

CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL DA HIDROXIAPATITA BOVINA SINTERIZADA COM BIOVIDRO NIOBO-FOSFATO

Luiz Eduardo Serra Carneiro Pinto* e Marcelo Henrique Prado da Silva

^aSeção de Engenharia Mecânica e de Materiais (SE/4) – Instituto Militar de Engenharia (IME) – Praça General Tibúrcio, 80, Praia Vermelha, 22.290-270, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

* luizeserra@ibest.com.br

ABSTRACT

Bovine hydroxyapatite has been employed in the bone graft materials production because of its low cost and physico-chemical properties. The heating treatment used to remove the bone organic fraction results in crystallinity increase and reduces the solubility of the HA_{bov}. Recently it had been shown that HA sintering with Ca/P bioactive glass resulted in HA partial decomposition and brought out TCP phase, recognizably more soluble phase than HA. The aim of the present work was to investigate, by means of scanning electron microscopy (SEM), the microstructure of the HA_{bov} samples sintered with niobo-phosphate bioactive glass in 1000°C and 1200°C. The SEM result have been shown that the 1000°C sintering temperature was unable to obtain efficient densification, while in 1200°C high densification and grain growth occurred. The low-grade addition of bioactive glass did not aid in the HA_{bov} samples densification, while the addition of the high-grade bioactive glass has induced phase transformations, mainly at the 1200°C.

Keywords: Bovine hydroxyapatite, Niobo-phosphate bioactive glass, Sintering, Bone graft material.

RESUMO

A hidroxiapatita oriunda de ossos bovinos, (HA_{bov}), tem sido empregada extensamente na produção de enxertos ósseos devido a seu baixo custo e suas propriedades físico-químicas. O tratamento térmico empregado na retirada da porção orgânica do osso aumenta a cristalinidade e reduz a solubilidade da HA_{bov}. Recentemente foi demonstrado que a sinterização da HA com adição de biovidro de Ca/P resultou na decomposição parcial da HA e o surgimento de fase TCP, mais solúvel que a HA. O objetivo deste trabalho foi analisar, através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), a microestrutura de amostras de HA_{bov} sinterizadas com biovidro niobo-fosfato a 1000°C e a 1200°C. Os resultados de MEV demonstraram que a sinterização na temperatura de 1000°C não foi suficiente para atingir uma densificação eficaz da HA_{bov}, enquanto que em 1200°C ocorreu elevada densificação com crescimento de grão. A adição de biovidro em baixos teores não auxiliou

na densificação das amostras de HAbov, enquanto que elevados teores de biovidro induziram transformação de fases, principalmente na temperatura de 1200°C.

Palavras-chave: Hidroxiapatita bovina, Biovidro niobo-fosfato, sinterização, Materiais para enxerto ósseo.

1 INTRODUÇÃO

Materiais cerâmicos têm sido pesquisados na obtenção de novos materiais para enxerto ósseo, por ser uma alternativa ao enxerto ósseo autógeno.

Os substitutos ósseos devem permitir a migração de células (osteocondutividade) e serem capazes de formar uma união química com o osso do hospedeiro (bioatividade). Na grande maioria dos casos, o material enxertado funciona como arcabouço temporário, permitindo a colonização celular e formação de novo osso nos espaços criados entre partículas.

As cerâmicas de fosfato de cálcio e os vidros bioativos são materiais preenchedores, amplamente utilizados na ortopedia e na odontologia devido a sua biofuncionalidade. Dentre os fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita possui estreita similaridade química e estrutural com a fase mineral do tecido ósseo e seu emprego como substituto ósseo tem crescido significativamente (Shors, 1993). As principais fontes de hidroxiapatita na preparação desses produtos são os reagentes químicos analíticos e o osso bovino.

Dentre os produtos comerciais de origem bovina, destaca-se o Bio-Oss[®], (Osteohealth Company – Switzerland). Seu benefício está relacionado ao processo químico de remoção da parte orgânica que mantém, relativamente inalterados os nano cristais de hidroxiapatita conservando a porosidade macro e microscópica do osso (Benke, 2001; Lussi, 1992).

