text{-}Ca_3(PO_4)_2$ | ~0,0025 | [b] |
| 1,5 | Fosfato tricálcico | β-TCP | $\beta\text{-}Ca_3(PO_4)_2$ | ~0,0005 | [b] |
| 1,5 | Fosfato de cálcio amorfo | ACP | $Ca_xH_y(PO_4)z.\ nH20$ n=3~4,5;15 a 20% H20 | [c] | 5-12 |
| 1,5 ~1,67 | Hidroxiapatita deficiente em cálcio | CDHA | $Ca10\text{-}x(HPO4)x(PO4)6\text{-}x\ (OH)2\text{-}x\ (0 < x < 1)$ | 0,0094 | 6,5-9,5 |
| 1,67 | Hidroxiapatita | HA, HAp ou OHAp | $Ca_{10}(PO_4)_6.(OH)_2$ | ~0,003 | 9,5-12 |
| 1,67 | Fluorapatita | FA ou FAp | $Ca_{10}(PO_4)_6F_2$ | ~0,0002 | 7-12 |
| 2,0 | Fosfato tetracálcico | TTCP ou TetCP | $Ca_4O(PO_4)_2$ | ~0,0007 | [b] |

[a]: estável acima de 100 °C

[b]: Estes compostos não podem ser precipitados em soluções aquosas

Fonte: Dorozhkin (2013) adaptado pelo autor (2019).

Os materiais a base de fosfato de cálcio podem ser considerados materiais precursores ósseos devido à característica de biocompatibilidade, o qual cria ligações

químicas com o tecido hospedeiro devido à sua semelhança química com o tecido ósseo de mamíferos (ZHANG; WALBOOMERS; JANSEN, 2008). Quando o precursor ósseo é moldável, literaturas o denominam de formulações autorreguláveis/autorreguladoras, como os autores Bimis *et al*. (2017) e Dorozhkin (2018).

Considera-se, entretanto, que há três grupos majoritários de formulações autorreguladoras de fosfatos de cálcio que podem ser citadas como principais: apatita, principalmente na estrutura de hidroxiapatita, brushita e monetita. Embora todas estas formulações sejam tipos de fosfatos de cálcio, sua aplicação e importância diferem: cada uma tem valores de Ca/P, solubilidade e estabilidade em pH característicos e, portanto, o comportamento in vivo é distinto entre si (TAMIMI; SHEIKH; BARRALET, 2012; BOROUJENI et al., 2013; ŠVECOVÁ; BARTŮNĚK, 2018).

A hidroxiapatita é uma das estruturas mais comuns e amplamente pesquisadas no grupo de fosfato de cálcio. Seu atributo especial reside na capacidade de formar soluções sólidas devido ao seu baixo valor de solubilidade e aceitar compostos aniônicos e catiônicos substituintes, como, por exemplo, o silício que contribui para aumentar a regeneração de ossos e cartilagens quando empregado como cimento ósseo (MOTISUKE, 2010). Estes fatores, portanto, contribuem para que a HA seja considerada um material estável em meios fluidos.

A brushita (DCPD), quando submetida a fluidos corporais, rapidamente é degradada *in vivo*. Porém, por ser metaestável, o material remanescente do implante é convertido na fase estável, na estrutura de HA, o que contribui para a baixa absorção do material implantado pelo organismo, conforme comprovado pelos trabalhos de Constantz *et al*. (1998) e Sheikh *et al*. (2017). Isto, por vezes, pode se tornar um problema, visto que é desejável que os implantes sejam gradualmente substituídos pelo osso regenerado.

Já a monetita (DCPA), pode ser considerada uma alternativa potencial para apatita e cimentos DCPD. Os autores Boroujeni *et al*. (2013) destacam três grandes vantagens: a primeira, tem composição química e solubilidade próxima de DCPD; segunda, exibe propriedades desejáveis, como osteocondutividade e reabsorção, para apoiar a regeneração óssea; e por fim, não se transforma em HA, o que é benéfico para a

reabsorção contínua, substituição por novo tecido ósseo, o que pode resultar em maior volume ósseo quando comparada com a HA.

Dessa forma, há um interesse particular na HA, por sua semelhança química com o tecido ósseo de mamíferos e na DCPA por sua característica de reabsorção completa quando utilizado como implante ortopédico. Há trabalhos que já associaram a utilização destes materiais como em Jokić *et al*. (2011) e Higuita *et al*. (2016), e confirmam o potencial destes materiais como compósitos.

#### 3.2.1.1 Hidroxiapatita (HA)

A HA tem fórmula estequiométrica $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, relação Ca/P de 1,67 e é constituinte mineral de variadas rochas ígneas e metamórficas, especialmente em calcários cristalinos, tanto que pode ser comercializado da forma em que foi encontrado na natureza com um teor de impurezas (FIHRI *et al*., 2017). Destaca-se, porém, que a HA também é um composto natural constituinte de tecido duro dos vertebrados, como ossos e dentes, representando cerca de 30 a 70% de sua massa e 50% de seu volume (FLEET, 2015; HENCH; BEST; RATNER, 2013). A Tabela 3 exibe as principais características desse material.

Tabela 3 - Características da hidroxiapatita

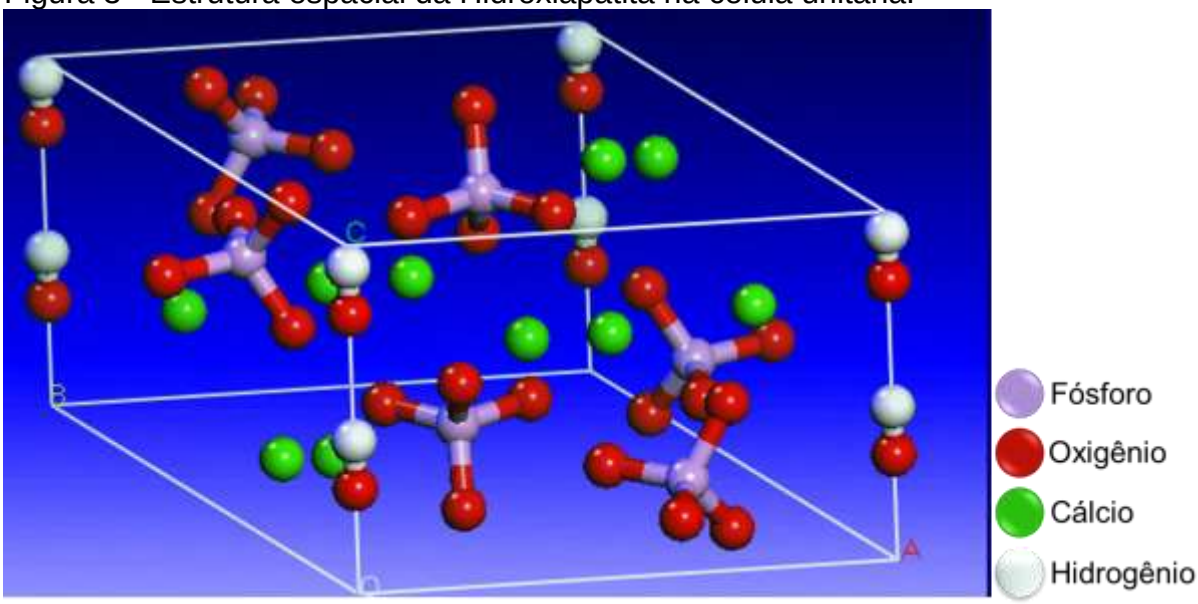
| **Características** | |
|---|---|
| Fórmula química | $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ |
| Estrutura cristalina | Hexagonal |
| Relação Ca/P | 1,67 |
| Meio estável | Neutro e alcalino |
| Estrutura de cristalização | Monoclínica |
| Temperatura de transição de fase (Monoclínica $\rightarrow$ Hexagonal) | Superior a 250°C |

Fonte: Corrêa, 2015 adaptado pelo autor (2019).

A célula unitária de hidroxiapatita contém dez grupos de cálcio (Ca), seis grupos de $(PO_4)^{--3}$ (fosfatos) e dois grupos $(OH)^-$ (hidroxila) e parâmetros de rede a=b=9,432 Å e c=6,881 Å, conforme a Figura 3. Pode haver a substituição do grupo hidroxila ou grupo

fosfato, o que acarreta mudança das propriedades e solubilidade, contudo a sua simetria não sofre mudanças significativas, como, por exemplo, substituir o grupo de hidroxila por flúor, o que dará origem à estrutura fluorapatita, fator que contribui para diversificar sua aplicação. A hidroxiapatita quando é pura se cristaliza na estrutura monoclínica em temperaturas abaixo de 250°C; acima desta, a estrutura passa a ser hexagonal (CORREA, 2015).

Figura 3 - Estrutura espacial da Hidroxiapatita na célula unitária.




Fonte: Hench, Best e Ratner (2013) adaptado pelo autor (2019).

Embora sua semelhança com o tecido ósseo seja um fator considerável para a finalidade da HA, o ramo biomédico não é exclusivo para pesquisas. Este fosfato de cálcio tem aplicações em componentes distintos para a ciência, como em lâmpadas fluorescentes, material para célula de combustível e catalisadores (LIMA, 2011; WAGNER *et al*., 2013; WEI; YATES, 2012; FIHRI *et al*., 2017).

Abo-Almaged e Gaber (2017) descreveram a preparação de hidroxiapatita para aplicá-la em um suporte de nanofiltração para dessalinizar água. A membrana obtida com hidroxiapatita tinha cerca de 20 µm com tamanho do poro variando de 12 a 18 nm e porosidade de 55%. Os resultados apontaram para retenção de 73% do sal pela membrana de HA. Já Oubagha *et al*. (2017) utilizaram partículas de HA amorfa também para tratar água, cuja diferença foi sua aplicação para remover corante de

água contaminada. Embora a eficácia demonstrada não tenha sido completa, um novo mecanismo de controle de poluição por corante na água foi desenvolvido.
Chadda *et al*. (2016) estudaram a citotoxicidade de diversas resinas dentárias à base de hidroxiapatita e sílica, com finalidade de avaliar a biocompatibilidade destes compostos. Os autores concluíram que todas as amostras apresentaram biocompatibilidade, principalmente pela presença da HA.

Kensche *et al*. (2017) estudaram o efeito da HA como material odontológico. O objetivo do estudo foi analisar se a HA teria potencial para reduzir a aderência e proliferação bacteriana. Os resultados mostraram que a utilização tópica deste fosfato de cálcio reduziu consideravelmente e, portanto, poderia suplementar sensivelmente as abordagens atuais na profilaxia dentária.

Já Tian *et al*. (2019) utilizaram HA para revestir parafusos ortopédicos de liga de magnésio com a finalidade de reduzir a corrosão do componente, melhorar propriedades mecânicas e a cicatrização do implante após o ensaio *in vitro*. Os revestimentos de HA demonstraram resistência à corrosão melhor do que a liga de magnésio e manteve-se 86-90% da resistência à compressão final após a imersão *in vitro* por seis semanas, enquanto o material não revestido reteve apenas 66% da resistência de compressão, após o mesmo período. Esta melhoria deve-se principalmente à baixa solubilidade da HA e à sua biocompatibilidade.

Rocha *et al.,* (2018) utilizaram HA associado a óxido de titânio para revestir a liga metálica de implante Ti-6Al-4V pela técnica de plasma spray. Os resultados apontaram boa aderência, elevada dureza e resistência mecânica para o revestimento em questão.

Galdino e Zavaglia (2012) também associaram HA e $TiO_2$, entretanto utilizaram a técnica de esponja polimérica para obtenção de arcabouços cerâmicos e os resultados indicaram que a associação da HA com o óxido resultou em boas propriedades mecânicas e físicas quando comparada com a HA isoladamente. Por esta mesma técnica de fabricação, Abreu e Galdino (2017) sintetizaram, a mais de 1250 °C, arcabouços cerâmicos à base de HA e óxido de alumínio. Os autores

obtiveram um composto intermediário de cálcio e alumínio, entretanto a resposta microestrutural do composto atendeu para seguir com testes físicos mecânicos.

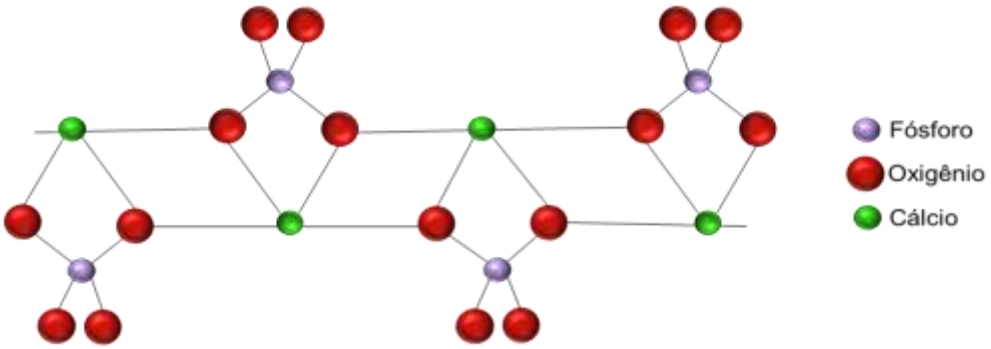
Além disto, a hidroxiapatita, também, pode ser associada com outros fosfatos de cálcio para que sua aplicação seja otimizada, principalmente em relação à absorção do tecido ósseo. Trabalhos como os de Hsu, Chang e Liu (1998) e Jokic *et al*. (2011) e Sych *et al*. (2014) obtiveram e caracterizaram compósitos entre hidroxiapatita e monetita, sem direcioná-las para aplicações biomédicas. Já nos textos de Silva *et al*. (2001), Zou *et al*. (2012), Ruan *et al*. (2016), Higuita *et al*., (2016) e Chen *et al*. (2019) há a associação de HA e DCPA, comprovando o potencial deste compósito para a engenharia tecidual óssea.

#### 3.2.1.2 Monetita (DCPA)

O termo “monetita”, conhecido pela sigla DCPA, pertence a um mineral de fosfato de cálcio, que foi descrito pela primeira vez em 1882 em depósitos de fosfato de rocha da Ilha Moneta, arquipélago de Porto Rico (SHEPARD, 1882). A monetita é cristalizada sob as mesmas condições da DCPD, mas a partir de soluções aquosas em temperaturas elevadas ou em condições ambientais com deficiência de água (DOROZHKIN, 2013).

A estrutura da DCPA em temperatura ambiente é triclínica, com parâmetros de rede a = 6,910 Å, b = 6,627 Å, c = 6,998 Å, α = 96,34°, β = 103,82° e γ = 88,33° a 25°C. Sua cadeia está organizada por tetraedros de grupos fosfatos ligados ao íon de cálcio, conforme representado na Figura 4. A posição do hidrogênio nesta estrutura provavelmente está entre os átomos de hidrogênio quem compõem o grupo fosfato (MACLENNAN; BEEVERS, 1955).

Figura 4 – Cadeia dupla de íons de cálcio e fosfato que formam a base da estrutura DCPA.




Fonte: Maclennan e Beevers (1955) adaptado pelo autor (2019).

Embora a HA seja o fosfato de cálcio mais comum no corpo humano como parte de ossos e dentes, outros fosfatos coexistem como calcificações. A DCPA, por exemplo, tem sido notada no processo de mineralização óssea, calos de fratura óssea, parte dos ossos, cáries dentárias e em tártaro dentário (SHEAR; KRAMER, 1928; LEGEROS, 2008; ELLIOTT, 1994).

A DCPA é amplamente vista como biomaterial por pertencer ao grupo de fosfatos de cálcio, entretanto mostra-se que este material é promissor para adsorção. Estudos demonstram que a monetita é eficaz para a adsorção de flúor, de íons radioativos de césio e de pesticidas em meios aquosos, como nos trabalhos de, respectivamente, Shen *et al*. (2017), El-Din *et al*. (2018) e Mirković *et al*. (2016).

No ramo odontológico, a monetita foi utilizada como material para remineralização da dentina, através da incorporação de pó à base de fosfato tetracálcio e da monetita ao creme dental. Após sete dias, o potencial de remineralização do dente foi comprovado e assemelhou-se a marcas comerciais de cremes dentais como SENSODYNE® e Colgate® (MEDVECKY *et al*., 2018).

Já na engenharia tecidual óssea, a monetita foi analisada por Idowu *et al*. (2014), em meio a células tronco mesenquimais, as quais podem se diferenciar em osteoblastos, condrócitos e adipócitos. Os resultados evidenciaram que a DCPA contribuiu para a diferenciação celular das células tronco para osteoblastos, o que confirma o potencial de suporte de indução óssea. Assim sendo, produtos comerciais também foram desenvolvidos para estimular o crescimento do tecido ósseo, como descrito na patente de Aberg, Engstrand e Engqvist (2015).

### 3.2.1.3 Métodos para obtenção de Fosfato de Cálcio

A obtenção de fosfatos de cálcio para aplicações tecnológicas, como aquelas já citadas anteriormente, pode ser proveniente de fontes naturais ou sintéticas. A primeira ocorre a partir do processo de purificação do mineral a partir de rochas calcárias e a segunda por processos químicos a partir de uma matéria prima rica em cálcio, como o óxido de cálcio, o qual tem sua origem, em maior número, também de rochas calcárias. A opção por métodos de sintetização é uma solução para as aplicações tecnológicas que requerem elevado teor de pureza (>99%); dessa forma, pesquisas nos últimos 30 anos desenvolveram métodos sintéticos para obtenção destes fosfatos (FIHRI *et al*., 2017; SZCZEŚ; HOIYSZ; CHIBOWSKI, 2017).

Segundo Sadat-Shojai *et al*., (2013) a produção de pós de fosfato de cálcio sintético pode ser classificada sob dois métodos amplos: i) métodos secos; e ii) métodos úmidos. Em cada categoria, existem variações dependendo das condições de síntese e reagentes implantados:

i) Métodos secos: algumas rotas difundidas são os métodos de estado sólido e método mecânico químico (CHEN *et al.,* 2015*;* CHAIKINA *et al.,* 2019*)*. O produto é um pó de alta cristalinidade, obtido por volta de 1000ºC. A preparação de fosfato de cálcio por este método exige tratamento térmico de reagentes finamente cominuídos. A mistura homogênea, quantidade adequada de constituintes e pureza são fatores determinantes para o produto final (FIHRI *et al*., 2017).

ii) Métodos úmidos (via úmida): são amplamente utilizados devido à simplicidade de procedimentos. Estes métodos permitem um controle mais homogêneo sobre a estrutura, textura e morfologia, e leva a um alto rendimento do fosfato de cálcio (FLEET, 2015). Os métodos úmidos podem ser realizados em água ou em solventes orgânicos por várias reações envolvendo diversos reagentes distintos, aditivos auxiliares e equipamentos. A temperatura da reação pode ser ambiente ou elevada, assim como a pressão. São métodos úmidos difundidos: precipitação química, sol-gel, hidrotermal, emulsão e sonoquímica (YELTEN-YILMAZ;

YLMAZ, 2018; RUIZ-AGUILAR *et al*., 2018; KUMAR *et al*., 2018; HIRAI *et al*., 2000; CAMPOS *et al*., 2006);

Ressalta-se, porém, que a obtenção de fosfatos, como a HA e DCPA, por via úmida é feita por distintas rotas que podem ser por precipitação, sol-gel, emulsão, hidrolise ou hidrotermal. Entre estes, o método de precipitação, conhecido por reação ácido-base, é o mais comum para obter HA e DCPA, devido a boa qualidade do produto obtido e também à simplicidade do método, entretanto o produto obtido pode não apresentar elevada cristalinidade (FIHRI *et al*., 2017).

Correia *et al.,* (1996), sintetizou pós de hidroxiapatita com diferentes relações Ca/P pela rota úmida e com quantidades variáveis de magnésio, sódio e potássio. De maneira análoga, Santos *et al.,* (2003) e Yelten-Yilmaz e Ylmaz (2018) utilizou o mesmo método para obter hidroxiapatatita e Sha *et al.,* (2011) para obter um pó de beta TCP com pureza e cristalinidade elevadas.

O processo de precipitação ocorre pela reação ácido-base, a qual consiste em reagir uma fonte de cálcio com um íon de fosfato em meio ácido ou básico, conforme a Equação 2 (SWAIN; SARKAR, 2011).

$$10Ca(OH)_2 + 6H_3PO_4 \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 18H_2O \qquad (2)$$

Para o caso apresentado, o hidróxido de cálcio, $Ca(OH)_2$, juntamente com o ácido fosfórico, $H_3PO_4$, os quais estão em forma de solução, reagem formando, por exemplo, a HA ou outro fosfato, em meio aquoso. Se for desejável somente o pó de fosfato de cálcio, é necessário volatilizar a água, mantendo o produto obtido em manutenção em torno de 100 °C.

Portanto, dois tipos de fosfatos de cálcio devem ser considerados: os sintetizados em altas temperaturas e que apresentam boa cristalinidade e tamanho de cristais grandes; e aqueles sintetizados em baixas temperaturas que apresentam baixa cristalinidade e tamanho de cristais pequenos. O fosfato de cálcio precipitado por via úmida possui características similares às do tecido ósseo e dentário, diferentemente da daqueles sintetizados em altas temperaturas (COSTA, 2009).

Na literatura, a técnica mais explorada para obtenção de hidroxiapatita ou outros fosfatos de cálcio, voltada à aplicação na área biomédica é a reação ácido-base por via úmida, devido à sua simplicidade de execução, exemplificadas pelas patentes de Chow e Takagi (1996) e (2004), Jiin-huey *et al*., (2005), Ahmet (2005), Palmer e Rosenstiel (1989) e Oliveira (2017) em que ambos utilizaram um material à base de cálcio e fosfato em meio aquoso, para obtenção de diferentes fosfato de cálcio.

Em sua patente, Oliveira (2017) descreve diversos tipos de fosfatos de cálcio obtidos a partir de carbonato de cálcio ou de óxido de cálcio puro. Sua patente chama atenção, pois o rendimento proposto pelo método é elevado e não requer controle preciso variáveis, somente da adição de reagentes e controle de pH.

