

Produção de Réplicas de Fosfato Tricálcico por Processamento Coloidal **(Tricalcium Phosphate Replicas production by Colloidal Processing)**

N. K. Porsani¹, V. Trombini¹, P. A. Ana², L. F. G. Setz¹.

¹*Centro de Engenharia, Modelagem e Ciências Sociais Aplicadas – Universidade Federal do ABC - Av. dos Estados, 5001, Bairro Bangu. Santo André - SP - Brasil. CEP 09210-580.*

²*Centro de Engenharia, Modelagem e Ciências Sociais Aplicadas – Universidade Federal do ABC - Alameda da Universidade, s/nº, Bairro Anchieta. São Bernardo do Campo - SP - Brasil. CEP 09606-045.
luiz.setz@ufabc.edu.br*

Resumo

*Biomateriais, como o fosfato tricálcico, podem apresentar diferentes taxas de reabsorção no organismo que dependem das suas propriedades físico-químicas sendo que a condição superficial é de fundamental importância. Assim, neste trabalho, estudou-se o recobrimento da matriz *Luffa Cylindrica* com beta fosfato tricálcico, utilizando-se o método de conformação por réplica, de forma a adequar as condições superficiais para suprir a demanda de reabsorção óssea. Os materiais utilizados foram caracterizados em termo de área de superfície específica, forma das partículas, observadas em microscópio eletrônico de varredura e potencial Zeta em meio aquoso. As suspensões utilizadas nos recobrimentos das matrizes foram produzidas com água destilada e silicato de sódio, como dispersante e, carboximetil celulose como elemento aglomerante. As medidas reológicas foram realizadas em reômetro rotacional. Produtos gerados com 2,5% de silicato de sódio e 0,75% de carboximetil celulose, após sinterização, apresentaram porosidade adequada para uso como biomaterial.*

Palavras chave: fosfato tricálcico, reologia, conformação por réplica.

Abstract

*Biomaterials, such as tricalcium phosphate, may have different rates of reabsorption in the organism that depend on their physical-chemical properties and that the superficial condition is of fundamental importance. Thus, in this work, the *Luffa Cylindrica* matrix was coated with tricalcium beta phosphate, using the replication conformation method, in order to adapt the surface conditions to supply the demand for bone resorption. The materials used were characterized in term of specific surface area, shape of the particles, observed in scanning electron microscope and Zeta potential in aqueous medium. The suspensions used in the matrix coatings were produced with distilled water and sodium silicate as a dispersant and carboxymethyl cellulose as a binder. Rheological measurements were performed on a rotational rheometer. Products generated with 2.5wt% of sodium silicate and 0.75wt% of carboxymethyl cellulose, after sintering, presented porosity suitable for use as biomaterial.*

Keywords: tricalcium phosphate, rheology, replica shaping.

INTRODUÇÃO

A regeneração de partes ósseas, onde houve perda de tecido resultante de traumas ou doenças, segue sendo um desafio e, por vezes, se faz necessário vários procedimentos operatórios reparadores. O objetivo primordial do tratamento cirúrgico em tecidos ósseos perdidos, em muitos casos, é o preenchimento do defeito com um biomaterial que possa promover osteoindução, osteocondução e a consequente osteogênese reparativa. Neste sentido, os materiais à base de fosfatos de cálcio, por apresentarem excelente biocompatibilidade e osteocondução, são os materiais sintéticos mais empregados em enxertia óssea [1, 2].

