

Desenvolvimento e caracterização de biocimento contendo vidro bioativo (Development and characterization of biociment containing bioactive glass)

A.M. Barbosa¹, K. W. dos Santos¹, V.C. Pandolfelli², I. R. de Oliveira¹,

¹Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – Universidade do Vale do Paraíba
São José dos Campos - SP

²Departamento de Engenharia de Materiais – Universidade Federal de São Carlos
São Carlos – SP
ana.barbosa@univap.br

Resumo

Os biocimentos são especialmente usados no reparo de sistemas ósseos esqueléticos e em aplicações dentárias. Entre eles, destaca-se o cimento de aluminato de cálcio (CAC) por suas pastas apresentarem valores de resistência relativamente altos, quando comparados à outros grupos de cerâmicas ligadas quimicamente. Os vidros bioativos são biomateriais sintéticos com importantes aplicações clínicas na área ortopédica e dentária. Neste trabalho, o vidro bioativo 58S foi sintetizado por meio da rota sol-gel substituindo-se a fonte de fósforo tradicional (trietilfosfato-TEP) por ácido fosfórico, seguida da adição de solução hidróxido de amônio para formação instantânea do gel. O vidro bioativo foi caracterizado quanto às suas fases cristalinas, composição química e tamanho médio de partículas. Com o objetivo de aumentar a bioatividade do CAC, foram produzidas blendas de biocimento- vidro bioativo (7,5 %p e 10 %p) as quais foram caracterizadas quanto à resistência mecânica à compressão, resistência à flexão, porosidade aparente e distribuição de tamanho de poros. As blendas apresentaram menor resistência mecânica e bioatividade em SBF semelhante ao CAC.

Palavras-chave: vidro bioativo, sol-gel, blendas de CAC, SBF

Abstract

Biocements are especially used in repair of skeletal systems and in dental applications. Among them, calcium aluminate cement (CAC) stands out because its pastes have relatively high resistance values when compared to other groups of chemically bonded ceramics. Bioactive glasses are synthetic biomaterials with important clinical applications in the orthopedic and dental area. In this work, the 58S bioactive was synthesized by means of the sol-gel route replacing the traditional phosphorus source (triethyl phosphate-TEP) with phosphoric acid, followed by the addition of ammonium hydroxide solution for instant gel formation. The bioactive glass was characterized for its crystalline phases, chemical composition and average particle size. In order to increase the bioactivity of CAC, bioactive glass blends (7,5% and 10% p) were produced, which were characterized in terms of mechanical resistance to compression, flexural strength, apparent porosity and size distribution of pores. The blends presented lower mechanical resistance and bioactivity in SBF similar to CAC.

Keywords: Bioactive glass, sol-gel, CAC-blends, SBF

INTRODUÇÃO

Biocimentos desenvolvidos durante as últimas cinco décadas são especialmente usados no reparo de defeitos do tecido ósseo e na fixação de implantes ortopédicos, atuando como preenchedores no espaço entre o implante e os tecidos vivos [1]. Entre esses biocimentos, destaca-se o cimento de aluminato de cálcio (CAC) por suas pastas apresentarem valores de resistência relativamente altos, quando comparados com os valores de outros grupos de cerâmicas ligadas quimicamente e, suas variações na consistência e formulações o tornarem adequado para uma ampla gama de aplicações como na odontologia e ortopedia [2,3].

O uso do cimento de aluminato de cálcio como biomaterial tem sido avaliado e suas propriedades físicas, mecânicas e de biocompatibilidade mostram que esse biocimento é um material promissor para a regeneração óssea pois apresenta similaridade química com o tecido duro e excelente biocompatibilidade [4]. Entretanto, estudos recentes têm mostrado que o cimento de aluminato de cálcio exibe bioatividade leve [5,6].

Entre as principais biocerâmicas, outro material que se destaca é o vidro bioativo [7,8]. Os vidros bioativos são biomateriais sintéticos inicialmente desenvolvidos no final da década de 1960 [9] e são capazes de se ligar ao osso por meio da formação de uma camada de apatita na sua superfície. Apresentam propriedades osteocondutoras, osteoindutoras e angiogênicas para algumas composições e são solúveis em condições biológicas [10]. O vidro bioativo se apresenta como um dos mais promissores materiais para reparo ósseo, devido à sua excelente biocompatibilidade, bioatividade [11].

