

## ESTUDO DA DENSIFICAÇÃO DE FOSFATO TRICÁLCICO (TCP) VIA ANÁLISE DE IMAGENS

Silva, R.C., Alencastro, F.S., Oliveira, R.N., Soares, G.A.\*,  
Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ  
gloria@metalmat.ufrj.br

### RESUMO

*Dentre os materiais cerâmicos que se assemelham ao osso humano, destaca-se o fosfato tricálcico do tipo beta ( $\beta$ -TCP) que apresenta taxa de reabsorção superior à da hidroxiapatita. Para aumento da resistência mecânica, o material - na forma de pó - pode ser sinterizado, com temperatura e tempo controlados, buscando a densificação sem mudança de fase. No presente trabalho foram produzidas pastilhas por compressão uniaxial seguidas de sinterização a 1150°C por 2h. A difração de Raios-X (DRX) e a espectroscopia no infravermelho (FTIR) mostraram que as pastilhas sinterizadas eram compostas apenas por  $\beta$ -TCP. Imagens de MEV foram utilizadas para quantificação de tamanho de grão e fração volumétrica de poros, via análise digital de imagens. Foi observada pequena fração volumétrica de poros (entre 0,67% e 6,38%) e homogeneidade de tamanhos de grão (da ordem de 2  $\mu$ m). O método se mostrou viável para quantificação de porosidade e tamanho de grão.*

Palavras-chave: TCP, sinterização, análise de imagens

### INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, o Brasil será o sexto país do mundo com o maior número de idosos até 2025.<sup>1</sup> Em adição aos acidentes de trânsito e outras formas de acidentes envolvendo fratura óssea, há o envelhecimento da população, que contribui para aumento das estatísticas.

Dentre os materiais estudados para reparo ósseo, tem-se as cerâmicas à base de fosfato de cálcio. Esses materiais são interessantes, pois se assemelham à fase mineral do osso humano, que é um compósito natural de hidroxiapatita cálcio-deficiente com diversas substituições e colágeno.

A hidroxiapatita sintética (HA:  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ , razão cálcio/fósforo de 1,67) é um material bioativo que favorece o crescimento ósseo na sua superfície<sup>2</sup>, mas não é reabsorvida pelo organismo.<sup>3</sup>

Existe um interesse crescente por materiais que estimulem o crescimento ósseo enquanto são reabsorvidos pelo corpo, dando lugar ao novo tecido ósseo formado. Ou seja, uma vez implantado, as células ósseas aderem-se à superfície do material e o processo de digestão do fosfato de cálcio começa, liberando para o meio íons fosfato e cálcio que estimulam as células formadoras de novo tecido ósseo, o qual substitui gradativamente o material sintético. O  $\beta$ -TCP ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) – sozinho ou misturado à HA - pode ser considerado uma solução razoável a tal questão devido à sua elevada taxa de reabsorção.<sup>2, 4</sup>

Para ser utilizado como substituto ósseo, a resistência mecânica do  $\beta$ -TCP deve ser elevada, e portanto deve apresentar alta densificação. Contudo, sua completa densificação é difícil, pois é preciso sinterizar em baixas temperaturas para evitar a transformação de fase  $\beta \rightarrow \alpha$  e o crescimento de grão. As fases  $\beta$  e  $\alpha$  apresentam diferentes coeficientes de expansão térmica, resultando na fragilização do material sinterizado.<sup>2, 5</sup>

Dentre as possíveis técnicas de quantificação de tamanho de grão e porosidade em materiais densos, há uma tendência de se empregar a materialografia quantitativa, de preferência associada ao processamento de imagens.<sup>6</sup>

O objetivo do presente trabalho é a quantificação de tamanho de grão e de porosidade de amostras de  $\beta$ -TCP sinterizadas na condição descrita.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para a confecção de 6 pastilhas,  $\beta$ -TCP em pó (MERCK-DARNSTAD-GERMANY) foi peneirado (peneira de  $125\mu\text{m}$ ), prensado uniaxialmente (CAVER) sob pressão de 390 MPa. As pastilhas foram sinterizadas a  $1150^\circ\text{C}$  por 2h em forno tipo mufla, sem controle de atmosfera. As amostras foram então recobertas com

ouro e levadas para observação em microscópio eletrônico de varredura (JEOL 2000FX), obtendo-se 2 imagens de diferentes regiões (escolhidas aleatoriamente) de cada pastilha. As imagens foram assim denominadas: 1A(a), 1B(a), 2A(a), 2B(a), 3A(a), 3B(a), 4A(a), 4B(a), 5A(a), 5B(a), 6A(a) e 6B(a).

