

ESTUDO DO REVESTIMENTO DE TITÂNIO COM HIDROXIAPATITA DOPADA COM ESTRÔNCIO PELA TÉCNICA DE ELETROFORESE

, Joel F. da Fonseca¹, Aline Machado Bessow Machado², L. F. Rodrigues Jr.³

¹Dep. De Engenharia Biomedica, Universidade Franciscana, Rio Grande do Sul (RS), Brasil

Resumo. O titânio (Ti) tem sido o principal material metálico aplicado em implantes. Há muitas pesquisas voltadas à alteração superficial do Ti para aumentar a eficiência da sua interação com as células ósseas, as alterações superficiais aplicadas neste processo podem ser por modificação da rugosidade do material, por revestimentos utilizando uma biocerâmica sintética ou no caso deste estudo utilizando de ambos métodos. Nesse trabalho foi utilizado hidroxiapatita (HAp) dopada com Estrôncio (Sr), pois estudos comprovam a presença de pequenas quantidades de Sr na matriz óssea. As caracterizações foram obtidas de forma positiva para o pó de HAp dopada com Sr utilizando DRX e FTIR onde a fase β -TCP e picos característicos da HAp pura foram observados bem como os grupos funcionais hidroxila (OH) e fosfato (PO_4^{3-}). O jateamento se mostrou eficiente para aumentar a rugosidade das peças de Ti, triplicando-a, contribuindo para a formação da camada de HAp resistente.

Palavras-chave: Biocompatibilidade, Titânio, Camada bioativa, Hidroxiapatita, Eletroforese

1. INTRODUÇÃO

O titânio (Ti) se destaca como material utilizado em implantes no sistema locomotor, por possuir propriedades, de biocompatibilidade e resistência à corrosão. No entanto, ainda faltam conhecimentos e entendimento das propriedades e características ideais das superfícies de implantes para se obter a biofixação adequada no tecido ósseo a curto prazo, o que seria ideal para aplicações odontológicas (MORENO, 2014).

Entre as técnicas para a melhoria da interação tecido/implante/tecido, além do aumento da rugosidade superficial para potencializar/acelerar a remineralização, o recobrimento de titânio com biocerâmica mostra-se eficiente na regeneração óssea (DA SILVA, 2006). As biocerâmicas de fosfato de cálcio, destaca-se entre estas a Hidroxiapatita (HAp) $Ca_5(PO_4)_3(OH)$, é uma cerâmica amplamente utilizada em implantes e próteses para reparação e regeneração de tecido ósseo. Material com ótima aceitação pelo meio biológico comprovado em diversos estudos, favorecendo a interação osso/implante/osso. O único ponto negativo, e talvez o que limita a sua aplicação, é baixa resistência a cargas estáticas e dinâmicas, devido a isso o seu uso fica restrito a recobrimento de materiais e preenchimentos ósseos.

Para obter este tipo de recobrimento, muitas técnicas têm sido usadas para se obter um recobrimento de hidroxiapatita sobre o Ti, entre elas pode ser citada a técnica de deposição eletroforética, de baixo custo e sem riscos de contaminação da amostra durante o recobrimento (SENA; SADER; SOARES, 2017). A técnica para recobrimento chamada de eletroforese, consiste em usar diferença de potencial controlada para induzir a atração das partículas de HAp para superfície do metal, submetendo o metal a uma carga oposta a carga superficial das partículas de HAp o recobrimento é iniciado.

Inúmeras pesquisas têm demonstrado que a dopagem da HA com elementos como; zinco (Zn), estrôncio (Sr), prata (Ag) e magnésio (Mg) podem melhorar as propriedades de bioatividade da hidroxiapatita e favorecer a diferenciação celular, pois estes estão presentes na matriz óssea (MACHADO, 2012). O Sr é particularmente interessante, pois tem demonstrado que em pequenas quantidades pode influenciar na atividade e diferenciação dos osteoblastos e

afetam a proliferação dos osteoclastos (GOMES; RODRIGUES; VOLKMER; SANTOS, 2016).

