



EFEITO DA POROSIDADE E ÁREA SUPERFICIAL NA BIOATIVIDADE DOS VIDROS DO TIPO 58S OBTIDOS POR SOL-GEL

Silveira, F. S; Oliveira, J. F. R; Santos, E. A.

*Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (P²CEM),
Universidade Federal de Sergipe (UFS), CEP 49107-230. São Cristóvão, SE, Brasil.*

**e-mail: felixraman@academico.ufs.br*

RESUMO

Este estudo analisou a influência de porosidade e área de superfície na bioatividade de um vidro 58S. Dois tipos de vidros com porosidade e área de superfície diferentes foram produzidos via rota sol-gel em meio ácido, variando-se o momento em que os precursores foram adicionados: 58S-A ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ adicionado após a hidrólise do TEOS e TEP) e 58S-B ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ adicionado simultaneamente ao TEOS e TEP). O vidro 58S-A, embora possua menor área superficial e poros de raios maiores, apresentou uma precipitação de hidroxiapatita mais acelerada até 24h. Comportamento oposto ao vidro 58S-B, que apresentou poros menores e maior área superficial. Apesar dessa diferença inicial na precipitação da hidroxiapatita, ao fim dos 7 dias de imersão, ambos os vidros foram recobertos com uma camada de razão Ca/P semelhante. Isso indica que, em longo tempo, independentemente de porosidade e área de superfície inicial, ambos foram recobertos com uma fase hidroxiapatita de características semelhantes

Palavras-chave: hidroxiapatita, porosidade, área de superfície, vidro bioativo, bioatividade.

1. INTRODUÇÃO

O primeiro biomaterial sintético capaz de produzir uma ligação química com o tecido ósseo foi desenvolvido em 1971 por Hench e colaboradores (1). O biomaterial era um vidro obtido por fusão com composição 45%SiO₂–6%P₂O₅–24,5%CaO–24,5%Na₂O (% mássica), denominado 45S5. Esse vidro, quando implantado no corpo, sofria uma transformação química de superfície gerando hidroxiapatita, mineral produzido pelos osteoblastos humanos durante a mineralização do tecido ósseo e, portanto, reconhecido pelo organismo. Essa propriedade de transformação de superfície foi denominada de bioatividade. Os estudos que se seguiram a partir do 45S5 originaram diversos produtos comerciais, vidros bioativos com novas composições e produção de diversos materiais compósitos utilizando vidros bioativos como carga cerâmica (2).

A bioatividade do vidro 45S5 é oriunda de uma sequência de reações químicas que se iniciam no momento que o material entra em contato com plasma sanguíneo (3). Na primeira etapa, ocorre a lixiviação dos íons Ca²⁺ e Na⁺ do vidro. em sequência ocorre reação entre os H⁺ do fluido com os oxigênios dos grupos siloxanos (Si-O-Si) da superfície rompendo a rede vítrea e criando uma camada rica em hidroxilas, além de permitir a liberação de íons PO₄³⁻ e SiO₄⁴⁻. Esse excesso de hidroxilas na superfície forma um gel carregado negativamente que atrai íons Ca²⁺ do meio (além daqueles oriundos da própria matriz vítrea) tornando a superfície carregada positivamente. Essa camada positiva acaba atraindo íons PO₄³⁻, os quais reagem com o Ca²⁺, precipitando uma camada amorfa de fosfato de cálcio. Essa camada se cristaliza em uma hidroxiapatita carbonatada e deficiente em cálcio e, conseqüentemente, semelhante à fase inorgânica mineral do tecido ósseo. Devido a essa semelhança, as células do paciente reconhecem a hidroxiapatita oriunda do vidro 45S5 desencadeando o mecanismo de regeneração do tecido pela adesão direta de osteoblastos e proteínas da matriz extracelular a essa hidroxiapatita, por meio de fortes ligações químicas (1-3).