O vidro bioativo apresenta em sua composição química uma maior quantidade de cálcio e fósforo comparado ao vidro comum. Esse material tem várias aplicações médicas e odontológicas, pois na forma de pó, é possível, por meio de sua dissolução quando em contato com os fluidos corpóreos, acelerar a regeneração de tecidos lesionados do corpo humano, tais como fraturas ósseas, feridas da pele, problemas nas cartilagens, esmalte e dentina dos dentes e até nervos. Também pode acelerar a regeneração óssea e a integração das próteses com o osso, além de apresentar capacidade bactericida [12,13].

Existem atualmente duas rotas para a obtenção do vidro bioativo, sendo elas, fusão e sol-gel, e essas rotas produzem vidros bioativos com composições conhecidas nominalmente como 45S5 (SiO_2 45 %p, CaO 22 %p, Na_2O 27 %p e P_2O_5 6 %p) e 58S (SiO_2 58 %p, CaO 33 %p e P_2O_5 9 %p), respectivamente [14].

Na técnica por fusão, o material é obtido em temperaturas superiores a 1100 °C, empregando-se uma mistura de matérias-primas e subsequente solidificação. Na metodologia sol-gel, inicialmente são utilizados reagentes que formam o sol, partículas coloidais dispersas em um líquido. Em seguida, forma-se o gel, rede rígida e interconectada com porosidade submicrométrica e cadeias poliméricas cujo comprimento médio é superior a 1 µm [15,16]. O processamento de materiais por técnica sol-gel apresenta como vantagem principal o fato de ser realizado a baixas temperaturas, desde a temperatura ambiente até temperaturas da ordem de 700 °C. Como resultado obtém-se um pó com elevadas pureza e homogeneidade e sua estrutura pode ser modificada por meio do controle das reações de hidrólise e policondensação que ocorrem durante a síntese [17].

Para a obtenção do vidro bioativo 58S, o precursor de fósforo mais empregado é o trietilfosfato TEP, $C_6H_{15}O_4P$, o qual possui custo bastante elevado. Há, no entanto, trabalhos que propõem a substituição do TEP por outros precursores de fósforo de baixo tais como ácido fosfórico (H_3PO_4) ou uma solução de pentóxido de fósforo (P_2O_5) dissolvido em etanol [18].

Dentro deste contexto, o objetivo do presente trabalho foi realizar a síntese e caracterização do vidro bioativo 58S empregando o ácido fosfórico (H_3PO_4) como precursor de fósforo. Blendas de CACH com diferentes teores de vidro bioativo 58S (7,5 %p e 10 %p) foram produzidas e caracterizadas quanto à resistência mecânica à compressão, resistência à flexão, porosidade aparente e distribuição de tamanho de poros.

MATERIAIS E MÉTODOS

O vidro bioativo 58S foi preparado adicionando-se 21,97 mL de Tetraetil Ortosilicato (TEOS), (Sigma Aldrich, 99,8%), a um béquer, posicionado sobre um agitador magnético, contendo 13,9 mL de água deionizada e 50 mL de etanol absoluto, (Synth, P.A). A seguir, foram adicionados 2,8 mL de solução ácido nítrico (HNO_3) 2M, (68%, Merck). Após 20 minutos de agitação, adicionou-se 0,9 mL de ácido fosfórico (85%, Quimesp) e o sistema foi mantido sob agitação por mais 20 minutos. Na sequência, foram adicionados 14,04 g de nitrato de cálcio tetra hidratado ($Ca(NO_3)_2 \cdot 4 H_2O$), (99%, Merck). A agitação foi mantida até que todo o nitrato de cálcio fosse dissolvido, quando então foram adicionados 10 mL de solução 2 M de hidróxido de amônio (NH_4OH) (63%, Merck). Após a adição da solução de hidróxido de amônio, houve a formação instantânea do gel, o qual foi mantido em estufa, a 60 °C, por 24 horas e depois, a 120 °C por mais 24 horas.

Após a secagem o gel foi estabilizado em um forno a 600 °C por 2 horas com taxa de aquecimento de 5 °C/min. O pó de vidro bioativo obtido foi moído em almofariz e caracterizado quanto às fases presentes por Difração de raios X (XRD-6000 da Shimadzu) com varredura 2θ de 10 a 80° usando fenda 0,3 mm. A composição química foi determinada por microanálise de raios X - EDS (Tescan Veja 3 ou EVO MA10 da Zeiss) voltagem de 10kV. A caracterização quanto a distribuição de tamanho das partículas, foi realizada no equipamento S3550 da Microtrac após as amostras (0,125 g) serem dispersas em 50 mL de água destilada e submetidas a ultrassom durante 45 minutos (Sonics Vibra-cell, modelo VCX 500).