Para quantificação da porosidade, as imagens foram processadas utilizando o programa IMAGE PRO-PLUS® 4.0 conforme o esquema mostrado na Figura 1. Cada imagem foi convertida em imagem em escala de cinzas, seguida de alteração de contraste e brilho da imagem. O contraste e o brilho foram alterados buscando obter a maior distinção entre os poros e grãos. Aplicou-se filtro morfológico de erosão, para recuperar os contornos de grão perdidos na etapa anterior.



Figura 1 – Sequência de etapas para quantificação de porosidade utilizando IPP.

A imagem foi aprimorada a partir de segmentação baseada em histograma. Ou seja, a segmentação da imagem foi determinada no valor da escala de cinza escolhido no histograma. De posse da imagem segmentada, procedeu-se à quantificação dos poros, seguindo o esquema mostrado na Figura 2.

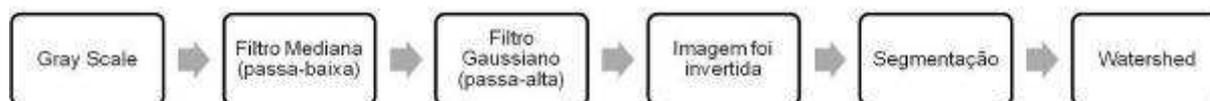


Figura 2 – Etapas/filtros da quantificação de tamanho de grão.

Após estas etapas, obteve-se a quantificação da porosidade por intermédio da contagem do número de pixels brancos e pretos e da sua proporção em relação à quantidade total de pixels.

A partir das imagens foi possível também quantificar diâmetro médio de grão das amostras. No programa IMAGE PRO-PLUS® 4.0, nas imagens outrora convertidas em escala de cinza aplicou-se duas vezes o filtro de mediana para retirada de ruído. Esse filtro foi escolhido, pois permite retirada de ruído, conservando parte das bordas.

Em seguida, para realce dos contornos, filtro gaussiano foi aplicado duas vezes. As imagens foram então invertidas e segmentadas. Ao aplicar o filtro *Watershed*, as regiões de contorno de grão (denominadas 1A(b), 1B(b), 2A(b), 2B(b), 3A(b), 3B(b), 4A(b), 4B(b), 5A(b), 5B(b), 6A(b), 6B(b)) foram reveladas. Uma vez que as imagens apresentavam legendas e regiões escurecidas nas bordas, as quais poderiam mascarar resultados, foi escolhida certa área padronizada para efetuar a contagem de diâmetro médio de grãos e a área por eles ocupada.

Para cada amostra foi calculada: a quantidade de poros; a fração de área de poros (área de poros / área total), que pode ser considerada aproximadamente proporcional à fração volumétrica de poros; a quantidade de grãos presente; e o tamanho médio dos grãos na área analisada.

Os resultados foram submetidos a tratamento estatístico para confirmar, com um intervalo de confiança de 95%, se o número de imagens analisadas foi suficiente para sustentar a hipótese de que o diâmetro médio de grãos encontrado é representativo, segundo a equação (A):

$$n = [1,96 * \sigma / (X_m * 10\%)]^2 \quad (A)$$

Onde n é o número mínimo de imagens para que o resultado seja confiável,  $\sigma$  é o desvio padrão,  $X_m$  é a média dos diâmetros médios dos grãos de cada imagem e 10% é o erro máximo aceitável em relação a  $X_m$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram retiradas duas imagens de diferentes regiões de cada pastilha, em um total de 12 imagens, conforme as Figuras 3 a 14.