Monmaturapoj (2008) utilizou o método via úmida para obter nano-pó de HA com alto valor de rendimento do processo e distribuição de tamanho de partícula uniforme. Yelten-Yilmaz e Ylmaz (2018) pesquisaram o efeito da temperatura de reação para obter HA pelo método de via úmida, e o respectivo efeito no tamanho da partícula. Seus resultados mostraram que a 30 °C contribui para obter HA no formato esférico. O trabalho de Baradaran *et al*. (2018) utilizaram o método por via úmida que possibilitou a sintetização de HA em meio de tântalo, comprovando a eficiência do método em meio a outros íons.

Por questões ecológicas e de política de gerenciamento de resíduos, a literatura demonstra a alternância da origem da fonte de cálcio para os métodos de obtenção via úmida para sintetizar fosfatos de cálcio. Uma das possibilidades é utilizar o resíduo da casca de ovos como fonte alternativa de matéria-prima, devido a riqueza de carbonato de cálcio ($CaCO_3$).

Entretanto, a utilização do resíduo da casca de ovo de galinha como fonte de carbonato de cálcio depende de sua separação à matéria orgânica (membrana). Na literatura é relatado a imersão da COG em tanques de água e/ou em água corrente para este fim, o que utiliza considerável volume de água, como utilizado no trabalho de Corrêa (2014). Considera-se, entretanto, que esta é uma metodologia que contribui para o desperdício da água. Por isto há métodos alternativos para obter a COG, como

submeter a matéria prima em elevada pressão e/ou temperatura, como feito por Spelta e Galdino (2018) com a finalidade do material orgânico volatizar e manter somente a parte orgânica. Este processo também contribui para a esterilização da matéria prima (MURAKAMI, 2006).

Caliman (2011), utilizou o cálcio de cascas de ovos de avestruz pelo método de precipitação via úmida para obter hidroxiapatita. Contudo, pelas regulagens de processo, obteve uma mistura de HA e α-TCP, comprovando o efeito do pH para obter esse mineral.

Gomes *et al*. (2012) sintetizaram e caracterizaram HA e o beta fosfato tricálcio de fosfato, β-$Ca_3(PO_4)_2$, a partir da casca de ovo de galinha, explorando diferentes rotas químicas. Os autores demonstraram que os efeitos do tipo de reagentes, temperatura, pH do meio, tempo de reação e precipitação foram cruciais para a obtenção dos dois tipos de fosfato de cálcio.

Tomaselli (2014) utilizou cascas de ovos de galinha para sintetizar hidroxiapatita por via úmida e controlou o efeito do pH e temperatura na obtenção desse fosfato, caracterizando o material e comprovando sua possível aplicação para biomedicina.

Kamalanathan *et al.* (2014) utilizou como precursor resíduos de casca de ovo de galinha, sintetizou hidroxiapatita por via úmida com morfologia de bastonetes e tamanho médio de 48,2 nm. O autor, porém, utilizou consideráveis temperaturas no processo (1400°C).

Em estudos realizados por Corrêa (2015) o resíduo de casca de ovo galináceo foi aplicado como matéria-prima renovável na obtenção de biocimento à base de fosfato de cálcio nanoestruturado. A obtenção do biocimento em formato de pó de fosfato de cálcio constitui-se numa alternativa ambiental para o resíduo de casca de ovo de galinha.

Padmanabhan *et al*. (2015) utilizaram cascas de ovos de galinha como fonte biogênica de cálcio para fabricação de estruturas de colágeno reforçados com hidroxiapatita, o que foi uma aplicação pioneira para a HA proveniente de um resíduo.

Kattimani *et al*. (2016), sintetizaram HA com casca de ovo de galinha pelo método seco e aplicaram o pó obtido em um paciente com danos na região maxilar. Se utilizou HA comercial para efeito de comparação. Foi constatado que não houve diferença entre a HA obtida por resíduo e a obtida comercialmente. Considera-se que este foi o estudo mais avançado em relação à aplicação da HA proveniente da casca de ovo de galinha.

Samsudin *et al*. (2017) sintetizaram e caracterizaram HA obtida por matéria prima de casca de ovo de galinha preparada pelo método eletromecânico. Os autores concluíram que o pH de 12 foi o mais eficaz para produzir HA por este método.

Hamidi *et al*. (2017) utilizaram o método mecânico-elétrico para obter HA e analisaram a interferência do tempo de moagem e o tamanho de grão no material obtido. As partículas da HA apresentaram tamanhos no intervalo de 250 a 550 nm, enquanto o tempo de moagem contribuiu para a obtenção de uma fase mais pura do composto, contudo ainda assim houve presença de β-TCP.

Spelta (2018) obteve fosfato de cálcio a partir de diferentes tipos de casca de ovos de galinha: casca branca, caipira e vermelha. A partir de seus resultados, o autor obteve fosfato de cálcio trifásico constituído de HA, beta-TCP e pirofosfato de cálcio. O autor conclui que não houve distinção entre os fosfatos de cálcio obtidos com diferentes cascas de ovo de galinha.

Além de trabalhos acadêmicos, patentes abordam a obtenção de diferentes fosfatos de cálcio. A patente de Palmer e Rosenstiel (1989) abordou a obtenção em larga escala de hidroxiapatita por controle de pH. Entretanto, só foi na patente de Oliveira (2017) que foi desenvolvido rotas para obtenção de diferentes fosfatos de cálcio por meio de via úmida, sendo eles mono, bi e/ou trifásicos. Ressalta-se que compostos monofásicos são interessantes devido às características já exploradas no meio industrial. Entretanto, seu custo de processamento, devido ao critério do processo, é maior quando comparado a composições bi e/ou trifásicas. Além disto, composições com mais de uma fase fornecem aplicações mais personalizadas e flexíveis.

Dessa forma, evidências científicas demonstram a alternação da origem da fonte de cálcio para sintetizar fosfatos de cálcio, e a casca de ovo de galinha é uma matéria prima comprovadamente eficiente para esta aplicação. Embora os trabalhos citados obtenham os fosfatos por vias distintas, independentemente da rota, é de comum acordo entre os autores que os fosfatos de cálcio sintetizados são aptos para aplicações em biomedicina, devido a suas características intrínsecas de semelhança com o tecido ósseo humano.

Neste aspecto, uma das aplicações nobres e amplamente pesquisadas na área de biomedicina é utilizar o fosfato como cimento ósseo, no reparo direto de tecidos ósseos. Quando um material tem a função de contribuir com o crescimento local de células ósseas, preencher cavidades ou ainda cimentar próteses, aplicado em formato pastoso, chama-se este material de cimento ósseo ou biocimento (BELLUCCI *et al*., 2017; MBARKI *et al*., 2017; MELLIER *et al*., 2015; AYATOLLAHI *et al*., 2015).

## 3.3 CIMENTOS ÓSSEOS

Para Wagh *et al*. (2016), cimentos ósseos ou biocimentos são materiais compostos por uma fase sólida, no formato de pó, que receberá uma solução aquosa para ser aplicado como material destinado ao tratamento biomédico, e assim obter resistência mecânica com o tempo e temperatura. Os tipos mais comuns de cimento ósseo são os de natureza polimérica e os de natureza cerâmica, que são os cimentos de fosfatos de cálcio (CFC). Estima-se que por ano, o mercado mundial de cimento ósseo movimenta mais de 600 milhões de dólares (CANILLAS *et al.*, 2017; RATNER *et al*., 2013).

### 3.3.1 Cimentos ósseos poliméricos

Os cimentos ósseos poliméricos surgiram por volta do ano de 1934, pelas mãos do pesquisador Otto Röhn, com o PMMA (polimetilmetacrilato), o qual precisou passar por evoluções, ao longo de 40 anos, para ser utilizado como material para cimentar próteses. Porém, este material libera monômeros devido a sua reação exotérmica quando em contato com os fluidos corporais, por isso foi incorporado em sua estrutura antibiótico estabilizador. Atualmente as marcas mais famosas deste tipo de cimento

são Refobacin® e Palacos® com antibiótico gentamicina (EGE; KUN, 2001; JAEBLON, 2010; OLERUD; OLSSON; FLIVIK, 2014).

O cimento ósseo polimérico é frequentemente utilizado para realizar a interface entre a prótese e o respectivo osso. A fixação de próteses pode ser realizada com material metálico ou somente com o preenchimento do cimento ósseo PMMA na cavidade prótese-osso. Na Figura 5 é mostrado um paciente que tem em sua articulação esquerda do quadril a prótese de articulação assentada com cimento de PMMA, e no lado direito com fixação por material metálico. O benefício em utilizar o cimento de PMMA é o de ser uma técnica menos invasiva, o aumento na qualidade no implante e habilitação do paciente em menor tempo. Contudo, a utilização de PMMA não dispensa em todos os casos a utilização de material metálico, e a utilização desse material depende do quadro clínico do paciente (WROBLEWSKI; SINEY; FLEMING, 2008).

Figura 5 - Radiografia de paciente com próteses no quadril assentada com cimento PMMA (lado esquerdo) e parafusos metálicos (lado direito).

Fonte: Phillips (2008) adaptado pelo autor (2019).

Embora a aplicação de cimento de PMMA tenha sua importância, na literatura é observada uma série de consequências com seu uso. Belkoff e Molloy (2003) comprovaram que a temperatura de polimerização de um cimento a base de PMMA era superior à relatada na literatura assumia valores de até 112 °C, o que gera necrose térmica no tecido de implantação da prótese. Hulme *et al*. (2006) estudaram casos de reparos clínicos de vértebras com cimento ósseo polimérico e em 41% dos pacientes houve vazamento do material para fora da região que foi aplicado. Já Klazen *et al*.

(2010) demonstraram a relação da utilização de cimentos ósseos em vértebras com possíveis novas fraturas adjacentes.

Comparando-se as características mecânicas do cimento PMMA e do osso humano, observa-se que o módulo de elasticidade do primeiro está na faixa de 10–900 MPa, enquanto o do segundo, 1700-3700 MPa. Acredita-se que essa diferença também contribua com fraturas adjacentes no osso hospedeiro (GOLDSTEIN, 1987; NOUDA *et al*., 2009; NIEUWENHUIJSE *et al*., 2013).

Portanto, o cimento de PMMA apresenta limitações, como incorporação de antibiótico, dependência de uma prótese, temperatura de polimerização, módulo de elasticidade e inércia biológica, que dificultam sua utilização tanto em relação à sua característica de semelhança ao tecido hospedeiro quanto à sua instabilidade em fluidos corporais para aplicação como cimento ósseo. Dessa forma, pesquisas são realizadas visando obter materiais que sejam biocompatíveis e osteocondutores, como, por exemplo, HA e DCPA (CHEN *et al*., 2017).

Xin *et al*. (2016) realizaram um estudo pioneiro comparando um cimento de PMMA com o cimento de HA em aplicações vertebrais. Foi constatada que a utilização do cimento de HA promoveu menor vazamento em relação ao de PMMA e, portanto, o cimento de HA demonstra potencial em amenizar a frequência ou gravidade dos efeitos adversos no paciente. Isto também é análogo para os demais fosfatos de cálcio.

Logo, a capacidade de regeneração e reconstituição óssea dos CFC comprovam uma grande vantagem deste cimento em relação aos cimentos ósseos poliméricos à base de PMMA, devido à sua condução e estímulo de produção de células ósseas, permitindo, assim, o crescimento do tecido ao longo de sua superfície de fixação (BEN-NISSAN; LEGEROS, 2014; CALIMAN, 2011).

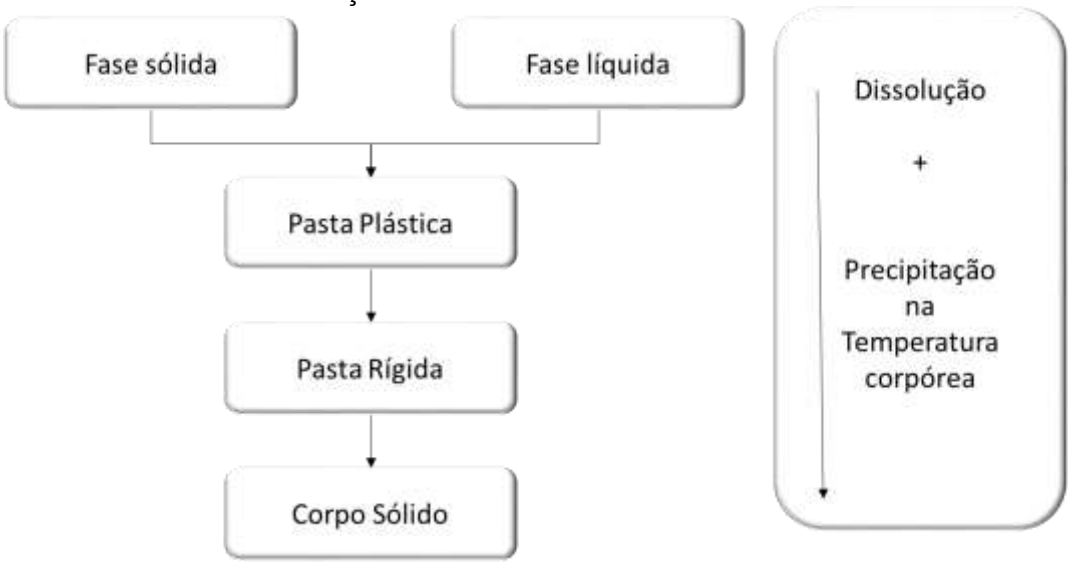
### 3.3.2 Cimentos ósseos de fosfato de cálcio

Os cimentos de fosfatos de cálcio (CFC) tiveram conceito desenvolvido no ano de 1982 por Legeros, contudo a primeira patente concedida foi apenas em 1986 por

Brown e Chow. Este foi um avanço importante no campo da pesquisa em biocerâmicas, pois se desenvolveu um material moldável que pode ser moldado à cavidade óssea, e que apresenta boa fixação e ótimo contato tecido-biomaterial, além de estimular o crescimento ósseo devido à semelhança com o tecido hospedeiro (GINEBRA, 2008; DACULSI *et al*., 2014).

Em geral, os CFC são formados ao misturar uma fase líquida, geralmente água ou uma solução aquosa, com uma fase em pó, o fosfato de cálcio, a fim de obter uma pasta que é capaz de ser moldada e ganhar consistência após ser implantado no corpo (CHEN *et al*., 2017). A pasta endurece como resultado de uma dissolução e processo de precipitação de cristais do fosfato de cálcio que os constitui. O esquema de obtenção de um cimento ósseo é mostrado na Figura 6.

Figura 6 - Processo de obtenção do cimento ósseo.



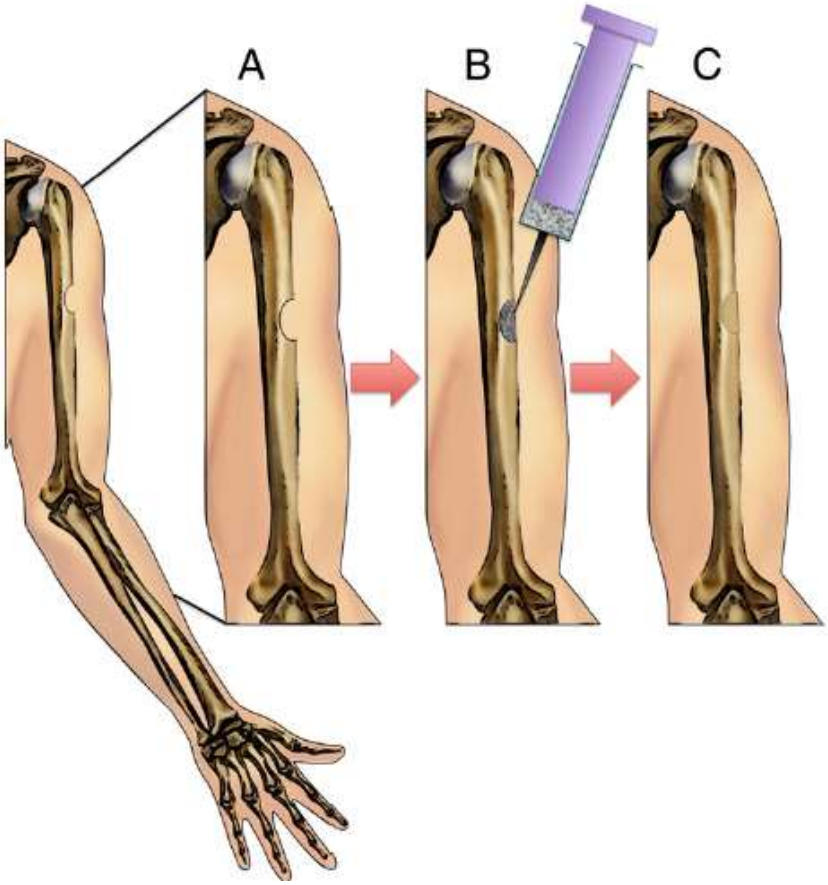

Fonte: Ginebra (2008) adaptado pelo autor (2019).

Durante a dissolução do pó no líquido há liberação de íons cálcio e fosfato, gerando uma supersaturação, fornecendo plasticidade à mistura. Uma vez que a concentração iônica atinge um valor crítico, ocorre a nucleação da nova fase, etapa denominada precipitação. Nesta etapa, o cimento começa a ganhar consistência até se estabilizar em um corpo sólido (GINEBRA, 2008).

Após a mistura do pó e líquido, o cimento pode ser tanto injetado quanto espatulado na fratura. A escolha adequada do método de aplicação do CFC varia conforme a

necessidade de intervenção cirúrgica. Portanto, o cimento ósseo fornece a opção de trabalhar com técnicas cirúrgicas minimamente invasivas *(MIST – minimally invasive surgery techniques).* A Figura 7 ilustra o CFC como material de reposição óssea injetável para preencher fraturas ou defeitos ósseos. Devido à natureza do fosfato de cálcio, o cimento ósseo injetado conduzirá ao crescimento ósseo e, dependendo do tipo de fosfato de cálcio, será substituído pelo tecido ósseo natural (MAAS; HESS; REZWAN, 2014).

Figura 7 - Representação esquemática do uso de cimento de fosfato de cálcio. (A) ocorrência de defeito ósseo, (B) injeção do cimento, e (C) restauração e remodelação óssea.

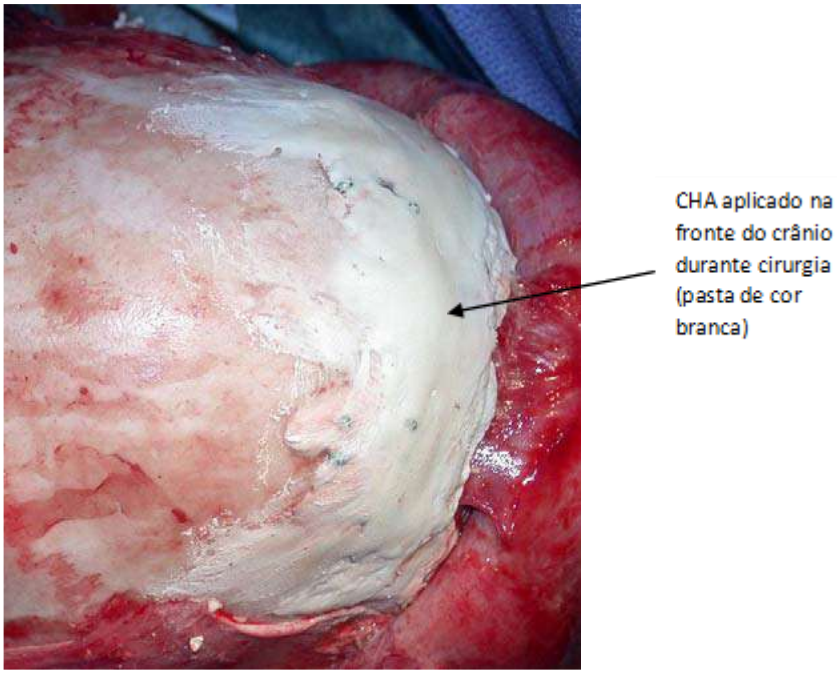



Fonte: Maas, Hess e Rezwan (2014)

Contudo, o CFC pode também ser espatulado localmente, ou seja, devido à dimensão da fratura é mais conveniente aplicar topicamente o cimento na região fraturada. Um exemplo é o trabalho de Hollier e Stal (2004), que estudaram uma cirurgia em que o paciente necessitou de uma intervenção com cimento ósseo, neste caso de HA, para restaurar a parte frontal do crânio, conforme Figura 8. Os resultados demonstraram

que o paciente não reagiu adversamente ao material e contribuiu para o crescimento ósseo local.

Figura 8 - Parte frontal do crânio com processo de cimentação por cimento de hidroxiapatita (CHA)




Fonte: Hollier e Stal (2004) adaptado pelo autor (2019).

Atualmente, no mercado mundial, há mais de 20 tipos de cimento de fosfato de cálcio no mercado (DOROZHKIN, 2013). Varia-se, entre os tipos de fosfato, a relação pó:líquido, o tipo de líquido utilizado e a natureza do fosfato de cálcio para compor o cimento ósseo. Na Figura 9, há a imagem do cimento ósseo injetável/pastoso da empresa Shanghai *Rebone Company*® para fornecer uma ideia direta do cimento ósseo.

Figura 9 - Cimento ósseo de fosfato de cálcio da empresa Shanghai *Rebone Company®*.

Fonte: Chen *et al*. (2018) adaptado pelo autor (2019).

As propriedades dos CFC estão diretamente ligadas com a proporção líquido:pó, bem como sua constituição. Aditivos e aceleradores de reação líquidos ou em pó podem ser utilizados para melhorar as propriedades gerais do cimento, tais como: tempo de pega; porosidade; e resistência mecânica (ISHIKAWA, 2014).

O tempo de pega, relacionado aos biocimentos, é definido como o tempo necessário para que o cimento ganhe resistência a uma força aplicada (KUHN, 2001). Atualmente, os métodos de agulhas de Gillmore e Vicat são comuns para medir tempo de pega e para estimar o início do processo de ganho de resistência, geralmente na ordem de minutos ou horas. Ressalta-se que um menor de tempo de pega não significa uma excelente configuração: o CFC deve ganhar resistência gradual o suficiente para fornecer tempo ao cirurgião para realizar o implante, mas deve ser rápido o bastante para evitar atraso no procedimento (DRIESSENS *et al*., 2003; GINEBRA, 2008; ZHANG *et al*., 2014).

