

INFLUÊNCIA DA PRESSÃO DE Prensagem E TEMPERATURA DE SINTERIZAÇÃO NA POROSIDADE DA HIDROXIAPATITA

Braga, F.M.P.¹, Lopes, C. B.², Alves, L. P.³, Machado, A. H. A.⁴, Rigo, E. C. S.⁵, Ortega, F. S.⁶, Albers, A. P. F.⁷, Silva, N. S.⁸, Soares, C. P.⁹

^{1,2,9}Laboratório de Dinâmica de Compartimento Intracelulares, IP&D/UNIVAP

³Laboratório de Aplicações de Lasers de Alta Potência em Bioengenharia, IP&D/UNIVAP

^{4,8}Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, IP&D/UNIVAP

^{6,7}Laboratório de Processamento de Materiais, IP&D/UNIVAP

Av. Shishima Hifumi, 2911–Urbanova, São José dos Campos, SP, Brasil, 12244-000

⁵Universidade São Francisco - Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais
Rua Alexandre Rodrigues Barbosa, 45 – Centro, Itatiba, SP, Brasil, 13251900

ferbraga@univap.br , cpsoares@univap.br

Resumo - A hidroxiapatita (HA) é utilizada como biomaterial devido a sua biocompatibilidade *in vivo* e sua propriedade de bioatividade. O controle da porosidade é importante tanto em termos dos efeitos nas propriedades mecânicas quanto nos mecanismos de adesão aos tecidos. Este trabalho teve por objetivo estudar a influência da pressão de prensagem e temperatura de sinterização na porosidade e distribuição de tamanho de poros de compactos de hidroxiapatita, analisando sua correlação com o crescimento de células fibroblásticas da linhagem L929. Os resultados evidenciaram que as variações de pressão e temperatura influenciaram na porosidade.

Palavras-chave: Biomateriais, Biocompatibilidade, Hidroxiapatita, Porosidade.

Área do Conhecimento: Engenharias

Introdução

Biomateriais são materiais biocompatíveis e podem ser bioinertes ou bioativos, esses interagem com o sistema biológico para restaurar funções de tecidos vivos naturalmente danificados e órgãos do corpo humano e animal. Os biomateriais apresentam riscos para a saúde humana que variam de baixos a elevados, dependendo do tipo e extensão do contato com o paciente. O primeiro estudo recomendado para um biomaterial é sua citotoxicidade que é investigada em estudos *in vitro*. (THEISZOVÁ et al, 2005)

A hidroxiapatita (HA) é utilizada como biomaterial devido a sua biocompatibilidade *in vivo* e sua propriedade de bioatividade. HA pode ser utilizada em uma variedade de formas físicas, como uma peça cerâmica, camada bioativa depositada em um implante ou ainda como preenchimento de falhas ósseas. (GIBSON et al, 2001). Essa cerâmica pode ser produzida por reações de síntese onde ao final obtém-se a cerâmica na forma de pó, sendo então conformadas para experimentação (ROSA et al, 2000).

Dentre as técnicas de conformação possíveis, a prensagem se destaca pela facilidade de processamento e baixo custo envolvido. Após prensagem, os compactos são sinterizados em elevadas temperaturas, resultando em um material coeso e de elevada resistência mecânica.

Mudanças na compactação do pó e condições de sinterização da HA podem resultar em um material com diferentes características químicas e físicas, dentre elas a porosidade. (ROSA et al, 2002). A diminuição do volume da amostra ocorre em consequência da densificação da cerâmica durante a sinterização, a qual, determina o nível de porosidade.

Resultados preliminares utilizando cultura de células sugerem que a presença de maior porcentagem de microporos (<10mm) interferem de maneira negativa com a biocompatibilidade da hidroxiapatita. (ROSA et al, 2000). O controle da porosidade é importante, tanto em termos dos efeitos nas propriedades mecânicas quanto nos mecanismos de adesão aos tecidos. (ARITA et al, 1995)

Este trabalho teve por objetivo variar a porosidade e a distribuição de tamanho de poros, variando-se a pressão de prensagem e a temperatura de sinterização, analisando sua correlação com o crescimento de células fibroblásticas da linhagem L929.

Materiais e Métodos

Para confecção das pastilhas misturou-se 20g de hidroxiapatita (HA) em pó com 1g de Poli(álcool vinílico) em solução aquosa na concentração de 10%. Para melhor homogeneização da mistura, a mesma foi passada em peneira malha 35 (ASTM).

As pastilhas foram confeccionadas utilizando-se 0,5g da mistura de HA + PVAI e prensagem biaxial, em molde de aço com dimensões de 15mm de diâmetro e 2mm de altura. Utilizou-se três diferentes pressões de prensagem, sendo de 44, 66 e 88 MPa (Tabela 1). Após a obtenção das pastilhas, estas foram colocadas em estufa (Spencer Scientific) com temperatura de 100°C por um período de 24 horas para a secagem. A caracterização dos compactos a verde foi feita por densidade volumétrica.