Estudos subsequentes demonstraram que o método sol-gel era capaz de produzir vidros bioativos de composição ternária, eliminando precursores usados como fundentes no processo de fusão, tal como o Na₂O, e que não participam da formação da hidroxiapatita (4). A partir desse novo método de síntese, as composições ternárias ganharam força, uma vez que permitiam a produção de vidros mais porosos, em baixa temperatura e com uma composição simplificada em relação

aos vidros obtidos por fusão. O vidro 58S constituído por 60%SiO₂–4%P₂O₅–36%CaO (% molar) passou a ser um dos vidros produzidos por sol-gel mais estudados.

O método sol-gel é baseado nas reações de hidrólise e policondensação dos precursores alcóxidos, sendo os mais utilizados tetraetilortossilicato (TEOS) e o trietilfosfato (TEP). O precursor de cálcio mais utilizado é o nitrato de cálcio (Ca(NO₃)₂). A síntese pode utilizar ácidos ou bases como catalizadores. Em ambiente ácido, se estimula a nucleação, com a formação de nanopartículas de silicato de até 3 nm. Essas nanopartículas coalescem formando desde materiais mesoporosos até monolitos, a depender das condições empregadas. Em ambiente básico, o crescimento é favorecido em detrimento à nucleação, criando nanopartículas densas estáveis e de tamanhos variados que podem ir de 3 a 300 nm (4).

Além do catalizador, outros parâmetros da síntese influenciam na morfologia como os precursores, sua ordem de adição, os tempos entre as etapas da síntese, presença de outros elementos etc (5-7). Uma vez que a hidroxiapatita oriunda da bioatividade desses vidros se origina a partir de diversas reações superficiais, as propriedades morfológicas da superfície desses vidros, em destaque a área superficial e porosidade, podem desempenhar um papel crucial para a cinética de formação da camada de hidroxiapatita (6, 7). Portanto, tais parâmetros morfológicos de superfície são de elevada importância quando se busca controlar a formação dessa hidroxiapatita, ou a bioatividade do vidro. Assim, este trabalho buscou identificar a influência da porosidade, área superficial na bioatividade de vidros bioativos 58S produzidos por sol-gel catalisado por ácido, sob duas rotas distintas em que a ordem de adição dos reagentes foi alterada expressamente para modificar esses parâmetros morfológicos originais.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. MATERIAIS E REAGENTES

Tetraetilortossilicato (TEOS, Si(OC₂H₅)₄, *Sigma*, >98%), ácido nítrico (HNO₃, Dinâmica, 65%), TEP (trietilfosfato, OP(OC₂H₅)₃, *Sigma*, >99,8%), nitrato de cálcio tetra hidratado (Ca(NO₃)₂.4H₂O, *Sigma*, >99%).

2.2. MÉTODO

2.2.1. PRODUÇÃO DOS VIDROS 58S

Duas sínteses do vidro bioativo 58S de composição 60%SiO₂ – 4%P₂O₅ – 36%CaO (% molar) foram conduzidas em que a ordem de adição dos precursores foi

alterada para, intencionalmente, se modificar os padrões morfológicos de superfície dos vidros obtidos. O objetivo era identificar a influência desses diferentes padrões morfológicos na bioatividade dos vidros. A metodologia de síntese foi baseada em um trabalho publicado por Santos et al (8).

SÍNTESE 58S-A: TEOS → TEP → Ca(NO₃)₂:

Nessa síntese, os alcóxidos foram hidrolisados em sequência com a posterior adição do precursor de cálcio. Inicialmente, foram adicionados 48,7 mL de uma solução 0,1 ml/L de ácido nítrico (HNO₃, Dinâmica, 65%) em 22,7 mL de tetraetilortossilicato (TEOS, Si(OC₂H₅)₄, *Sigma*, >98%) sobre agitação magnética de 300 rpm, em temperatura ambiente e por um período de 60 minutos para uma completa hidrólise e policondensação desse precursor. Em seguida foram adicionados 4,5 mL de trietilfosfato (TEP, OP(OC₂H₅)₃, *Sigma*, >99,8%) mantendo as condições de agitação por 45 minutos para hidrólise da fonte de fosfato, finalizando a síntese foi adicionado 13,31 g nitrato de cálcio tetrahidratado (Ca(NO₃)₂.4H₂O, *Sigma*, >99%) sobre agitação por 60 minutos. Após os 165 minutos de síntese, o gel resultante foi guardado em temperatura ambiente por 9 dias e, subsequentemente, foi submetido à secagem em estufa nas temperaturas de 60°C e 120°C por 72 e 48 horas, respectivamente. O xerogel obtido foi triturado e peneirado para obtenção de partículas menores que 177 nm (80 mesh) que foram levadas ao forno mufla para calcinação na temperatura de 700°C por 60 minutos de patamar.