Estudos desenvolvidos recentemente por este grupo de trabalho, mostrou que a dopagem igual ou maior que 3mol% de Sr na HA afeta as suas características e dificulta a formação do filme sobre a superfície do Ti.

Logo, esta pesquisa tem por objetivo comprovar a eficiência no recobrimento de Ti pelo método de deposição eletroforética para hidroxiapatita dopada com estrôncio, visando o melhoramento da osteointegração entre implante e o tecido ósseo. Para isso, especificamente, será verificado a fixação da camada bioativa alterando-se a rugosidade superficial de placas de Titânio comercialmente puro de grau 4, reduzindo a concentração de estrôncio para 1mol% de Sr na hidroxiapatita e trabalhando com duas tensões distintas 60V e 90V.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido em etapas que estão descritas a seguir.

2.1 Síntese da Hidroxiapatita

A produção da hidroxiapatita pura, foi feita por meio da técnica de precipitação envolvendo reações via úmida. Para a obtenção da HAp foram utilizados 0,122 mols de Ca(OH)_2 (hidróxido de cálcio) diluídos em 140 ml de água deionizada em um balão de fundo redondo, essa solução foi mantida em banho-maria de óleo aquecido e em agitação até que a solução atingisse 70 °C, mantida até o final da precipitação.

A solução com 0,073 mols (5 ml) de H_3PO_4 (ácido fosfórico) diluídos em 40 ml de água deionizada, foi adicionada a solução de cálcio por meio de gotejamento no momento em que a mesma chegou a 70 °C, com agitação constante de 125 rpm durante o período de 24 horas. Após a suspensão foi filtrada com vácuo e secagem em estufa a 120 °C durante 24 horas. A calcinação foi feita em uma mufla com rampa de aquecimento de 5 °C por minuto iniciando em 50 °C até 1000 °C por uma hora.

As hidroxiapatita dopada com estrôncio (Sr), foram obtidas pela mesma técnica de precipitação via úmida, citada acima. O elemento dopante utilizado foi o $\text{Sr(NO}_3)_2$ (nitrato de estrôncio). Esse elemento foi incorporado a matriz da hidroxiapatita em concentração de 1mol%, que foi calculado com a substituição de mol de Ca na solução principal. Foram adicionados 0,004 mol do elemento na preparação da solução de cálcio. A solução principal com Sr, foi feita com 0,118 mols de Ca(OH)_2 mais 0,004 mols de $\text{Sr(NO}_3)_2$ diluídos em 140 ml de água deionizada. A solução com H_3PO_4 para o gotejamento foi preparada igualmente como descrita para a solução de HAp. O pó dopado obtido passou pelos mesmos processos de tratamento e calcinação descritos para a HAp.

2.2 Preparo das Amostras de Titânio

As amostras foram cortadas, em cortadora metalográfica de velocidade variável, no formato quadro e suas arestas removidas com moto esmeril de bancada, dando a estas o formato circular com aproximadamente 10 mm de diâmetro, 2 mm de espessura. Foi utilizado titânio comercialmente puro grau 4. Para obter as alterações na topografia superficial das amostras de titânio, primeiramente estas amostras sofreram desgaste mecânico por meio de lixamento com lixa d'água abrasiva com quatro tamanhos de grãos distintos, 220, 320, 400 e 600, logo em seguida estas amostras passaram pelo segundo processo de alteração superficial com polimento em politriz com disco de tecido utilizando suspensão de alumina (1 μm) (FARIAS E RODRIGUES, 2016). A diferenciação das superfícies nesta pesquisa se deu por

meio do jateamento com ar comprimido (6 bar) com óxido de alumínio com granulometria de 120 μm (ZHITOMIRSKY e MATER, 1997).

Após os procedimentos de alterações topográficas citados (lixamento, polimento e jateamento) a combinação destes culminaram em duas superfícies distintas. As amostras polidas (P) e as amostras polidas e jateadas (PJ). Todas estas amostras após o preparo superficial passaram por banho ultrassônico por 15 minutos e lavagem com água destilada corrente para remover partículas indesejadas (FARIAS; RODRIGUES, 2016 e SENA, 2017).

