

Prospecção de técnicas para a fabricação de *scaffolds* biocerâmicos macroporosos para fins biomédicos

Techniques survey for the manufacture of macroporous bioceramic *scaffolds* for biomedical purposes

RESUMO

A utilização de biomateriais na medicina tem intensificado conforme novos tratamentos vão surgindo. Dentre os biomateriais, as biocerâmicas têm atraído atenção devido às suas aplicações na área de regeneração, geração e formação de tecidos ósseos. Fosfatos de cálcio, mais especificamente a hidroxiapatita, constituem uma grande parte da composição dos ossos e dentes humanos. O biomaterial é utilizado principalmente para a produção de *scaffolds* porosos para atuar como enxerto ósseo. Este trabalho revisa técnicas de fabricação desses *scaffolds*, e estuda os parâmetros da técnica chamada espumação direta para tentar adaptar o processo para a produção de *scaffolds* de hidroxiapatita. Suspensões cerâmicas foram produzidas com auxílio de um agitador mecânico e um sonicador a fim de comparações nas dispersões produzidas. Resultados mostram a necessidade de aperfeiçoar das técnicas de *freeze casting* e impressão 3D para produzir *scaffolds* para aplicações biomédicas e se observou que o método de espumação direta gerou *scaffolds* adequados e que é possível adaptar o método para produzir peças de hidroxiapatita.

PALAVRAS-CHAVE: Materiais Biomédicos. Hidroxiapatita. Ossos.

ABSTRACT

The use of biomaterials in medicine has intensified as new treatments are emerging. Among biomaterials, bioceramics have attracted attention due to their applications in regeneration, generation and formation of bone tissues. Calcium phosphates, more specifically hydroxyapatite, make up a large part of the composition of human bones and teeth. The biomaterial is used mainly for the production of porous scaffolds to act as a bone graft. This work reviews techniques currently used for manufacturing scaffolds, and studies parameters of a technique called direct foaming to try to adapt the process for the production of hydroxyapatite scaffolds. Suspensions were produced with the aid of mechanical stirrer and sonicator to compare the dispersions produced. Results show the need to perfect freeze casting and 3D printing techniques to produce scaffolds for biomedical applications and it was observed that the direct foaming method generated suitable scaffolds and that it is possible to adapt the method to produce hydroxyapatite parts.

KEYWORDS: Biomedical Materials. Hydroxyapatite. Bones.

Tiê Menezes Oliveira

tiemenezes@id.utfpr.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Gustavo Xavier Peres

gustavoperes@alunos.utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Lucas Freitas Berti

lenberti@gmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Recebido:

Aprovado:

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

Scaffolds porosos biocerâmicos hoje encontram espaço em duas principais linhas de pesquisa. Podem ser utilizados como transportadores de moléculas, onde o material, juntamente com fármacos, células, fatores de crescimento, etc. são inseridos no local necessário de modo que a porosidade da estrutura atua como principal controle de liberação dessas substâncias, fazendo com que sejam alimentadas aos poucos ao sistema biológico e o uso desses *scaffolds* como enxerto ósseo sintético também é bastante estudado Gaikwad (2008).

Um processo de liofilização sequencial foi utilizado para produzir *scaffolds* porosos de hidroxiapatita com porosidade gradual por Lee et al. (2017). E foi determinado que poros de tamanhos variados em *scaffolds* são importantes por mimetizar aquela do osso humano. O gradiente funciona de modo que regiões com alta porosidade facilitam o transporte de fluidos corporais e adesão celular, causando uma melhora a regeneração óssea, enquanto a parte mais densa do *scaffold* garante uma melhor resistência a cargas mecânicas de acordo com Fu et al. (2013).

Entre as diversas alternativas para a construção dos *scaffolds* cerâmicos para fins biomédicos, temos manufatura aditiva. Este método permite o design e a fabricação de *scaffolds* com micro-arquiteturas complexas e precisas, além de um melhor controle de tamanho de poro, geometria e interconectividade ZHANG et al. (2010).

A espumação direta de cerâmicas é uma técnica utilizada para a criação de *scaffolds* porosos a partir de diversos tipos de materiais Bhaskar et al. (2016), Colonetti et al. (2018) e Gregorová et al. (2016). Este método comumente utiliza bolhas de ar incorporadas a suspensões como agente formador de poros, embora alcanos possam ser utilizados para este propósito Barg et al. (2008 e 2009). A espuma é então estabilizada com agentes químicos, secada e sinterizada.