A hidroxiapatita sintética e estequiométrica provou ser bioativa, no entanto, é um material significativamente estável e possui reduzida solubilidade. Com isso, a possibilidade de reposição gradual do material enxertado por novo osso torna-se reduzida, ou mesmo, impedida. Anos atrás, foi demonstrado que a adição de pequenas frações de vidros bioativos a hidroxiapatita, como aditivo de sinterização, resultava no aumento da solubilidade do produto final frente à hidroxiapatita pura (Knowles, 1996; Queiroz, 2003). Tais resultados estão relacionados à decomposição parcial da hidroxiapatita com formação de fases α e β -TCP, que são, reconhecidamente, mais solúveis. Recentemente, foi demonstrado que o biovidro niobo-fosfato induziu a degradação da hidroxiapatita estequiométrica com formação de fases α e β -TCP após a sinterização. Tais vidros demonstraram também ausência de citotoxicidade (Prado da Silva, 2008). A adição de vidros bioativos à hidroxiapatita estequiométrica antes da sinterização também demonstrou ser eficaz no aumento da degradação *in vivo* e no aumento da resistência da união osso-implante *in vivo* quando comparada a hidroxiapatita pura (So, 2006).

O objetivo deste trabalho foi fazer a análise microestrutural, através de microscopia eletrônica de varredura, de amostras de hidroxiapatita de origem bovina

sinterizadas com diferentes frações de biovidro niobo-fosfato.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção da hidroxiapatita – Osso bovino

Porções corticais de fêmur bovino foram cortadas em pedaços com aproximadamente de 10 mm X 10 mm. Em seguida foram limpos em água fervente e posteriormente, calcinados em forno de sinterização. A volatilização foi feita partindo-se da temperatura ambiente à taxa de aquecimento de 0,5°C por minuto até 550 °C, com patamar de 2 horas, quando então a temperatura foi elevada até 800°C com taxa de aquecimento de 5°C por minuto e patamar de 1 hora. O osso calcinado foi moído em moinho de bolas e posteriormente classificado em um sistema de peneiras Tyler, para então selecionar partículas de dimensões inferiores a 20 µm (500 Mesh).

Preparação do vidro niobo-fosfato

O vidro bioativo utilizado neste trabalho foi preparado a partir de reagentes químicos analíticos e possui composição em mols de 30% de P_2O_5 , 30% de Nb_2O_5 , 20% de CaO e 20% de CaF_2 .

A homogeneização dos reagentes foi feita em uma placa com agitação magnética por 24 horas, seguida de secagem em estufa a 60 °C por 6 horas. A mistura foi fundida em um cadinho de platina, a 1400°C com patamar de 2 horas e taxa de aquecimento de 5°C por minuto. A mistura fundida foi rapidamente vertida em água destilada, produzindo uma “frita”. O vidro obtido foi moído em moinho de bolas e depois classificado em um sistema de peneiras Tyler, para então selecionar partículas de dimensões inferiores a 20 µm (500 Mesh).

Preparação das amostras de HAbov com adição de biovidro

As amostras de HAbov-Bv foram obtidas pela adição de frações de 4, 6, 8, 12, 16, 20, 25 e 50% em peso de vidro bioativo niobo-fosfato à hidroxiapatita de origem bovina. Após a adição da fração de biovidro correspondente, cada uma das amostras HAbov-Bv foi homogeneizada por 1 hora em uma placa com agitação magnética em uma suspensão de etanol, seguida de secagem em estufa a 60 °C por 24 horas. Os pós das amostras obtidas foram denominados de HAbov-Bv4, HAbov-Bv6, HAbov-Bv8, HAbov-Bv12, HAbov-Bv16, HAbov-Bv20, HAbov-Bv25 e HAbov-Bv50, de acordo com a fração de vidro adicionada.

Obtenção dos corpos verdes

Os corpos verdes foram produzidos na forma de pastilhas, por prensagem uniaxial, utilizando uma prensa hidráulica. As pastilhas foram produzidas utilizando 0,4g de pó da amostra correspondente, o qual foi prensado em uma matriz metálica de prensagem uniaxial medindo 12 mm de diâmetro empregando uma carga de 1.000 kg (pressão de 87 MPa) durante 2 minutos. Foram produzidos 8 amostras teste, HAbov-Bv, e 1 amostra controle, HAbov pura para cada grupo em função da temperatura de sinterização.