2.3 Revestimento das Amostras com Hidroxiapatita Dopada

Para o recobrimento, com base nas duas nomenclaturas que foram atribuídas as amostras no processo de alteração da topografia superficial (P e PJ), os eletrodos de trabalho formaram dois pares, P90 – PJ90 e P60 – PJ90, o numeral após as letras P e PJ está relacionado a tensão que estes foram submetidos durante o processo de eletrodeposição.

Antes do recobrimento das amostras, estas passaram por ataque com a solução ácida composta por 4% de ácido fluorídrico e 20% de ácido nítrico, para remoção da camada de óxido de titânio, procedimento denominado ativação superficial (FARIAS E RODRIGUES, 2016).

Como célula eletrolítica foi utilizado um becker de 100 ml, neste recipiente foi adicionado 50 ml de álcool isopropílico, e após fazer a homogeneização de 0,95 gramas de HA dopada com Sr, os eletrodos foram mergulhados na célula. O eletrodo de trabalho (titânio) e o contra eletrodo (aço inox) ficaram dispostos a uma distância de 1 cm, nestes eletrodos foram fixados o polo positivo no eletrodo de trabalho (cátodo) e o negativo conectado no contra eletrodo (ânodo), os grupos de eletrodos então foram submetidos as tensões de 90V e 60V por 3 minutos, com agitação mecânica em temperatura ambiente antes do início do recobrimento para homogeneização da solução (FARIAS E RODRIGUES, 2016 e SENA, 2017).

2.4 Caracterização das Amostras

Pó da Hidroxiapatita: o pó da HA teve sua estrutura analisada por difração de raios-X (DRX), o equipamento utilizado para isso foi da marca Bruker, modelo D2 PHASER, equipado com ânodo de cobre (radiação $K_{\alpha\text{Cu}}$, $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) operado a 30 kV e 10 mA.

Para verificar o potencial de interação elétrica dos pós de HA, também foi feita análise de potencial zeta dos pós com o equipamento Zetasizer NanoZS, da Malvern. Para as análises foram feitas suspensões com as amostras de HA com solução de NaCl (0,01 molar), cada suspensão foi alocada em uma porta amostra modelo DTS1070, em temperatura de 25 °C. (GOMES; RODRIGUES; VOLKMER; SANTOS, 2016).

A espectroscopia de infravermelho, por transformada de Fourier FTIR foi realizada para avaliar a composição química da HA, em complementação ao DRX. O equipamento utilizado espectrofotômetro Perkin-Elmer, modelo Espectro One e para o preparo das amostras, pastilhas de KBr.

Rugosidade do Titânio: para comparação da topografia superficial das amostras de Ti, após as modificações com polimento e jateamento foram feitas leituras com rugosímetro para superfícies marca Metrotokyo modelo MTK-1400 de faixa de medição de 0 a 750 μm com exatidão +/- 5 μm .

Revestimento com HÁ: as amostras de titânio P e PJ revestidas com HAp dopada com Sr, após o tratamento térmico tiveram a sua estrutura analisada por difração de raios-X (DRX), para que atestar se o método escolhido para obtenção da camada formada e do próprio

tratamento térmico, levou a obtenção das fases cristalinas esperadas. O equipamento utilizado foi o mesmo usado para análise do pó de hidroxiapatita.

A fim de analisar de maneira qualitativa a resistência das camadas de HAp e HAdp depositadas sobre as amostras de titânio, foi feito o teste de dureza ao lápis nas amostras revestidas com HAp e HAdp após o tratamento térmico. O teste foi baseado na metodologia de dureza de filme pelo teste com lápis (ASTM-D3363-05, 2011) feito por meio de um sistema manual, com grafites 8B, F e 2H.