Este trabalho tem como objetivos:

- estudar métodos de *freeze casting*, impressão 3D de extrusão de pasta cerâmica e espumação direta para a fabricação de *scaffolds* macroporosos cerâmicos utilizando a alumina como matéria prima e;
- avaliar a possibilidade da manufatura do *scaffold* de hidroxiapatita através de técnicas de espumação direta utilizando alcanos leves, adaptando os processos realizados por Barg et al. (2008).

MATERIAIS E MÉTODOS

PRODUÇÃO DA HIDROXIAPATITA

Para a produção da hidroxiapatita foram utilizados os reagentes nitrato de cálcio tetra-hidratado $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, hidróxido de amônio $[\text{NH}_4\text{OH}]$ PA e fosfato de amônio dibásico $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$. O processo utilizado foi o de precipitação aquosa seguindo os passos indicados pelo livro “Biomaterials” de

Wong (2007). Após ter sido produzida a hidroxiapatita então foi triturada e cristalizada à 1140°C por 1h em um forno elétrico. O material cristalizado foi então peneirado em uma peneira granulométrica INOX ASTM 200 #mesh.

FREEZE CASTING

Para testar o procedimento de *freeze casting*, uma suspensão aquosa foi preparada com 45 vol.% de alumina com a adição de 1% em massa de polietilenoglicol (PEG) em relação à massa de alumina.

A suspensão foi vertida em copos plásticos, que serviram como moldes. A suspensão foi então congelada à -18°C até completa solidificação do sistema. O sólido foi levado ao liofilizador por 48 horas para secagem. Após isso as amostras foram levadas para sinterização em um forno à 1540°C com rampa de aquecimento de 5 °C/min e resfriamento de 5 °C/min.

MANUFATURA ADITIVA POR EXTRUSÃO DE PASTA CERÂMICA

Para a impressão 3D do *scaffold* foi utilizada uma pasta que consiste de uma suspensão emulsificada com uma fase alceno em concentrações de 70 vol.%, produzida segundo Barg et al. (2009), com a adição de polietilenoglicol (PEG) para tornar a pasta adequada para a impressão em camadas.

Foram produzidas duas pastas diferentes: pasta A com 1% em massa de PEG relação à massa da alumina e pasta B com 3% em massa de PEG relação à massa da alumina. Os *scaffolds* foram projetados em forma de prisma com base de dimensões 50 x 50 mm e foram impressos em uma impressora 3D sem marca/modelo que foi confeccionada/montada na universidade.

ESPUMAÇÃO DIRETA

Para a espumação direta na fabricação de *scaffolds* de alumina foi preparada uma emulsão seguindo os passos realizados por Barg et al. (2008) com 42 vol.% de alumina e hexano P.A. (5,5 vol.%).

A emulsão produzida foi despejada em placas de petri e levadas às câmaras climáticas a 23°C e 45 % de umidade relativa e ficaram em repouso durante 3 horas para ocorrer a espumação. Ao fim do processo de espumação as amostras foram submetidas à sinterização em um forno elétrico à 1540°C com rampa de aquecimento de 5°C/min e resfriamento de 5°C/min.

Para a espumação direta na fabricação de *scaffolds* de hidroxiapatita foi preparada uma emulsão com 42 vol.% de hidroxiapatita, como dispersante foi utilizado Dolapix CE 64(0,75% em relação à massa de alumina), uma solução de lauril sulfato de sódio como surfactante aniônico e hexano P.A. (5,5 vol.%).

Inicialmente foi preparada uma suspensão adicionando lentamente hidroxiapatita em um recipiente contendo água deionizada e dispersante com o auxílio de um processador ultrassônico Vibra Cell™ VCX 750 (Sonics, EUA).

A emulsão foi produzida logo em seguida adicionando três gotas de surfactante e o hexano e submetendo à uma rotação de 2500 rpm sob baixa pressão durante 2,5 minutos com o auxílio de um dispersor Dispermat AE03 (VMA Getzmann GmbH).