Devido a sua habilidade de osteocondução e seu comportamento biodegradável o fosfato tricálcico (TCP) tem se tornado objeto de interesse na área de biomateriais nos últimos anos, sendo utilizado na ortopedia e odontologia como material de preenchimento de cavidades e defeitos ósseos e fixação de tecidos moles [3-5]. Como as partes ósseas apresentam especificidades de forma, o uso de técnicas de processamento coloidal torna-se atrativo para reproduzir estas situações. Neste sentido, com os conceitos reológicos, é possível obter peças adequadas para serem empregadas como elementos de enxertia ou mesmo próteses ósseas [6]. Entre os processos que podem ser empregados estão a colagem em moldes porosos (geralmente gesso) [7, 8] e a técnica de conformação por réplicas, que consiste na imersão de uma matriz em forma de rede ou esponja em uma suspensão estável que, após remoção, gera uma réplica da matriz inicial [9], esta última técnica é o objeto de estudo deste trabalho.

MATERIAIS E MÉTODOS

O material utilizado no estudo foi o β -fosfato tricálcico comercial (β -TCP – P.A; Aldrich, Alemanha). Determinou-se a área de superfície específica (Quantachrome Instruments, NOVA 2200e, EUA) e observou-se a forma das partículas por meio de microscópio eletrônico de varredura (FEI modelo Quanta 250, EUA).

As suspensões foram produzidas utilizando-se água destilada e silicato de sódio (Na_2SiO_3 – Casa do Ceramista, Brasil) como dispersante, baseando-se em trabalhos existentes [7, 10, 11-14]. O agente aglomerante carboximetil celulose - CMC (P.A. - Denver, Brasil) foi adicionado variando-se a concentração de 0,25%, a 1,25% em massa, em relação a massa de TCP.

As suspensões foram homogeneizadas por 24 horas em moinhos de bolas [15]. A curva de defloculação foi determinada em viscosímetro analógico rotacional (mod. Q860A, Quimis, Brasil) utilizando suspensão com 60% em massa. As demais medidas reológicas foram realizadas em reômetro rotacional (Viscotester IQ - Thermo HAAKE, Alemanha) utilizando cilindros concêntricos como sensor. As curvas reológicas foram obtidas no modo de Velocidade Controlada (*Controlled Rate – CR*) e avaliadas no *software* HAAKE RheoWin 4.63.0003, de acordo com trabalhos anteriores [15].

Utilizou-se para conformação das réplicas esponja vegetal (*Luffa Cylindrica*), pois, sua estrutura é promissora na confecção de cerâmicas macroporosas. Devido à presença de substâncias como lignina e celulose, que dificultam a adesão superficial [16], as esponjas foram tratadas [17] antes de serem utilizadas na conformação.

As impregnações das esponjas foram realizadas em duas etapas: na primeira etapa utilizou-se pouca suspensão (pouco impregnada), garantindo a formação de uma fina camada sobre as fibras vegetais e, na segunda etapa, as esponjas foram imersas novamente, em um maior volume de suspensão (muito impregnadas) para assegurar o aumento das camadas depositadas e conseqüentemente aumentar resistência da réplica.

Todas as réplicas conformadas foram secas e tratadas termicamente em patamar final 1100°C/5h em mufla microprocessada (Quimis, Brasil) de acordo com parâmetros de trabalhos anteriores [17].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com área de superfície específica determinada de 1,375 m².g⁻¹, observou-se, em microscópio eletrônico de varredura que, o pó de beta fosfato tricálcico, apresentava formas irregulares (Figura 1), com variação de diâmetros das partículas em torno de 2,0 µm em estado aglomerado, indicando que necessitariam ser adequadamente dispersos. Estes aspectos são importantes, pois influenciam diretamente o comportamento das suspensões concentradas [18-21], podendo levar à dilatância devido a mudanças no fator de empacotamento [18].

A estabilidade do TCP em água, observado em trabalhos existentes [22], mostrou que é possível trabalhar em pH acima de 8,5 [20, 23, 24], porém, por vezes, faz-se necessário o uso de aditivos que promovam a estabilização das partículas pela formação de “barreiras” mais eficientes do que a estabilização eletrostática [20, 23, 25]. Este comportamento é obtido pela utilização de dispersantes que, neste caso, é o silicato de sódio, cuja melhor concentração é apresentada na Figura 2, determinada através da curva de defloculação.