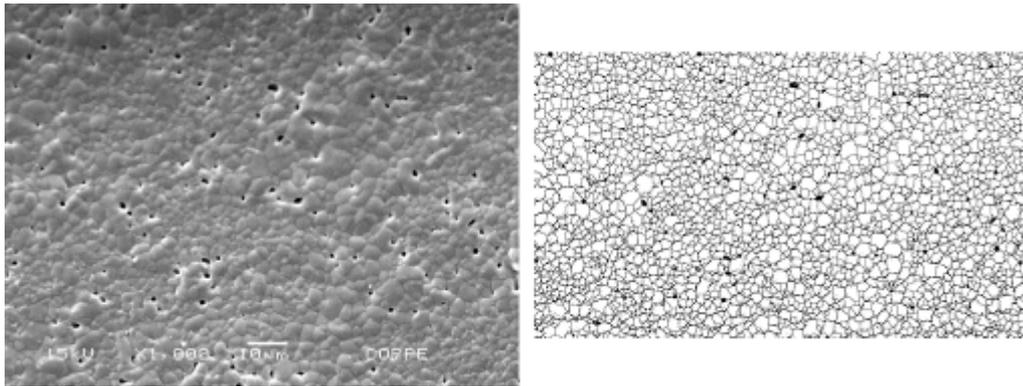


Figura 3 - Imagem 1A original (a) e após tratamento de imagem (b).

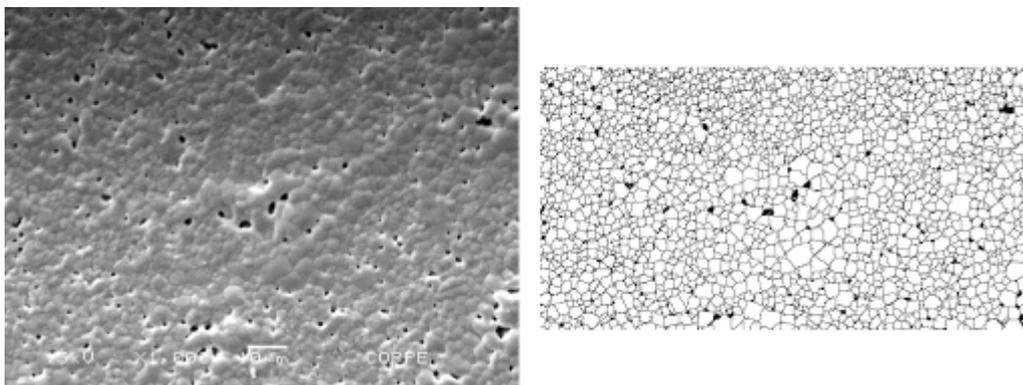


Figura 4 - Imagem 1B original (a) e após tratamento de imagem (b).

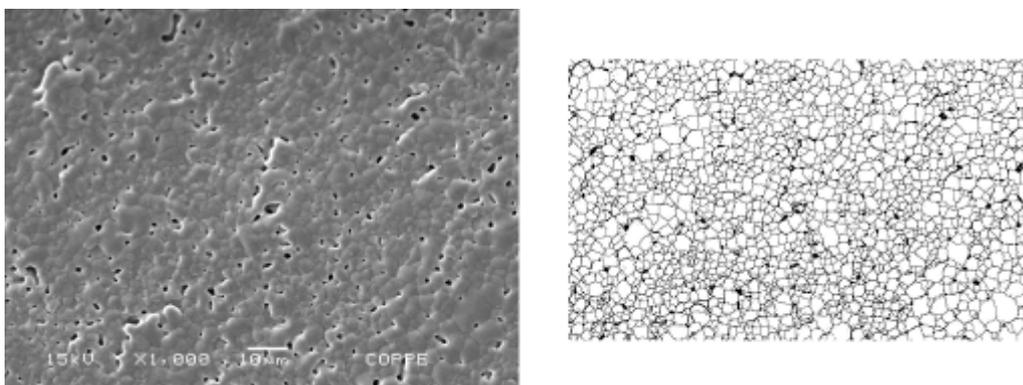


Figura 5 - Imagem 2A original (a) e após tratamento de imagem (b).