O CACH foi obtido através da mistura a seco do cimento de aluminato de cálcio (Secar 71 Kernel) com dispersante Castament FS60 (Bayer, 0,6%-p) e plastificante CaCl₂.2H₂O (Labsynth, 2,8%-p) em moinho de bolas durante 1 hora. As blendas de CACH e biovidro (7,5 %p e 10 %p) foram preparadas pela mistura em moinho de bolas por 1 h.

As blendas obtidas foram usadas na preparação de suspensões aquosas (75%-p de sólidos) com as quais foram moldadas corpos cilíndricos (6 mm diâmetro x 2 mm de altura) e barras (7,0 mm x 1,5 mm x 1,5 mm). As amostras foram levadas para a estufa e curadas a 37 °C por 5 horas.

Após a cura, parte das amostras foram desmoldadas e imersas em solução de fluido corporal simulado (SBF) [19] e retornadas para a estufa a 37 °C. Após 7 dias, amostras úmidas foram submetidas a ensaios de resistência à compressão uniaxial ou à flexão, enquanto outras secas a 110 °C durante 24 h foram submetidas a medidas de porosidade aparente pelo método de Archimedes. Medidas de porosidade aparente também foram realizadas para amostras secas a 110 °C sem tratamento com SBF. Amostras secas a 110°C durante 48 h, tratadas ou não com SBF, foram submetidas a ensaios de distribuição de tamanhos de poros.

A resistência à compressão uniaxial foi medida a uma velocidade de deslocamento de 0,15 mm/min (ASTM C67) para pelo menos 5 amostras de cada composição usando uma máquina de ensaios mecânicos (DL 10000, EMIC). A tensão de ruptura σ_R (MPa) foi calculada de acordo com a equação (1):

$$\sigma_R = \left[\frac{4P}{\pi D^2} \right] \quad (1)$$

onde, P (N) é a carga máxima requerida para fraturar cada amostra e D (mm) é o diâmetro médio das amostras.

A resistência à flexão foi medida a uma velocidade de 0,5 mm/min (ASTM C674) para pelo menos cinco amostras de cada composição, empregando a mesma máquina de ensaios

mecânicos. Foi utilizada a configuração em três pontos sendo a distância entre os pontos de apoio fixada de 30 mm. O módulo de ruptura (σ_R) foi calculado empregando a equação 2:

$$\sigma_R = \left[\frac{3Fl}{2bd^2} \right] \quad (2)$$

A porosidade aparente (PA) pelo método de Archimedes (ASTM C830) foi medida usando amostras em triplicata as quais foram inicialmente pesadas a seco (M_S) e após 1 h de imersão em querosene (massa específica $0,8 \text{ g/cm}^3$) sob vácuo, foram novamente pesadas quando imersas no líquido (M_L) e úmidas (M_U). Assim a porosidade aparente foi calculada pela massa de líquido retida em seus poros abertos como apresentado pela equação 3:

$$PA = \left[\frac{(M_u - M_s)}{(M_u - M_l)} \right] \times 100 \quad (3)$$

A distribuição de tamanho de poros por meio da técnica de porosimetria por intrusão de mercúrio foi realizada utilizando o equipamento Autopore IV 9500 Micrometrics. A técnica é baseada na equação de Washburn (equação 4) onde D é o diâmetro do poro, P é a pressão aplicada, γ é a tensão superficial do mercúrio e ϕ é o ângulo de contato (130°). O volume de mercúrio (V) que penetra os poros é medido diretamente em função da pressão aplicada (P).

$$D = 4\gamma P^{-1} \cos\phi \quad (4)$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para a análise da composição química do vidro bioativo empregando ácido fosfórico (H_3PO_4) como precursor de fósforo e amônia para a obtenção instantânea do gel (AF-CA), são apresentados na Tabela I. Analisando-se os resultados encontrados pode-se verificar que os mesmos estão em boa concordância com os valores nominais e também com os valores obtidos por Xia et al. [20] que empregaram a mesma metodologia deste trabalho, porém utilizando TEP como precursor de fósforo.