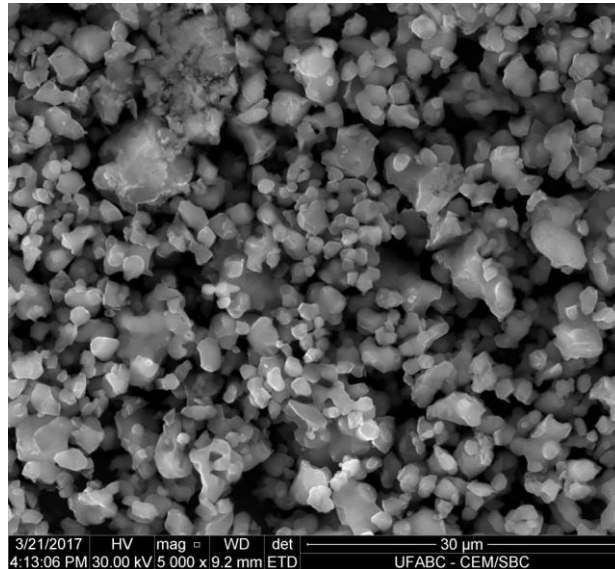


Figura 1: Micrografia (MEV) ilustrando o aspecto aglomerado das partículas de TCP.

Na Figura 2, observa-se uma maior redução no valor da viscosidade para adições de 0,5% em massa de silicato de sódio, a partir da qual há uma redução dos valores de viscosidade menos intensa, indicando que a condição de estabilidade está sendo satisfeita [26]. Porém, a menor viscosidade só é alcançada com a concentração de 2,0% de silicato de sódio, em massa. A partir dessa concentração a viscosidade apresenta um valor quase constante, mas com uma leve tendência a voltar a subir, que fica mais nítida quando a concentração de dispersante passa de 2,5%. Sendo assim, na sequência do estudo a concentração de 2,5% de silicato de sódio foi utilizada.

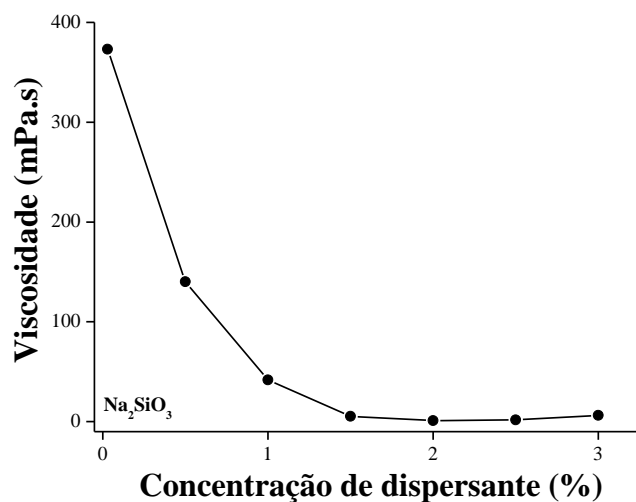


Figura 2: Curva de defloculação de suspensões aquosas de TCP, com silicato de sódio como dispersante.

As curvas de fluxo para diferentes concentrações de sólidos (Figura 3) mostram um significativo aumento na resistência ao fluxo (viscosidade) das suspensões, com o aumento na concentração de sólidos e está de acordo com o esperado. De maneira geral, no

processamento cerâmico, dentro dos parâmetros de cada processo de conformação, busca-se sempre a maior concentração de sólidos possível de modo a minimizar os problemas na etapa de secagem [7, 10]. Observa-se também que todas as suspensões apresentaram comportamentos predominantemente espessantes frente ao fluxo (dilatantes) além da reopexia, que é a histerese (área) existente entre as curvas de subida e descida para cada uma das suspensões estudadas. Este comportamento fica mais acentuado com o aumento na concentração de sólidos. No processamento cerâmico, se busca sempre o afastamento dessas condições [18], por outro lado, como ela ocorre em todas as suspensões estudadas, o que pode ser feito é se trabalhar em menores concentrações de sólidos, neste caso, em torno de 60% em massa onde os efeitos são menores. Observa-se também que em velocidades de cisalhamento abaixo de 300 s^{-1} a histerese quase inexistente, para todas as concentrações de sólidos estudadas, sendo, portanto, mais um bom indicativo das melhores condições para se trabalhar com estas suspensões.