Sinterização

Os corpos verdes, na forma de pastilhas, foram sinterizados empregando duas temperaturas de sinterização para cada uma das 9 amostras, HAbov pura, HAbov-Bv4, HAbov-Bv6, HAbov-Bv8, HAbov-Bv12, HAbov-Bv16, HAbov-Bv20, HAbov-Bv25 e HAbov-Bv50. Um grupo de pastilhas foi aquecido a uma taxa de 5°C por minuto até 1000°C, onde permaneceu por 1 hora. O segundo grupo de pastilhas foi aquecido com uma taxa de aquecimento de 5°C por minuto até 1200°C, onde permaneceu por 1 hora. Após o patamar final de 1 hora todas as amostras sofreram resfriamento no forno.

As duas diferentes temperaturas de sinterização foram empregadas com o objetivo de investigar a influência da temperatura de sinterização na decomposição da hidroxiapatita com adição de biovidro niobo-fosfato.

Caracterização do material

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microestrutura final das amostras, HAbov e HAbov com adições de biovidro foi avaliada por Microscopia Eletrônica de Varredura, (MEV), para evidenciar a topografia. Foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura marca JEOL modelo 5800 do Laboratório de Microscopia Eletrônica do IME. As análises foram feitas em alto vácuo empregando elétrons secundários acelerados a 20 Kv. As amostras foram recobertas com um filme condutor de ouro com objetivo de permitir a condução dos elétrons e evitar o carregamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Microscopia eletrônica de varredura

A Figura 3.1 apresenta a micrografia das amostras de HAbov sinterizadas a 1000°C e a 1200°C.

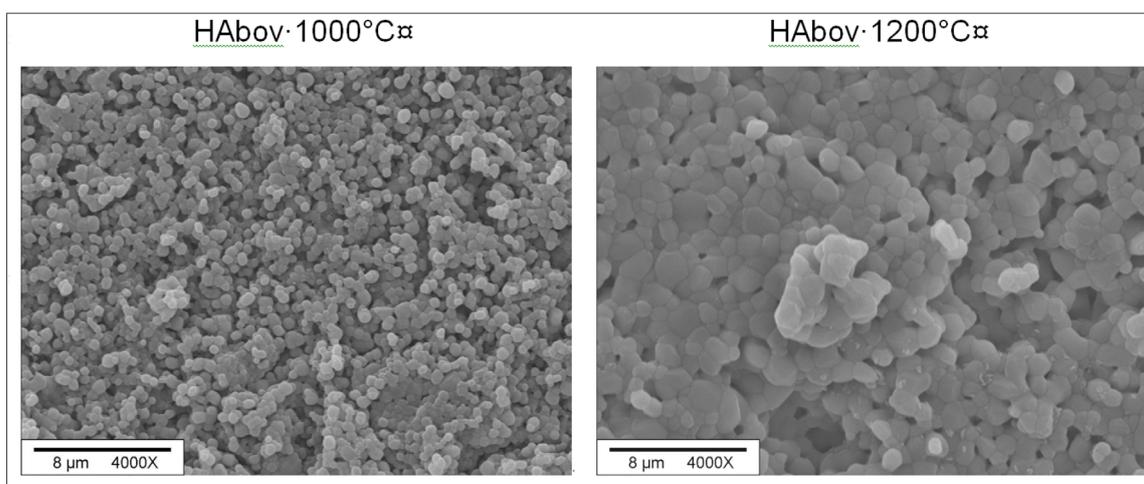


Figura 3.1 - Micrografias (MEV) das amostras HAbov sinterizadas a 1000°C e a 1200°C.

Observa-se na FIG. 3.1 que a amostra HAbov sinterizada a 1000°C revela uma superfície rugosa com elevada fração de poros e reduzida coalescência entre as partículas. No entanto, a amostra de HAbov sinterizada a 1200°C apresentou uma densificação mais eficiente com menor porosidade residual. Houve crescimento significativo dos grãos formados e os poros mostraram-se isolados e localizados preferencialmente nos contornos de grão. Tais características demonstram que a HAbov atingiu o estágio final da sinterização a 1200°C, enquanto que a temperatura de 1000°C foi suficiente apenas para que fossem atingidos os estágios iniciais da sinterização.

A Figura 3.2 apresenta as micrografias das amostras HAbov sinterizadas com adição de 4% de biovidro e sinterizadas a 1000°C e a 1200°C. A amostra HAbov-Bv4 sinterizada a 1000°C apresenta elevada porosidade e grãos pequenos, enquanto a amostra HAbov-Bv4 sinterizada a 1200°C exibe uma superfície composta por poucos poros e grãos lisos e grandes.