3. RESULTADOS E CONSIDERAÇÕES

As rugosidades das peças de Ti polidas e jateadas estão representadas da Figura 1. Como pode ser observado, houve um aumento na ordem de 3x nos valores de rugosidade média após o processo de jateamento. O valor de rugosidade para a amostra somente polida foi de $0,210 \pm 0,048 \mu\text{m}$ e o valor para a amostra polida e jateada foi de $0,60 \pm 0,14 \mu\text{m}$. Essa diferença, conforme teste ANOVA, pode ser considerada estatisticamente diferente ($p = 0,001$).

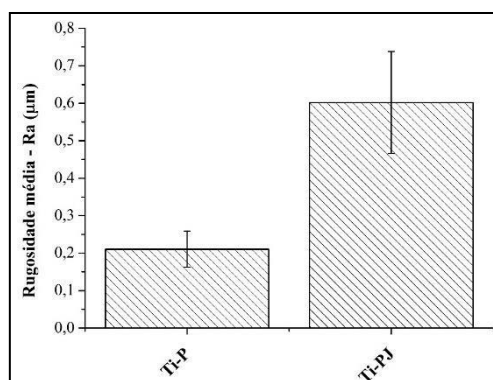


Figura 1: Ensaio de rugosidade das amostras de substrato polidas e polidas e jateada.

Fonte: o autor.

A avaliação de potencial zeta demonstrou que o valor da carga superficial das partículas de HA dopada com Estrôncio foi de -18 mV . A carga negativa é um indicativo favorável à adesão celular por meio dos íons de Ca^{+2} (atração por cargas opostas), além desta importante característica em relação biointeração, a carga negativa é de fundamental importância para o processo de recobrimento do Ti com HAdp pela técnica de eletroforese, visto que o eletrodo de trabalho (Ti) recebe a carga positiva da fonte de corrente contínua independente da tensão.

Na Figura 2, por meio da espectroscopia de infravermelho (FTIR) por transformada de Fourier, foi possível verificar na HAp os grupos funcionais característicos da mesma, como a hidroxila (OH^-) nas bandas 1750 cm^{-1} a 1652 cm^{-1} e 750 cm^{-1} a 625 cm^{-1} e fosfato (PO_4^{3-}) nas bandas 1125 cm^{-1} a 1000 cm^{-1} e 625 cm^{-1} a 500 cm^{-1} .

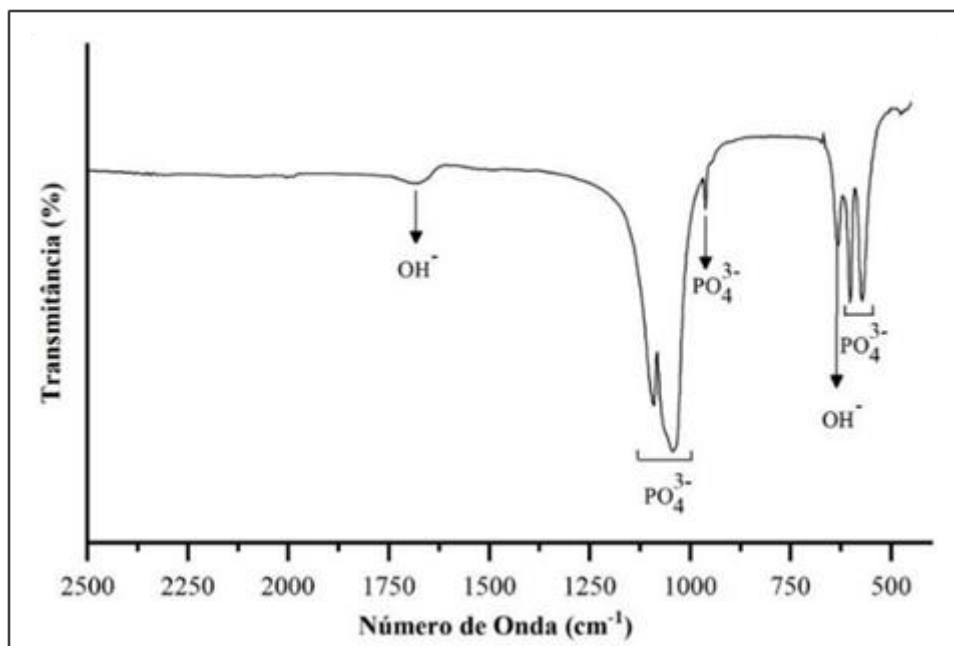


Figura 2: Espectroscopia de infravermelho (IR) no pó de HA.