Já a porosidade é um dos principais parâmetros microestruturais que influenciam nas propriedades mecânicas dos biomateriais. A microporosidade própria do cimento de hidroxiapatita geralmente varia entre 30 e 55%, e é significativamente dependente da relação líquido:pó: quanto maior esta relação, maior a microporosidade e mais indicado para utilização como osteocondutor, porém a resistência mecânica é menor (ZHANG; TANCRET; BOULER, 2011; ALVES, 2005).

As propriedades de resistência mecânica, do ponto de vista científico, estão diretamente relacionadas com suas propriedades microestruturais. Portanto, é provável que todos os fatores, como a composição química do cimento, as proporções relativas dos reagentes na mistura, aditivos em pó ou líquidos que atuem como aceleradores, e afetarão as propriedades mecânicas, microestruturais e até mesmo o tempo de pega (ZHANG; TANCRET; BOULER, 2011).

Motisuki (2010) estudou o efeito do magnésio e do silício na estrutura de cimento de HA e concluiu que o magnésio melhora as propriedades de biocompatibilidade; resultados análogos foram encontrados por Chadda *et al*. (2016). Já Mellier *et al*. (2017), para reduzir as taxas de absorção da HA, adicionou gálio à composição e obteve excelentes respostas na interface do implante.

Alves (2005), para fabricar cimento de fosfato de cálcio utilizou 2,5% em massa de hidrogenofosfato de sódio ($Na_2HPO_4$) dissolvido em água destilada para acelerar a reação de pega e mais oito tipos de aditivos para avaliar propriedades de injetabilidade: CMC (carboximetilcelulose), polímero de AGAR, alginato de sódio, quitosana, pirofosfato de sódio, lignosulfonato de sódio, glicerina e ácido láctico, todos em três concentrações (0,8%, 1,6% e 3,2% em massa). Seus resultados mostraram que a utilização de $Na_2HPO_4$ retardou o tempo de pega e 1,6% de CMC, 1,6% de AGAR e 0,8% de alginato de sódio, permitiram a obtenção de uma viscosidade suficiente para uma boa injetabilidade do cimento ósseo, apresentando, ao final da pega, resistência mecânica à compressão semelhante ao do osso esponjoso.

An *et al*. (2016) utilizaram CMC para melhorar as propriedades de manipulação dos de cimentos à base de fosfato de cálcio e contribuir para retardar a degradação do fosfato. Os resultados mostraram que, após 26 semanas de implante do material, houve não somente crescimento ósseo periférico ao CFC, mas em toda a dimensão do material. Já Sakamoto *et al*. (2018) realizaram ensaios de biocompatibilidade do CMC junto ao fosfato de cálcio. Os autores concluíram que a resposta de crescimento do tecido ósseo com este material foi ótima.

Hsu, Tuan e Lee (2009) obtiveram cimento de hidroxiapatita por via úmida e utilizaram como aditivo somente o $Na_2HPO_4$ para comprovar sua eficácia como catalisador de reação.

Cardoso (2010) também utilizou $Na_2HPO_4$ a 2,5% em massa para acelerar a reação no processo de obtenção do cimento ósseo e como aditivo da fase sólida o ácido cítrico, $C_6H_8O_7$, e o ácido tânico, $C_{76}H_{52}O_{46}$, nas porcentagens, respectivamente, de 1,5% e 5% em massa, a fim de analisar as propriedades mecânicas e avaliação de citotoxicidade do cimento obtido. Todas as combinações de aditivos utilizadas aceleraram a cinética da reação e aumentaram a resistência mecânica do cimento de fosfato de cálcio, obtendo-se até 47,1 MPa para a composição de 2,5% $Na_2HPO_4$ + 1,5% $C_6H_8O_7$ após 168h de pega e não houve reação tóxica no ensaio in vitro.

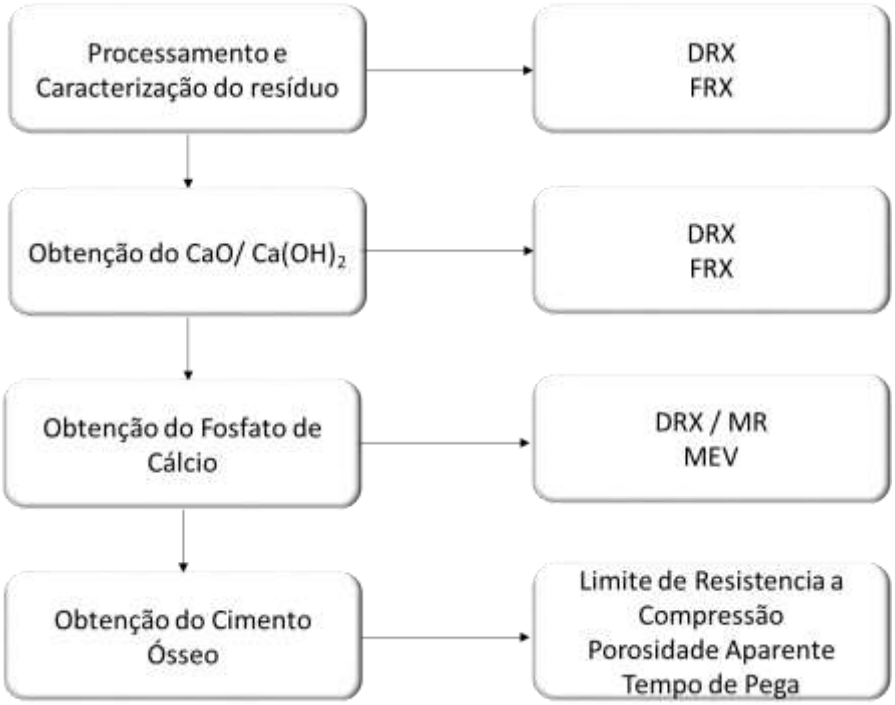
Rabiee, Moztarzadeh e Solati-hashjin (2010) estudaram a incorporação de monosódio fosfato, $NaH_2PO_4$ para obter cimento de HA. Foi variado a porcentagem desse aditivo de 1 a 4% em massa, o que também variou a razão líquido:pó. Constatou-se que conforme se aumentou a concentração da fase líquida, a resistência à compressão do cimento diminuiu e a cinética da reação foi aumentada.

Dessa forma, percebe-se que os aditivos contribuem significativamente para atribuir propriedades aos cimentos ósseos. Destaca-se o $Na_2HPO_4$ como acelerador de reação e tantos outros que melhoram as características de injetabilidade, resistência mecânica e resposta de osteocondução. Contudo, o fator líquido:pó também deve ser monitorado com a variação da composição química do cimento, pois interfere tanto quanto os aditivos líquidos ou em pó (ZHANG *et al*., 2014).

# 4 METODOLOGIA

A Figura 10 apresenta o esquema simplificado do procedimento experimental para a realização deste trabalho, desde a casca de ovo de galinha até a obtenção e caracterização do cimento ósseo. O procedimento experimental deste trabalho foi, predominantemente, realizado no Instituto Federal do Espírito Santo – IFES Campus Vitória, em diferentes laboratórios.

Figura 10 - Esquema das etapas experimentais propostas para este trabalho




Fonte: elaborado pelo autor (2019)

## 4.1 PROCESSAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DA CASCA DE OVO DE GALINHA (COG)

A casca de ovo de galinha utilizada neste trabalho é a casca de ovo de galinha branco (COB). Entre as variedades de ovos mais comuns, destaca-se o branco, caipira e vermelho, os quais apresentam uma diferença pequena em relação ao teor de cálcio na casca, porém a coloração escura nos vermelhos e nos ovos escuros caipiras pode ser atribuída à presença de íons de ferro, o qual para uma aplicação biológica, como o cimento ósseo, pode trazer reações adversas ao organismo (RODRIGUES; ÁVILLA, 2017). Dessa forma, utiliza-se o resíduo da casca de ovo de galinha branco.

A Figura 11 demonstra o esquema que representa simplificadamente as etapas de processamento e caracterização das COG utilizadas neste trabalho.

Figura 11 - Etapas de processamento e caracterização da COG

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

### 4.1.1 Processamento da casca de ovo de galinha

A casca de ovo de galinha branco utilizada neste trabalho foi recebida como doação de estabelecimentos localizados região da grande Vitória-ES, conforme Figura 12.

Para processá-la, a casca de ovo foi levada ao forno tipo mufla, a aproximadamente 100°C por 2 h, com o objetivo de retirar a umidade e esterilizar as amostras, para que as análises posteriores da matéria prima não sejam comprometidas, além de facilitar o armazenamento em relação ao odor.

Figura 12 - Parte da Matéria-prima como recebida.

Fonte: elaborado pelo autor(2019)

A matéria prima, então, foi cominuída por 12 h a 249 RPM, em Moinho de Bolas Marconi, modelo MA590, no Laboratório de Cerâmica do IFES Campus Vitória.

Após este processo, o pó de cascas de ovos foi peneirado utilizando uma peneira padrão ABNT n°. 80 (0,177 mm de abertura) para padronizar a granulometria da matéria prima. Para tanto, utilizou-se agitador eletromagnético marca ProduTest, do laboratório de Solos do IFES Campus Vitória.

### 4.1.2 Caracterização do pó da Casca de Ovo de Galinha

Para caracterizar a matéria prima obtida, utilizaram-se duas técnicas: Fluorescência de Raios X (FRX) e Difração de Raios-X (DRX).

#### 4.1.2.1 Difração de raios-X (DRX)

A análise de DRX foi realizada de forma qualitativa para análise do material, no Laboratório de Caracterização de Materiais do IFES Campus Vitória, utilizando o difratômetro Bruker D2 Phaser. O equipamento foi operado numa potência de 40kV/20mA com radiação incidente de Cu ($\lambda k\alpha$). As amostras foram medidas num intervalo de 10° a 60° no modo de varredura contínua com velocidade de 1°/min com passos de 0,02° em temperatura ambiente (~23°C). Para a análise dos resultados, as

difrações obtidas foram comparadas com cartões de referência da base de dados PDF2 do ICDD (International Center for Diffration Data), disponível no software Xpowder® para facilitar a identificação das fases.

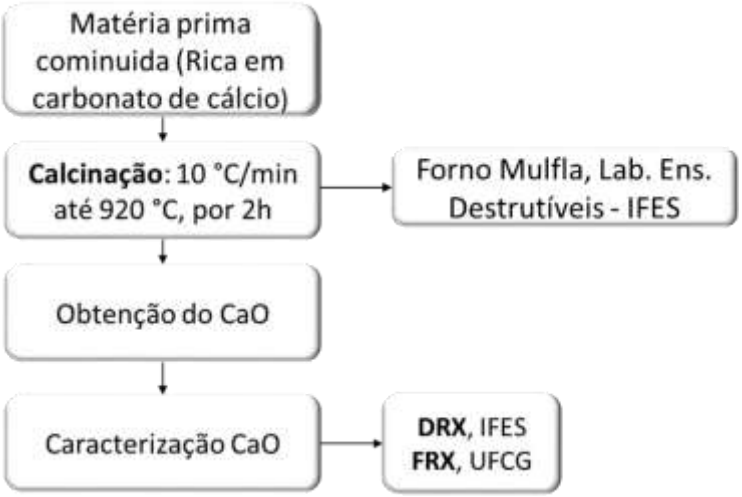
#### 4.1.2.2 Fluorescência de raios X (FRX)

O pó de casca de ovo foi submetido à análise por FRX para identificar e quantificar concentrações elementares do composto. Esta análise foi realizada Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais (UAEMa), na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), utilizando o equipamento EDX 720 da Shimadzu.

## 4.2 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓXIDO DE CÁLCIO

Para utilização da COG como matéria prima, é necessário a obtenção do óxido de cálcio (CaO) a partir do carbonato de cálcio ($CaCO_3$) presente na COB. A Figura 13 representa as etapas da obtenção e caracterizações do óxido de cálcio obtido.

Figura 13 - Esquema de obtenção e caraterização do óxido de cálcio

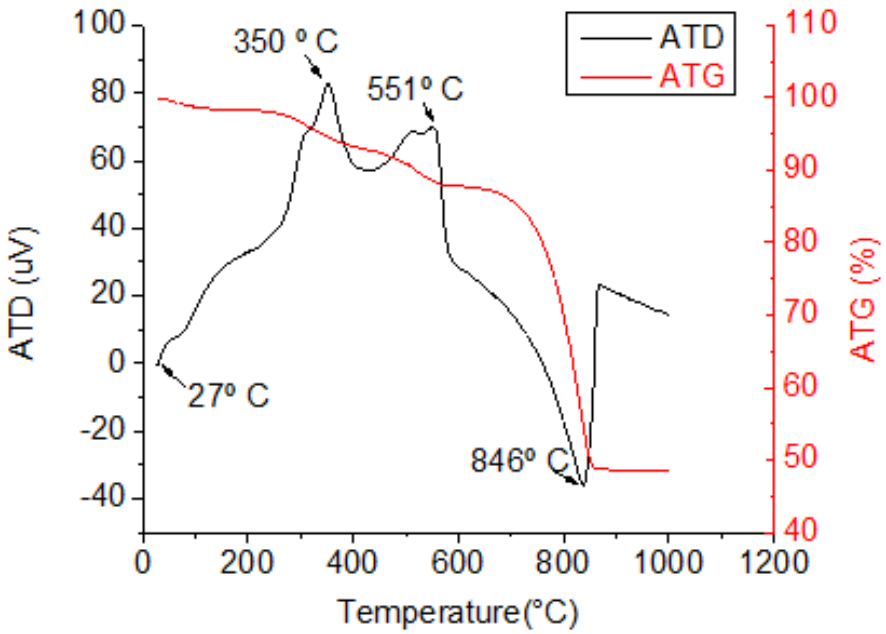



Fonte: elaborado pelo autor (2019)

### 4.2.1 Obtenção do óxido de cálcio (CaO) por Calcinação

A matéria-prima oriunda da casca de ovo de galinha em formato de pó foi submetida ao processo de calcinação, o qual tem por objetivo converter o carbonato em óxido de cálcio em óxido de cálcio. Para definição da temperatura de calcinação, utilizou-se a análise termogravimétrica obtida por Spelta e Galdino (2018) para casca de ovo branco, conforme Figura 14.

Figura 14 - Analise Termogravimétrica para a casca de ovo branco




Fonte: Spelta e Galdino (2018).

A análise termogravimétrica de Spelta (2018), conforme Figura 14 demonstra que a 846 °C há uma perda de massa significativa, atribuída à conversão do carbonato em óxido de cálcio. Entretanto, utilizou-se a temperatura de 930 °C para garantir calcinação completa do material e também por este trabalho não considerar a pressão parcial de $CO_2$ no interior do forno (SHINDO, 2017). O material foi depositado em um cadinho de argila em finas camadas, visto que o $CaCO_3$ e o CaO são maus condutores de calor e espessas camadas podem não garantir a completa calcinação do material.

A calcinação é um processo endotérmico que envolve a reação de decomposição térmica do carbonato de cálcio ($CaCO_3$) em óxido de cálcio (CaO) e dióxido de carbono de acordo com a Equação 3 (MIKULČIĆ, 2012).

$$CaCO_3 \xrightarrow{\Delta} CaO + CO_2 \quad (3)$$

Segundo Rodrigues e Ávila (2017), o rendimento em massa da conversão de cascas de ovos para o óxido de cálcio é de aproximadamente 2:1. O tratamento térmico a que se refere à Equação (3) foi realizado no forno tipo mufla da marca Fortelab, modelo ME 1700, no Laboratório de Ensaios não-destrutívos do Instituto Federal do Espírito Santo. Após o processo de calcinação, visualmente, o material obtido de CaO em relação a casca de ovo apresentou coloração branca, conforme Figura 15.

Figura 15 - Comparação entre os pós de casca de ovo cominuída (a esquerda) e do CaO obtido após a calcinação (a direita)

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

### 4.2.2 Caracterização do CaO

Para caracterização do óxido de cálcio obtido, foram utilizadas duas técnicas: DRX e FRX.

#### 4.2.2.1 Difração de raios-X (DRX)

A análise de DRX foi realizada de forma qualitativa para análise do material, no Laboratório de Caracterização de Materiais do IFES Campus Vitória, utilizando o Difratômetro Bruker D2 Phaser. O equipamento foi operado numa potência de

40kV/20mA com radiação incidente de Cu ($\lambda k\alpha$). As amostras foram medidas num intervalo de 10° a 80°, por ser um intervalo relevante para o CaO, no modo de varredura contínua com velocidade de 1°/min com passos de 0,02° em temperatura ambiente (~23°C). Para a análise dos resultados, as difrações obtidas foram comparadas com cartões de referência da base de dados PDF2 do ICDD (International Center for Diffration Data), disponível no software Xpowder® para facilitar a identificação das fases.

#### 4.2.2.2 Fluorescência de raios X (FRX)

O pó de casca de ovo foi submetido à análise por FRX para identificar e quantificar concentrações elementares presentes no óxido de cálcio obtido. Esta análise foi realizada Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais (UAEMa), na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), utilizando o equipamento EDX 720 da Shimadzu.

## 4.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO FOSFATO DE CÁLCIO

Para obter o cimento ósseo é necessário sintetizar fosfato de cálcio. A Figura 16 demonstra o esquema do procedimento experimental utilizado nesse trabalho.

Figura 16 - Etapas da obtenção e caracterização do fosfato de cálcio obtido.

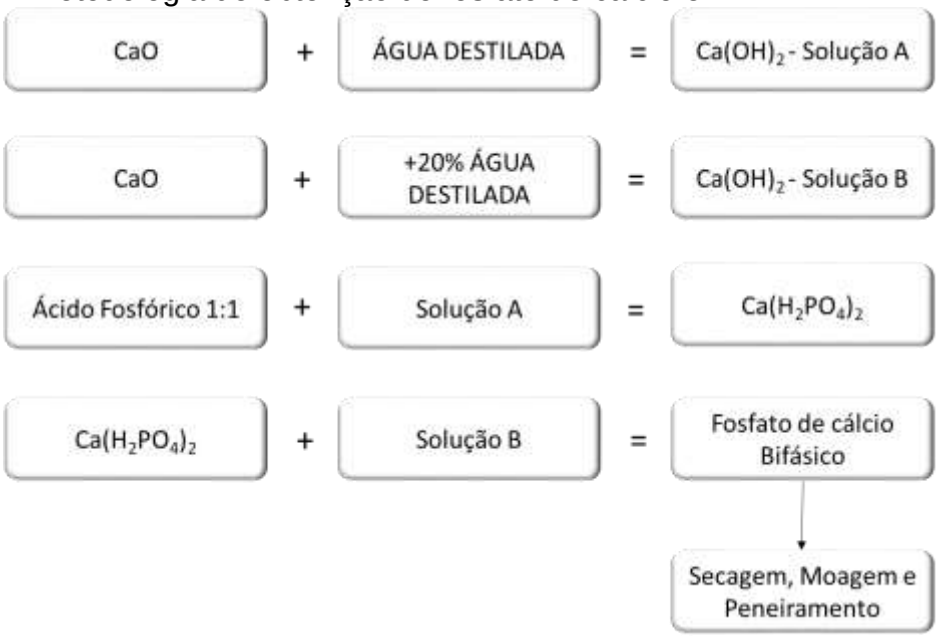
Fonte: elaborado pelo autor (2019)

### 4.3.1 Obtenção do fosfato de cálcio bifásico

Para obter o fosfato de cálcio, utilizou-se o método de precipitação pela rota da patente de Oliveira (2017). Este método permite a produção de fosfato bifásico de DCPA e HA, e apresenta elevada produtividade. Além disto, como a HA é biativo e DCPA é reabsorvível, a junção destes fosfatos pode fornecer boas características de osteocondução se comparado com os fosfatos implantados isoladamente.

A Figura 17 demostra o resumo da metodologia proposta na patente de Oliveira (2017), US9776870, para obtenção do pó de HA e DCPA. O inventor denomina esta composição de CP17 (OLIVEIRA, 2017, p. 31). Esta etapa experimental foi realizada no Laboratório de Biomateriais do CEFET-MG.

Figura 17 - Metodologia de obtenção do fosfato de cálcio e




Fonte: elaborado pelo autor (2019)

Inicialmente, o CaO obtido pelo processo de calcinação da casca de ovo de galinha é hidratado com água destilada para formar $Ca(OH)_2$ conforme a Equação (4). A proporção em massa de CaO em relação a massa de água deve estar na ordem de 1:10. Neste trabalho foi utilizado 500g de CaO e a mistura do pó na água foi feita por

aproximadamente 20 min para completa dissolução. A solução obtida é denominada Solução A, conforme Figura 17.

$$CaO_{(s)} + H_2O_{(l)} \rightarrow Ca(OH)_{2\,(l)} \quad (4)$$

Em recipiente distinto, a mesma metodologia é seguida conforme obtenção da Solução A, inclusive em quantidade de massa de CaO. Entretanto, a nova solução terá 20% a mais de água adicionada, em massa, em relação à Solução A. Esta nova solução denomina-se Solução B, conforme Figura 17. Ambas as Soluções devem ter pH em torno de 12. Neste trabalho foram utilizadas tiras universais para medição de pH, da marca Kasvi.

Para a terceira etapa, utilizou-se 812g de ácido orto-fosfórico 85%da Merk®, o qual foi diluído em 812g de água destilada. Essa solução ácida foi lentamente adicionada à Solução A, em agitação manual constante. A solução final teve o pH entre 1-2, e o produto final obtido foi $Ca(H_2PO_4)_2$. O processo de mistura e agitação da solução resultante durou aproximadamente 100 min.

Por fim, o produto $Ca(H_2PO_4)_2$ foi lentamente adicionado à solução B, em agitação manual constante. O processo de adição e mistura durou em torno de 100 min. O produto final foi o próprio fosfato de cálcio (bifásico), com pH na faixa de 7-8. Esta solução foi deixada por aproximadamente 3 h até o material precipitar completamente (Figura 18).