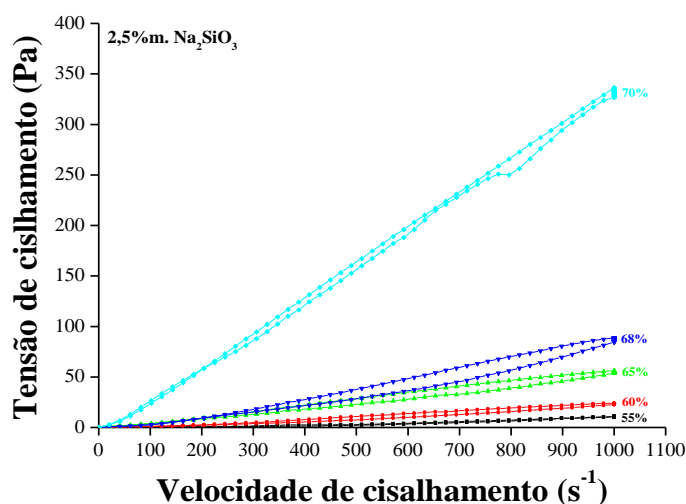


Figura 3: Curva de fluxo em função da concentração de sólidos, com 2,5% em massa de silicato de sódio como dispersante.

As análises reológicas de todas as suspensões estudadas são apresentadas na Tabela I. Os valores negativos de tixotropia indicam que todas as suspensões são reopéxicas. Todas as curvas foram ajustadas pelo modelo reológico de *Cross* que permite prever convenientemente a forma geral das curvas de fluxo, diferenciando as regiões de baixas e altas taxas de cisalhamento, fornecendo informações importantes e precisas do comportamento nas condições extremas de alto cisalhamento e próximas às condições de repouso [20]. Os valores das viscosidades à taxa de cisalhamento 10 s^{-1} , atende aos requisitos para o processo de colagem em moldes porosos [7].

Tabela I: Propriedades reológicas de suspensões preparadas com silicato de sódio.

Conc. Sólidos (%m.)	Conc. Sólidos (%vol.)	Parâmetros do modelo		Tixotropia (Pa s ⁻¹)	Viscosidade a 10 s ⁻¹ (Pa.s)
		Cross			
		Viscosidade a 0 s ⁻¹ (Pa.s)	Viscosidade limite (Pa.s)		
60,0	35,0	0,0258	0,0534	-2218,0	0,002
65,0	40,0	0,0504	0,0863	-4277,0	0,016
68,0	43,0	0,0723	0,1224	-7078,0	0,030
70,0	45,0	0,2764	0,3278	-9141,0	0,078

Na Figura 4 são apresentadas as curvas das viscosidades limites em função da fração de volume de sólidos, ajustadas de acordo com o modelo de *Krieger-Dougherty* para as suspensões estudadas. Observa-se um aumento na viscosidade dinâmica até uma concentração máxima de aproximadamente 46% em volume. A partir desta concentração a suspensão perde as condições de fluxo necessárias à conformação em moldes porosos [7, 19, 20]. Porém, como para a conformação de réplicas é necessário a utilização de elementos aglomerantes, que invariavelmente infligem aumento de viscosidade nas suspensões, escolheu-se na sequencia do trabalho a concentração de 40% vol. com viscosidade adequada para ser incrementada pela adição do carboximetil celulose, que é também um elemento espessante de fluxo [27].