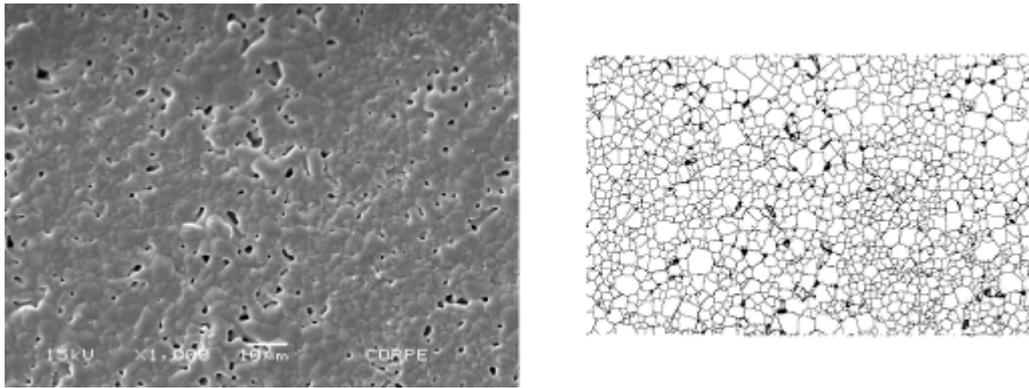


Figura 6 - Imagem 2B original (a) e após tratamento de imagem (b).

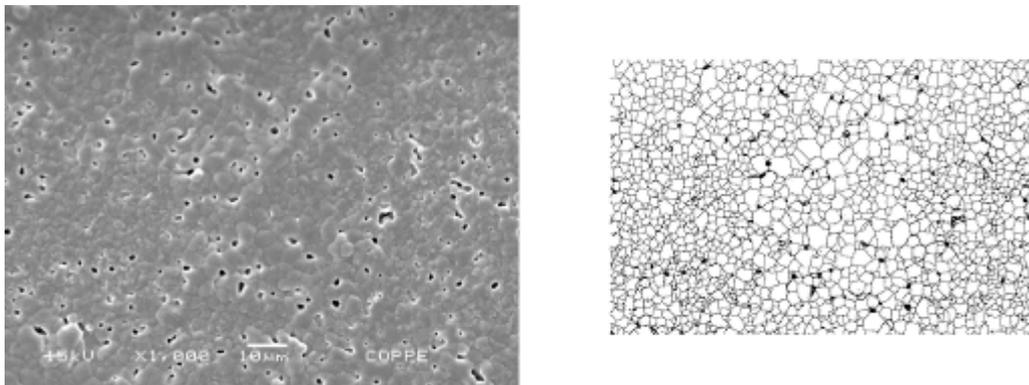


Figura 7 - Imagem 3A original (a) e após tratamento de imagem (b).

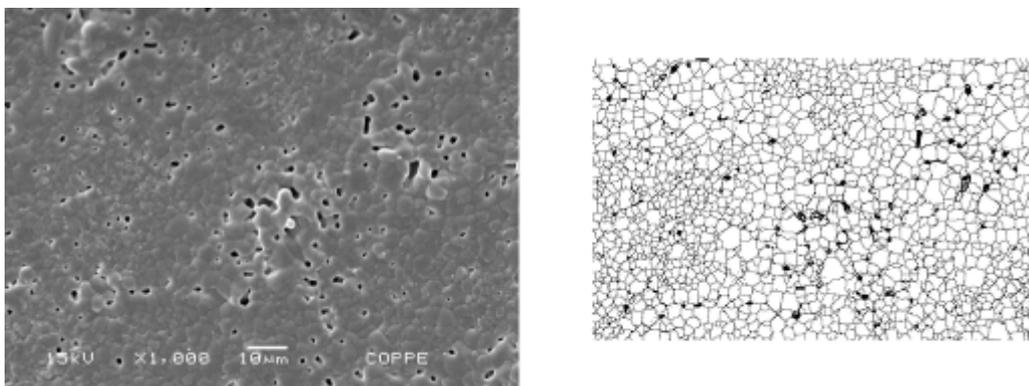


Figura 8 - Imagem 3B original (a) e após tratamento de imagem (b).