As pastilhas foram sinterizadas (Lindberg) com taxa de aquecimento de 5° por minuto com um patamar em 300°C por 2 horas e a 1100°C, 1200°C e 1300°C por 3 horas, respectivamente (Tabela 1). Os compactos sinterizados nas diferentes temperaturas foram caracterizados por densidade e porosidade aparente (baseando-se no princípio de Arquimedes) e porosimetria de mercúrio, com o objetivo de avaliar a distribuição do tamanho dos poros nas pastilhas (Micromeritics – Porosizer 9320).

Tabela 1: Descrição dos diferentes grupos estudados.

GRUPO A	
Denominação	Descrição
A1	44MPa/1100°C
A2	44MPa/1200°C
A3	44MPa/1300°C
A4	Controle célula
GRUPO B	
Denominação	Descrição
B1	66MPa/1100°C
B2	66MPa/1200°C
B3	66MPa/1300°C
B4	Controle positivo
GRUPO C	
Denominação	Descrição
C1	88MPa/1100°C
C2	88MPa/1200°C
C3	88MPa/1300°C
C4	Controle negativo

Para os ensaios *in vitro*, foram cultivadas células fibroblásticas da linhagem L929 em garrafas plásticas (NUNC), com área de 25cm², em meio MEM (Gibco BRL) suplementadas com 10% SFB (Gibco, BRL), em estufa com atmosfera úmida de 5% de CO₂ e temperatura ajustada em 37 °C, para formar uma monocamada confluenta e então plaqueadas a uma densidade de 5 X 10⁵ célula/mL colocadas em poços de placas de 24 poços para a realização dos experimentos. Após 24 horas do plaqueamento as células foram incubadas com as pastilhas de HA por 24 em atmosfera de 5% de CO₂ e 37° C, para realização do teste MTT.

Para o controle, foram divididos três grupos: controle (somente células), controle positivo

(célula + filtro) e controle negativo (célula + luva). (Tabela 1).

Após incubação, as pastilhas foram retiradas e os poços foram lavados com PBS. Em seguida adicionou-se 80µL de MTT (3-[(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide]) e após foi adicionado 320µL de PBS. As placas foram incubadas por um período de 90 minutos. Os cristais de formazan formados foram dissolvidos através da adição de 400µL de DMSO e mantidos por um período de 30 minutos sob agitação. Após estes procedimentos foi efetuada a leitura das placas (Elisa Spectracount Packard, USA), utilizando filtro de 570nm.

Resultados e Discussão

A Figura 1 apresenta os resultados da densidade a verde (porcentagem em relação à densidade teórica da HA - 3,156g/cm³) em função da pressão de prensagem utilizada, onde nota-se um aumento da densidade para os grupos experimentais compactados com maiores pressões de prensagem. Entretanto, nota-se que o aumento da densidade a verde foi maior quando se aumentou a pressão de prensagem de 44 para 66 MPa, do que quando se aumentou de 66 para 88MPa. Este comportamento é característico do processo de prensagem a seco, onde inicialmente há elevada redução da porosidade, pois a força aplicada pelo punção é transmitida para todo o compacto por contato direto entre as partículas e/ou aglomerados, que se deslizam e deformam plasticamente de forma a reduzir o espaço vazio entre eles. O ar comprimido nos poros tende a migrar para a superfície, sendo assim eliminado. Com o aumento da força aplicada, tem-se o rompimento dos aglomerados/agregados, que se acomodam nos vazios ainda remanescentes. Após este estágio, maiores pressões de prensagem não resultam em aumento na densidade [REED, 1995].

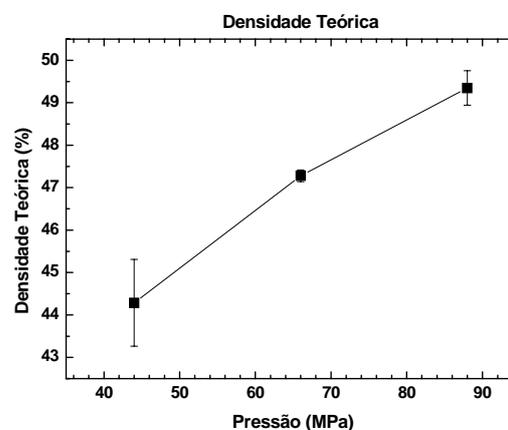


Figura 1: Porcentagem de densidade a verde em relação à densidade teórica, variando-se as pressões de prensagem.

A Figura 2 apresenta a porosidade aparente em função da temperatura de sinterização para compactos conformados com diferentes pressões de prensagem.