Tabela I: Resultados obtidos, por X-EDS, para a composição química do vidro bioativo (AF-CA), comparados com os valores obtido por Xia *et.al* [20].

	SiO ₂ %p	CaO %p	P ₂ O ₅ %p
Composição nominal	58	33	9
AF-CA	57,79±1,2	34,22±1,7	7,95±1,6
TEP-CA	58,9±1,3	34,5±1,4	6,6±1,2

Para as condições avaliadas observa-se que o vidro bioativo produzido apresenta estrutura amorfa, Figura 1. Ocorre apenas a identificação de um pico em $2\theta=33^\circ$, o qual indica a presença da fase cristalina Wollastonita. Esses resultados corroboram com a literatura [21,22] e, de acordo com esses autores, esta fase apresenta influência positiva na bioatividade do material, auxiliando na formação da camada de apatita carbonatada, responsável pela ligação com o tecido ósseo [5].

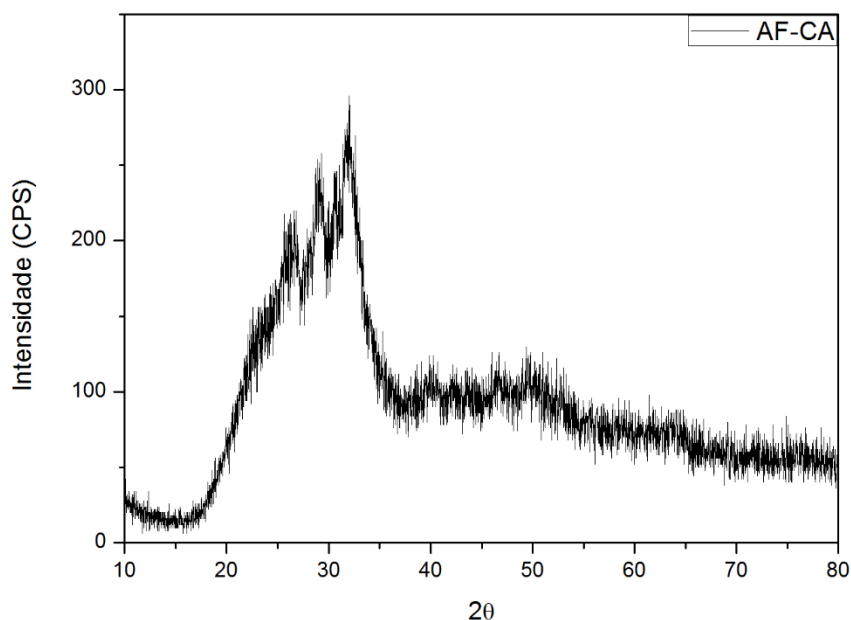


Figura 1: Difratoograma do pó de vidro bioativo produzido empregando ácido fosfórico como precursor de fósforo com amônia (AF-CA), obtido com varredura 2θ de 10 a 80° usando fenda 0,3 mm.

Os resultados obtidos para os ensaios de resistência à compressão uniaxial e à flexão das amostras úmidas tratadas com SBF durante 7 dias são apresentados na Tabela II.

Tabela II – Resultados dos ensaios de compressão uniaxial e flexão de 3 pontos para as blendas de CACH contendo diferentes porcentagens de vidro bioativo (VB) produzido empregando ácido fosfórico (AF) e amônia (CA).

	Compressão uniaxial Tensão de ruptura (MPa)	Flexão de 3 pontos Tensão de ruptura (MPa)
CACH puro	43,15±0,8	20,98±1,1
CACH + 7,5% VB-AF-CA	30,72±0,9	17,00±0,98
CACH + 10% VB-AF-CA	24,88±0,8	14,56±0,97

A análise dos resultados apresentados na Tabela II permite concluir que a inserção do vidro bioativo não melhora as propriedades mecânicas do cimento de aluminato de cálcio ao contrário, provoca uma queda de suas propriedades mecânicas. Este resultado pode ser explicado pela semelhança entre as distribuições de tamanho de partículas do CAC e do vidro bioativo, como é mostrado na Figura 2, e desta forma não favoreceu o empacotamento entre as partículas.