Figura 18 - Fosfato de cálcio obtido no processo de precipitação

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

Após o pó precipitar, foi retirado o excesso de água superficial com um tubo flexível, por gravidade. Porém, como o material obtido ainda estava hidratado, este foi submetido à secagem em estufa a aproximadamente 120 °C para obtenção do pó de fosfato de cálcio. Esta etapa foi realizada no Laboratório de Biomateriais do CEFET-MG, na estufa da CIENLAB, conforme

Figura 19, com circulação de ar, por 24h até que a água fosse completamente eliminada.

Figura 19 - (a) Estufa utilizada no processo de secagem. (b) interior da estufa com o fosfato de cálcio hidratado.

(a) (b)

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

O material obtido após a etapa de secagem apresentou formato de placas, conforme Figura 20. Para a formação do cimento é necessário que o material esteja em pó.

Figura 20 - (a) Fosfato de cálcio imediatamente após 24h na estufa. (b) Placas obtidas com o processo de secagem

(a) (b)

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

Dessa forma, o material foi cominuído em moinho de Bolas, marca Marconi, modelo MA590, do laboratório de Cerâmicas do IFES, durante 3 h a 150 RPM. Então, para padronizar o tamanho médio das partículas, o material foi peneirado em agitador magnético da marca ProduTeste, no Laboratório de Solos do IFES, conforme Figura 21, inicialmente em peneira ABNT n°.80 (abertura 180 µm), posteriormente em peneira ABNT n°.200 de abertura 75 µm e finalmente na peneira ABNT n°.270 (abertura 53 µm).

Figura 21 - Agitador magnético para peneiras

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

### 4.3.2 Caracterização do Fosfato de cálcio

#### 4.3.2.1 DRX

A análise de DRX foi realizada nas mesmas condições descritas anteriormente, tanto para operação quanto para análise do material. Entretanto, o intervalo de varredura utilizado foi de 20° a 60°.

#### 4.3.2.2 Método de Rietveld (MR)

O método Rietveld permitiu refinar a amostra do fosfato de cálcio obtido em relação às fases presentes de forma quantitativa a partir dos difratogramas obtidos na DRX. Essas fases são refinadas de modo que o difratograma calculado se aproxime do

difratograma observado. O programa utilizado para análise por Rietvield foi o X'pert HighScore Plus® da PANanalytical, nos parâmetros fornecidos pelo programa do DRX.

#### 4.3.2.3 MEV

A análise por MEV teve como objetivo auxiliar as investigações das características microestruturais do HA e DCPA obtido. Neste caso, o interesse particular em utilizar a MEV foi para análise do tamanho de grão, formato e distribuição das partículas. Como o material a ser analisado não é condutor, as amostras foram previamente recobertas com ouro e depois levadas ao equipamento da marca ZEISS, modelo EVO MA10 do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do IFES, Campus Vitória.

## 4.4 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO CIMENTO ÓSSEO

### 4.4.1 Obtenção do cimento ósseo

O cimento ósseo proposto teve como principais constituintes o fosfato de cálcio em pó e uma solução líquida, a qual contém o acelerador de reação. O solvente da solução líquida foi a água destilada por ser um material que não modificará as propriedades do fosfato de cálcio. O cimento ósseo depende principalmente, segundo Liu e He (2017) de:

i) Proporção líquido:pó;
ii) Adições;
iii) Acelerador de reação de pega (catalisador);

A relação líquido:pó (L:P) foi feita com base em ensaios práticos e iterativos para a obtenção de uma mistura pastosa e fácil de manusear. Dessa forma optou-se por dois valores: 1,0 mL/g e 1,1 mL/g. Embora a diferença de volume seja de apenas 0,1 mL/g, optou-se por essa análise visto que os valores com diferenças superiores forneceram pastas cimentícias com características de manuseio muito distintas.

Devido aos melhores resultados em questão de porosidade e resistência mecânica, conforme trabalho de Alves (2005) adicionou-se carboximetilcelulose (CMC), da

marca Denver®, nas concentrações de 1,6% e 3,2% em massa. Esta adição tem propriedades de facilitar a mistura da pasta e propriedades de porosidade. Este material é um pó de coloração amarelada e foi doado pela empresa Denver Especialidades Químicas do lote 442891 – 30000, de marca comercial Denvercel PH-40A.

Já o acelerador de reação selecionado foi o $Na_2HPO_4.12H_2O$ (hidrogeno fosfato dissódico decahidratado) da marca Êxodo, lote 81112989, por ser um acelerador de tempo de reação difundido entre as pesquisas científicas (CARDOSO; MOTISUKE; ZAVAGLIA, 2011; FATHI *et al*., 2019). Foi utilizado este material nas concentrações de 2,5% e 5,0% em volume, como soluto na água destilada, a qual será a fase líquida a ser misturada no cimento de fosfato de cálcio.

A Tabela 4 apresenta as condições do planejamento fatorial do experimento.

Tabela 4 - Condições experimentais do planejamento fatorial.

| Condição | Proporção L/P (mL/g) | Acelerador de reação (% massa) | Adição CMC (% massa) |
|---|---|---|---|
| C1 | 1,0 | 2,5 | 1,6 |
| C2 | 1,0 | 2,5 | 3,2 |
| C3 | 1,0 | 5,0 | 1,6 |
| C4 | 1,0 | 5,0 | 3,2 |
| C5 | 1,1 | 2,5 | 1,6 |
| C6 | 1,1 | 2,5 | 3,2 |
| C7 | 1,1 | 5,0 | 1,6 |
| C8 | 1,1 | 5,0 | 3,2 |

*mL/g

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

#### 4.4.1.1 Obtenção dos corpos de prova

Para a obtenção dos corpos de prova, foi necessário misturar os pós de fosfato de cálcio e CMC, e posteriormente a solução de acelerador de reação. A mistura do

cimento com as adições descritas na Tabela 4 se deu por mistura manual via técnica de espatulação.

O pó de fosfato de cálcio e de CMC foram pesados conforme proporções da Tabela 4 em balança analítica ATY 224 da Shimadzu, no laboratório de Ensaios Não Destrutivos do IFES, e misturados de forma planetária por três minutos em um recipiente hermeticamente fechado. Em seguida, a fase líquica contendo o acelerador de reação foi adicionada à mistura de fosfato de cálcio e CMC.

Embora as proporções líquidas estejam representadas em unidade de volume por grama (mL/g) na Tabela 4, todo o líquido utilizado neste trabalho foi pesado em balança analítica para evitar erros de leituras. A adição de líquido foi realizada parcialmente ao pó: adicionou-se parte do líquido de forma pontual ao cimento, conforme a Figura 22, com o auxílio de uma seringa de 20 mL, até a mistura se tornar pastosa. A homogeneização completa aconteceu após 3 min em relação à primeira adição de água.

Figura 22 - Adição de água ao cimento de fosfato de cálcio

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

A escolha da mistura manual foi devido à aplicação prática do cimento ósseo. Espera-se que o profissional que utilizar o cimento ósseo proposto possa realizar a mistura manual sem dificuldades, através de uma simples técnica de espatulação.

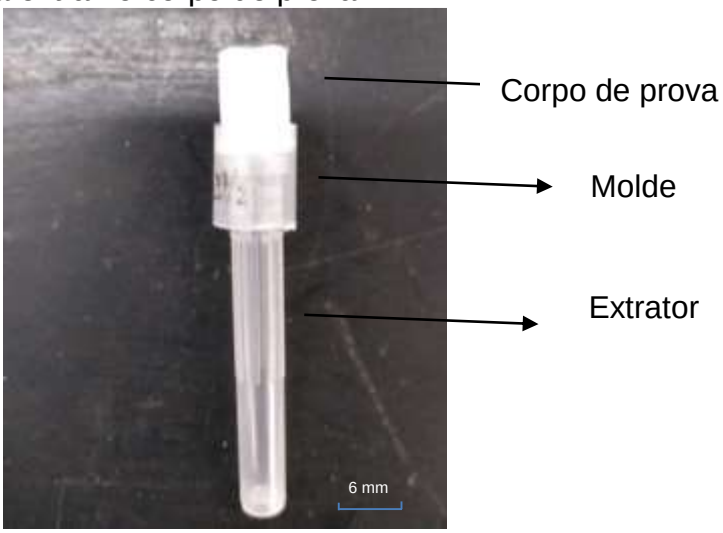
Para os ensaios de porosidade aparente e de resistência mecânica os corpos de prova foram cilíndricos com as dimensões estabelecidas (6 mm de diâmetro e 12 mm de altura) pela norma da *American Society for Testing Materials (*Sociedade Americana de Testes de Materiais), ASTM F 451-95 (especificação para testes em cimentos acrílicos), visto que não há normas para cimentos de fosfatos de cálcio. O formato se deu por moldes, conforme a Figura 23, em material polimérico proveniente de seringas descartadas no laboratório de Química da Faculdade Multivix unidade São Mateus. Ressalta-se que as essas tinham 6 ± 1 mm de diâmetro e foram seccionadas a 12 mm ± 1 mm de altura, atendendo à norma citada. Este foi um material que não estava contaminado biologicamente, visto que sua utilização é para aulas de laboratório com reagentes, sem contato com fluidos corporais.

Figura 23 - Moldes dos corpos de prova do cimento ósseo

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

Em seguida à mistura do cimento, o material foi conformado aos moldes, sem compactá-los. Após esta etapa, eles foram extraídos com a ajuda de um punção polimérico após 24 h no molde, conforme a Figura 24.

Figura 24 - Punção para extrair o corpo de prova.



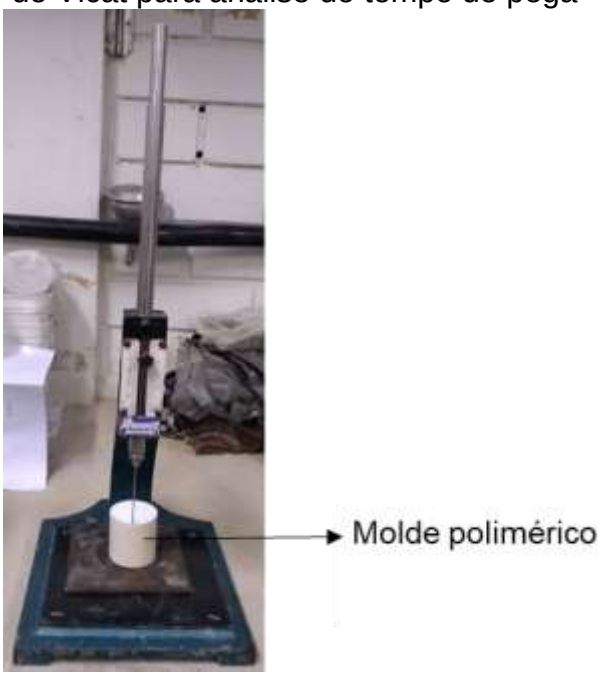

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

### 4.4.2 Caracterização do cimento ósseo

Quanto aos ensaios de caracterização para o cimento ósseo, Strowski *et al*. (2015) definiram que o ensaio de pega é um dos mais relevantes para caracterização de cimento devido à determinação de tempo de manejo do material e endurecimento. Contudo, o ensaio de tempo de pega por si só não fornece dados de microestrutura e informações do comportamento mecânico. Dessa forma, para a análise no cimento ósseo tornar-se plausível, considerou-se também a análise da porosidade aparente e do limite de resistência à compressão.

Para ensaio de tempo de pega do cimento ósseo, foi utilizado o método de agulhas de Vicat via adaptação da norma NBR 16607 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2018), que traz valores de tempo de pega para cimento Portland, visto que para biocimentos de fosfato de cálcio não há normas para esse ensaio. Esse ensaio foi realizado no laboratório de Concreto do IFES Campus Vitória com o equipamento de Vicat, conforme a Figura 25, seguindo a norma atualizada.

Figura 25 - Aparelho de Vicat para análise do tempo de pega




Fonte: elaborado pelo autor (2019)

O molde padrão que é utilizado para este ensaio é um tronco de cone e são necessários 500g de material para realizar a mistura, conforme a NBR 16607. Entretanto, 500g de mistura do biocimento causaria desperdício da matéria prima a cada ensaio realizado. Por este motivo e por não haver normas que regulamentem a obtenção do tempo de pega de cimento de fosfato de cálcio, optou-se em utilizar um molde polimérico de 40 mm de altura e 40 mm de diâmetro, representado também na Figura 25.

Para cada ensaio, por amostra, foi utilizado 20g de pó do biocimento, que ocupou toda a cavidade do molde. A mistura foi realizada manualmente por espatulação durante 3 min e depositada no molde sem comprimir excessivamente o material. Para cada composição, o ensaio de tempo de pega foi realizado em duplicata. Por análise iterativa, as penetrações foram feitas a cada 15 minutos. Ressalta-se que a norma para tempo de pega exige que seja realizada antes do ensaio a determinação da consistência normal da pasta pela norma NBR 16606 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2018); entretanto, essa etapa não se justifica visto que o quantitativo de água é justamente uma variável do processo.

Para cálculo da porosidade aparente dos corpos de prova foi utilizada a norma NBR ISO 10545-3 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2017), no laboratório de Ensaios Não Destrutivos do IFES Campus Vitória. Foi utilizado o kit de densidade em conjunto com a balança analítica ATY 224 da Shimadzu, conforme Figura 26. Para realização do ensaio de porosidade aparente, tomou-se o cuidado de não ter variações de temperaturas de ± 2 °C e utilizou-se a balança em um momento sem tráfego de pessoas no laboratório e os demais equipamentos foram desligados, para evitar vibrações na balança analítica.

Figura 26 - Kit de densidade da balança Shimadzu

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

Esse ensaio utiliza o princípio de Arquimedes, no qual as amostras são pesadas a seco, imersas e úmidas. Utilizou-se álcool etílico anidro como líquido de flotação, pelo fato desse líquido não permitir reações diversas no material e pela elevada solubilidade da DCPA em água. Para o peso seco, as amostras foram extraídas dos moldes e logo pesadas. Cada amostra foi enumerada, conforme a Figura 27, e mantidas imersas em álcool anidro em volume padrão de 50 mL por 24 h para obtenção da massa úmida e imersa.

Figura 27 - Amostras enumeradas para ensaio físico de porosidade

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

Para o cálculo da porosidade aparente, utilizou-se a Equação 5.

$$PA\ (\%) = \left(\frac{M_u - M_s}{M_u - M_i}\right) \times 100 \qquad (5)$$

Onde $PA\ (\%)$ é a porosidade aparente das amostras, ou seja a porcentagem de espaços vazios na amostra; $M_u$ é a massa úmida, $M_s$ a massa seca e $M_i$ a massa imersa; todas as unidades das massas estão em grama. Para cada composição, o resultado da porosidade aparente é a média aritmética com desvio padrão do ensaio realizado em oito corpos de prova.

A propriedade mecânica analisada foi o limite de resistência à compressão axial (LRC). Foram utilizados oito corpos de prova para cada composição, que foram submetidos à compressão axial até a sua fratura. Os resultados obtidos foram representados pela média aritmética e desvio padrão do LRC. Para tanto, adaptou-se a norma ASTM C 1424 – 99 (ensaio de compressão para cerâmicas avançadas em temperatura ambiente).

Durante o processo de fabricação dos corpos de prova podem existir defeitos em sua estrutura, como vazios e trincas devido ao processo de obtenção dos mesmos. Por isso selecionou-se aquelas amostras que eram isentas de quaisquer defeitos superficiais e essas foram submetidas ao processo de lixamento para deixar suas faces paralelas, conforme a norma exige. Para isso, foi utilizada uma politriz com lixa de granulometria n°. 600.

Para os resultados de resistência mecânica à compressão, utilizou-se a máquina universal de ensaios Emic DL10000 do Laboratório de Ensaios Destrutivos do IFES Campus Vitória. Com o ensaio de resistência mecânica pode-se determinar a carga máxima necessária para o cálculo da resistência mecânica dos corpos-de-prova. A resistência mecânica a compressão é dada pela tensão de ruptura última do corpo-de-prova, que é dependente da força atuante na área efetiva da seção reta do corpo-de-prova. A resistência mecânica a compressão foi calculada de acordo com a Equação 6.

$$\sigma = \left(\frac{F}{A}\right) \tag{6}$$

onde σ é o limite de resistência à compressão [MPa]; F é a carga [N] necessária para a fratura; e A é a área da seção transversal dos corpos de prova [$mm^2$].

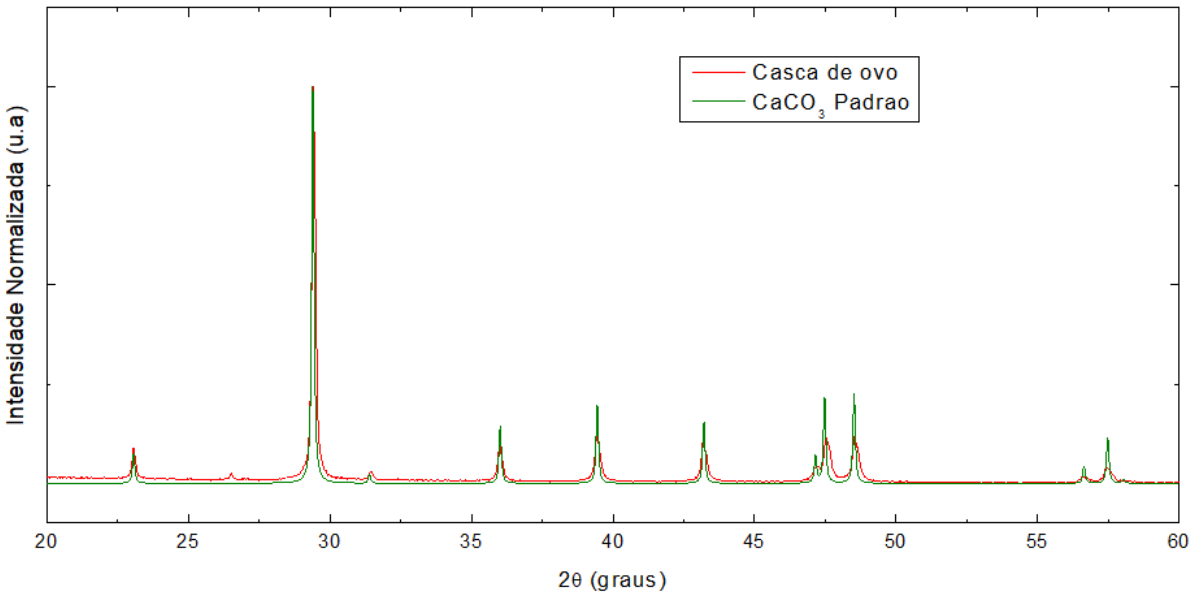
# 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

## 5.1 CARACTERIZAÇÃO DA CASCA DE OVO DE GALINHA

### 5.1.1 Difração de Raios-X

A Figura 28 representa o difratograma de raios X da casca do ovo de galinha.

Figura 28 – Difratograma de raios X das cascas de ovos de galinha




Fonte: elaborado pelo autor (2019).

Observa-se pelo difratograma de raios X que há fases cristalinas bem definidas, isto é, apresenta picos bem característicos da substância em análise. Pela coincidência dos picos com o padrão, pode-se inferir que essa substância se trata da calcita, um polimorfo do $CaCO_3$ (ICDD-PDF nº 01-085-1108), componente majoritário das cascas de ovos de aves (RODRIGUES; ÁVILA, 2017). Muitos resultados análogos são apresentaram por diversos autores, entre eles Caliman (2011), Gomes (2012), Ho *et al*. (2013), Tomaselli (2014), Kamalanathan *et al*. (2014), Corrêa (2015), Spelta (2018) e Ferro e Guedes (2019).

### 5.1.2 Fluorescência de Raios-X

Na Tabela 5 tem-se a composição química dos óxidos que constituem a casca de ovo de galinha que foi utilizado como matéria prima neste trabalho.

Tabela 5 - Composição química de cascas de ovos de galinha.

| Composição Química | Porcentagem em Massa |
|---|---|
| CaO | 96,87 |
| MgO | 0,77 |
| $SO_3$ | 0,69 |
| RuO | 0,53 |
| $SiO_2$ | 0,53 |
| $Al_2O_3$ | 0,39 |
| $K_2O$ | 0,22 |

Fonte: elaborado pelo autor (2019).

A maior porcentagem do óxido de cálcio para a casca de ovo era esperada devido ao padrão encontrado nos resultados de DRX. Entretanto, a porcentagem nas cascas de ovos brancos desse trabalho, conforme a Tabela 5, foi de 96,87%, um valor elevado se comparado com outros trabalhos. Spelta (2018) obteve aproximadamente 90,76% e Tomaselli (2014), 91,25% desse mineral para casca de ovos de galinha brancos. Já no trabalho de Correa (2015), o valor para este mineral foi de aproximadamente 97%, o que corrobora com o valor obtido.