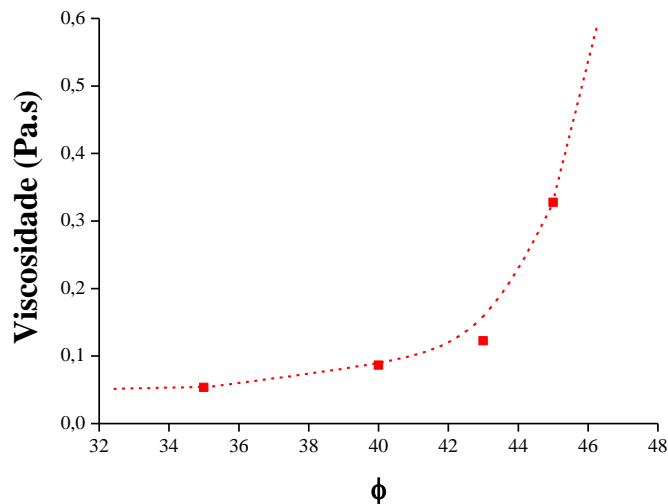


Figura 4: Curva de viscosidade *versus* concentração de sólidos, de acordo com modelo de Krieger-Dougherty

Diferentemente do que foi observado com as suspensões contendo somente silicato de sódio, as curvas de fluxo com CMC apresentaram comportamentos fluidificantes (Figura 5). Ocasionalmente pela estrutura polimérica do carboximetil celulose que, em repouso, encontra-se aleatoriamente dispersa, mas torna-se orientada na direção do fluxo, facilitando o escoamento [28]. Apesar da fluidificação, as tensões de cisalhamento necessárias para que as suspensões escoassem foram superiores as tensões das suspensões contendo somente o dispersante. Por

essa característica, a concentração de CMC foi possível até 1,00%. Acima disto a homogeneização e a determinação reológica das suspensões mostraram-se inadequadas. Com isso, tendo que para conformação de réplicas são necessárias: velocidade de cisalhamento de 100 s^{-1} e viscosidade em torno de 1 a 6 Pa.s, de acordo com a Tabela II, a concentração de 0,75% de CMC foi a máxima concentração possível na obtenção das réplicas. Com 1,00% de CMC, apesar do valor ligeiramente acima dos parâmetros desejados, já foi suficiente para impedir uma adequada impregnação das esponjas. Ainda nesta tabela observa-se que, como esperado, todos os valores aumentam com aumentos nas concentrações de CMC. Assim como houve a mudança no comportamento de espessante para fluidificante com a adição de carboximetil celulose, os valores de tixotropia observados também foram invertidos, passando de anti-tixotrópico (reopéxico) para tixotrópico com a adição de CMC.

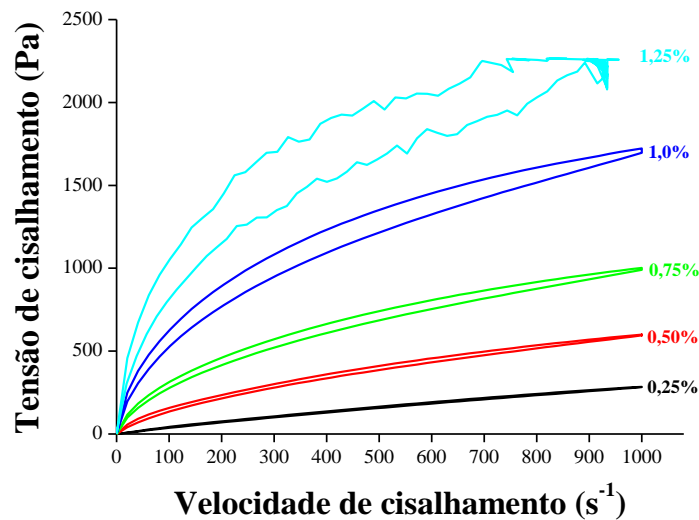


Figura 5: Curva de fluxo em função da concentração de carboximetil celulose como aglomerante.