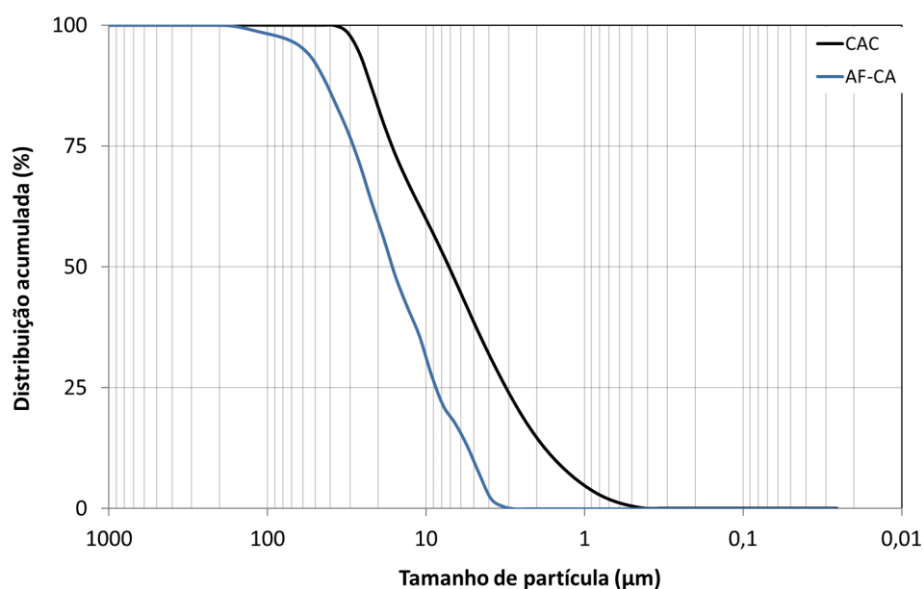


Figura 2- Distribuição do tamanho de partícula do cimento de aluminato de cálcio (CAC) e do vidro bioativo produzido com ácido fosfórico e amônia (AF-CA).

Os resultados do ensaio de porosidade aparente são apresentados na Tabela III.

Tabela III – Porosidade aparente do CACH puro e suas blendas sem e com tratamento com SBF.

Material	Porosidade aparente (%)	
	Sem tratamento com SBF	Com tratamento com SBF
CACH puro	22,980	9,514
CACH + 7,5% VB-AF-CA	26,424	13,967
CACH + 10% VB-AF-CA	30,294	17,506

Os resultados de porosimetria por intrusão de mercúrio para o CACH puro e para as blendas, com e sem tratamento com SBF são apresentados nas Figuras 2 e 3 respectivamente.

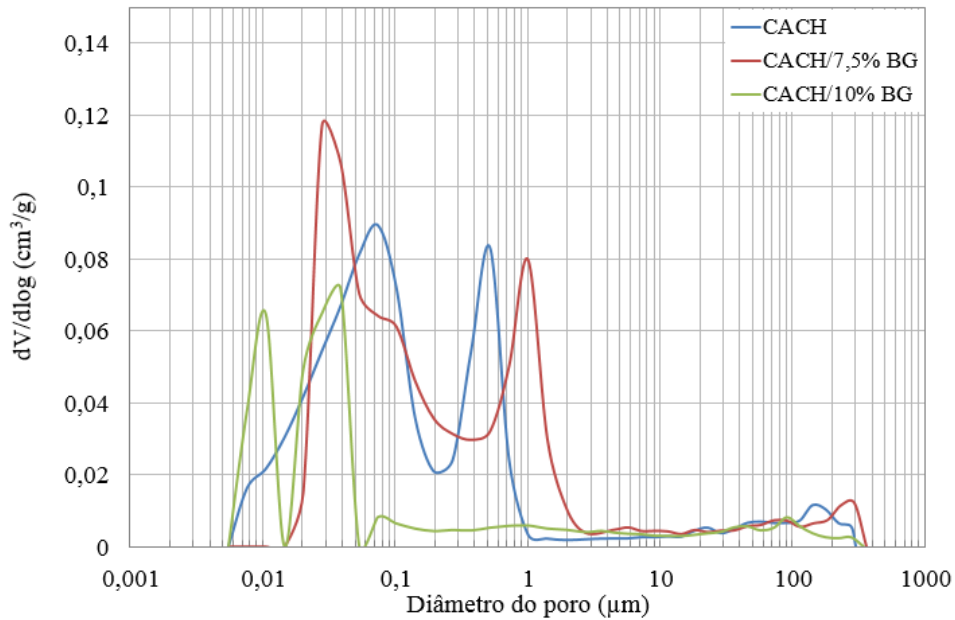


Figura 2 – Porosimetria por intrusão de mercúrio para o CACH puro e para as blendas com o vidro bioativo, sem tratamento com SBF.