O processo de espumação para *scaffolds* de hidroxiapatita foi idêntico aos *scaffolds* de alumina. Após a espumação as amostras passaram pelo tratamento de sinterização em um forno elétrico à 1140°C com rampa de aquecimento de 5°C/min e resfriamento de 5°C/min.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

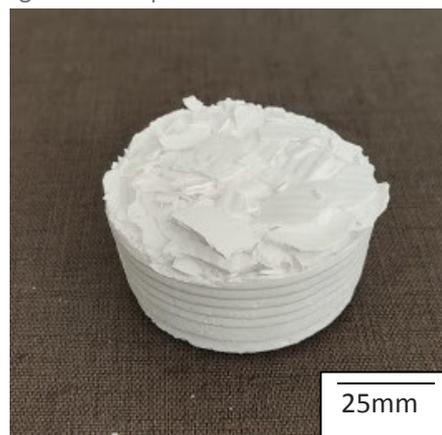
AVALIAÇÃO DAS TÉCNICAS PARA PRODUÇÃO DOS SCAFFOLDS DE ALUMINA

Nesta seção, serão avaliados os procedimentos de fabricação dos *scaffolds* macroporosos de alumina.

Freeze Casting

O processo de *freeze casting* produziu amostras com estruturas densas, que não são apropriadas para os fins de produção de *scaffolds* (Figura 1). Para solucionar o problema de baixa porosidade encontrado é necessário um estudo mais aprofundado em agentes formadores de poro adequados à aplicação em processos de *freeze casting* com o objetivo de produzir estruturas com dimensões e geometrias de poro desejáveis para aplicações biomédicas.

Figura 1 – Suspensão de alumina liofilizada



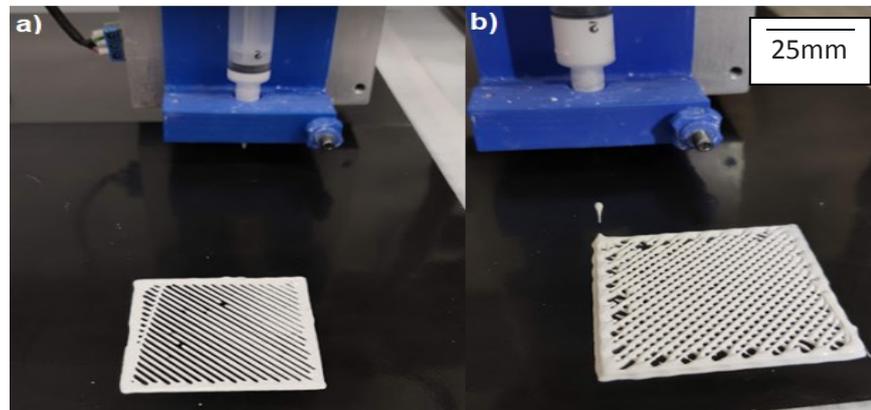
Fonte: Autoria própria (2019).

Manufatura Aditiva por Extrusão de Pasta Cerâmica

Na tentativa de extrusão, a primeira pasta, denominada pasta A, resultou em um material possível de extrudar, mas sua viscosidade não apresentou propriedades visco-elásticas compatíveis com a aplicação, uma vez que após a

extrusão (impressão) o filamento apresentou deformação e escoou, não mantendo a forma.

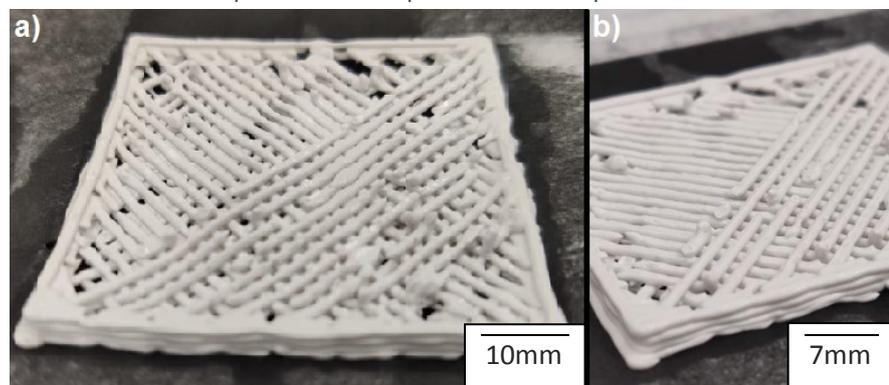
Figura 2 – Primeira tentativa de extrusão da pasta A com a) uma camada e b) duas camadas



Fonte: Autoria própria (2019)

A pasta B, apresentou melhor comportamento visco-elástico, mas ainda aquém do necessário para manter a forma.