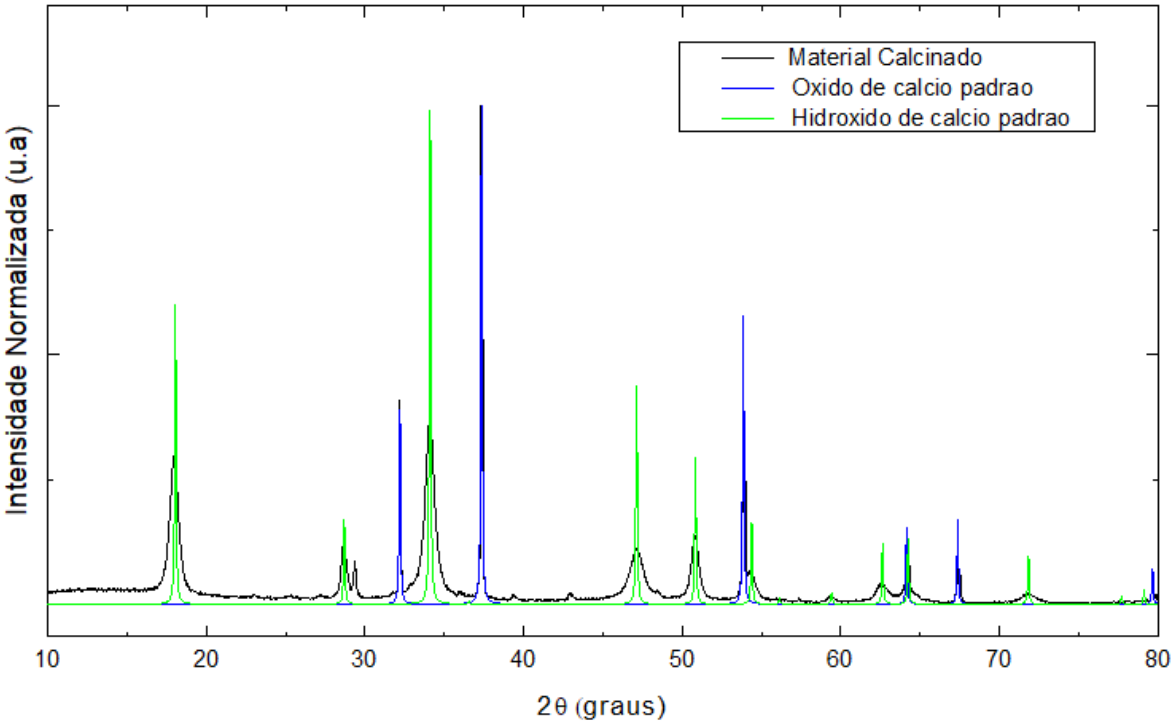
Já os demais elementos, como magnésio, silício, alumínio, enxofre estão presentes nas cascas de ovo como elementos que variam conforme a alimentação que é fornecida às poedeiras (AYODEJI *et al*., 2018). Observa-se, entretanto, que na casca de ovo de galinha não há metais pesados como cobalto, cádmio ou mercúrio como podem surgir em peixes e outros animais marinhos que são utilizados como fonte de obtenção de carbonato de cálcio (MONDAL *et al*., 2019). Dessa forma, a casca de ovo de galinha pode ser utilizada como fonte de cálcio para aplicações em saúde humana.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓXIDO DE CÁLCIO

### 5.2.1 Difração de Raios X

A Figura 29 representa o difratograma de raios X do material calcinado, ou seja, da matéria prima após o processo de conversão do carbonato de cálcio em óxido de cálcio.

Figura 29 – Difratograma do material calcinado




Fonte: elaborado pelo autor (2019)

A DRX apresentou que a temperatura utilizada promoveu uma calcinação eficaz da matéria prima. Todo $CaCO_3$ foi convertido em CaO; entretanto houve a formação de hidróxido de cálcio, $Ca(OH)_2$. Isto se justifica pela umidade do ar, que contribui com a reação de hidratação do óxido de cálcio. Ressalta-se, porém, que a formação desse hidróxido não altera propriedades químicas que afetam as etapas posteriores deste trabalho, visto que a adição de água ao óxido de cálcio é um pré-requisito para a reação do fosfato de cálcio.

### 5.2.2 Fluorescência de raios-X

A fluorescência de raios-X obtida para a amostra calcinada é apresentada na Tabela 6.

Tabela 6 - Composição química do material Calcinado

| Elementos Presentes | Porcentagem em peso |
|---|---|
| CaO | 97,66 |
| MgO | 1,20 |
| $K_2O$ | 0,39 |
| $SO_3$ | 0,37 |
| $RuO_2$ | 0,30 |
| $Ho_2O_3$ | 0,06 |
| CuO | 0,02 |

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

Dessa forma, o óxido de cálcio utilizado neste trabalho tem 97,66% de pureza. Os demais percentuais são devido a outros elementos que constituem a matéria prima (casca de ovo de galinha), porém nenhum deles é nocivo para a saúde humana, sendo possível, portanto, ser utilizado para fins que demandam elevada quantidade de cálcio e/ou aplicações biológicas (SCHAAFSMA *et al*., 2000; MILBRADT *et al*., 2015).

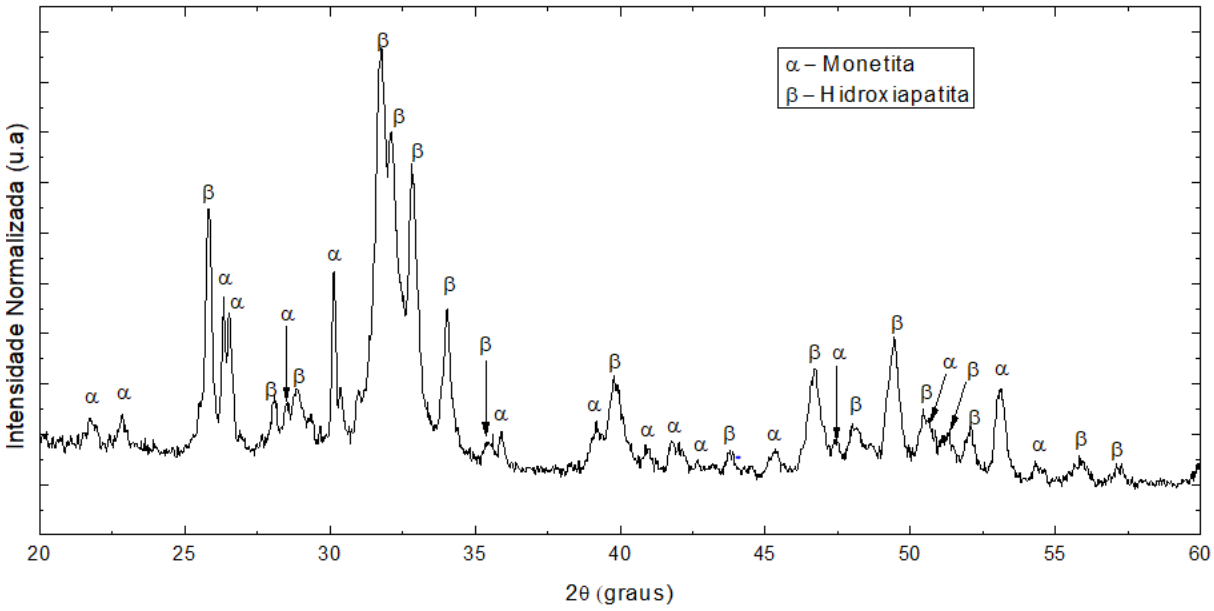
Oliveira (2017) ressalta em sua patente que para a obtenção de fosfato de cálcio bifásico é preferível que o óxido de cálcio tenha um teor de pureza acima de 99%, entretanto o autor não descarta a possibilidade de utilizar outras fontes menos ricas em cálcio.

## 5.3 CARACTERIZAÇÃO DO FOSFATO DE CÁLCIO

### 5.3.1 Difração de Raios X

A análise por difração de raios X do fosfato de cálcio obtido pela reação de precipitação é apresentada na Figura 30. As coincidências dos picos constataram a presença da fase Hidroxiapatita, [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$] (PDF ICDD 01-074-0565), e monetita ($CaHPO_4$) (PDF ICDD 04-009-0080).

Figura 30 - Difratograma do fosfato de cálcio obtido pela rota de Oliveira (2017)




Fonte: elaborado pelo autor (2019)

Dessa forma, o material precipitado após o método descrito por Oliveira (2017) é constituído por hidroxiapatita (HA) e monetita (DCPA), ou seja, a rota proposta na patente forneceu as fases como previsto. Entretanto, como a porcentagem de cada fase é determinante para o comportamento da pasta cimentícia, recorreu-se ao método Rietveld para quantificar cada fase e para análise da efetividade da metodologia utilizada neste trabalho.

### 5.3.2 Análise pelo Método Rietveld (MR)

Na Tabela 7 consta a porcentagem de cada fase de fosfato de cálcio do material obtido pelo método de Rietveld para casa fase e a respectiva GOF (*goodness of fit,* qualidade de ajuste).

Tabela 7 - Refinamento pelo Método Rietveld

| Fase | Porcentagem em massa | GOF |
|---|---|---|
| HA | 84,5% | 6,34% |
| DCPA | 15,5% | |

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

Neste trabalho, foi possível sintetizar um fosfato de cálcio bifásico com, aproximadamente, 84,5% de HA e 15,5% de DCPA. Comparando estes valores com aqueles citados por Oliveira (2017), observa-se que as porcentagens em relação a cada fase ficaram muito próximas, visto que na patente o autor afirma que, seguindo a metodologia proposta, o resultado deste procedimento é de 82% de HA e 18% de DCPA. Esta diferença de quantia das fases pode ser justificada devido ao pH do processo. Segundo Perloff e Posner (1956) e Pastero e Aquilano (2016), o pH está estritamente ligado à formação de fases nos fosfatos de cálcio, visto que cada um deles é estável em faixas distintas de pH.

Dessa forma, a Tabela 8 demonstra as diferenças entre os pH que são propostos na patente de Oliveira (2017) e aqueles obtidos neste trabalho em relação a cada etapa para obter o fosfato de cálcio bifásico.

Tabela 8 - Comparação entre os pH exigidos conforme Oliveira (2017) e os trabalhados

| Produto obtido em cada etapa | pH final exigido conforme Oliveira (2017) | pH final obtido neste trabalho |
|---|---|---|
| $Ca(OH)_2$ | 12 | 12 |
| $Ca(H_2PO_4)_2$ | 1,66 | 1-2 |
| HA+DCPA | 7,4 | 7-8 |

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

A diferença entre os valores de pH está ligada à técnica de medição: enquanto o autor da patente provavelmente utilizou um pHmetro, este trabalho utilizou tiras de pH. Embora as metodologias de medição do pH tenham sido distintas, a diferença entre as proporções das fases foi de apenas 2,5% em massa.

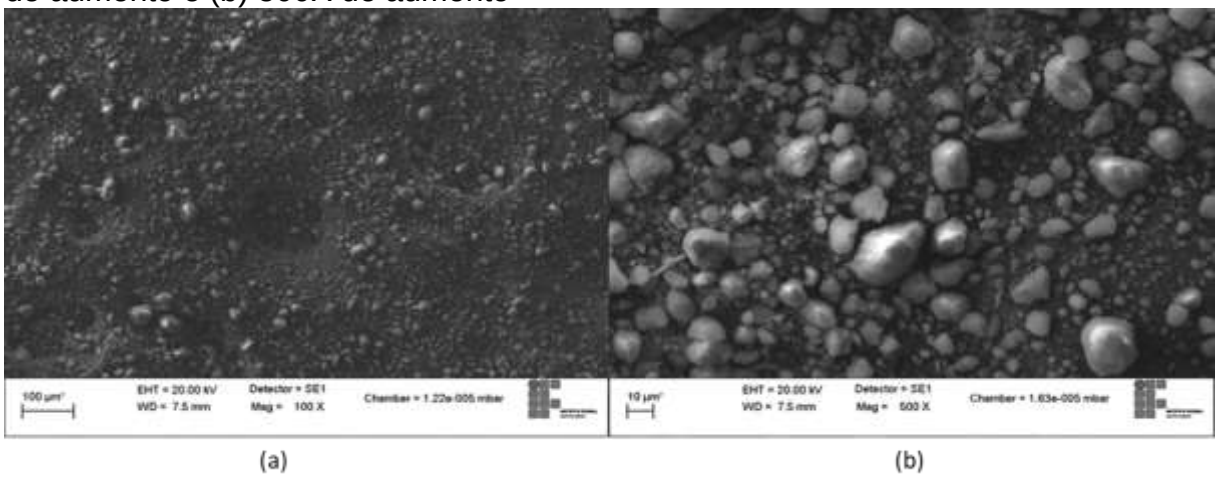
Outros métodos de obtenção de HA e/ou DCPA a partir de CaO são reportados na literatura. Wu *et al*. (2015) utilizou o CaO proveniente de casca de ovo de galinha para obtenção a alta temperatura de HA. Entretanto, o autor utilizou DCPD (brushita) como precursor para sintetizar a HA, além de elevada temperatura no processo (~1000 °C). De forma análoga, Kamalanathan *et al*., (2014) obteve HA em elevadas temperaturas a partir da casca de ovo de galinha. Em comparação ao método proposto por Oliveira (2017), este apresenta vantagens energéticas e de consumo material, afinal esta patente requer somente matéria prima de casca de ovo, e baixa temperatura no processo (<120 °C) para a obtenção de variados fosfatos.

Correa (2015) e Tomaselli (2014) utilizaram o método de reação ácido base a partir da casca de ovo de galinha e avestruz, respectivamente, e obtiveram HA pura. Entretanto este método exigiu instrumentos precisos, como o controle de temperatura, controle de pH e adição de reagentes com o auxílio de bureta de forma lenta, diferentemente do método realizado neste trabalho o qual o único fator a ser rigorosamente seguido foi o pH.

### 5.3.3 Microscopia eletrônica de varredura

A Figura 31 ilustra a micrografia do fosfato de cálcio bifásico obtido para os aumentos de 100X e 500X. Para o primeiro aumento, objetivou-se visualizar a distribuição de pós em uma amostra aleatória, enquanto para o segundo é possível visualizar a morfologia de cada partícula.

Figura 31 – Micrografia eletrônica de varredura do fosfato de cálcio obtido: (a) 100X de aumento e (b) 500X de aumento




Fonte: elaborado pelo autor (2019)

Devido ao peneiramento, o pó é constituído por partículas inferiores a 53 µm. Entretanto, observa-se pelas micrografias que o tamanho das partículas é inferior a 30 µm e as mesmas estão finamente distribuídas com morfologia esférica. Segundo Dorozhkin (2017) os pós com tamanho médio de 2 a 20 µm são ideais para a aplicação como cimento ósseo. Gauthier *et al*. (1999) e Malard *et al*. (1999) estudaram a influência do tamanho da partícula de pós bifásicos de fosfato de cálcio constituídos por HA e β-TCP. Em ambos os estudos, partículas com tamanho de grão na faixa de 10-80 µm proporcionaram melhor crescimento ósseo se comparado com faixas superiores a 200 µm. Além disto, o menor tamanho de grão facilita o acesso a difíceis locais de implantação no tecido ósseo.

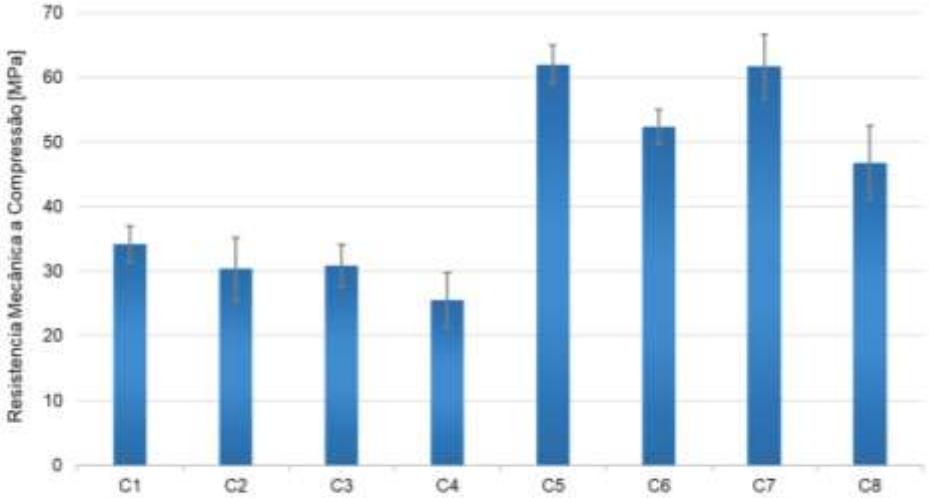
No trabalho de Boss, Shajwari e Mendes (1995) os autores sugerem que quanto menos pontiaguda é a partícula, mais propício o material é para o crescimento celular. Trabalhos que obtiveram HA pela rota de via úmida e não fizeram o processo de cominuição após a obtenção do fosfato de cálcio obtiveram partículas mais angulares e heterogêneas (TOMASELLI, 2014; SPELTA, 2018). Dessa forma, os parâmetros de cominuição e peneiramento utilizados nesse trabalho indicam que o fosfato de cálcio bifásico obtido atende aos critérios de tamanho e formato da partícula.

## 5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS PASTAS CIMENTÍCEAS OBTIDAS

### 5.4.1 Resistencia Máxima a Compressão

O Gráfico 1 representa os resultados obtidos para os valores de limite de resistência à compressão, com os respectivos desvios padrão, para as composições C1 a C8.

Gráfico 1 - Resultados de limite de resistência à compressão para as composições C1 a C8




| | C1 | C2 | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 | C8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| L:P (mL/g) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1,1 | 1,1 | 1,1 | 1,1 |
| %Acelerador de reação | 2,5 | 2,5 | 5 | 5 | 2,5 | 2,5 | 5 | 5 |
| %Adição CMC | 1,6 | 3,2 | 1,6 | 3,2 | 1,6 | 3,2 | 1,6 | 3,2 |

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

Os resultados para resistência mecânica variaram dentro da faixa de 25,58±4,20 MPa (C4) a 62,03±3,00 MPa (C5). Estes valores são superiores ao limite de resistência à compressão do osso esponjoso humano, o qual varia de 4 a 12 MPa e está presente em articulações e extremidades de ossos tubulares articulados, nas costelas e vértebras (BERNDT *et al*., 2014; KATZ *et al.,* 2014). Há relatos na literatura que a monetita tem resistência a compressão de 12 MPa, enquanto a HA pode chegar a 83 MPa (BOROUJENI, 2012; DOROZHKIN, 2013).

Para as composições que foram adicionadas a proporção líquido:pó de 1,0 mL/g (grupo C1 a C4), em comparação àquelas de 1,1 mL/g (grupo C5 a C8), os valores de LRC são substancialmente maiores para o segundo caso. Enquanto no primeiro grupo o maior valor foi de 34,19±2,80 MPa (C1), no segundo grupo o menor valor entre as

amostras foi de 46,84±5,50 MPa (C8). Este padrão foi seguido independente da porcentagem do acelerador de reação e da adição de CMC. Esse resultado sugere que a fase líquida contribuiu para uma mistura mais homogênea da pasta cimentícia, aglomerando melhor as partículas de fosfato de cálcio.

Para os pares de amostras que se distinguem somente pelo teor de CMC (C1 e C2; C3 e C4; C5 e C6; C7 e C8), observa-se que os corpos de prova com menor porcentagem em massa da adição tiveram melhor resposta ao esforço mecânico, porém entre os pares não existiu um comportamento linear. Entre o par C1 e C2 a diferença na resposta de resistência a compressão foi de aproximadamente 4 MPa, enquanto o par C5 e C6, por exemplo, foi de 10 MPa. Ressalta-se que esses comportamentos estão de acordo com a literatura.

Mishra *et al*. (2003) estudou o efeito de CMC nas propriedades mecânicas de cimento Portland. Os resultados dos autores indicaram que a maior proporção de CMC fornece resultados mecânicos inferiores se comparados com teores menores da adição. Já Alves (2005) sintetizou biocimento de fosfato de cálcio a partir de β-TCP e adicionou CMC de 0,4% a 3,2% em massa e notou comportamento análogo. Essa redução no valor de resistência mecânica está diretamente relacionada à capacidade do CMC em formar poros no material.

Matinfar, Mesgar e Mohammadi (2019) estudaram a influência de CMC e quitosana em arcabouços de HA e DCPA fibrosos. Os autores concluíram que para 2% em massa de CMC, o limite de resistência à compressão dos corpos foi de aproximadamente 2,6 MPa. Este baixo valor na resistência mecânica deve-se à técnica de fabricação do material a qual fornece elevada porosidade.

Os pares de composições com diferentes teores de acelerador de reação (C1 e C3; C2 e C4; C5 e C7; C6 e C8), o comportamento foi análogo ao CMC: independente dos demais fatores, quanto maior a porcentagem de acelerador de reação, menor foi o limite de resistência à compressão obtido. Isso pode ser justificado pelo fato do acelerador de reação precipitar o material e formar microtrincas em sua estrutura (HELENE; ANDRADE, 2010).

Dessa forma, percebe-se que 0,1 mL/g na relação líquido:pó resultaram em alterações significantes no resultado de limite de resistência à compressão de cimentos pastosos.

Além disso, os valores obtidos para resistência mecânica dos corpos de prova estão de acordo com a literatura e apresentam, inclusive, valores superiores se comparados com cimentos à base de HA, β-TCP e α-TCP, por exemplo.

Cardoso (2010) obteve uma pasta cimentícia de hidroxiapatita deficiente em cálcio e utilizou como líquido uma fase de 2,5% de hidrogeno fosfato dissódio, ácido tânico e ácido cítrico em proporções variadas. Para 2,5% do acelerador de reação (AR) e 5% de ácido tânico, os valores de resistência mecânica foram na ordem de 43 MPa, após 24 h de reação de pega, entretanto o autor não deixou claro qual foi a proporção líquido:pó. Comparando-se esses resultados com aqueles do Gráfico 1, com 2,5% de AR, existem valores inferiores e superiores de limite de resistência à compressão, sendo o fator determinante a proporção de líquido pó e o tipo de adição (CMC).

Stulajterova *et al*. (2015) obtiveram cimento a base de HA a partir de monetita com um traço pó:líquido na proporção de 2,0 e 2,0% em massa de dihidrogeno fosfato de sódio e obtiveram resultados de compressão na ordem de 25 MPa. Já Tariq *et al*. (2019) sintetizaram cimento ósseo à base de osso de cordeiro, constituído por HA e β-TCP e fase líquida constituída por água destilada. Os valores de resistência mecânica a compressão encontrados pelos autores estiveram na ordem de 9 MPa após a pega. Este valor também foi observado por Alves (2005) em biocimento de β-TCP.

Sych *et al*. (2014) obtiveram corpos de prova cerâmicos bifásicos a base de HA proveniente de osso natural e monetita sintetizada por rota definida. Os resultados para 75%HA-25%DCPA forneceram limite de resistência à compressão na ordem de 55 MPa. Entretanto esse trabalho utilizou a compressão axial dos corpos e o material não estava previamente em formato de pasta cimentícia.