Tabela II: Propriedades reológicas de suspensões contendo carboximetil celulose.

Conc. CMC (%m.)	Parâmetros do modelo Cross		Tixotropia (Pa s ⁻¹)	Viscosidade a 100 s ⁻¹ (Pa.s)
	Viscosidade a 0 s ⁻¹ (Pa.s)	Viscosidade limite (Pa.s)		
0,25	0,6072	0,8002	6800,0	0,425
0,50	17,3500	0,2005	20030,0	1,667
0,75	36,0100	0,6805	42850,0	3,887
1,00	65,5000	1,2460	106400,0	8,598
1,25	88,1900	1,9710	1838000,0	16,070

Após o condicionamento das esponjas realizou-se a impregnação das suspensões. As massas impregnadas são apresentadas na Tabela III. Observa-se que para 0,25% de carboximetil celulose a variação da massa impregnada foi pouca, pois a suspensão ainda era fluída e não aderiu de forma consistente na fibra vegetal. Porém, conforme adicionou-se mais

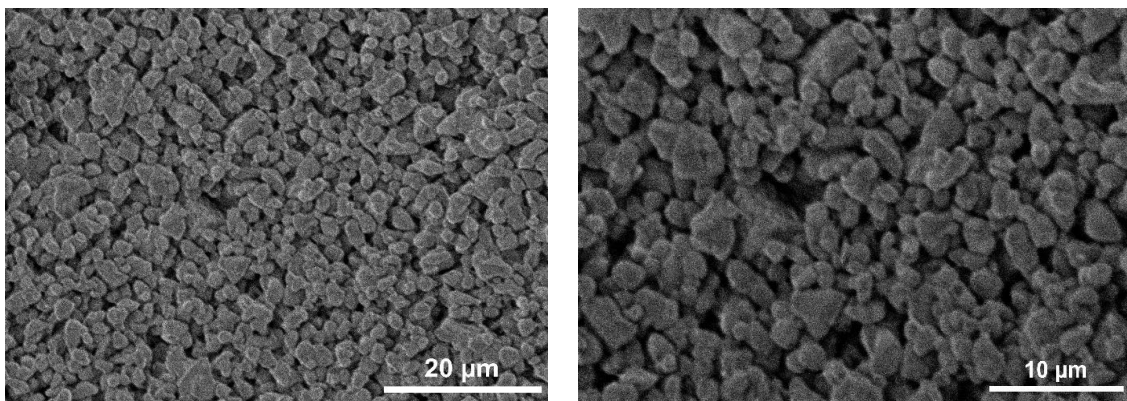
CMC, maior foi o grau de impregnação, atingindo a melhor condição para a suspensão com 0,75% de CMC, onde foi possível impregnar as esponjas sem que a suspensão escoasse e sem que houvesse obstrução dos poros. A suspensão com 1,00% de CMC, por apresentar valor de viscosidade superior ao especificado, acarretou maior dificuldade no procedimento, resultando na obstrução dos macroporos da esponja, indesejável para esta técnica conformação.

Tabela III: Massa de suspensão impregnada nas esponjas *Luffa Cylindrica* com diferentes concentrações de CMC.

CMC (%m)	Pouco impregnada (g)	Muito impregnada (g)
0,25	12,0750	12,7099
0,50	14,3346	15,9234
0,75	13,1527	24,0666
1,00	17,0602	19,6960

Após sinterização, as esponjas contendo 0,25% CMC fragmentaram, enquanto as esponjas impregnadas com suspensões de TCP contendo 0,50%, 0,75% e 1,00% mantiveram-se íntegras, garantindo resistência mecânica às réplicas conformadas, porém, como resultado do processo de impregnação, a esponja conformada com 1,00% m. de CMC apresentou poros fechados.