Figura 3 – Pasta B após a extrusão a) tentativa de extrusão da pasta B b) detalhe do produto obtido pela extrusão da pasta B



Fonte: Autoria própria (2019)

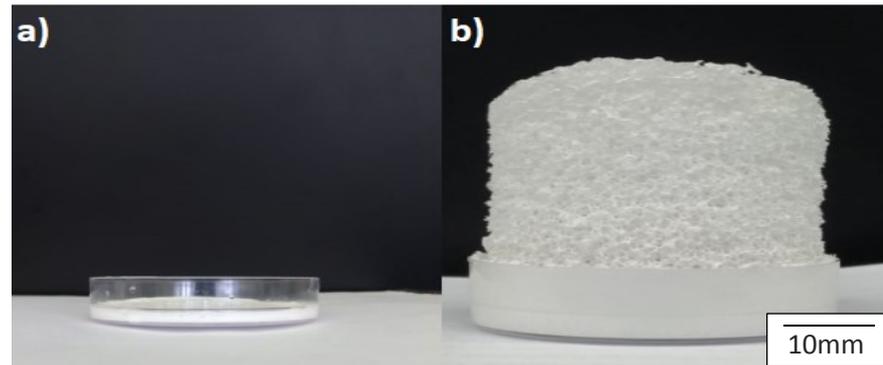
Diante da situação foi necessária a busca por um aditivo para melhorar a estabilidade da pasta cerâmica. Esse aditivo foi encontrado na literatura, que é a sílica pirolítica, ou em inglês “*fumed silica*” Franchin et al. (2017). Ela pode ser encontrada com o nome comercial Aerosil – 200 e Aerosil – 380. Em estudos futuros, suspensões com esses aditivos serão avaliados para impressão.

Espumação Direta Para Produção de Scaffolds de Alumina

A produção de *scaffolds* de alumina pela técnica de espumação direta produziu uma estrutura com porosidade e tamanhos de poros desejados. No processo de espumação, a emulsão expandiu seu tamanho inicial em cerca de 11 vezes, devido ao arraste por evaporação do alcão, deixando poros (espaços

vazios). A figura 4a mostra a emulsão composta pela suspensão de alumina, surfactante e hexano, momentos antes de se iniciar o processo de espumação na câmara térmica enquanto a figura 4b exibe a estrutura porosa já seca, após 3 horas em estufa com temperatura e umidade relativa controladas e 48 horas de secagem ao ar livre.

Figura 4 – Emulsão de alumina a) imediatamente após o processo de agitação mecânica e b) em forma de sólido poroso, resultado do processo de espumação

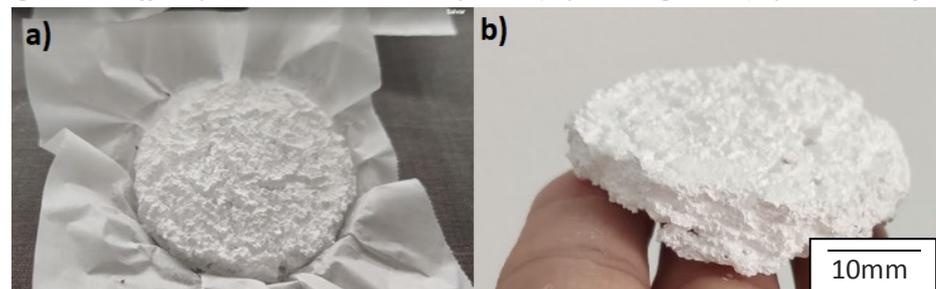


Fonte: Autoria própria (2019)

Espumação Direta Para Produção de Scaffolds de Hidroxiapatita

O método de espumação direta foi empregado para a produção do *scaffold* de hidroxiapatita. Observou-se a expansão da emulsão produzindo uma estrutura porosa e capaz de sustentar seu próprio peso, porém, devido às propriedades inerentes a essa cerâmica, não houve um processo de expansão tão expressivo quanto da alumina. Mais ajustes ainda se fazem necessários para aperfeiçoar a técnica e adaptá-la para obter maiores expansões (Figura 5 a e b).