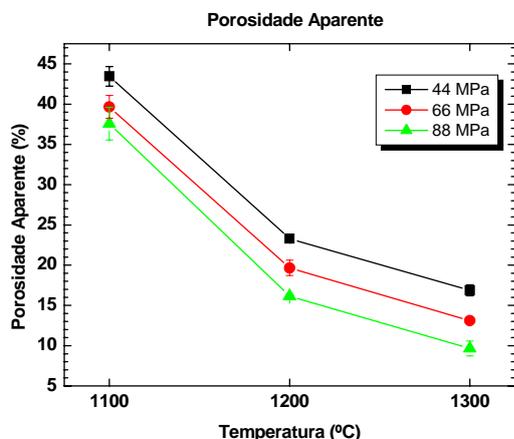


Figura 2: Porosidade aparente em função da temperatura de sinterização.

Na Figura 2 para todas as temperaturas estudadas, maiores pressões de prensagem resultaram em compactos com menor porosidade aparente, consequência direta da maior densidade a verde de tais compactos (Figura 1). Com o aumento da temperatura de sinterização de 1100 para 1200°C nota-se uma queda pronunciada na porosidade aparente para os três grupos experimentados.

A

Figura 3 apresenta os resultados da densidade aparente em função da temperatura de sinterização para compactos conformados com diferentes pressões de prensagem. Maiores pressões de prensagem resultaram em compactos mais densos após sinterização em todas as temperaturas estudadas, vale salientar que o aumento da pressão para 88MPa contribuiu muito pouco para a densificação, se comparado com os corpos-de-prova prensados à 66MPa.

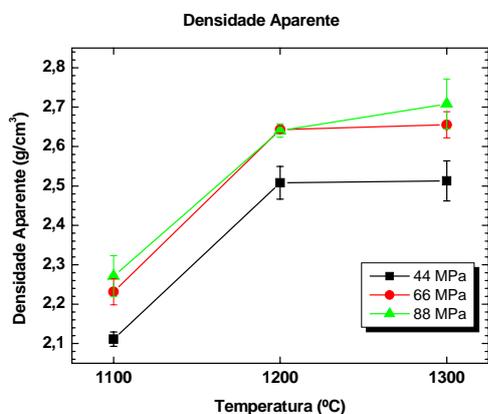


Figura 3: Densidade aparente em função da temperatura de sinterização.

Ainda na Figura 3 tem-se que os corpos-de-prova sinterizados à 1200 e 1300°C apresentaram pouca variação na densidade aparente. Isso ocorreu provavelmente porque a 1200°C os compactos já atingiram praticamente a máxima densidade possível utilizando esta técnica de conformação.

A Figura 4 apresenta a distribuição de tamanho de poros para compactos conformados com pressão de prensagem de 66 MPa e sinterizados em diferentes temperaturas. A Figura 5 mostra a distribuição de tamanhos de poros para compactos conformados com diferentes pressões de prensagem e sinterizados à 1300°C.

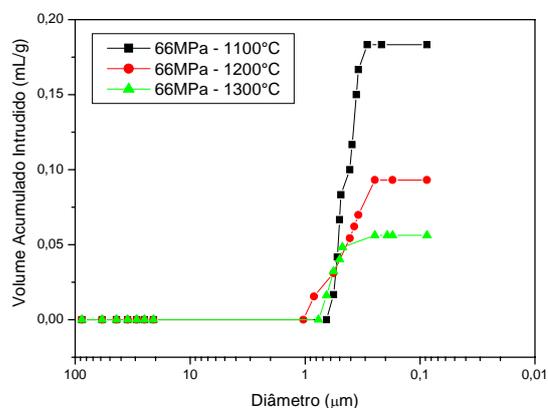


Figura 4: Distribuição de tamanho de poros de compactos sinterizados em diferentes temperaturas (66 MPa).

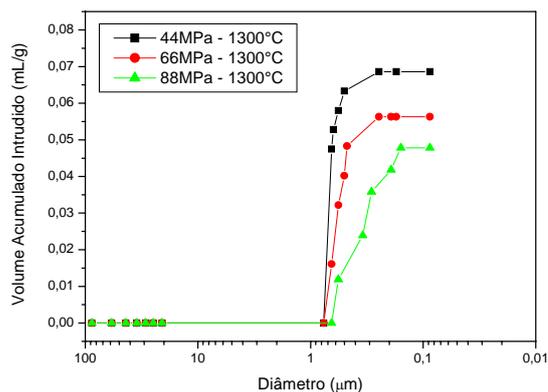


Figura 5: Distribuição de tamanhos de poros para compactos conformados com diferentes pressões de prensagem (1300°C).

Na Figura 4 tem-se que o diâmetro médio dos poros para todas as temperaturas estudadas é praticamente o mesmo, ou seja, 0,5µm. Em temperaturas superiores, nota-se uma distribuição de tamanhos mais ampla, decorrente

provavelmente dos poros que se coalesceram. Observa-se ainda grande diminuição do volume de mercúrio intrudido nas amostras com o aumento da temperatura, referente à diminuição da porosidade dos compactos (Figura 2).