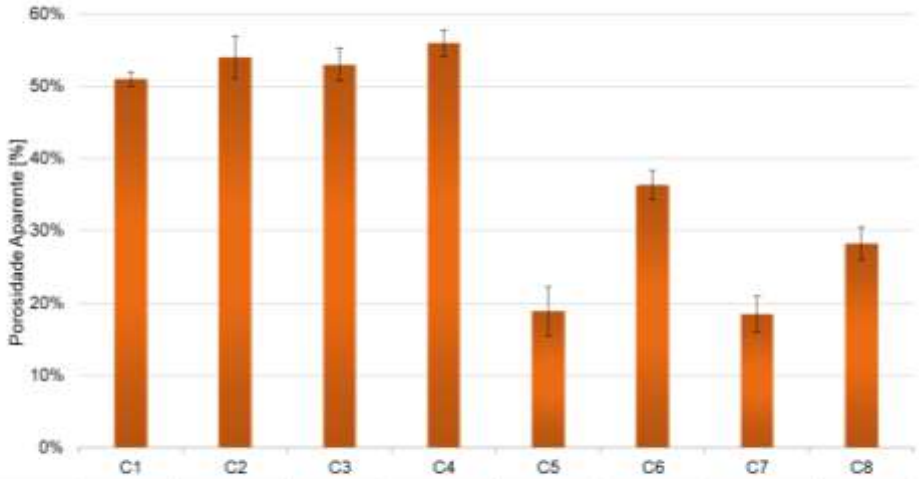
Os biocimentos comerciais injetáveis da marca ETEX ®, Shangai Rebone ®, Shynthes Norian ® estão na ordem de limite de resistência à compressão, respectivamente, de 30/35 MPa, 35 MPa e 30/50 MPa. Ou seja, comercialmente o cimento proveniente da

casca de ovo de galinha proposto neste trabalho equipara-se com os valores de LRC de materiais difundidos no mercado de engenharia tecidual óssea.

### 5.4.2 Porosidade Aparente

O Gráfico 2 apresenta os resultados de porosidade para as amostras de cimento ósseo pastoso obtido.

Gráfico 2 – Resultados de Porosidade Aparente (%) das amostras




| | C1 | C2 | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 | C8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| L:P (mL/g) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1,1 | 1,1 | 1,1 | 1,1 |
| %Acelerador de reação | 2,5 | 2,5 | 5 | 5 | 2,5 | 2,5 | 5 | 5 |
| %Adição CMC | 1,6 | 3,2 | 1,6 | 3,2 | 1,6 | 3,2 | 1,6 | 3,2 |

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

Todos os valores de porosidade aparente obtidos foram superiores a 18,0 ± 2,5% (C7), chegando ao valor máximo de 56,0 ± 3,0% (C4). A elevada porosidade é um fator favorável para osteocondução, permitindo o crescimento celular e circulação de fluidos no interior dos poros de prova (LEGEROS, 2002; SYCH *et al*., 2014).

No entanto, sabe-se que a porosidade tem comportamento inverso à resposta da resistência mecânica a compressão, visto que esta é uma propriedade dependente da porção sólida do material, ou seja, os vazios teoricamente tendem a influenciar negativamente na resistência mecânica do corpo (CARDOSO, 2010). Percebe-se este comportamento nas amostras, conforme o Gráfico 2: os CPs da composição C5 apresentaram porosidade na ordem de 19,0±3,4% e o resultado de LRC foi de

62,03±3,00 MPa; Já os CPs da composição C4 apresentaram porosidade na ordem de 56,0±3,0% e LRC de 25,58±4,2 MPa.

Em todos os corpos de prova com composições que contém 1,0 mL/g de líquido:pó, quando comparados àqueles que possuem 1,1 mL/g, nota-se melhor resposta em relação à porosidade. Todos os corpos de C1 a C4 apresentaram porosidade superior a 50%, valor considerado ideal para aplicações de arcabouços cerâmicos para condução óssea (DOROZHKIN, 2013). O motivo desses resultados de porosidade, conforme já ressaltado para o limite de resistência à compressão, pode estar relacionado com a falta de homogeneidade nas amostras e respectiva não aglomeração das partículas com a fase líquida.

Assim como apresentado para o limite de resistência à compressão, os pares de amostras com diferença no teor de CMC entre si (C1 e C2; C3 e C4; C5 e C6; C7 e C8) apresentaram maior porosidade aparente para aqueles com maior quantidade de CMC (3,2%). Alves (2005) avaliou o potencial de diversas adições em cimentos à base de HA e β-TCP, obtendo valores de porosidade aparente para corpos de prova com 1,6% e 3,2% de CMC, na ordem de 50%. Estes valores corroboram com as amostras de C1 a C4, mas não com o grupo de C5 a C8.

Matinfar, Mesgar e Mohammadi (2019) estudaram a influência de CMC e quitosana em arcabouços de HA e DCPA fibrosos. Os autores concluíram que para 2% em massa de CMC, a porosidade se aproximou de 70%. Entretanto essa elevada porosidade deve-se a técnica utilizada de fabricação dos corpos cerâmicos, que é distinta da técnica de obtenção de pasta cimentícia.

Os pares de composições com diferentes teores de AR apresentaram comportamento distinto entre si. Na literatura, os artigos exploram um único teor de acelerador de reação na resposta da porosidade ou sequer exploram (ALVES, 2010; TARIQ *et al*., 2019). Observa-se nos resultados que os valores para 2,5% p. do acelerador não seguiram comportamento linear, assim como os de 5,0%. O aumento do acelerador de reação ora contribuiu para reduzir a porosidade (amostras C1/C3 e C2/C4), ora para reduzi-la (C5/C6 e C7/C8). Portanto, pode-se conjecturar que o efeito do

acelerador de reação sobre a característica de porosidade é dependente da adição e da proporção líquido:pó.

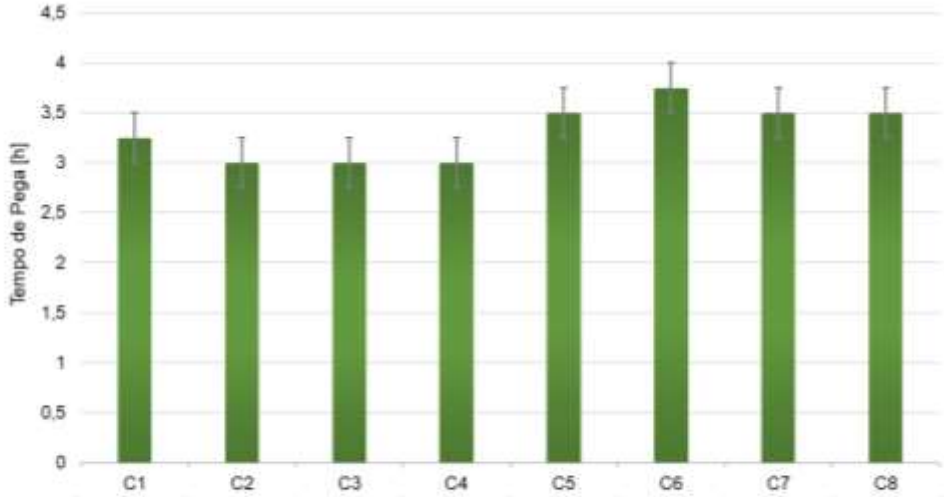
Comercialmente, a porosidade obtida no biocimento proposto neste trabalho compara-se com cimentos comerciais injetáveis. A fabricante Shangai Rebone ®, por exemplo, comercializa cimentos cuja porosidade aberta está na ordem de 40%. O interesse particular de porosidade de cimentos de fosfato de cálcio está naqueles corpos com porosidade na faixa de 30% a 55% (ZHANG; TANCRET; BOULER, 2011).

Ressalta-se, entretanto, que estudos mais aprofundados em relação à porosidade do material devem ser realizados, pois tamanho e morfologia dos poros também interferem no processo de osteocondução óssea.

### 5.4.3 Tempo de pega

O Gráfico 3 apresenta os resultados de tempo de pega para o biocimento proposto neste trabalho. A técnica de agulha de Vicat, conforme metodologia, indica que o tempo de pega seja expresso em tempo inicial e tempo final de pega. Os tempos apresentados se referem ao tempo final de pega, apesar da norma ABNT NBR 16607 indicar que sejam expressos os tempos inicial e final de pega, uma vez que não houve diferença entre eles.

Gráfico 3 - Resultados para o tempo de pega por agulhas de Vicat das pastas cimentícias




| | C1 | C2 | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 | C8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| L:P (mL/g) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1,1 | 1,1 | 1,1 | 1,1 |
| %Acelerador de reação | 2,5 | 2,5 | 5 | 5 | 2,5 | 2,5 | 5 | 5 |
| %Adição CMC | 1,6 | 3,2 | 1,6 | 3,2 | 1,6 | 3,2 | 1,6 | 3,2 |

Fonte: elaborado pelo autor (2019)

Para todas as amostras trabalhadas, C1 a C8, o tempo de pega foi superior a 3 h, chegando ao valor máximo de 3,75h±0,25h para a amostra C6. Esse resultado mostra-se distante da literatura para cimento ósseo de fosfato de cálcio. Trabalhos demonstram que o tempo de pega final para biocimentos de HA, DCPA, DCPD e β-TCP, bifásicos ou não, estão na ordem de 5 a 40 min conforme apresentado nos trabalhos de Boroujeni *et al.,* (2013), Koju *et al*. (2018) e Tariq *et al*., (2019). Ressalta-se, entretanto, que estas pesquisas utilizaram agulhas de Gillmore para a determinação do tempo de pega, conforme norma ASTM C266-89, enquanto este trabalho utilizou a norma ABNT NBR 16607 de agulha de Vicat, visto que este é o aparato normalizado pela ABNT para determinação de tempo de pega.

Boroujeni (2012) comparou tempos de pega para cimento de monetita comercial e monetita obtida pela casca de ovo de galinha. Os tempos de pega não mostraram diferença entre si e atingiram o tempo de pega de aproximadamente 37 min. Dessa forma, não há indicativos que o cimento ósseo de casca de ovo de galinha tenha tempos superiores de pega devido ao precusor utilizado no processo.

Percebe-se, entretanto, que as amostras com 1,0 mL/g em comparação com aquelas de 1,1 mL/g, apresentaram tempo de pega de, aproximadamente, 30-45 minutos a

mais, sendo de 45 minutos para a amostra C6. Esse aumento era esperado, visto que a fase líquida no cimento ósseo contribui para o aumento no tempo de pega. Tariq *et al*. (2019) obtiveram cimento ósseo de DCPA em água e variou a fração pó:líquido de 0,29 a 0,38 mL/g e obtiveram tempo de pega final de 25 min para os corpos de prova que tinham 0,38 mL/g, enquanto para 0,29 mL/g foi de 5 min. Ou seja, em comparação a este trabalho, os autores utilizaram  quantidade de água inferior, apresentando tempos de pega menores, se comparados com aqueles apresentados no Gráfico 3.

Entretanto, maior proporção de água não é um fator isolado que interfere no tempo de pega do cimento ósseo. A adição de CMC no fosfato de cálcio pode ter contribuído para prolongar o tempo de precipitação e consequentemente, o tempo de pega. Conforme reportado na literatura por Cahyanto, Permatasari e Febrida (2018), em um cimento ósseo de carbonato de cálcio e DCPA, o aumento no teor de CMC prolongou o tempo de pega do mesmo.

Alves (2005) variou a porcentagem de CMC, de 1,6% a 4,2% em massa, no cimento de β-TCP e obteve valores de tempo de pega para todas as amostras superiores a 1h. Porém, entre os teores utilizados neste trabalho para CMC, não se nota distinção no tempo de pega entre os CP.

O acelerador de reação utilizado foi o mais difundido para cimentos ósseos de fosfatos de cálcio, sendo inclusive, utilizado comercialmente por marcas como Stryker-Leibinger ®, Biomet ® e Synthes-Norian ®. Ding *et al*. (2008) avaliaram o comportamento da adição de hidrogenofosfato dissódico em cimentos odontológicos e o comportamento mostrou-se linear em relação ao tempo de pega; quanto mais se adicionou AR, mais curto foi o tempo de pega do cimento ósseo.

Entretanto, para este trabalho, observa-se que não há linearidade no comportamento de tempo de pega entre os pares de amostras que modificam somente a porcentagem de acelerador de reação entre 2,5% e 5,0% em massa. Isto pode ser justificado pela fração líquido:pó e também a adição de CMC que retarda a reação de precipitação. Vreken *et al*. (2010) para cimento ósseo de hidroxiapatita deficiente em cálcio, adicionou 0,28M de AR e obteve tempo de pega final acima de 60 min. Já Fathi *et al*. (2019) obtiveram cimento ósseo pastoso a partir de HA, α-TCP e DCPD na taxa líquido

pó a 0,4, e 3% em massa de hidrogenofosfato dissódico. Seus resultados indicaram tempo de pega de 37 min.

Dessa forma, embora a hidroxiapatita funcione como um sitio de nucleação para precipitação e respectivo endurecimento do cimento ósseo, a porcentagem de CMC aliada à elevada taxa líquido:pó contribuíram para o prolongamento do tempo de pega, sendo o hidrogenofosfato dissódico insuficiente para acelerar a reação a tempos inferiores a 40 min. Ressalta-se, entretanto, que não há normas que regulamentem o tempo de pega de biocimentos à base de fosfato de cálcio. Portanto, é necessário que o cirurgião opte pelo tempo de endurecimento do material e que novos estudos sejam feitos para reduzir a quantidade de líquido ao pó.

# 6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Foi desenvolvido e caracterizado um cimento ósseo de fosfato de cálcio bifásico (DCPA+HA) a partir da casca de ovo de galinha com diferentes formulações de líquido:pó, acelerador de reação e adição para entender seu comportamento em relação ao limite de resistência a compressão máxima, porosidade aparente e tempo de pega, sendo possível concluir deste trabalho que:

- A obtenção do CaO foi possível a partir da casca de ovo de galinha por calcinação na temperatura proposta. Através da rota de Oliveira (2017) sintetizou-se um fosfato bifásico à base de hidroxiapatita e monetita, em porcentagens, respectivamente, de 84,5% e 15,5%, valores que diferem da patente em 2,5%. Esta diferença deve-se a faixa de pH utilizada neste trabalho.

- Com o fosfato de cálcio bifásico obtido à base de HA e DCPA, sintetizou-se a pasta cimentícia à base de água e os resultados de porosidade aparente e de limite de resistência à compressão são comparáveis com os descritos na literatura, bem como com os valores dessas propriedades para os cimentos comerciais e para o osso esponjoso.

- O tempo de pega obtido, pelo aparato de agulha de Vicat, para o cimento ósseo bifásico é superior ao relatado na literatura;

- Independente da porcentagem de adição de CMC e acelerador de reação, a variável líquido:pó a 1,1 mL/g forneceu melhores LRC, chegando a 62 MPa com 18% de porosidade; já a variável a 1,0 mL/g, forneceu melhor propriedade física de porosidade, chegando a 56% com 25 MPa de LRC;

- Não houve diferenças significativas de tempo de pega entre as amostras;

- Quando se aumenta o teor de acelerador de reação ou o CMC, há aumento da porosidade aparente e, respectiva redução no limite de resistência à

compressão. Isto infere uma relação direta da taxa de líquido:pó com a resposta ao comportamento físico-mecânico.

- O acelerador de reação não demonstrou efeitos conclusivos para as porcentagens utilizadas ao que se refere aos resultados de LRC, porosidade e tempo de pega.

Portanto, a casca de ovo de galinha mostrou-se uma matéria-prima que atendeu à fabricação de fosfato de cálcio bifásico para aplicação como cimento ósseo. Isto comprova o elevado potencial desta matéria prima que é tratado como resíduo. Sua utilização na biomedicina pode contribuir para reduzir a demanda em jazidas calcárias e não traz prejuízos para a característica de aplicação físico-mecânica do cimento.

Dessa forma, sugere-se para trabalhos futuros:

- Estudar separadamente os efeitos de acelerador de reação, CMC e líquido:pó em diferentes teores para análise do tempo de pega para o cimento de fosfato de cálcio bifásico;
- Analisar a diferença entre os ensaios de determinação de tempo de pega para Agulhas de Vicat e Gillmore;
- Realizar ensaios mecânicos de impacto e compressão após deixar a amostra imersa em solução Ringer a 37 °C;
- Submeter o cimento ósseo a ensaios de citotoxicidade;

## REFERÊNCIAS

ABERG, J.; ENGSTRAND T.; ENGQVIST, H.. **Cement forming Compositions Monetite Cements, Implants and Methods fo Correcting Bone Defects**. US nº US 9913931, 03 jun. 2015, 19 nov. 2019. . Disponível em: <https://patentimages.storage.googleapis.com/01/e9/93/e51a53acbf51e2/WO2014091469A1.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2019.

ABREU, M. S.; GALDINO, A. G. S.. Caracterização microestrutural de compósitos de hidroxiapatita-alumina confeccionados pelo método da esponja polimérica. **Cerâmica**, [s.l.], v. 63, n. 365, p.34-38, mar. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0366-69132017633652027>. Acesso em: 22 jul. 2019.

ABO-ALMAGED, H.H.; GABER, A.A. Synthesis and characterization of nano-hydroxyapatite membranes for water desalination. **Materials Today Communications**, [s.l.], v. 13, p.186-191, dez. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mtcomm.2017.10.002>. Acesso em: 13 mar. 2019.

ALBEE, F. H.; MORRISON, H. F. Studies in bone growth Triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis. **Annals of Surgery,** [s.l], v. 71, n.1, p.32-39, Jan 1920. Disponível em <ttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1410453/#>. Acesso em: 07 set. 2017.

ALVES, H. L. R. **Cimento Ósseo De Fosfato Tricálcico: Síntese E Influência De Aditivos Na Sua Injetabilidade.** 2005. 124 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/7223>. Acesso em: 18 maio 2017.

AMERICAN DENTAL ASSOCIATION HEALTH (Chicago). Laurence Chow; Shozo Takagi. **Self-setting calcium phosphate cementes and methods for preparing and using them**. US nº 5525158, 24 sept. 1993, 11 juny. 1996.

AMERICAN DENTAL ASSOCIATION HEALTH (Chicago). Laurence Chow; Shozo Takagi. **Premixed calcium phosphate cement pastes**. US nº 6793725 B2, 23 jan. 2002, 21 set. 2004.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **C 1424** – 99. Standard Test Method for Monotonic Compressive Strength of Advanced Ceramics at Ambient Temperatures. 1999.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **F 451**. Standard specification for acrylic bone cement. 1995.

AN, J. *et al*. Influence of polymeric additives on the cohesion and mechanical properties of calcium phosphate cements. **Journal Of Materials Science**: Materials in Medicine, [s.l.], v. 27, n. 3, 19 Jan. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-016-5665-x>. Acesso em: 02 mar. 2018.

ANASTASIOU, A.D. *et al*. β-pyrophosphate: A potential biomaterial for dental applications**. Materials Science And Engineering**: C, [s.l.], v. 75, p.885-894, june. 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493116319129>. Acesso em: 20 jun. 2017.

ARAFA, A. *et al*. Assessment of the oral health status of asthmatic children. **European Journal Of Dentistry**, [s.l.], v. 11, n. 3, p.357-363, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4103/ejd.ejd_65_17>. Acesso em: 02 dez. 2018.

ARAUJO, T. S. **Produção de Hidroxiapatita Pura e Dopada para Aplicação em Biosensores.** 2006. 102f. Dissertação (Mestrado em Física da Matéria Condensada) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2006. Disponível em: <http://200.17.141.35/npgfi/documentos/dissertacoes/Tatiana.pdf>. Acesso em 23 de julho de 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 16607** - determinação dos tempos de pega. Rio de Janeiro, 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10004**: Resíduos sólidos: classificação. Rio de Janeiro, 2004. Disponível em < http://www.unaerp.br/documentos/2234-abnt-nbr-10004/file> acesso em 25 de julho de 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10545-3** – Placas Cerâmicas, parte 3: Determinação da absorção de água, porosidade aparente, densidade relativa aparente e massa aparente. Rio de Janeiro, 2017.

AYATOLLAHI, M.R. *et al*. Mechanical and tribological properties of hydroxyapatite nanoparticles extracted from natural bovine bone and the bone cement developed by nano-sized bovine hydroxyapatite filler. **Ceramics International,** [s.l.], v. 41, n. 9, p.10818-10827, nov. 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/journal/02728842>. Acesso em: 19 jun. 2017.

AYODEJI, A. A. *et al*. Data on CaO and eggshell catalysts used for biodiesel production. **Data In Brief**, [s.l.], v. 19, p.1466-1473, ago. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2018.06.028>. Acesso em: 05 abr. 2019.

BARADARAN, S. *et al*. Wet chemistry approach to the preparation of tantalum-doped hydroxyapatite: Dopant content effects. **Ceramics International**, [s.l.], v. 44, n. 3, p.2768-2781, Feb. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.11.016>. Acesso em: 05 Mar. 2018.

BELKOFF, S. M.; MOLLOY, S. Temperature Measurement During Polymerization of Polymethylmethacrylate Cement Used for Vertebroplasty. **Spine**, [s.l.], v. 28, n. 14, p.1555-1559, july. 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/01.brs.0000076829.54235.9f>. Acesso em: 12 Jan. 2018.

BELLUCCI, D. *et al*. Innovative hydroxyapatite/bioactive glass composites processed by spark plasma sintering for bone tissue repair. **Journal Of The European Ceramic**

**Society,** [s.l.], v. 37, n. 4, p.1723-1733, apr. 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955221916306124>. Acesso em: 15 jun. 2017.

BEN-NISSAN, B.; LEGEROS, R. Z.. Introduction to Synthetic and Biologic Apatites. In: BEN-NISSAN, Besim (Ed.).**Advances in Calcium Phosphate Biomaterials.** London: Springer, 2014. p. 1-12.

BERNDT, C. C. *et al*. A Review of Hydroxyapatite Coatings Manufactured by Thermal Spray. **Springer Series In Biomaterials Science And Engineering**, [s.l.], p.267-329, 2014. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-53980-0_9>. Acesso em: 12 mar. 2019.

BHARATH, G *et al*. Mesoporous hydroxyapatite nanoplate arrays as pH-sensitive drug carrier for cancer therapy. **Materials Research Express**, [s.l.], v. 6, n. 8, p.1-23, 29 maio 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1088/2053-1591/ab2348>. Acesso em: 27 jun. 2019.

BIOMET DEUTSCHLAND GMBH (Berlim). Ahmet Cüneyt Tas. **Calcium phosphate cementes composition and methods for the preparation thereof**. US nº 6929692 B2, 26 ago. 2003, 16 ago. 2005.