Fonte: o autor.

Na Figura 3 é apresentado o difratograma de raio-X do pó de HAp dopada com estrôncio em 1mol%. É possível observar que o pó apresentou pico característicos da hidroxiapatita pura (ICDD - 09-0432). Também pode ser observado a presença de picos da fase β -TCP (ICDD - 09-0169), os resultados estão em acordo com o observado por Farias (2015), porem a presença da fase β -TCP não é positiva. A justificada da formação desta fase é devida a exposição da HA dopada a altas temperaturas e pela redução do Ca substituído pelo Sr na síntese da HA dopada.

O fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), apesar de ser biocompatível é um composto de fosfato de cálcio absorvível e instável, tais características podem fazer com que o revestimento se desprenda da peça de Ti antes de interagir com a matriz óssea, reduzindo assim a eficiência esperada.

Conforme Araujo (2010), o fosfato tricálcico pode ser encontrado em duas fases, vitoclita- α e - β , após ser submetidos a altas temperaturas (calcinação), prevalece a existência da fase mais estável a vitoclita- β .

Na Figura 4 pode ser observado os resultados dos ensaios de dureza ao lápis (ASTM D3363-05). Em todas as amostras são perceptíveis os riscos com o grafite 2H, porem a PJ90 foi a única que ficou aparente a superfície metálica (Ti) em alguns pontos, isso pode ser explicado devido a amostra não ser plana, problema gerado no corte, porem a amostra PJ90 não demonstra nesta ampliação marcas com os grafites 8B e F. As demais amostras demonstraram resistência semelhantes com exceção da amostra PJ60 que demonstra ter um revestimento mais frágil, pois é possível verificar a marca dos 3 grafites.

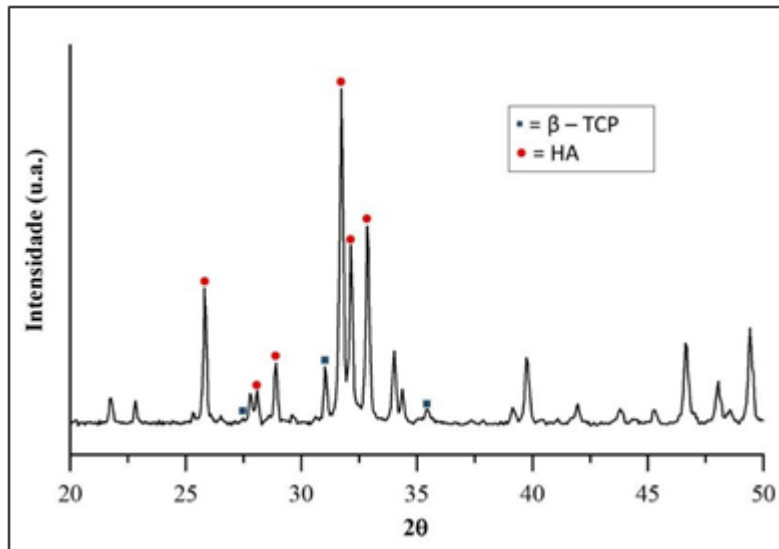


Figura 3: Teste por difração de raio-X (DRX) do pó de HASr.
Fonte: o autor.