Na Figura 5 observa-se que com o aumento da pressão de prensagem tem-se diminuição do diâmetro médio dos poros: 0,7 μ m para pressões de 44MPa, 0,6 para pressões de 66MPa e 0,35 μ m para pressões de 88MPa. Isto está relacionado ao processo de prensagem, sendo que de 44 para 66 MPa provavelmente houve deformação plástica das partículas/aglomerados, que resultou em pequena variação do diâmetro médio dos poros. Com o aumento da pressão de 66 para 88MPa, houve rompimento dos aglomerados/agregados e consequente preenchimento dos interstícios, reduzindo o tamanho dos mesmos. Além disso, observa-se também redução do volume de mercúrio intrudido, evidenciando redução da porosidade dos compactos (Figura 2)

A Figura 6 apresenta um estudo preliminar da viabilidade celular nos grupos experimentais incubados com hidroxiapatita. Nessa figura, os grupos experimentais de interesse foram aqueles cuja viabilidade celular foi maior que 50%, ou seja, grupos A1 (44MPa/1100°C), A3 (44MPa/1300°C), B2 (66MPa/1200°C), B3 (66MPa/1300°C), C2 (88MPa/1200°C) e C3 (88MPa/1300°C), que possuem menor porosidade aparente (exceto o grupo A1), pois foram sinterizados em temperaturas superiores. O diâmetro dos poros que diminuiu com o aumento da pressão de prensagem, aparentemente não interferiu na viabilidade celular, porém um estudo mais detalhado deverá ser realizado.

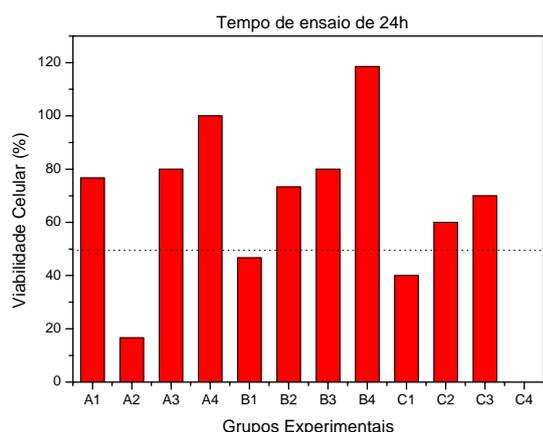


Figura 6: Viabilidade celular para os grupos experimentais.

Conclusões

- Com o aumento da pressão de prensagem, observou-se aumento da densidade a verde,

consequentemente aumento da densidade após sinterização e diminuição da porosidade aparente dos compactos.

- A temperatura de sinterização influencia acentuadamente a porosidade aparente, porém com o objetivo de obter compactos com elevada porosidade, diminuir muito a temperatura de sinterização pode comprometer a resistência mecânica dos compactos obtidos.
- O aumento da pressão de prensagem reduz o diâmetro médio dos poros obtidos à uma dada temperatura; porém o aumento da temperatura de queima para compactos conformados com uma mesma pressão de prensagem, não resulta em variação significativa no diâmetro médio dos poros.

Referências

- ARITA, I. H., WILKINSON, D. S., MONDRAGÓN, M. A., CASTAÑO, V. M. Chemistry and sintering behaviour of thin hydroxyapatite ceramics with controlled porosity. *Biomaterials*. v.16, n.5, 1995.

- GIBSON, I. R., KE, S. BEST, S. M., BONFIELD, W. Effect of powder characteristics on the sinterability of hydroxyapatite powders. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. v.12, p. 163-171, 2001.

- REED, JAMES S. Principles of Ceramic Processing. Ed. John Wiley & Sons, Inc., NY. 2ed, p. 425-433, 1995.

- ROSA, A. L., BELOTI, M. M., NOORT, R. V., HATTON, P. V., DEVLIN, A. J. Surface topography of hydroxyapatite affects ROS17/2.8 cells response. *Pesquisa Odontológica Brasileira*. v.16, n.3, p. 209-215, 2002.

- ROSA, A. L.; SHAREEF, M. Y.; van NOORT, R. Efeito das condições de preparação e sinterização sobre a porosidade da hidroxiapatita. *Pesquisa Odontológica Brasileira*. v. 14, n. 3, p. 273-277, 2000.

- THEISZOVÁ, M., JANTOVÁ, S. DRAGÚŇOVÁ, J., GRZNÁROVÁ, P., PALOU, M. Comparison the cytotoxicity of hydroxyapatite measured by direct cell coating and MTT test in murine fibroblast NIH-3T3 cells. v.149, n.2, p. 393-396, 2005.