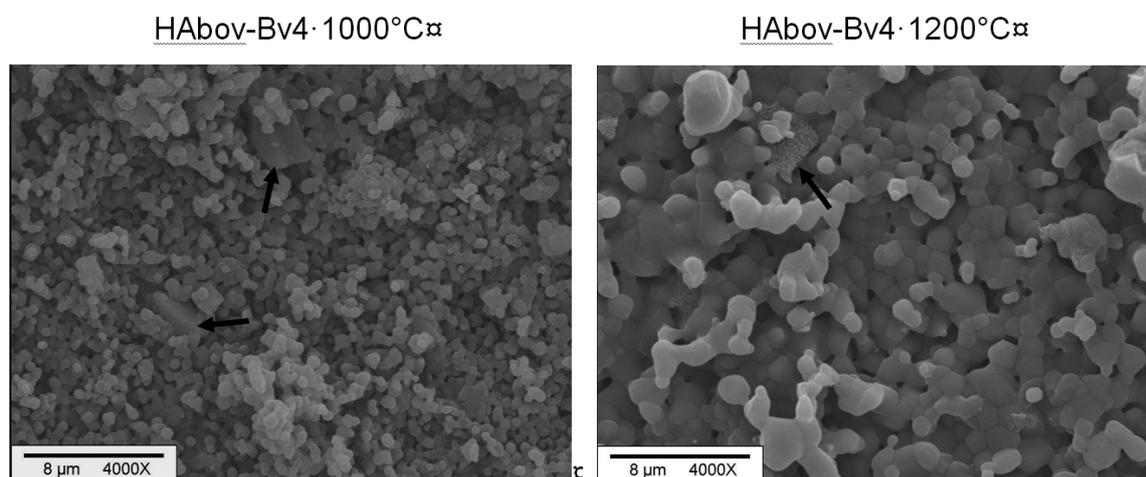


Figura 3.2 - Micrografias (MEV) das amostras HAbov-Bv4 sinterizadas a 1000°C e a 1200°C. Setas mostram partículas de aspecto diferente da matriz de HAbov.

No entanto, a adição de biovidro resultou no surgimento de partículas, de tamanho e aspecto significativamente maior que as partículas da matriz de HAbov (FIG. 3.3 - setas pretas). A análise das amostras HAbov e HAbov-Bv16, ambas em corpo verde comprova que essas partículas são de biovidro. As partículas de biovidro exibem uma superfície mais lisa em 1000°C e uma superfície rugosa em 1200°C (FIG. 3.2 – setas pretas). Tal fato está ligado à diferença de temperatura de sinterização, a qual fornece um nível mais elevado de energia térmica e aumenta a reatividade entre o biovidro e a HAbov em 1200°C.

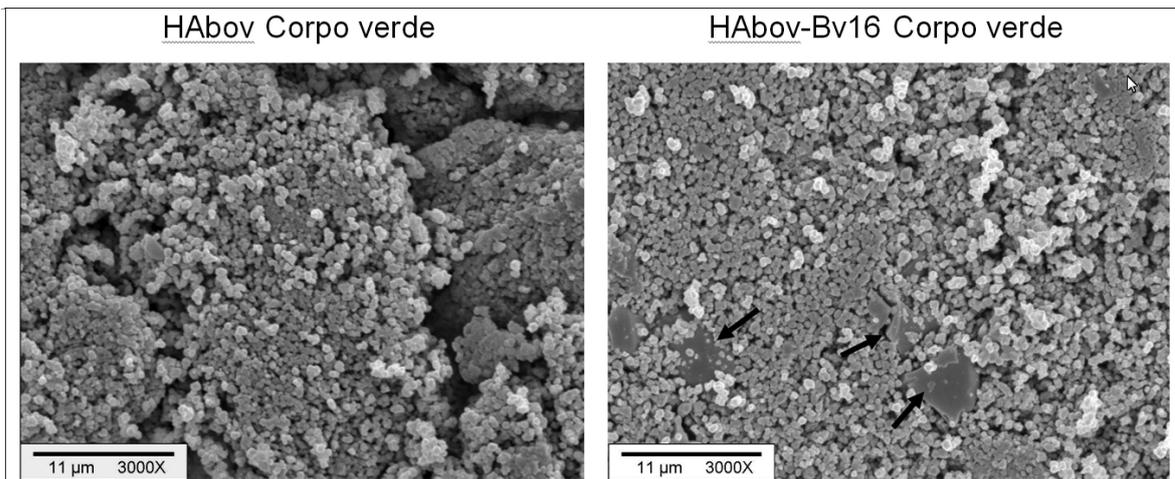


Figura 3. 3 - Micrografias (MEV) das amostras HAbov e HAbov-Bv16 no estado de corpo verde. Setas indicam a presença de partículas de biovidro.