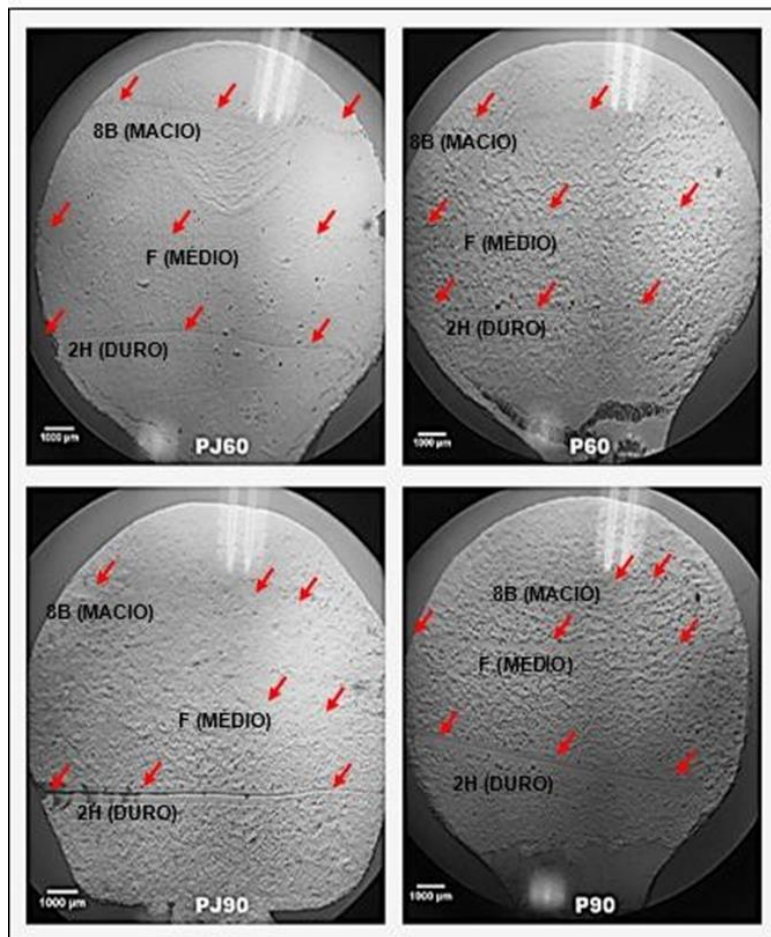


Figura 4: Teste de dureza das amostras de Ti PJ (polida e jateada) e P (polidas), revestidas com HASr com 60 e 90 volts após tratamento térmico.
Fonte: o autor.

Na Figura 5A são apresentados os difratogramas das diferentes amostras revestidas com tensão de 90 V com superfícies jateadas e polidas, pode-se perceber os picos característicos das fases HA e β -TCP. Também se observou de forma discreta o pico característico do substrato metálico na Figura 4A na amostra com superfície polida e revestida com tensão de 90 V (R90P), provavelmente por existir área superficial metálica exposta.

Os difratogramas das amostras revestidas com tensão de 60 V com superfícies jateadas e polidas, são apresentados na Figura 4B. Para essas amostras não foi possível identificar o pico característico do substrato metálico (Ti), provavelmente devido a espessura do revestimento. Ambos os difratogramas apresentados na Figuras 4 foram positivos quanto as fases características encontrada HA e β -TCP.