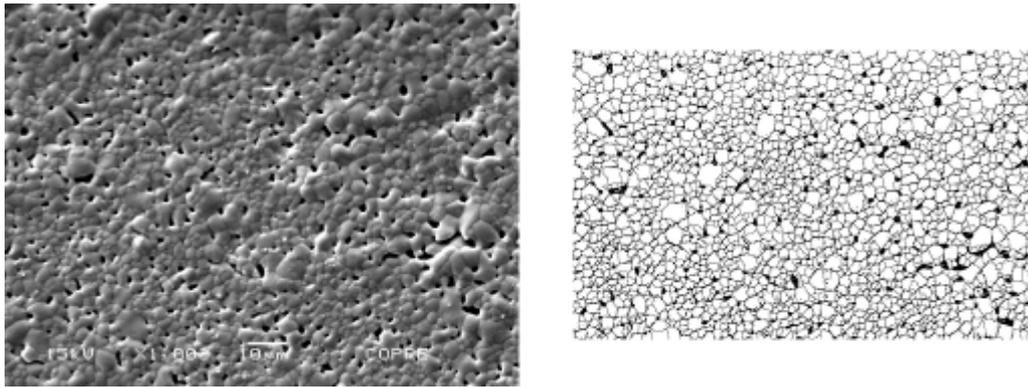


Figura 9 - Imagem 4A original (a) e após tratamento de imagem (b).

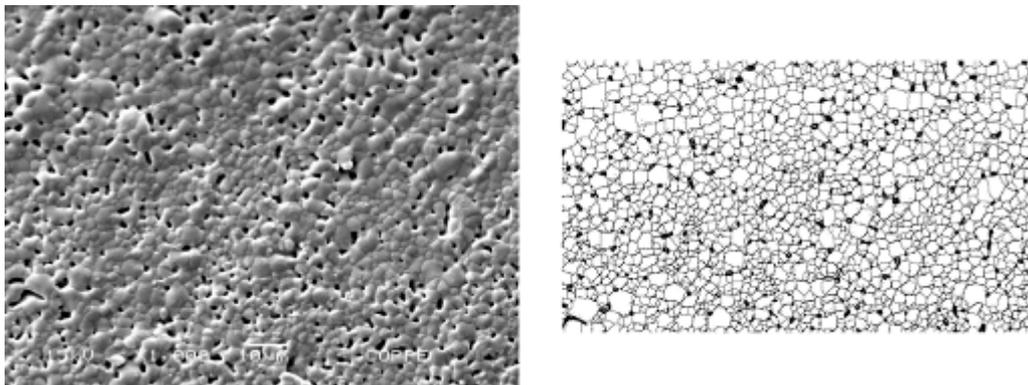


Figura 10 - Imagem 4B original (a) e após tratamento de imagem (b).

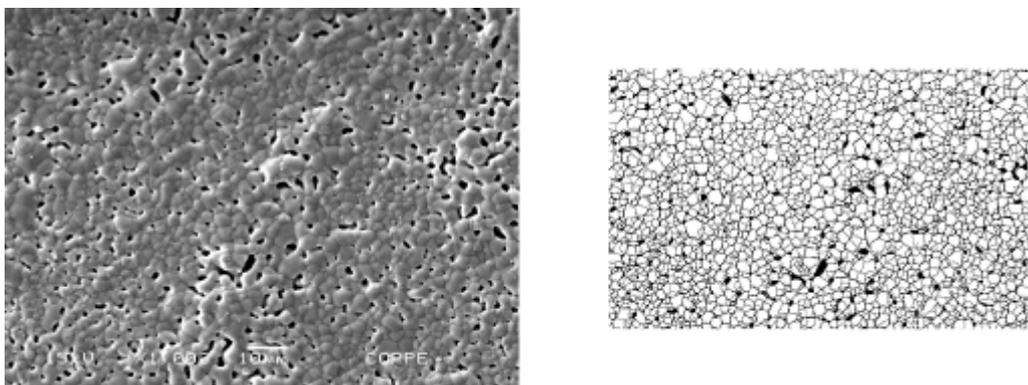


Figura 11 - Imagem 5A original (a) e após tratamento de imagem (b).