Contudo, comparando-se a amostra de HAbov e de HAbov-Bv4 é possível supor que a adição de 4% de biovidro não auxiliou significativamente na densificação da HAbov tanto a 1000°C quanto a 1200°C, Figura 3.4.

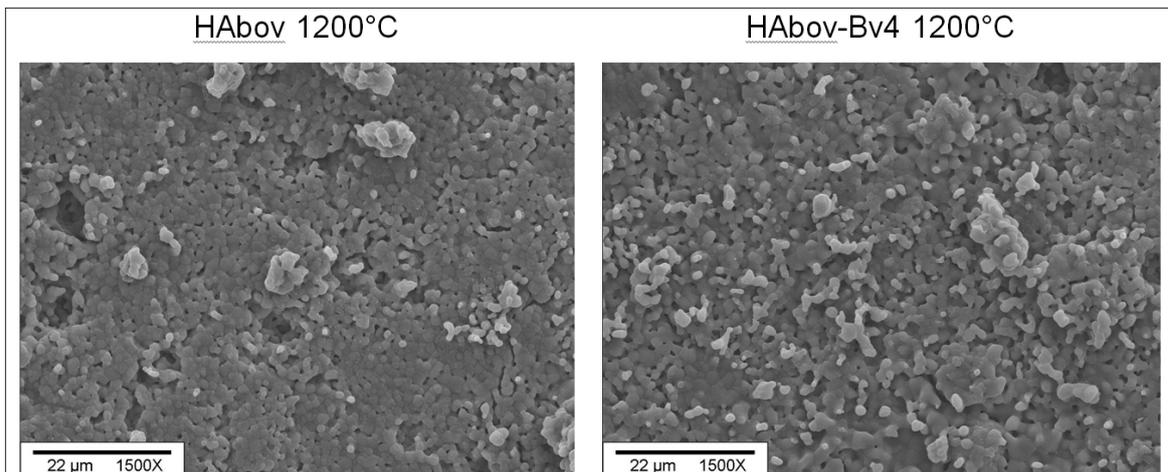


Figura 3. 4 - Micrografias (MEV) das amostras HAbov e HAbov-Bv sinterizadas a 1200°C mostrando que não houve diferença na microestrutura com adição de 4% de biovidro.

O fato de não ter havido melhora na densificação das amostras de HAbov com adição de 4% de biovidro está associado à ausência da contribuição de fase líquida durante a reação de sinterização, mesmo a 1200°C. Isso significa que as temperaturas de 1000°C e 1200°C não foram suficientes em fornecer energia térmica adequada para fusão, ou mesmo para redução substancial da viscosidade do biovidro. No entanto, houve aumento da reatividade do biovidro com a HAbov em 1200°C. Esse fato é comprovado pelo aspecto rugoso da superfície das partículas de biovidro nas amostras de HAbov-Bv6 e HAbov-Bv8 sinterizadas a 1200°C, enquanto que as amostras sinterizadas em 1000°C exibem partículas de biovidro com aspecto superficial liso Figura 3.5.