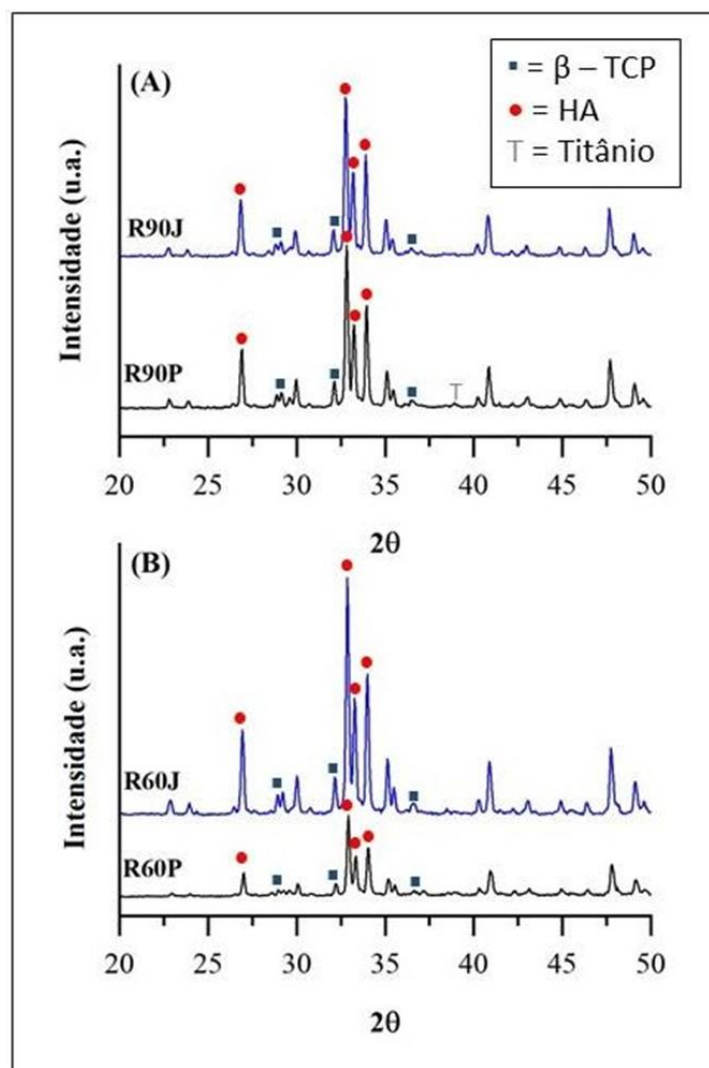


Figura 5: Difratograma de raios-X das diferentes amostras revestidas: (A) amostras revestidas com tensão de 90 V e (B) amostras revestidas com tensão de 60 V.

Fonte: o autor.

4. CONCLUSÃO

Pela caracterização do pó da HAp dopada com Sr, apesar da presença da fase beta- TCP, foi possível verificar que a HAp teve suas características preservadas e ainda teve sua carga elétrica superficial melhorada, considerando a necessidade do meio. Em estudos anteriores do

grupo, o recobrimento com HAP mais Sr não foi muito eficiente, em atenção a este problema foi alterado a topografia da superfície do Ti e reduzido o percentual molar do dopante, com o intuito de possibilitar maior aderência da camada na superfície do metal e a própria formação da camada, tais alterações foram positivas e a camada foi formada e apresentou uma boa resistência no teste ao lápis.

A técnica de recobrimento provou ser eficiente mesmo com uso do Sr como material dopante, com a variação da tensão foi possível verificar que o tempo de recobrimento pode ser reduzido sem que sem ter perdas na homogeneização da camada.

Os ensaios in vitro, SBF e espessura da camada por MEV serão realizados em outra etapa do estudo, que são de extrema importância para simular e verificar o comportamento do revestimento no meio.