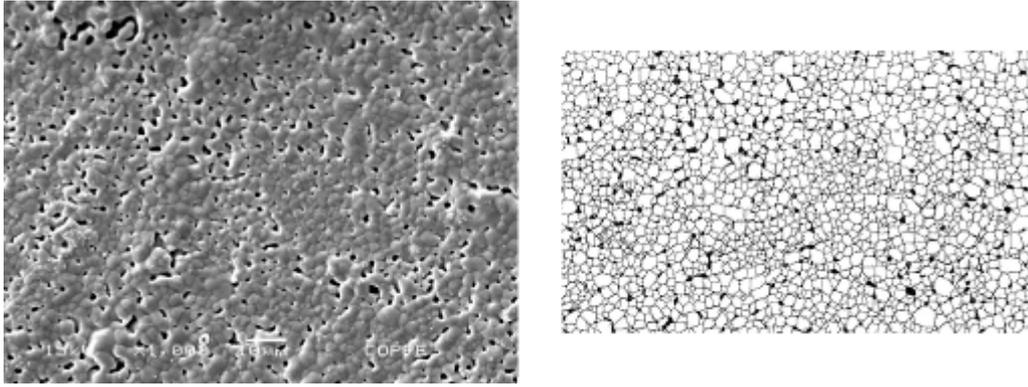


Figura 12 - Imagem 5B original (a) e após tratamento de imagem (b).

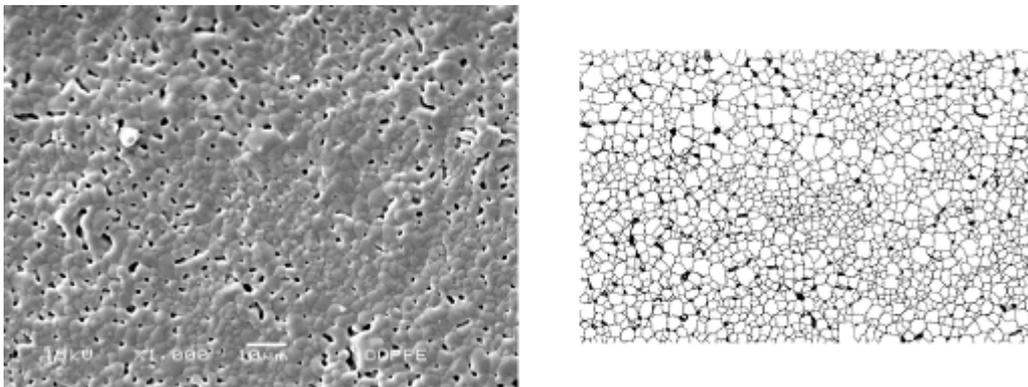


Figura 13 - Imagem 6A original (a) e após tratamento de imagem (b).

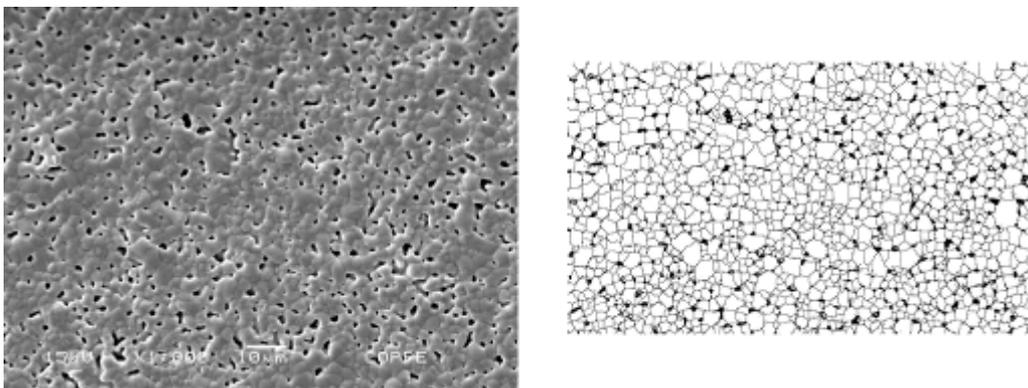


Figura 14 - Imagem 6B original (a) e após tratamento de imagem (b)

Ao medir o número de grãos e o diâmetro médio de grão nas imagens sem equalização de histograma e depois, após equalização, obteve-se os dados apresentados na Tabela 1. Com estes dados, calculou-se a média e desvio padrão, Tabela 2. Para cada condição também foi possível calcular o número mínimo de imagens necessário para que o resultado fosse representativo, segundo a equação

(A) apresentada anteriormente. Seriam necessárias 70 imagens na condição em que não foi feita equalização de histograma e apenas 3 para a outra condição.