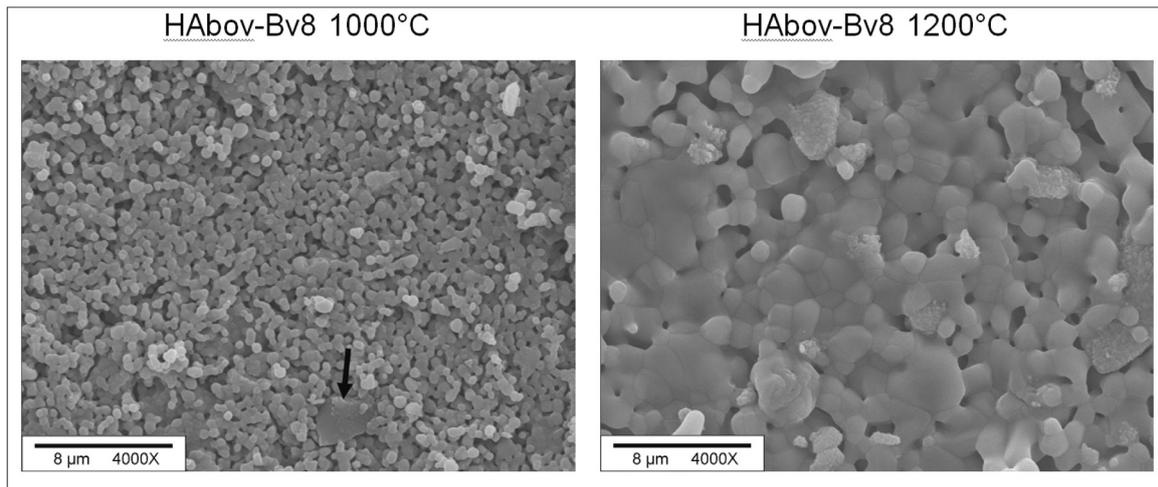


Figura 3. 5 - Micrografias (MEV) das amostras HAbov-Bv8 sinterizadas a 1000°C e a 1200°C. Seta mostra partícula de biovidro.

O aumento da rugosidade indica precipitação de segundas fases resultantes da reação da superfície das partículas de biovidro com a HAbov em 1200°C, o que pode ser observado nas amostras de HAbov-Bv12 (Figura 3.6).

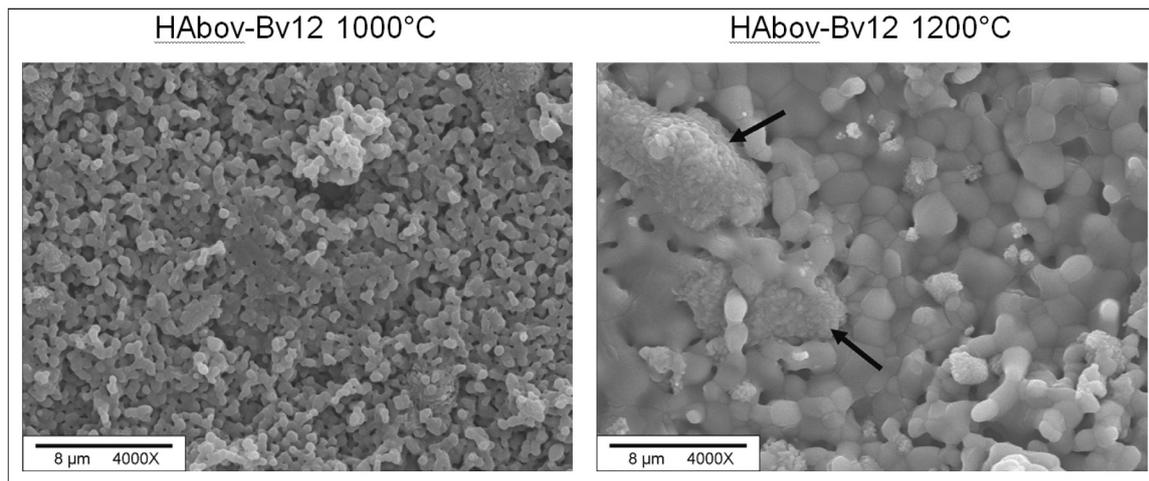


Figura 3. 6 - Micrografias (MEV) das amostras HAbov-Bv12 sinterizadas a 1000°C e a 1200°C. Setas indicam partículas de biovidro e de segundas fases em sua superfície.

A adição de teores mais elevados de biovidro à HAbov sinterizada a 1200°C resulta no aumento do tamanho de grão e da rugosidade da superfície das partículas de biovidro. No entanto, em 1000°C o efeito parece ser a presença de regiões com aumento da fração de vazios coexistindo com regiões onde ocorre densificação. Esse fato pode ser evidenciado nas amostras HAbov-Bv 16 (Figura 3. 7).