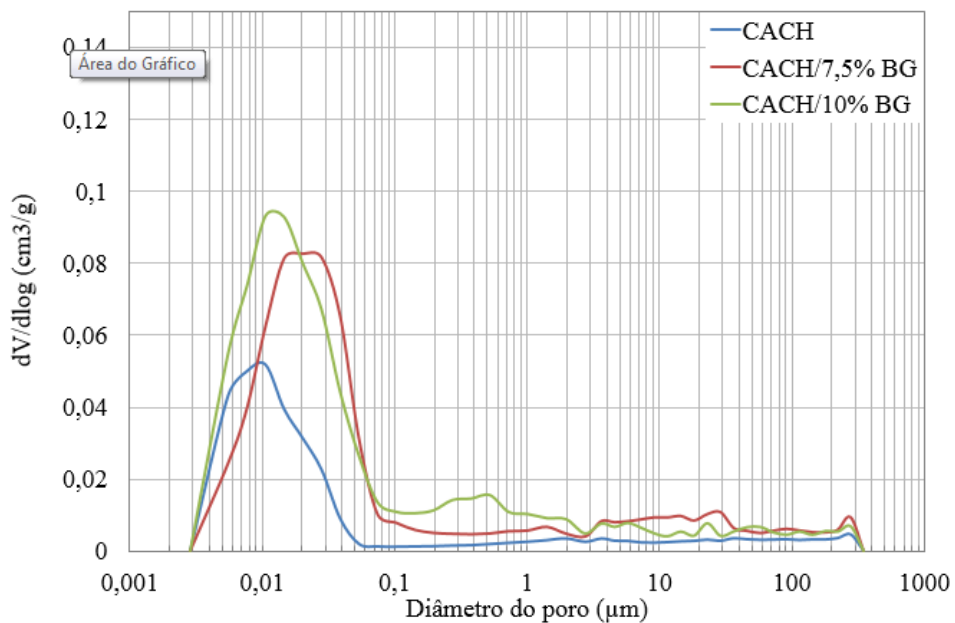


Figura 3 – Porosimetria por intrusão de mercúrio para o CACH puro e para as blendas com o vidro bioativo, com tratamento com SBF.

A análise dos resultados obtidos, mostra que a adição de vidro bioativo ao CACH aumenta a porosidade concordando com os resultados de resistência mecânica. Após o tratamento das amostras com SBF, a porcentagem de poros abertos diminuiu tanto para o CACH puro como para suas blendas. Também ocorreu decréscimo do diâmetro médio de poros devido à formação de apatita em contato com SBF indicando a bioatividade das amostras.

CONCLUSÕES

A produção de vidro bioativo por processo sol-gel empregando ácido fosfórico em substituição ao precursor convencional de fósforo, trietilfosfato (TEP), mostrou-se viável, visto que os resultados obtidos para a composição química do vidro bioativo 58S concordam com os valores da literatura. Os resultados para as propriedades mecânicas das blendas indicam que o uso do vidro bioativo não favorece o aumento da resistência mecânica à compressão flexão do cimento de aluminato de cálcio, quando se emprega o vidro bioativo com distribuição de tamanho de partícula semelhante ao do CAC. Os resultados de porosidade aparente e de porosimetria por intrusão de mercúrio indicam que o CACH e suas blendas apresentam bioatividade semelhante quando tratadas com SBF.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fapesp #2016/15032-3, CNPq #301665/2015-0 e Universidade do Vale do Paraíba pelo apoio a esta pesquisa, bem como a Imerys Aluminates (França), a Vanderbilt Minerals (EUA), a NovaProm (Brasil) e BASF (Alemanha) por fornecer gentilmente amostras de CAC e aditivos.