BIMIS, A. *et al*. On the mechanical characteristics of a self-setting calcium phosphate cement. **Journal Of The Mechanical Behavior Of Biomedical Materials**, [s.l.], v. 68, p.296-302, abr. 2017. Http://dx.doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.02.017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.02.017>. Acesso em: 26 mar. 2019.

BOROUJENI, N. M. *et al*. Development of monetite/phosphorylated chitosan composite bone cement. **Journal Of Biomedical Materials Research Part B**: Applied Biomaterials, [s.l.], v. 102, n. 2, p.260-266, 30 ago. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.b.33003>. Acesso em: 30 mar. 2019.

_____. **Monetite Cement Composites for Orthopedic and Dental Applications.** 2012. 106 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Mecânica, Universidade de Toledo, Toledo, 2012. Disponível em: <https://utdr.utoledo.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1293&context=theses-dissertations>. Acesso em: 03 jan. 2019.

BOSS, J.H., SHAJWARI, J.A. MENDES, D.G. The relativity of biocompatibility. A critique of the concept of biocompatibility. **Israel Journal of Medical Science**. [s.l.], v.31, n.4, p.203-209, 31 apr. 1995. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7721555>. Acesso em 30 jul. 2019

CAHYANTO, A.; PERMATASARI, I.; FEBRIDA, R. Setting time evaluation of injectable carbonate apatite cement using various sodium carboxymethylcellulose (Na CMC) concentration. **Padjadjaran Journal Of Dentistry**, [s.l.], v. 30, n. 2, p.73-77, 31 jul. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.24198/pjd.vol30no2.18321>. Acesso em: 26 abr. 2019.

CALCITEC (Saratoga). Jiin-huey Chern Lin; Chien-ping Ju; Juan-liang Lin. **Process for Producing Fast-seting, Bioresorbable Calcium Phosphate Cements**. US nº 6840995 B2, 26 dez. 2002, 11 Jan. 2005.

CALIMAN, L. B. **Síntese e Caracterização De Hidroxiapatita Obtida A Partir Da Casca De Ovo De Avestruz.** 2011. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Instituto Federal do Espírito Santo, Vitória, 2011. Disponível em: <http://propemm.vi.ifes.edu.br/wp-content/uploads/2012/05/Síntese-e-caracterização-de-Hidroxiapatita-obtida-a-partir-da-casca-de-ovo-de-avestruz_Lorena-Batista.pdf>. Acesso em: 24 jun. 2017.

CAMPOS, M. *et al*. Sonochemical synthesis of calcium phosphate powders. **Journal Of Materials Science**: Materials in Medicine, [s.l.], v. 18, n. 5, p.669-675, 30 nov. 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-006-0006-0>. Acesso em: 21 maio 2019.

CANILLAS, M. *et al*. Calcium phosphates for biomedical applications. **Boletín de La Sociedad Española de Cerámica y Vidrio,** [s.l.], v. 56, n. 3, p.91-112, may 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0366317517300444>. Acesso em: 23 jun. 2017.

CARDOSO, H. A. I. **Cimento de Alfa-TCP com Diferentes Aditivos: Cinética da Reação de Cura, Propriedades Mecânicas e Avaliação da Citotoxicidade.** 2010. 120 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/263531>. Acesso em: 12 maio 2017.

CARDOSO, H.; MOTISUKE, M.; ZAVAGLIA, C. A.C.. The Influence of Three Additives on the Setting Reaction Kinetics and Mechanical Strength Evolution of [Alpha]-Tricalcium Phosphate Cements. **Key Engineering Materials**, [s.l.], v. 493-494, p.397-402, out. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4028/www.scientific.net/kem.493-494.397>. Acesso em: 20 maio 2019.

CHADDA, H. *et al*., Cytotoxic evaluation of hydroxyapatite-filled and silica/hydroxyapatite-filled acrylate-based restorative composite resins: An in vitro study. **The Journal Of Prosthetic Dentistry.** [s.l.], v. 116, n. 1, p.1035-1049, 2016. Disponível em: <https://www.thejpd.org/article/S0022-3913(16)00035-4/fulltext>. Acesso em: 25 jul. 2017.

CHAIKINA, M. V. *et al.* Interaction of calcium phosphates with calcium oxide or calcium hydroxide during the “soft” mechanochemical synthesis of hydroxyapatite. **Ceramics International**, [s.l.], p.1-7, maio 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.05.239>. Acesso em: 22 jul. 2019.

CHEN, F. *et al*. Calcium Phosphate Bone Cements: Their Development and Clinical Applications. In: LIU, Changsheng; HE, Hongyan (Ed.). **Calcium Phosphate Bone**

**Cements: Their Development and Clinical Applications.** Singapura: Springer, 2018. p. 1-40.

CHEN, J. *et al*. Synthesis of hydroxyapatite nanorods from abalone shells via hydrothermal solid-state conversion. **Materials & Design**, [s.l.], v. 87, p.445-449, dez. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matdes.2015.08.056>. Acesso em: 12 jun. 2019.

CHEN, L. *et al*. Biomimetic porous collagen/hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering. **Journal Of Applied Polymer Science**, [s.l.], v. 134, n. 37, p.45271-45279, 5 jun. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/app.45271>. Acesso em: 03 abr. 2019.

CHEN, S. *et al*. Synthesis of Fiber-like Monetite without Organic Additives and Its Transformation to Hydroxyapatite. **Chemistry Of Materials**, [s.l.], v. 31, n. 5, p.1543-1551, 29 jan. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.chemmater.8b04500>. Acesso em: 03 abr. 2019.

CONSTANTZ, B. R. *et al*. Histological, chemical, and crystallographic analysis of four calcium phosphate cements in different rabbit osseous sites. **Journal Of Biomedical Materials Research**, [s.l.], v. 43, n. 4, p.451-461, 1998. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(199824)43:43.0.co;2-q>. Acesso em: 30 mar. 2019.

CORREA, T. H. A. **Obtenção do biocimento a base de fosfato de cálcio nanoestruturado a partir da casca de ovo de galináceo.** 2015. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Goytacazes, 2015.

CORREIA, R. N. *et al*. Wet synthesis and characterization of modified hydroxyapatite powders. **Journal Of Materials Science**: Materials in Medicine, [s.l.], v. 7, n. 8, p.501-505, ago. 1996. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/bf00705432>. Acesso em: 22 jul. 2019.

COSTA, A.C.F.M *et al*. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos,** Campina Grande, v. 4, n. 3, p.29-38, nov. 2009. Disponível em: < http://www2.ufcg.edu.br/revista-remap/index.php/REMAP/article/viewArticle/105>. Acesso em: 11 maio 2017.

DACULSI, G. *et al*., The Essential Role of Calcium Phosphate Bioceramics in Bone Regeneration. In: BEN-NISSAN, Besim (Ed.). **Advances in Calcium Phosphate Biomaterials**. London: Springer, 2014. p. 71-98.

DENISSEN, H. W.; GROOT, K. de. Immediate dental root implants from synthetic dense calcium hydroxylapatite. **The Journal Of Prosthetic Dentistry**, [s.l.], v. 42, n. 5, p.551-556, nov. 1979. Elsevier BV.. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/0022-3913(79)90253-1>. Acesso em: 07 set. 2017.

DING, S. J. *et al*. The Physical and Cytological Properties of White MTA Mixed with Na2HPO4 as an Accelerant. **Journal Of Endodontics**, [s.l.], v. 34, n. 6, p.748-751,

jun. 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2008.02.041>. Acesso em: 02 abr. 2019.

DOROZHKIN, S. V. Self-Setting Calcium Orthophosphate Formulations. **Journal Of Functional Biomaterials**, [s.l.], v. 4, n. 4, p.209-311, 12 nov. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/jfb4040209>. Acesso em: 25 jul. 2019.

_____. A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till 1950. **Materials Science And Engineering,** [s.l.], v. 33, n. 6, p.3085-3110, Aug. 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493113002166?via=ihub>. Acesso em: 22 jun. 2017.

DRIESSENS, F. C. M., *et al*., Effective formulations for the preparation of calcium phosphate bone cements. **Journal of Materials Science**: Materials in Medicine, [s.l.], v. 05, n. 3, p.164-170, May. 1994. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00053338>. Acesso em: 25 dez. 2017.

EGE, W.; KUHN, K.D.. History of Bone Cements. In: WALENKAMP, G. H. I. M.; MURRAY, D. W. (Ed.). **Bone Cements and Cementing Technique.** Berlim: Springer, 2001. Cap. 1. p. 7-10.

ELLIOTT, J.C. **Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates.** London: Elsevier Science, 1994. 389 p.

EL-DIN, A. F. T. *et al*. Decontamination of radioactive cesium ions using ordered mesoporous monetite. **Rsc Advances**, [s.l.], v. 8, n. 34, p.19041-19050, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/c8ra02707b>. Acesso em: 08 abr. 2019.

FATHI, M. *et al*. Setting Properties of Calcium Phosphate Bone Cement. **Materials Today**: Proceedings, [s.l.], v. 13, p.876-881, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2019.04.051>. Acesso em: 12 maio 2019.

FERREIRA, R.,C. **Educação Ambiental e Coleta Seletiva do Lixo**. Disponível em: <http://www.cenedcursos.com.br/educacao-ambiental-e-coleta-seletiva-do-lixo.html>.Acesso em 21 de junho de 2017.

FERRO, A. C.; GUEDES, M. Mechanochemical synthesis of hydroxyapatite using cuttlefish bone and chicken eggshell as calcium precursors. **Materials Science And Engineering**: C, [s.l.], v. 97, p.124-140, abr. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2018.11.083>. Acesso em: 15 maio 2019.

FIGUEIREDO, L. D. *et al*. Obtenção e caracterização de cerâmicas pelo método da esponja polimérica. In: XI Congresso Dos Estudantes da Ciência e Engenharia de Materiais do Mercosul. **Anais…**. Guaratinguetá, 2009. p. 7477-7480.

FIHRI, A. *et al*. Hydroxyapatite: A review of syntheses, structure and applications in heterogeneous catalysis. **Coordination Chemistry Reviews**, [s.l.], p.1-102, June. 2017. Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010854517301601>. Acesso em: 21 jun. 2017.

FLEET, M. **Carbonated Hydroxyapatite:** Materials, Synthesis, and applications. Nova York: Pan Stanford Publishing. 2015.

GALDINO, A. G. S.; ZAVAGLIA, C. A. C. Caracterização físico-mecânica de compósitos porosos de hidroxiapatita-titânia confeccionados pelo método da esponja polimérica. **Cerâmica**, [s.l.], v. 58, n. 347, p.388-392, set. 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0366-69132012000300017>. Acesso em: 22 jul. 2019.

GAUTHIER, O. *et al*. Short-term effects of mineral particle sizes on cellular degradation activity after implantation of injectable calcium phosphate biomaterials and the consequences for bone substitution. **Bone**, [s.l.], v. 25, n. 2, p.71-74, ago. 1999. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/s8756-3282(99)00137-4>. Acesso em: 03 maio 2019.

GINEBRA, M. P. Calcium phosphate bone cements. In: DEB, S. (Ed.). **Orthopaedic bone cements.** New York: Woodhead Publishing, 2008. Cap. 10. p. 206-231.

GOLDSTEIN, S.A.. The mechanical properties of trabecular bone: Dependence on anatomic location and function. **Journal Of Biomechanics**, [s.l.], v. 20, n. 11-12, p.1055-1061, Jan. 1987. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/0021-9290(87)90023-6>. Acesso em: 15 Jan. 2018.

GOMES, L. C. *et al*. Síntese e caracterização de fosfatos de cálcio a partir da casca de ovo de galinha. **Cerâmica,** [s.l.], v. 58, n. 348, p.448-452, dez. 2012. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: < http://www.eng.uerj.br/publico/anexos/1357923765/1357923765_58-348-2012-448-452.pdf>. Acesso em: 12 maio 2017.

HAMIDI, A. A. *et al*. Synthesis and characterization of eggshell-derived hydroxyapatite via mechanochemical method: A comparative study. **Advanced Materials Engineering And Technology V**, [s.l.], v. 1835, n. 1, p.1-12, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1063/1.4981867>. Acesso em: 12 Jan. 2018.

HELENE, P.; ANDRADE, T. Concreto de Cimento Portland. In: ISAIA, Geraldo Cechella (Org.). **Materiais de Construção Civil e Princípios de Ciência e Engenharia de Materiais.** . São Paulo: Instituto Brasileiro do Concreto, 2010. p. 905-944. Disponível em: <https://www.phd.eng.br/wp-content/uploads/2014/07/lc48.pdf>. Acesso em: 12 jun. 2019.

HENCH, L.. BEST, S.. RATNER. B. D. *et al* (Org.). **Ceramics, Glasses, And Glass-Ceramics**: Basic Principles. 3. ed. California: Elsevier Academic Press, 2013. Cap. 1. p. 128-150.

HIGUITA, L. P. *et al*. Synthesis and characterization of nanocomposite based on hydroxyapatite and monetite. **Materials Letters**, [s.l.], v. 175, p.169-172, jul. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2016.04.011>. Acesso em: 30 mar. 2019.

HIRAI, T. *et al*. The Preparation of Spherical Calcium Phosphate Fine Particles Using an Emulsion Liquid Membrane System. **Langmuir**, [s.l.], v. 16, n. 3, p.955-960, fev. 2000. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/la990590i>. Acesso em: 22 jun. 2019.

HO, W. *et al*. Calcium phosphate bioceramics synthesized from eggshell powders through a solid state reaction. **Ceramics International**, [s.l.], v. 39, n. 6, p.6467-6473, ago. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2013.01.076>. Acesso em: 15 abr. 2019.

HOLLIER, L. H; STAL, S. The use of hydroxyapatite cements in craniofacial surgery. **Clinics In Plastic Surgery**, [s.l.], v. 31, n. 3, p.423-428, July 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cps.2004.03.006>. Acesso em: 03 Mar. 2018.

HSIEH, J., Industry partnership finds alternative uses for eggshell waste. 2008. Disponível em: <http://www.whistle.gatech.edu/archives/05/oct/24/eggwaste.shtml>. Acesso em: 24 jun. 2017.

HSU, H.; TUAN, W.; LEE, H.. In-situ observation on the transformation of calcium phosphate cement into hydroxyapatite. **Materials Science And Engineering**: C, [s.l.], v. 29, n. 3, p.950-954, abr. 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2008.08.014>. Acesso em: 02 dez. 2017.

HSU, Y.; CHANG, E.; LIU, H.. Hydrothermally-grown monetite (CaHPO4) on hydroxyapatite. **Ceramics International**, [s.l.], v. 24, n. 4, p.249-254, jan. 1998. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/s0272-8842(96)00056-9>. Acesso em: 03 abr. 2019.

HULME, P. A. *et al*. Vertebroplasty and Kyphoplasty: A Systematic Review of 69 Clinical Studies. **Spine**, [s.l.], v. 31, n. 17, p.1983-2001, Aug. 2006. Disponivel em: <Ohttp://dx.doi.org/10.1097/01.brs.0000229254.89952.6b>. Acesso em: 7 Jan. 2018.

IDOWU, B. *et al*. In vitro osteoinductive potential of porous monetite for bone tissue engineering. **Journal Of Tissue Engineering**, [s.l.], v. 5, p.1-14, 21 fev. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/2041731414536572>. Acesso em: 08 abr. 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Expectativa de Vida no Brasil 1940-2015.** 2016. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 12 maio 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produção de Ovos de Galinha (POG).** 2019. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 12 maio 2019.

ISHIKAWA, K. Calcium Phosphate Cement. In: BEN-NISSAN, B. (Ed.).**Advances in Calcium Phosphate Biomaterials**. London: Springer, 2014. p. 199-228.

JAEBLON, T. Polymethylmethacrylate: properties and contemporary uses in orthopaedics. **Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons**.[s.l]. v.18. n. 5. P. 297-305. May 2010. Disponível em< https://journals.lww.com/jaaos/Citation/2010/05000/Polymethylmethacrylate__Properties_and.6.aspx>. Acesso em 12 Jan.2018.

JESUS, P. A. A. **Desenvolvimento de um novo fio de sutura à base de poliuretanos e quitosano**. 2012. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Biomédica, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2012. Disponível em: <run.unl.pt/bitstream/10362/9861/1/Jesus_2012.pdf>. Acesso em: 06 de mai. 2017.

JOKIĆ, B. *et al*. Synthesis and characterization of monetite and hydroxyapatite whiskers obtained by a hydrothermal method. **Ceramics International**, [s.l.], v. 37, n. 1, p.167-173, jan. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2010.08.032>. Acesso em: 30 mar. 2019.

KATZ, J. L. *et al*. Mechanics of Hard Tissue. In: BRONZINO, J. D.; PETERSON, D. R. (Ed.). **The Biomedical Engineering Handbook:** Biomedical Engineering Fundamentals. 4. ed. Nova York: Crc Press, 2014. Cap. 8. p. 1-25.

KAMALANATHAN, P. *et al*. Synthesis and sintering of hydroxyapatite derived from eggshells as a calcium precursor. **Ceramics International**, [s.l.], v. 40, n. 10, p.16349-16359, Dec. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2014.07.074>. Acesso em: 27 Feb. 2018.

KATTIMANI, V. *et al*. Eggshell-Derived Hydroxyapatite. **Journal Of Craniofacial Surgery**, [s.l.], v. 27, n. 1, p.112-117, Jan. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/scs.0000000000002288>. Acesso em: 15 Jan. 2018.

KENSCHE, A. *et al*. Efficacy of a mouthrinse based on hydroxyapatite to reduce initial bacterial colonisation in situ. **Archives Of Oral Biology,** [s.l.], v. 80, p.18-26, Aug. 2017. Disponível em: <http://www.aobjournal.com/article/S0003-9969(17)30084-5/fulltext>. Acesso em: 23 jun. 2017.

KLAZEN, C. A. *et al*. Vertebroplasty versus conservative treatment in acute osteoporotic vertebral compression fractures (Vertos II): an open-label randomised trial. **The Lancet**, [s.l.], v. 376, n. 9746, p.1085-1092, Sept. 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(10)60954-3>. Acesso em: 10 Jan. 2018.

KOJU, N. *et al*. Smart Injectable Self-Setting Monetite Based Bioceramics for Orthopedic Applications. **Materials**, [s.l.], v. 11, n. 7, p.1-18, 22 jul. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ma11071258>. Acesso em: 19 maio 2019.

KRAMER, P. R. *et al*. Capping a Pulpotomy with Calcium Aluminosilicate Cement: Comparison to Mineral Trioxide Aggregates. **Journal Of Endodontics**, [s.l.], v. 40, n. 9, p.1429-1434, set. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2014.02.001>. Acesso em: 03 dez. 2018.

KUHN, K. D. Handling Properties of Polymethylmetacrylate Bone Cements. In: WALENKAMP, G. H. I. M.; MURRAY, D. W. (Ed.). **Bone Cements and Cementing Technique.** Berlim: Springer, 2001. p. 17-23.

KUMAR, G. S. *et al*. Size and morphology-controlled synthesis of mesoporous hydroxyapatite nanocrystals by microwave-assisted hydrothermal method. **Ceramics International**, [s.l.], v. 44, n. 10, p.11257-11264, jul. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.03.170>. Acesso em: 22 jun. 2019.

LEGEROS, R. Z. Calcium Phosphate-Based Osteoinductive Materials. **Chemical Reviews**, [s.l.], v. 108, n. 11, p.4742-4753, 12 nov. 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/cr800427g>. Acesso em: 08 abr. 2019.

_____. Properties of Osteoconductive Biomaterials: Calcium Phosphates. **Clinical Orthopaedics And Related Research**, [s.l.], v. 395, p.81-98, fev. 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/00003086-200202000-00009>. Acesso em: 12 mar. 2019.

LIMA, C. J. M. **Avaliação do Potencial Catalítico do Fosfato de Cálcio Para Combustíveis Líquidos Utilizados em Motores Otto.** 2011. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Materiais, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011. Disponível em: <http://www.posmat.cefetmg.br/wp-content/uploads/sites/120/2017/08/Disserta%C3%A7%C3%A3o_Caio_Julio_Sidney-ilovepdf-compressed.pdf>. Acesso em: 22 jul. 2019.

LIU, C.; HE, H. (Ed.). **Developments and Applications of Calcium Phosphate Bone Cements.** Singapore: Springer, 2017. 632 p.

LURYI, A. L.; BULSARA, K. R.; MICHAELIDES, E. M. Hydroxyapatite bone cement for suboccipital retrosigmoid cranioplasty: A single institution case series. **American Journal Of Otolaryngology,** [s.l.], p.1-4, May. 2017. Disponível em: <http://www.amjoto.com/article/S0196-0709(17)30182-5/fulltext>. Acesso em: 20 jun. 2017.

MAAS, M.; HESS, U.; REZWAN, K. The contribution of rheology for designing hydroxyapatite biomaterials. **Current Opinion In Colloid & Interface Science**, [s.l.], v. 19, n. 6, p.585-593, dez. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cocis.2014.09.002>. Acesso em: 12 abr. 2019.

MACLENNAN, G.; BEEVERS, C. A. The crystal structure of dicalcium phosphate, CaHPO4. **Acta Crystallographica**, [s.l.], v. 8, n. 9, p.579-583, 1 set. 1955. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1107/s0365110x55001795>. Acesso em: 30 mar. 2019

MALARD, O. *et al*. Influence of biphasic calcium phosphate granulometry on bone ingrowth, ceramic resorption, and inflammatory reactions: Preliminaryin vitro andin vivo study. **Journal Of Biomedical Materials Research**, [s.l.], v. 46, n. 1, p.103-111, jul. 1999. Wiley.. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(199907)46:13.0.co;2-z>. Acesso em: 18 mar. 2019.

MBARKI, M. *et al*. Hydroxyapatite bioceramic with large porosity. **Materials Science And Engineering: C,** [s.l.], v. 76, p.985-990, July. 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493116327035>. Acesso em: 23 jun. 2017.

MEDVECKY, L. *et al*. Effect of tetracalcium phosphate/monetite toothpaste on dentin remineralization and tubule occlusion in vitro. **Dental Materials**, [s.l.], v. 34, n. 3, p.442-451, mar. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2017.11.022>. Acesso em: 30 mar. 2019.