REFERÊNCIAS

- Andrade, Â. L.; Domingues, R. Z. (2005), *Cerâmicas Bioativas – Estado da Arte*. Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG.
- American Society for Testing and Materials - ASTM-D3363-05/2011: *Standard Test Method for Film Hardness by Pencil Test*.
- Araujo, M. C. (2010), *Síntese e Caracterização de Hidroxiapatita Nanoestruturada Obtidos por Aspersão de Solução em Chama* – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre.
- Filho, E. A.; Assis, C. M.; Verick, L. O.; Guastaldi, A. C. (2007), *Deposição de Hidroxiapatita Sobre Superfície de Ti-CP Modificada por Aspersão Térmica*. Departamento de Físico-Química, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista. São Paulo.
- Gomes, D. T.; Rodrigues, L. F., Volkmer, T. M., Santos, L. A. L. (2016), *Síntese e Caracterização de Hidroxiapatita dopada com Estrôncio* – Universidade Franciscana - Santa Maria.
- Hung, K.; Shih, S. C.; Yang, Y.; Feng, H.; Lin, Y. (2013), Titanium surface modified by hydroxyapatite coating for dental implants. *Journal ELSEVIER, Surface & Coatings Technology* 231.
- Machado, C. P. G. (2012), *Análise da Biocompatibilidade da Hidroxiapatita Nanoestruturada Contendo 1% de Estrôncio como Substituto Ósseo em Tibia de Ovelha* - Faculdade de Odontologia da Universidade Federal Fluminense – Niterói, RJ.
- Moreno, M. S. M. S. (2014), *Engenharia de Tecidos na Substituição de Tecido Ósseo* – Universidade Fernando Pessoa – Porto.
- Narayanan, R.; Seshadri, S. K.; Kwon, T. Y.; Kim, K. H. (2007), Revestimento à Base de Fosfato de Cálcio em Titânio e Suas Ligas - *Revista de Pesquisa de Materiais Biomédicos Parte B: Biomateriais Aplicados* Volume 85B, edição 1.
- Rik H. B.; Van R. (2005), *Basic Orthopedic Biomechanics and Mechano-Biology* / Van C. Mow, Rik Huskies, Chapter 4: Biomechanics of bone, 3ª ed.
- Sena, L. A.; Sader, V.; Soares, G. A.; Rossi, A. M. (2017), *Deposição eletroforética de Hidroxiapatita em Chapas de Titânio Visando a Formação de uma Camada Bioativa* – Universidade Federal do Rio de Janeiro – Rio de Janeiro.
- Silva, J. C. da. (2006), *Estudo Comparativo de superfícies de Titânio Utilizadas em Implantes* – Universidade federal do Paraná – Curitiba – Paraná.
- Silva, V. V. (2017), Aplicação de Biomateriais em Ortopedia e Engenharia de tecido Ósseo. Universidade Federal do ABC, *Revista Saúde e meio Ambiente – RESMA*, v. 5, n. 2, p. 14- 27.
- Sridhar, T. M.; Kamachi; Mudali, U.; Subbaiyan, M. (2003), Sintering atmosphere and temperature effects on hydroxyapatite coated type 316L stainless steel. *Corrosion Science*, v. 45, n. 10, p. 2337–2359.
- Williams, D. *Definitions in Biomaterials*, Progress in Biomedical Engineering, Elsevier, pp. 54-59.
- Williams, D.; Black, J.; Dohert, P. Second Consensus Conference on Definitions in Biomaterials. *Advances in Biomaterials: Biomaterials Tissue Interactions*, Elsevier, pp. 525-533.
- Zhitomirsky, I.; Gal, L.; Mater, J. (1997), *Sci: in Medicine*, v.8, pp. 213-219.

HYDROXIAPATHY WITH TITANIUM COATING STUDY BY ELECTROPHORESIS TECHNIQUE

, Joel F. da Fonseca¹, Aline Machado Bessow Machado², L. F. Rodrigues Jr.³
¹Dep. De Engenharia Biomedica, Universidade Franciscana, Rio Grande do Sul (RS), Brasil

Resumo.

Titanium (Ti) has been the main metallic material applied to implants. There is a lot of research focused on the superficial alteration of Ti to increase the efficiency of its interaction with bone cells. The superficial alterations applied in this process can be by modification of the material roughness, by coatings using a synthetic bioceramic or in the case of this study using both methods. In this study hydroxyapatite (HAp) doped with strontium (Sr) was used, as studies showed the presence of small amounts of Sr in the bone matrix.

The characterizations were positively obtained for HAp poder doped with Sr, using XRD and FTIR where the β -TCP phase and characteristic peaks of pure HAp were observed as well as the hydroxyl (OH-) and phosphate (PO₄³⁻) functional groups. Blasting proved to be effective in increasing the roughness of Ti parts by tripling it, contributing to the formation of the resistant HAp layer.

Key-words: *Biocompatibility, Titanium, Bioactive layer, Hydroxyapatite, Electrophoresis.*