SÍNTESE 58S-B: TEOS + TEP + Ca(NO₃)₂:

Nessa síntese, os alcóxidos foram hidrolisados simultaneamente e na presença do precursor de cálcio. A metodologia de síntese é semelhante a rota descrita anteriormente, exceto pelo fato de que os precursores foram adicionados simultaneamente nas mesmas quantidades citadas anteriormente. As condições agitação foram mantidas e o tempo de síntese foi de 165 minutos. Após a produção do gel, este passou pela secagem, moagem e calcinação tal qual a descrição anterior.

2.2.2. ANÁLISE DE ÁREA SUPERFICIAL E VOLUME DE POROS

As amostras calcinadas a 700°C de ambas as sínteses (A e B) foram analisadas via sorção de N₂ através de um equipamento Quantachrome (Nova-1200e). Cerca de 500g dos vidros bioativos foram submetidos a degasagem em vácuo por 90 minutos em uma temperatura de 150°C. Após a degasagem, as curvas de adsorção e dessorção de nitrogênio foram obtidas em uma temperatura de 77K em

uma faixa P/P_0 de 0,05 a 0,99 (30 pontos). A área de superfície foi determinada pelo método Brunauer-Emmett-Teller (BET), o volume de poro por Barrett-Joyner-Halenda (BJH) e tanto a distribuição de tamanho de poro quanto a área superficial por raio de poro pela Teoria do Funcional da Densidade (DFT).

2.2.3. BIOATIVIDADE

Os testes de bioatividade foram realizados através da metodologia de Kokubo (9), ISSO 23317:2014. Foram imersas amostras de 50 mg dos vidros em 50 mL de solução de fluido corporal simulado (SBF) sobre temperatura de 37°C pelos tempos de 0 (controle), 1, 4 e 7 dias. Após imersão em SBF, as amostras foram centrifugadas, lavadas duas vezes com água destilada e duas vezes com álcool isopropílico, em sequência. Finalmente, foram secas em estufa por 24 horas a 60°C.

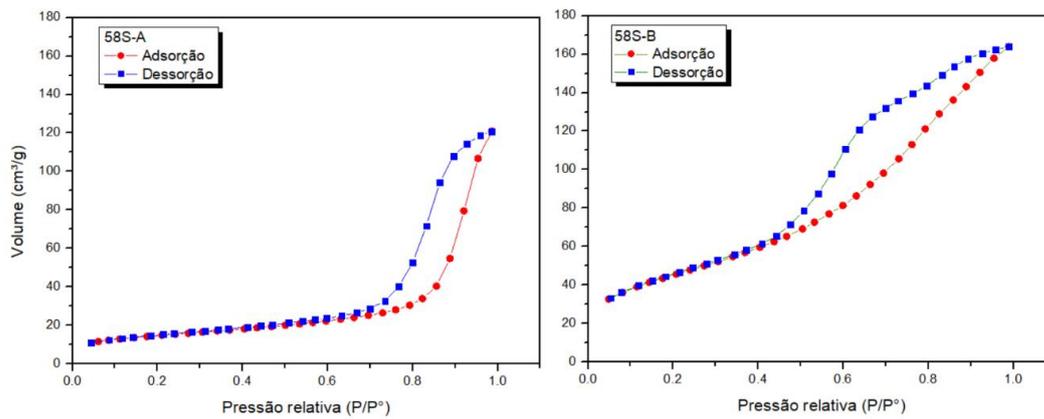
A técnica de difratometria de raios X (DRX) foi usada para observar a formação da hidroxiapatita na superfície das amostras, num difratômetro Shimadzu XRD6000 na faixa de 2θ de 10° a 60° com tamanho de passo de 0,02° e o tempo de aquisição de 2 segundos por ponto. As análises morfológicas e de composição que ocorreram na superfície foram monitoradas tanto por MEV (operando a 5 KV, distância de trabalho de 10 mm e aumento de 5000X) quanto por EDS (operando a 15KV, distância de trabalho de 10 mm e aumento de 100X) em triplicata. Ambas as caracterizações foram realizadas em um microscópio eletrônico JEOL 5700. Previamente às análises, as amostras foram revestidas com carbono para melhorar sua condutividade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. ÁREA SUPERFICIAL E POROSIDADE DAS AMOSTRAS