REFERÊNCIAS

- [1] J. Loof, Calcium-aluminate as biomaterial: synthesis, design and evaluation, Ph D Thesis, Faculty of Science and Technology, Uppsala, University, Sweden, (2008), 87 pp.
- [2] H. Engqvist, T. Persson, J. Loof, A. Faris, L. Hermansson, Chemical stability of a novel injectable bioceramic for stabilisation of vertebral compression fractures. *Trends Biomaterial Artif. Organs.* 21[2] (2008) 98-106.
- [3] L. Hermansson, Nanostructural chemically bonded Ca-aluminate based bioceramics, in: R. Pignatello (Ed.), *Biomaterials – Physics and chemistry*, InTech, Rijeka, p. 47-74, 2011.
- [4] I.R. Oliveira, T.L. Andrade, M. Jacobovitz, V.C. Pandolfelli. Bioactivity of calcium aluminate endodontic cement. *J. Endod.* 39 (2013) 774–778.
- [5] I.R. Oliveira, T.L. Andrade, K.C.M.L. Araujo, A.P. Luz, V.C. Pandolfelli. Hydroxyapatite synthesis and the benefits of its blend with calcium aluminate cement. *Ceram. Int.* 42 (2016) 2542-2549.
- [6] I.R. Oliveira, T.L. Andrade, R. M. Parreira. Characterization of calcium aluminate cement phases when in contact with simulated body fluid. *Mat. Res.* 18 (2015) 382-389.
- [7] R. Ravarian, F. Moztafzadeh, M. Solati Hashjin, S.M. Rabiee, P. Khoshakhlagh, M. Tahiri. Synthesis, characterization and bioactivity investigation of bioglass/hydroxyapatite composite. *Ceram. Int.* 36 (2010) 291-297.

- [8] A. Balamurugan, G. Balossier, S. Kannan, J. Michel, A.H. Rebelo, J.M. Ferreira. Development and *in vitro* characterization of sol-gel derived CaO-P₂O₅-SiO₂-ZnO bioglass. *Acta Biomater.* 3 (2007) 255-262.
- [9] Hench LL. The story of bioglass. *J Mater Sci: Mater Med.* 17 (2006) 967–78.
- [10] A. A. Gorustovich, J. A. Roether, A. R. Boccaccini. Effect of bioactive glasses on angiogenesis: a review of *in vitro* and *in vivo* evidences. *Tissue Eng Part B Rev* 16 (2010)199–207.
- [11] R. Li, A. E. Clark, and L. L. Hench, “An Investigation of Bioactive Glass Powders by Sol–Gel Processing,” *J. Appl. Biomater.*, 2, 231–9 (1991).
- [12] R. L. Siqueira, et al. Gel-derived SiO₂–CaO–Na₂O–P₂O₅ bioactive powders: synthesis and *in vitro* bioactivity, *Mater Sci Eng C.* 31 (2011) 983–91.
- [13] Miguez-Pacheco V, Hench LL, Boccaccini AR. Bioactive glasses beyond bone and teeth: emerging applications in contact with soft tissues. *Acta Biomater* 13 (2015) 1–15.
- [14] L. L. Hench, J. K. West, *The Sol-Gel Process*, *Chem. Rev.* 90 (1990) 33-72.
- [15] R. L. Siqueira, et al. Gel-derived SiO₂–CaO–Na₂O–P₂O₅ bioactive powders: synthesis and *in vitro* bioactivity, *Mater Sci Eng C.* 31 (2011) 983–91.
- [16] V. Maquet, A. R. Boccaccini, L. Pravata, I. Notingher, R. Jérôme. Preparation, characterization, and *in vitro* degradation of bioresorbable and bioactive composites based on Bioglass®-filled polylactide foams. *Journal of biomedical materials research Part A.* 66A (2) (2003) 335-346.
- [17] Treccani L, Klein TY, Meder F, Pardun K, Rezwani K. Functionalized ceramics for biomedical, biotechnological and environmental applications. *Acta Biomater* 9 (2013) 7115–50.
- [18] R. L. Siqueira, E. D. Zanotto, The influence of phosphorus precursors on the synthesis and bioactivity of SiO₂-CaO-P₂O₅ sol-gel glasses and glass-ceramics. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 24(2) (2003), 365–379.
- [19] Rigo referência SBF
- [20] W. Xia, J. Chang, Preparation and characterization of nanobioactive-glasses (NBG) by a quick alkali-mediated sol-gel method, *Material Letters* 61 (2007) 3251-3253.
- [21] P. Sepulveda, J. R. Jones, J.R., L.L. Hench, Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses. *J Biomed Mater Res*, 58, n. 6 (2001) 734-40, 2001.
- [22] A. Balamurugan, G. Sockalingum, J. Michel, J. Faure, V. Banchet, Synthesis and characterization of sol gel derived bioactive glass for biomedical applications. *Materials Letters*, 60 (2008) 3752-3757.