As micrografias das melhores réplicas sinterizadas (0,5 e 0,75%) são apresentadas na Figura 6. Observa-se que não houve variação significativa no tamanho de grão entre as peças conformadas, com aspecto de maior união entre grãos para 0,75% de CMC. Observa-se também alguma porosidade remanescente do processo da eliminação da esponja durante o tratamento térmico que, porém, mostra-se adequada para a aplicação óssea desejada, uma vez que os poros são considerados pequenos e interconectados [29].



(a)

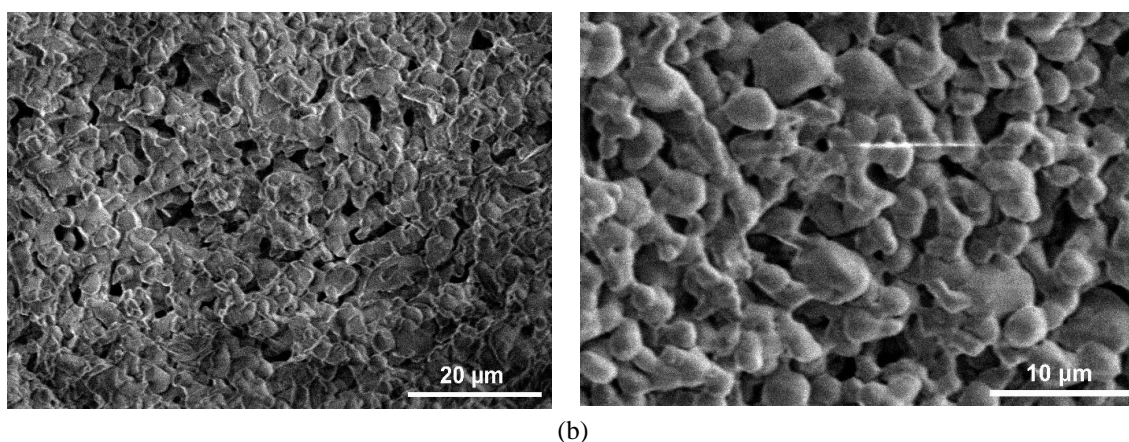


Figura 6: Micrografias das réplicas de TCP impregnadas e sinterizadas: (a) 0,50% m., (b) 0,75% m.

CONCLUSÕES

A produção de réplicas de β -fosfato tricálcico para aplicações biomédicas é possível através de suspensões aquosas com a utilização de 2,5% em massa de silicato de sódio como dispersante e 0,75% de carboximetil celulose como agente aglomerante/espessante para garantir resistência mecânica e adesão da suspensão nas fibras das esponjas naturais (*Luffa Cylindrica*). Esta, porém, necessita de tratamento superficial prévio para que os produtos, após sinterização, tenham o grau de porosidade necessários para serem utilizados como biomateriais. Por fim, para adequada viabilidade dos materiais para enxertia óssea, resultados mais aprofundados de biocompatibilidade são necessários.

Agradecimentos

Os autores agradecem os apoios da FAPESP (Processos N° 2013/09329-5, 2015/16859-6 e 2017/21887-4), do CNPq (420217/2016-9) e também à Central Experimental Multiusuário (CEM) da UFABC.

REFERÊNCIAS

- [1] S.S. Dalapicula, M.B. Conz, Rev. ImplantNews, **5**, 2 (2008) 205.
- [2] U. Almeida, Análise e utilização de biomaterial confeccionado a partir das conchas de *Crassostrea Gigas* em defeito periodontal em ratos, in, Universidade Positivo, Curitiba (2010).
- [3] S.-H. Kwon, Y.-K. Jun, S.-H. Hong, H.-E. Kim, J. Eur. Ceram.Soc. **23**, 7 (2003) 1039.
- [4] E.Y. Kawachi, C.A. Bertran, R.R. Reis, O.L. Alves, Quím. Nova. **23**, 4 (2000) 518.
- [5] R. Xin, Y. Leng, J. Chen, Q. Zhang, Biomater. **26**, 33 (2005) 6477.
- [6] H. Murata, Rheology - Theory and Application to Biomaterials, A.S. Gomes (Ed.), Polymerization, IntechOpen, (2012).
- [7] J.S. Reed, Principles of Ceramics Processing, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York (1995).