Tabela 1 – Resultados obtidos no processamento das imagens

Im.	Nºporos	Fração vol. (%)	Nºgrãos		Diâmetro médio de grão ( $\mu\text{m}$ )	
			Sem Eq.	Com Eq.	Sem Eq.	Com Eq.
1A	145	0,67	3625	3176	1,23	1,36
1B	171	1,13	1058	2259	2,86	1,58
2A	427	2,37	921	2286	3,09	1,54
2B	328	2,28	790	1719	3,23	1,73
3A	263	1,69	980	1930	2,98	1,59
3B	220	1,67	1912	1927	1,40	1,65
4A	577	4,41	2259	2352	1,39	1,50
4B	805	6,38	2322	2082	1,45	1,57
5A	643	5,07	2499	3215	1,31	1,55
5B	690	4,86	2155	2350	1,49	1,52
6A	556	4,05	1922	1946	1,66	1,69
6B	753	6,11	598	1598	3,60	1,85

Eq. = Equalização de histograma

Tabela 2 – Análise estatística

Diâmetro médio de grão ( $\mu\text{m}$ )	Sem Eq.	Com Eq.
Média	2,14	1,59
Desvio Padrão	0,91	0,12
Número de imagens	70	3

Eq. = Equalização de histograma

## CONCLUSÃO

Observou-se que o processamento de imagens pode ser utilizado como ferramenta de auxílio para cálculo de fração de poros e de diâmetro médio de grãos. Contudo, a realização de tratamento estatístico é aconselhável para dar confiabilidade aos resultados.

Observou-se pequena fração de poros nas amostras sinterizadas (máximo de 6,38%), o que é indicativo da efetividade do processo de sinterização e provavelmente contribuirá para o aumento da resistência à compressão. Após equalização dos histogramas, observou-se certa homogeneidade de tamanhos de grão (aproximadamente 2 $\mu$ m).

A análise estatística mostrou que seriam necessárias 70 imagens para que o tratamento sem equalização de histograma fosse representativo, enquanto apenas três imagens seriam suficientes para que os dados, após a equalização de histograma, fossem representativos. Portanto, a rota com a equalização de histograma seria a recomendada para quantificação de diâmetro médio de grão.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq, à FAPERJ e à CAPES pelo suporte financeiro, e ao laboratório TERMIC pelo equipamento necessário à análise de imagens.

## REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. "Active Ageing: A Policy Framework". **Second United Nations World Assembly on Ageing**, Madri, Espanha, 2002.
2. RYU, H., YOUN, H., HONG K. S., CHANG, B., LEE, C., CHUNG, S. "An improvement in sintering property of b-tricalcium phosphate by addition of calcium pyrophosphate". **Biomaterials**, v. 23, pp. 909–914, 2002.
3. ORÉFICE, R. "Compósitos Bioativos". **Laboratório de Engenharia de Polímeros e Compósitos**, UFMG, 2010.
4. JOHNSON, A. J. W., HERSCHLER, B. A. "A review of the mechanical behavior of CaP and CaP/polymer composites for applications in bone replacement and repair", **Acta Biomater**, 2010.
5. TAMPIERI, A., CELOTTI, G., SZONTAGH, F., LANDI, E. "Sintering and characterization of HA and TCP bioceramics with control of their strength and phase purity", **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 8, pp. 29-37, 1997.
6. GONZALEZ, R.C., WOODS, R.E. **Digital Image Processing**, 2 ed. Prentice Hall, New Jersey, 2002.

## Study of TCP densification via Image Analysis

### ABSTRACT

Among ceramic materials that mimic human bone,  $\beta$ -type tri-calcium phosphate ( $\beta$ -TCP) has shown appropriate chemical stability and superior resorption rate when compared to hydroxyapatite. In order to increase its mechanical strength, the material is sintered, under controlled time and temperature conditions, to obtain densification without phase change. In the present work, tablets were produced via uniaxial compression and then sintered at 1150°C for 2h. The analysis via XRD and FTIR showed that the sintered tablets were composed only by  $\beta$ -TCP. The SEM images were used for quantification of grain size and volume fraction of pores, via digital image analysis. The tablets showed small pore fraction (between 0,67% and 6,38%) and homogeneous grain size distribution ( $\sim 2\mu\text{m}$ ). Therefore, the analysis method seems viable to quantify porosity and grain size.

Key-words: TCP, sintering, image analysis.