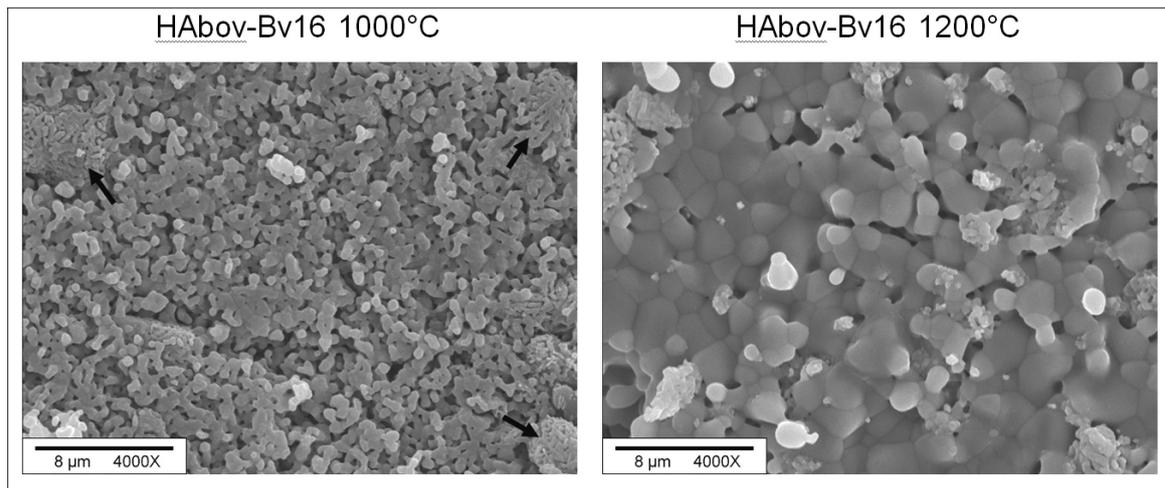


Figura 3. 7 - Micrografias (MEV) das amostras HAbov-Bv16 sinterizadas a 1000°C e a 1200°C. Setas indicam regiões de densificação.

As amostras HAbov-Bv20 e HAbov-Bv25 sinterizadas a 1000°C exibem uma microestrutura onde é possível observar o surgimento de segundas fases de aspecto facetado, ao mesmo tempo em que ocorre o aumento de volume dos vazios. Em 1200°C ocorre redução da porosidade e o aumento do tamanho dos grãos das segundas fases (Figura 3.8).

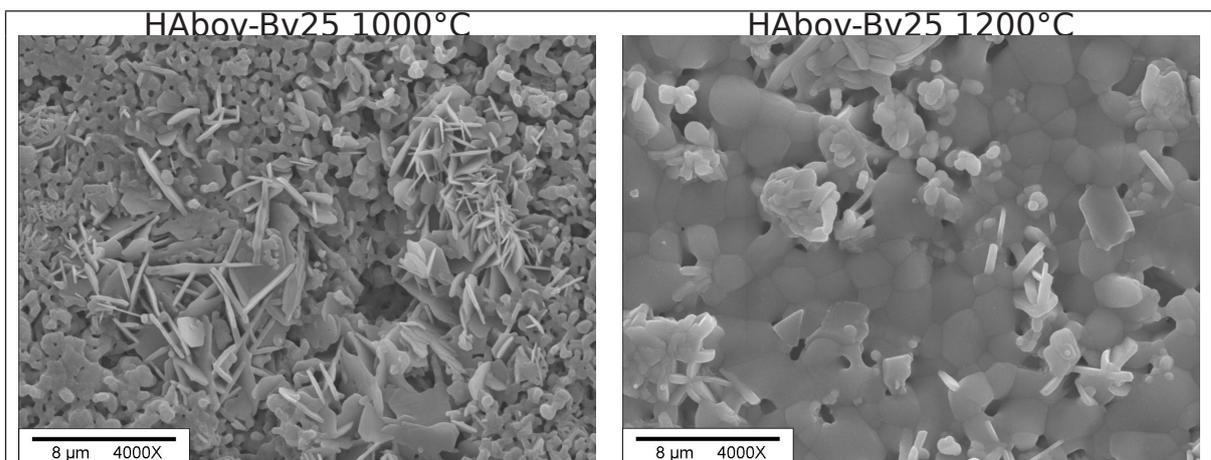


Figura 3. 8 - Micrografias (MEV) das amostras HAbov-Bv25 sinterizadas a 1000°C e a 1200°C.

A adição de 50% de biovidro à HAbov produz em 1000°C uma microestrutura caracterizada por regiões de elevada porosidade circundando regiões de alta densificação. As regiões densas são compostas por segundas fases de aspecto facetado e agulhado. Em 1200°C observa-se uma microestrutura que exhibe alta densificação e crescimento significativo dos grãos de segundas fases.