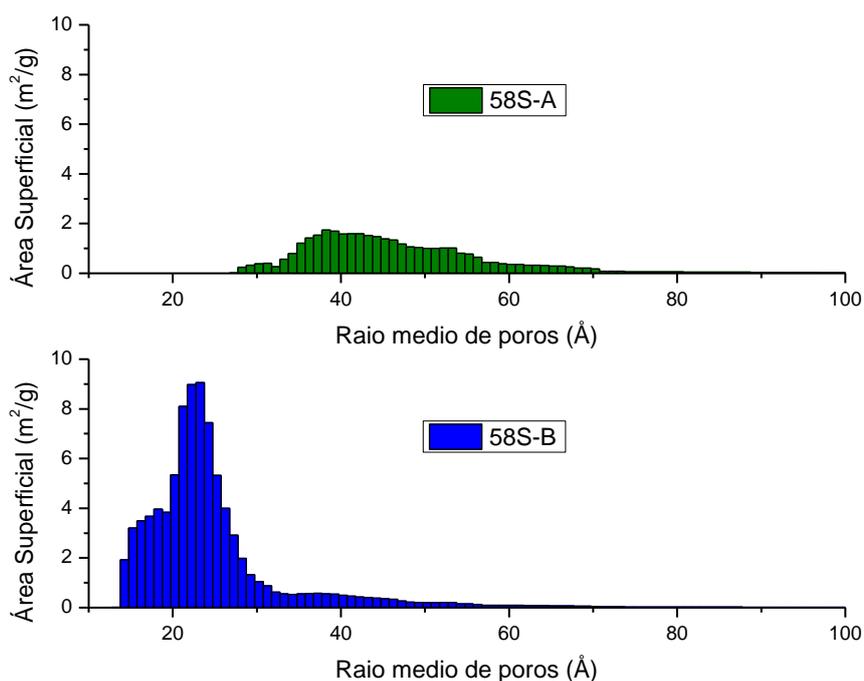
As curvas de adsorção e dessorção de N_2 de ambos os vidros apresentaram isotermas do tipo IV, o que os classifica como mesoporosos (Figura 1). O vidro 58S-A apresentou histerese do tipo H1 enquanto o vidro 58S-B apresentou histerese do tipo H2, segundo classificação da IUPAC (10). Isso indica que o vidro 58S-A é constituído de mesoporos mais ordenados, formados por canais cilíndricos ou empilhamento ordenado de nanopartículas. Ao passo em que a curva de histerese do vidro 58S-B indica a presença de poros e canais mesoporosos mais desordenados.

Figura 1: Isotermas de adsorção e dessorção de N₂ dos vidros 58S-A e 58S-B.



As áreas superficiais calculadas para as amostras 58S-A e 58S-B através do método BET foram, respectivamente, 26,028 e 46,119 m²/g. Um comportamento semelhante se manteve nas análises de volume de poros feitas pelo método BJH, visto que os resultados obtidos foram de 0,178 e 0,224 cm³/g, respectivamente. Através desses dados, percebe-se que o vidro 58S-B possui uma área superficial 77,19% maior do que o vidro 58S-A, assim como um volume de poros 25,84% maior. Analisando o histograma de área de superfície por faixa de raio de poros apresentado na Figura 2 foi possível observar que a amostra 58S-B teve sua área de superfície definida por uma grande quantidade de poros em torno de 2,0 nm.