Figura 5 - *Scaffold* produzido com hidroxiapatita a) após secagem e b) após sinterização



Fonte: Autoria Própria (2019)

CONCLUSÃO

Este trabalho teve como objetivo revisar o estado da arte dos métodos de fabricação dos *scaffolds* e fazer uma prospecção de técnicas para abrir caminhos a novas pesquisas e possibilidades. Dois métodos comuns de fabricação foram revisados, a manufatura aditiva por extrusão de pasta cerâmica e a espumação

direta utilizando alcanos leves como agentes de formação de poros – este último pouco explorado na área biomédica.

Scaffolds de alumina foram devidamente fabricados pelo método de espumação direta, enquanto o processo de *freeze casting* da suspensão cerâmica formou uma estrutura densa, e a emulsão utilizada para impressão não obteve uma estabilidade compatível com o processo.

Um estudo mais aprofundado foi realizado a fim de adaptar o processo de espumação para a formação de *scaffolds* de hidroxiapatita. Foi possível adaptar o processo, pois as peças produzidas com hidroxiapatita apresentaram uma estrutura porosa e capaz de sustentar seu próprio peso apesar do crescimento não ter sido tão expressivo quanto os *scaffolds* de alumina. Trabalhos futuros deverão visar um aperfeiçoamento da técnica de produção e a testagem para avaliar resposta biológica a esses *scaffolds*.

AGRADECIMENTOS

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

BARG, S.; DE MORAES, E. G.; KOCH, D.; GRATHWOHL, G. New cellular ceramics from high alkane phase emulsified suspensions (HAPES). **Journal of the European Ceramic Society**, v. 29, n. 12, p. 2439–2446, 2009. Elsevier.

BARG, S.; SOLTMANN, C.; ANDRADE, M.; KOCH, D.; GRATHWOHL, G. Cellular Ceramics by Direct Foaming of Emulsified Ceramic Powder Suspensions. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 91, n. 9, p. 2823–2829, 2008. John Wiley & Sons, Ltd. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1551-2916.2008.02553.x>. Acesso em: 25/5/2020.

BHASKAR, S.; PARK, J. G.; LEE, K. S.; KIM, S. Y.; KIM, I. J. Thermal and mechanical behavior of ZrTiO₄-TiO₂ porous ceramics by direct foaming. **Ceramics International**, v. 42, n. 13, p. 14395–14402, 2016. Elsevier Ltd.

COLONETTI, V. C.; SANCHES, M. F.; DE SOUZA, V. C.; et al. Cellular ceramics obtained by a combination of direct foaming of soybean oil emulsified alumina suspensions with gel consolidation using gelatin. **Ceramics International**, v. 44, n. 2, p. 2436–2445, 2018. Elsevier Ltd.

FRANCHIN, G.; WAHL, L.; COLOMBO, P. Direct ink writing of ceramic matrix composite structures. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 100, n. 10, p. 4397–4401, 2017. Blackwell Publishing Inc. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/jace.15045>. Acesso em: 23/8/2020.

FU, H.; RAHAMAN, M. N.; BROWN, R. F.; DAY, D. E. Evaluation of BSA protein release from hollow hydroxyapatite microspheres into PEG hydrogel. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 4, p. 2245–2250, 2013.

GAIKWAD, V. Scaffolds for Drug Delivery in Tissue Engineering. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/268289594_Scaffolds_for_Drug_Delivery_in_Tissue_Engineering. Acesso em: 25/5/2020.

GREGOROVÁ, E.; PABST, W.; UHLÍŘOVÁ, T.; et al. Processing, microstructure and elastic properties of mullite-based ceramic foams prepared by direct foaming with wheat flour. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 36, n. 1, p. 109–120, 2016. Elsevier Ltd.

LEE, H.; JANG, T. S.; SONG, J.; KIM, H. E.; JUNG, H. DO. The production of porous hydroxyapatite scaffolds with graded porosity by sequential freeze-casting. **Materials**, v. 10, n. 4, 2017. MDPI AG. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28772735/>. Acesso em: 3/10/2020.

WONG, J. Biomaterials - 1st Edition - Joyce Y. Wong - Joseph D. Bronzino - Ro. Disponível em: <https://www.routledge.com/Biomaterials-1st-Edition/Wong-Bronzino/p/book/9780367453046>. Acesso em: 3/10/2020.

ZHANG, J.; LIU, C.; LI, Y.; et al. Effect of cerium ion on the proliferation, differentiation and mineralization function of primary mouse osteoblasts in vitro. **Journal of Rare Earths**, v. 28, n. 1, p. 138–142, 2010. Chinese Society of Rare Earths.