- [8] D.W. Richerson, *Modern Ceramic Engineering: Properties, Processing, and Use in Design*, 2nd ed., Marcel Dekker (1992).
- [9] S.C. Santos, S.R.H. Mello-Castanho, *Desenvolvimento de Queimadores para Iluminação a Gás à Base de Silicato de Terras Raras*, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo (2014).
- [10] T.A. Ring, *Fundamentals of Ceramic Powder Processing and Synthesis*, Academic Press, Inc., San Diego (1996).
- [11] A.P.N. Oliveira, D. Hotza, *Tecnologia de Revestimentos Cerâmicos*, 2^a ed., Editora UFSC, Florianópolis (2015).
- [12] B. Fan, X.H. Wang, H. Zhang, P. Gao, H. Zhang, X. Li, H. Huang, X. Xiao, D.J. Liu, Q. Lian, Z. Guo, Z. Wang, *Mater. Des.* **112** (2016) 67.
- [13] Y. Wan, T. Cui, W. Li, C.C. Li, J. Xiao, Y. Zhu, D. Ji, G. Xiong, H. Luo, *Mater. Des.* **99** (2016) 521.
- [14] F. Baino, S. Fiorilli, C. Vitale-Brovarone, *Acta Biomater.* **42** (2016) 18.
- [15] L.F.G. Setz, S.R.H. Mello-Castanho, *Processamento Coloidal de Cromito de Lantânio*, in: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo (2009).
- [16] C.C.M. Fornari Junior, *Fibras Vegetais Para Compósitos Poliméricos*, Editus - Editora da UESC, Iléus (2017).
- [17] S.C. Santos, C. Yamagata, A.C. Silva, L.F.G. Setz, S.R.H. Mello-Castanho, *J. Ceram. Sci. Technol.* **05**, 3 (2014) 203.
- [18] D. Dinger, *Rheology for Ceramists*, Dennis R. Dinger (2003).
- [19] T.F. Tadros, *Rheology of Dispersions: Principles and Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim (2010).
- [20] R. Moreno, *Reología de Suspensiones Cerámicas*, 1 ed., Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, (2005).
- [21] L.F.G. Setz, A.C. Silva, S.C. Santos, S.R.H. Mello-Castanho, M.R. Morelli, *J. Eur Ceram Soc.* **33** (2013) 3211.
- [22] C. Ribeiro, A.H.A. Bressiani, *Obtenção e Caracterização de Viocerâmicas Porosas a Base de Fosfatos de Cálcio Processadas com a utilização de Albumina*, in: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo (2008).
- [23] J.N. Israelachvili, *Intermolecular and Surface Forces*, 2nd ed., Academic Press, Oxford (1992).
- [24] R.J. Pugh, L. Bergström, *Surface and Colloid Chemistry in Advanced Ceramics Processing.*, 1st ed., Marcel Dekker, New York (1994).
- [25] J.C. Berg, *An Introduction to Interfaces & Colloids: The Bridge to Nanoscience*, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. (2010).
- [26] D. Laba, *Rheological Properties of Cosmetics and Toiletries*, 1st ed., Marcel Dekker, Inc., New York, (1993).
- [27] L.F.G. Setz, L. Koshimizu, A.R.F. Pardo, M.R. Morelli, *Cerâmica*, **57**, 344 (2011) 409.
- [28] B.M. Cerrutti, E. Frollini, *Biomacromoléculas Carboximetiladas: Atuação Como Agentes de Estabilização de Suspensões Aquosas de Alumina*, in: Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos (2010).
- [29] C. Ribeiro, J.C. Bressiani, A.H.A. Bressiani, *Mater. Res.* **10**, 3 (2007) 307.