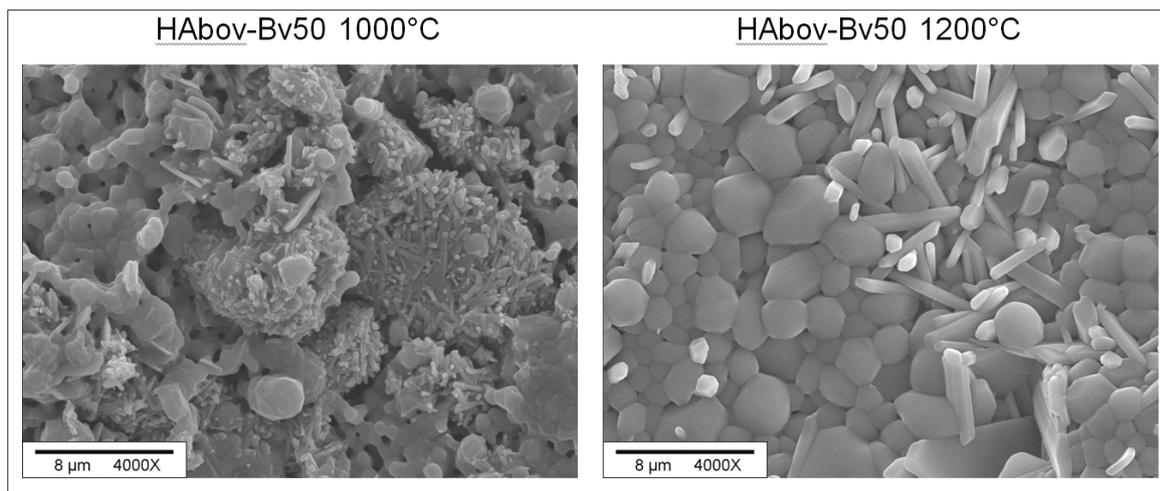


Figura 3. 9 - Micrografias (MEV) das amostras HAbov-Bv50 sinterizadas a 1000°C e a 1200°C.

Comparando-se a evolução da microestrutura nas amostras de HAbov com adições sucessivas de biovidro observa-se que a reação de sinterização em 1000°C parece ser governada por fenômenos de *coarsening*, enquanto que na temperatura de 1200°C a reação é governada por fenômenos de densificação. Tal fato está ligado à temperatura de sinterização e a fração de partículas submicrométricas de biovidro.

CONCLUSÃO

Os resultados de microscopia eletrônica de varredura demonstraram que a HAbov empregada neste trabalho não sofreu uma sinterização eficaz em 1000°C, no entanto, na temperatura de 1200°C ocorreu elevada densificação e crescimento de grão.

A adição de biovidro niobo-fosfato em frações reduzidas não induziu alterações significativas na densificação da HAbov. Contudo, frações elevadas induziram transformações de fase, principalmente nas amostras sinterizadas a 1200°C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benke, D.; Olah, A.; Möhler, H. *Protein-chemical analysis of Bio-Oss bone substitute and evidence on its carbonate content. Biomaterials*, **2001**, 22, 1005.
- Knowles, J. C.; Tadal, S.; Santos, J. D. *Sintering effects in a glass reinforced hydroxyapatite. Biomaterials*, **1996**, 17, 1437.
- Lussi, H. & Geistlich, P.; *US Pat 005167961A*, **1992**.
- Prado da Silva M. H.; Moura Ramirez, C.; Granjeiro, J. M. et al. *In vitro assesment of new niobium phosphate glasses and glass ceramics. Key Engineering Materials*, **2008**, 361, 229.
- Queiroz, A. C.; Santos J. D.; Monteiro F. J. et al. *Dissolution studies of hydroxyapatite and glass-reinforced hydroxyapatite ceramics. Materials Characterization*, **2003**, 50, 197.
- Shors, E. C.; Holmes, R. E. *Em An Introduction to Bioceramics. Lemons, L. L.; Wilson, J., eds; 1993, cap. 8.*
- So K.; Fujibaiashi S.; Neo M.; et al. *Accelerated degradation and improved bone-bonding ability of hydroxyapatite ceramics by addition of glass. Biomaterials*, **2006**, 27, 4738.