MATINFAR, M.; MESGAR, A. S.; MOHAMMADI, Z. Evaluation of physicochemical, mechanical and biological properties of chitosan/carboxymethyl cellulose reinforced with multiphasic calcium phosphate whisker-like fibers for bone tissue engineering. **Materials Science And Engineering**, [s.l.], v. 100, p.341-353, jul. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2019.03.015>. Acesso em: 20 jun. 2019.

MELLIER, C. *et al*. Design and properties of novel gallium-doped injectable apatitic cements. **Acta Biomaterialia,** [s.l.], v. 24, p.322-332, Sept. 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706115002512?via=ihub>. Acesso em: 21 jun. 2017.

MIKULČIĆ, H. *et al*. Numerical modelling of calcination reaction mechanism for cement production. **Chemical Engineering Science**, [s.l.], v. 69, n. 1, p.607-615, Feb. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ces.2011.11.024>. Acesso em: 21 fev. 2018.

MILBRADT, B. G. *et al*. Casca de ovo como fonte de cálcio para humanos: composição mineral e análise microbiológica. **Ciência Rural,** [s.l.], v. 45, n. 3, p.560-566, Mar. 2015. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20140532>. Acesso em: 08 maio 2017.

MIRKOVIĆ, M. M. *et al*. Adsorption of malathion on mesoporous monetite obtained by mechanochemical treatment of brushite. **Rsc Advances**, [s.l.], v. 6, n. 15, p.12219-12225, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/c5ra27554g>. Acesso em: 08 abr. 2019.

MISHRA, P.c. *et al*. Effect of carboxymethyl-cellulose on the properties of cement. **Materials Science And Engineering**, [s.l.], v. 357, n. 1-2, p.13-19, set. 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/s0921-5093(02)00832-8>. Acesso em: 12 mar. 2019.

MONDAL, S. *et al*. Comparative characterization of biogenic and chemical synthesized hydroxyapatite biomaterials for potential biomedical application. **Materials Chemistry And Physics**, [s.l.], v. 228, p.344-356, abr. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.02.021>. Acesso em: 23 jun. 2019.

MONMATURAPOJ, N. Nano-size Hydroxyapatite Powders Preparation by Wet-Chemical Precipitation Route. **Journal Of Metals, Materials and Minerals**, [s.l.], v.

18, p.15-20, May. 2008. Disponível em: <http://ojs.materialsconnex.com/index.php/jmmm/article/view/292>. Acesso em: 25 Feb. 2018.

MOTISUKE, M. **Síntese de Cimento Ósseo a base de α-TCP e Estudo da Influência do Mg e do Si em suas Propriedades Finais.** 2010. 160 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/263563/1/Motisuke_Mariana_D.pdf>. Acesso em: 21 maio 2017.

MURAKAMI, F. S. Estudo termoanalítico entre carbonato de cálcio industrial e carbonato de cálcio obtido da casca do ovo. **V Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria** – V CBRATEC, 2006.

NAYAR, S.; GUHA, A.. Waste utilization for the controlled synthesis of nanosized hydroxyapatite. **Materials Science And Engineering: C,** [s.l.], v. 29, n. 4, p.1326-1329, May 2009. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493108002853>. Acesso em: 21 jun. 2017.

NERY, E. B.; LYNCH, K. L.. Preliminary Clinical Studies of Bioceramic in Periodontal Osseous Defects. **Journal Of Periodontology**, [s.l.], v. 49, n. 10, p.523-527, Oct. 1978. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1978.49.10.523>. Acesso em: 07 set. 2017.

NIEUWENHUIJSE, M. J. *et al*. New Vertebral Fractures after Percutaneous Vertebroplasty for Painful Osteoporotic Vertebral Compression Fractures: A Clustered Analysis and the Relevance of Intradiskal Cement Leakage. **Radiology**, [s.l.], v. 266, n. 3, p.862-870, May. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1148/radiol.12120751>. Acesso em: 15 Jan. 2018.

NOUDA, S. *et al*. Adjacent Vertebral Body Fracture Following Vertebroplasty With Polymethylmethacrylate or Calcium Phosphate Cement. **Spine**, [s.l.], v. 34, n. 24, p.2613-2618, Nov. 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/brs.0b013e3181abc150>. Acesso em: 16 Jan. 2018.

OKULUS, Z.; VOELKEL, A. Mechanical properties of experimental composites with different calcium phosphates fillers. **Materials Science And Engineering: C,** [s.l.], v. 78, p.1101-1108, Sept. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.158>. Acesso em: 10 maio 2017.

OLERUD, F.; OLSSON, C.; FLIVIK, G. Comparison of Refobacin Bone Cement and Palacos with Gentamicin in total hip arthroplasty: an RSA study with two years follow-up. **Hip International**, [s.l.], v. 24, n. 1, p.56-62, Jan. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5301/hipint.5000088>. Acesso em: 13 Feb. 2018.

OLIVEIRA, L.. **Producing calcium phosphate compositions**. MU US 9776870 B2, 26 set. 2016, 30 mar. 2017.

ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. DE M.; MANSUR, H. S. Biomateriais: fundamentos e aplicações. Cultura Médica, 2006.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **Cúpula das Nações Unidas sobre o Desenvolvimento Sustentável.** 2015. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/pos2015/cupula/>. Acesso em: 20 abr. 2019.

OSTROWSKI, N. *et al*. Exploration Of Amorphous And Crystalline Tri-Magnesium Phosphates For Bone Cements. In: NARAYAN, R.; BOSE, S.; BANDYOPADHYAY, A. (Ed.). **Biomaterials Science: Processing, Properties, and Applications V.** New Jersey: John Wiley & Sons, 2015. p. 51-66.

OUBAGHA, N. *et al*. Hydroxyapatite precipitation with Hydron Blue dye. **Journal Of Environmental Management**, [s.l.], v. 203, p.807-810, Dec. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.09.039>. Acesso em: 26 Jan. 2017.

PADMANABHAN, S. K. *et al*. Synthesis and Characterization of Collagen Scaffolds Reinforced by Eggshell Derived Hydroxyapatite for Tissue Engineering. **Journal Of Nanoscience And Nanotechnology**, [s.l.], v. 15, n. 1, p.504-509, Jan. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1166/jnn.2015.9489>. Acesso em: 12 Jan. 2018.

PALMER, J. W.; ROSENSTIEL, T. L. **Process of preparing hydroxylapatite**. MU US 4849193, 02 mar. 1988.

PASTERO, L.; AQUILANO, D. Monetite-Assisted Growth of Micrometric Ca-Hydroxyapatite Crystals from Mild Hydrothermal Conditions. **Crystal Growth & Design**, [s.l.], v. 16, n. 2, p.852-860, 15 jan. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.cgd.5b01431>. Acesso em: 15 abr. 2019.

PERLOFF, A.; POSNER, A. S. Preparation of Pure Hydroxyapatite Crystals. **American Association for The Advancement Of Science (aaas)**, [s.l.], v. 124, n. 3222, p.583-584, 28 set. 1956. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1126/science.124.3222.583-a>. Acesso em: 15 abr. 2019.

PHILLIPS, M. Bone cements in medicine. In: DEB, Sanjukta (Ed.). **Orthopaedic bone cements.** New York: Woodhead Publishing, 2008. Cap. 2. p. 03-34.

PIERETTI, E. F. **Efeito na Marcação na resistência a corrosão de implantes ortopédicos produzidos em aço inoxidável ABNT NBR ISO 5832-1.** 2012. 128 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia Nuclear, Materiais, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2012. Disponível em: <http://pelicano.ipen.br/PosG30/TextoCompleto/Eurico Felix Pieretti_M.pdf>. Acesso em: 11 maio 2017.

QUINA, M. J.; SOARES, M. A.r.; QUINTA-FERREIRA, R. Applications of industrial eggshell as a valuable anthropogenic resource. **Resources, Conservation And Recycling**, [s.l.], v. 123, p.176-186, Aug. 2017. Disponível em < https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2016.09.027>, acesso em 20 de junho de 2017.

RABIEE, S.M.; MOZTARZADEH, F.; SOLATI-HASHJIN, M. Synthesis and characterization of hydroxyapatite cement. **Journal of Molecular Structure**, [s.l.], v. 969, n. 1-3, p.172-175, Apr. 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2010.01.068>. Acesso em: 12 out. 2017.

CAREW, E. O. *et al*. Properties of materials. In: RATNER, B. D. *et al* (Org.). **Biomaterials Science:** An Introduction to Materials in Medicine. 3. ed. California: Elsevier Academic Press, 2013. Cap. 1. p. 23-59.

RATNER, B. D. *et al*. Properties of materials. In: RATNER, B. D. *et al* (Org.). **Biomaterials Science:** An Introduction to Materials in Medicine. 3. ed. California: Elsevier Academic Press, 2013. Cap. 2. p. 67-155.

REED, J. S. Introduction to the principles of ceramic processing.John Wiley e Sons Inc. 2 ed. Canada, 1995.

ROCHA, R. C., *et al.* Surface, microstructural, and adhesion strength investigations of a bioactive hydroxyapatite-titanium oxide ceramic coating applied to Ti-6Al-4V alloys by plasma thermal spraying. **Materials Research**, [s.l.], v. 21, n. 4, p.1-8, 28 maio 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1980-5373-mr-2017-1144>. Acesso em: 22 jul. 2019.

RODRIGUES, A.; ÁVILA, S. G. Caracterização Físico-Química da Casca de Ovo de Galinha e Utilização como Fonte para Produção Compostos de Cálcio. **Revista Virtual de Química**, São Paulo, v. 9, n. 2, p.1-209, Jan. 2017. Disponível em: <http://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/issue/view/54>. Acesso em: 15 Mar. 2017.

RUAN, Q. *et al*. Assembly of Layered Monetite-Chitosan Nanocomposite and Its Transition to Organized Hydroxyapatite. **Acs Biomaterials Science & Engineering**, [s.l.], v. 2, n. 6, p.1049-1058, 3 jun. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/acsbiomaterials.6b00164>. Acesso em: 03 abr. 2019.

RUIZ-AGUILAR, C., *et al*. Characterization of β-tricalcium phosphate powders synthesized by sol–gel and mechanosynthesis. **Boletín de La Sociedad Española de Cerámica y Vidrio**, [s.l.], v. 57, n. 5, p.213-220, set. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bsecv.2018.04.004>. Acesso em: 22 jun. 2019.

SADAT-SHOJAI, M., *et al.* Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. **Acta Biomaterialia**, [s.l.], v. 9, n. 8, p.7591-7621, ago. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2013.04.012>. Acesso em: 22 jul. 2019.

SAKAMOTO, A., *et al*. Bone regeneration by calcium phosphate-loaded carboxymethyl cellulose nonwoven sheets in canine femoral condyle defects. **Journal Of Biomedical Materials Research Part B**: Applied Biomaterials, [s.l.], v. 107, n. 5, p.1516-1521, 28 set. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.b.34243>. Acesso em: 12 abr. 2019.

SAMSUDIN, A. M. *et al*. Effect of pH on Nano-Hydroxyapatite Synthesis from Chicken Eggshell Prepared by Electrochemical Method. **Advanced Science Letters**,

[s.l.], v. 23, n. 6, p.5733-5735, 1 June. 2017. Http://dx.doi.org/10.1166/asl.2017.8816. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1166/asl.2017.8816>. Acesso em: 02 dez. 2017.

SANTOS, M. H., *et al*. Synthesis control and characterization of hydroxyapatite prepared by wet precipitation process. **Materials Research**, [s.l.], v. 7, n. 4, p.625-630, dez. 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-14392004000400017>. Acesso em: 22 jul. 2019.

SCHAAFSMA, A. *et al*. Mineral, amino acid, and hormonal composition of chicken eggshell powder and the evaluation of its use in human nutrition. **Poultry Science**, [s.l.], v. 79, n. 12, p.1833-1838, 1 dez. 2000. Oxford University Press (OUP).. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/ps/79.12.1833>. Acesso em: 22 jul. 2019.

SHA, L., *et al.* Microwave-assisted co-precipitation synthesis of high purity β-tricalcium phosphate crystalline powders. **Materials Chemistry And Physics**, [s.l.], v. 129, n. 3, p.1138-1141, out. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matchemphys.2011.05.075>. Acesso em: 22 jul. 2019.

SHEAR, M. J.; KRAMER, B. The Composition of Bone. III. Physico-Chemical Mechanism. **Experimental Biology And Medicine**, [s.l.], v. 25, n. 4, p.283-285, 1 jan. 1928. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3181/00379727-25-3815>. Acesso em: 10 abr. 2019.

SHEIKH, Z. *et al*. Effect of processing conditions of dicalcium phosphate cements on graft resorption and bone formation. **Acta Biomaterialia**, [s.l.], v. 53, p.526-535, abr. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2017.02.022>. Acesso em: 30 mar. 2019.

SHEN, J. *et al*. Efficient defluoridation of water by Monetite nanorods. **Adsorption**, [s.l.], v. 24, n. 2, p.135-145, 11 dez. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10450-017-9928-8>. Acesso em: 08 abr. 2019.

SHEPARD, C. U. On two new minerals, monetite and monite, with a notice of pyroclasite. **American Journal Of Science**, [s.l.], v. 3-23, n. 137, p.400-405, 1 maio 1882. American Journal of Science (AJS). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2475/ajs.s3-23.137.400>. Acesso em: 05 mar. 2019.

SHINDO, K. G. **Estudo da calcinação de calcário para a produção de óxido de cálcio.** 2017. 56 f. Monografia (Especialização) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlandia, 2017. Disponível em: <http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/20344/5/EstudodeCalcinação.pdf>. Acesso em: 02 Mar. 2018.

SILVA, M. H. P. *et al*. Transformation of monetite to hydroxyapatite in bioactive coatings on titanium. **Surface And Coatings Technology**, [s.l.], v. 137, n. 2-3, p.270-276, mar. 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/s0257-8972(00)01125-7>. Acesso em: 03 abr. 2019.

SPELTA, J. S. O. **Síntese e caracterização de hidroxiapatita produzida a partir de diferentes tipos de cascas de ovos de galinha.** 2018. 73 f. Dissertação

(Mestrado profissional em Tecnologias Sustentáveis) - Programa de Pós-graduação em Tecnologias Sustentáveis, Instituto Federal do Espírito Santo, Vitória, 2018 Disponível em: <http://biblioteca.ifes.edu.br:8080/pergamumweb/vinculos/000014/0000147b.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2018.

SPELTA, J. S.O.; GALDINO, A.G.S. Bioceramic composite: hen's eggshell characterization and main applications. **Revista Ifes Ciência**, v.4, n.1, 2018. Disponível em <http://ojs.ifes.edu.br/index.php/ric/article/view/1037/645>. Acesso em 22. Jul. 2019.

STROWSKI, N. *et al*. Exploration Of Amorphous And Crystalline Tri-Magnesium Phosphates For Bone Cements. In: NARAYAN, R.; BOSE, S.; BANDYOPADHYRAY, A. (Ed.). **Biomaterials Science: Processing, Properties, and Applications V.** New Jersey: Ceramic Transactions, 2015. p. 51-58. (254).

STULAJTEROVA, R. *et al*. Structural and phase characterization of bioceramics prepared from tetracalcium phosphate–monetite cement and in vitro osteoblast response. **Journal Of Materials Science**: Materials in Medicine, [s.l.], v. 26, n. 5, p.1-9, 17 abr. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-015-5511-6>. Acesso em: 12 mar. 2019.

ŠVECOVÁ, M.; BARTŮNĚK, V. Facile synthesis of monetite nanoparticles from basic raw materials. **Ceramics International**, [s.l.], v. 44, n. 13, p.16079-16082, set. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.05.187>. Acesso em: 30 mar. 2019.

SWAIN, S.K.; SARKAR, D. A comparative study: Hydroxyapatite spherical nanopowders and elongated nanorods. **Ceramics International**, [s.l.], v. 37, n. 7, p.2927-2930, Sept. 2011. http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2011.03.077. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2011.03.077>. Acesso em: 02 Feb. 2018.

SYCH, E. E. *et al*. The Structure and Properties of Calcium Phosphate Ceramics Produced from Monetite and Biogenic Hydroxyapatite. **Powder Metallurgy And Metal Ceramics**, [s.l.], v. 53, n. 7-8, p.423-430, nov. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s11106-014-9634-y>. Acesso em: 03 abr. 2019.

SZCZEś, A.; HOłYSZ, L.; CHIBOWSKI, E. Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications. **Advances In Colloid And Interface Science**, [s.l.], v. 249, p.321-330, nov. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2017.04.007>. Acesso em: 03 mar. 2019.

VREKEN, N. M.F. V. *et al*. Characterization of calcium phosphate cements modified by addition of amorphous calcium phosphate. **Acta Biomaterialia**, [s.l.], v. 6, n. 2, p.617-625, fev. 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2009.07.038>. Acesso em: 03 fev. 2019.

VIDHYA, G. *et al*. Comparative study of hydroxyapatite prepared from eggshells and synthetic precursors by microwave irradiation method for medical

applications. **Materials Today**: Proceedings, [s.l.], v. 15, p.344-352, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2019.05.015>. Acesso em: 26 maio 2019.

TAMIMI, F.; SHEIKH, Z.; BARRALET, J. Dicalcium phosphate cements: Brushite and monetite. **Acta Biomaterialia**, [s.l.], v. 8, n. 2, p.474-487, fev. 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2011.08.005>. Acesso em: 30 mar. 2019.

TARIQ, U. *et al*. Injectable dicalcium phosphate bone cement prepared from biphasic calcium phosphate extracted from lamb bone. **Materials Science And Engineering**, [s.l.], v. 103, p.1-9, out. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2019.109863>. Acesso em: 13 jun. 2019.

TIAN, Q. *et al*. Nano-to-Submicron Hydroxyapatite Coatings for Magnesium-based Bioresorbable Implants – Deposition, Characterization, Degradation, Mechanical Properties, and Cytocompatibility. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 9, n. 1, p.1-27, 28 jan. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-37123-3>. Acesso em: 03 abr. 2019.

TOMASELLI, M. G. **Síntese e caracterização da hidroxiapatita a partir da casca de ovo de galinha.** 2014. 60 f. Monografia (Especialização) - Curso de Engenharia Química, Escola de Engenharia de Lorena, Lorena, 2014. Disponível em: <http://sistemas.eel.usp.br/bibliotecas/monografias/2014/MEQ14064.pdf>. Acesso em: 07 maio 2017.

WAGH, A. S. *et al*. Chemically Bonded Phosphate Ceramics. **Chemically Bonded Phosphate Ceramics,** [s.l.], p.17-34, 2016. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081003800000026>. Acesso em: 23 jun. 2017.

WAGNER, D. E. *et al*. A microwave-assisted solution combustion synthesis to produce europium-doped calcium phosphate nanowhiskers for bioimaging applications. **Acta Biomaterialia,** [s.l.], v. 9, n. 9, p.8422-8432, Sept. 2013. Disponível em < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706113002821?via%3Dihub>, acesso em 23 jun. 2017.

WEI, X.; YATES, M. Z. Yttrium-Doped Hydroxyapatite Membranes with High Proton Conductivity. **Chemistry Of Materials,** [s.l.], v. 24, n. 10, p.1738-1743, May 2012. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cm203355h>. Acesso em: 21 jun. 2017.

WILLIAMS, D. F. On the mechanisms of biocompatibility. **Biomaterials,** [s.l.], v. 29, n. 20, p. 2941-2953, July 2008. Disponível em: <www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961208002676 >. Acesso em: 27 de abr. 2017.

WU, S. *et al*. Effects of heat treatment on the synthesis of hydroxyapatite from eggshell powders. **Ceramics International**, [s.l.], v. 41, n. 9, p.10718-10724, nov. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2015.05.006>. Acesso em: 15 abr. 2019.

WROBLEWSKI, B. M.; SINEY, P. D.; FLEMING, P. A. Hip replacements. In: DEB, Sanjukta (Ed.). **Orthopaedic bone cements.** New York: Woodhead Publishing, 2008. Cap. 2. p. 51-47.

XIN, L. *et al*. Decreased extrusion of calcium phosphate cement versus high viscosity PMMA cement into spongious bone Marrow—an ex vivo and in vivo study in sheep vertebrae. **The Spine Journal**, [s.l.], v. 16, n. 12, p.1468-1477, dez. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.spinee.2016.07.529>. Acesso em: 18 Jan. 2018.

YELTEN-YILMAZ, A.; YILMAZ, S. Wet chemical precipitation synthesis of hydroxyapatite (HA) powders. **Ceramics International**, [s.l.], v. 1, n. 1, Feb. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.02.201>. Acesso em: 05 Mar. 2018.

YUSUFF, A. S. *et al*. Synthesis and characterization of anthill-eggshell-Ni-Co mixed oxides composite catalyst for biodiesel production from waste frying oil. **Biofuels, Bioproducts And Biorefining**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.37-47, 13 ago. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/bbb.1914>. Acesso em: 27 jun. 2019.

ZHANG, J. *et al*. Calcium phosphate cements for bone substitution: Chemistry, handling and mechanical properties. **Acta Biomaterialia**, [s.l.], v. 10, n. 3, p.1035-1049, Mar. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2013.11.001>. Acesso em: 25 dez. 2018.

ZHANG, J.T.; TANCRET, F.; BOULER, J.M. Fabrication and mechanical properties of calcium phosphate cements (CPC) for bone substitution. **Materials Science And Engineering**: C, [s.l.], v. 31, n. 4, p.129-135, May 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2010.10.014>. Acesso em: 17 dez. 2018.

ZHANG, W.; WALBOOMERS, X. F.; JANSEN, J. A. The formation of tertiary dentin after pulp capping with a calcium phosphate cement, loaded with PLGA microparticles containing TGF-β1. **Journal Of Biomedical Materials Research Part A**, [s.l.], v. 85, n. 2, p.439-444, 2008. 8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.3155>. Acesso em: 30 mar. 2019.

ZOU, Z. *et al*. Dental enamel-like hydroxyapatite transformed directly from monetite. **Journal Of Materials Chemistry**, [s.l.], v. 22, n. 42, p.22637-22641, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/c2jm35430f>. Acesso em: 03 abr. 2019.