Figura 2: Histograma da área superficial por faixa de raio de poros obtido pelo método DFT para os vidros 58S-A e 58S-B.



Por sua vez, a amostra 58S-A apresentou grande quantidade de poros em torno de 4,0 nm. Através desses dados apresentados é possível estimar que o vidro 58S-B possui uma rede vítrea mesoporosa formada por poros menores e mais desordenados que 58S-A.

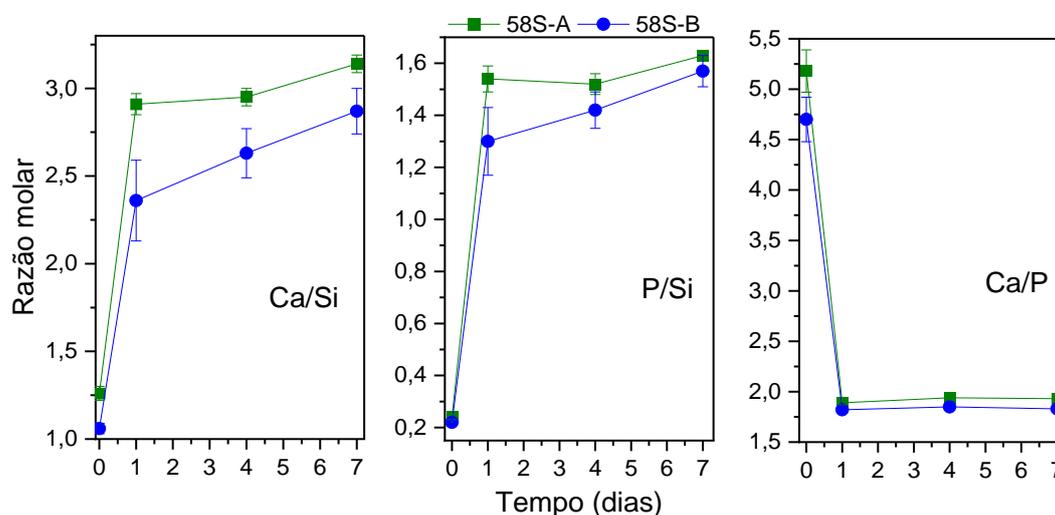
3.2. EFEITO DA ÁREA SUPERFICIAL E POROSIDADE NA BIOATIVIDADE

Os valores obtidos das análises de EDS para as amostras após imersão em SBF (Tabela 1) foram utilizados para o cálculo das razões Ca/Si, P/Si e Ca/P, apresentadas em função do tempo (Figura 3), buscando compreender melhor a cinética de transformação da superfície dos vidros durante a imersão em SBF.

Tabela 1: Razões molares Ca/Si, P/Si e Ca/P calculadas por EDS dos vidros 58S-A e 58S-B imersos em SBF por 0 (controle), 1, 4 e 7 dias.

Amostra	Razão	Tempo de imersão em SBF (dias)			
		0	1	4	7
58S-A	Ca/Si	1,26 ± 0,04	2,91 ± 0,06	2,95 ± 0,05	3,14 ± 0,05
	P/Si	0,24 ± 0,01	1,54 ± 0,05	1,52 ± 0,04	1,63 ± 0,02
	Ca/P	5,18 ± 0,21	1,89 ± 0,02	1,94 ± 0,02	1,93 ± 0,01
58S-B	Ca/Si	1,06 ± 0,03	2,36 ± 0,23	2,63 ± 0,14	2,87 ± 0,13
	P/Si	0,22 ± 0,01	1,30 ± 0,13	1,43 ± 0,07	1,57 ± 0,06
	Ca/P	4,70 ± 0,22	1,82 ± 0,01	1,85 ± 0,01	1,83 ± 0,01

Figura 3: Evolução das razões Ca/Si, P/Si e Ca/P na superfície dos vidros 58S-A e 58S-B imersos em SBF.

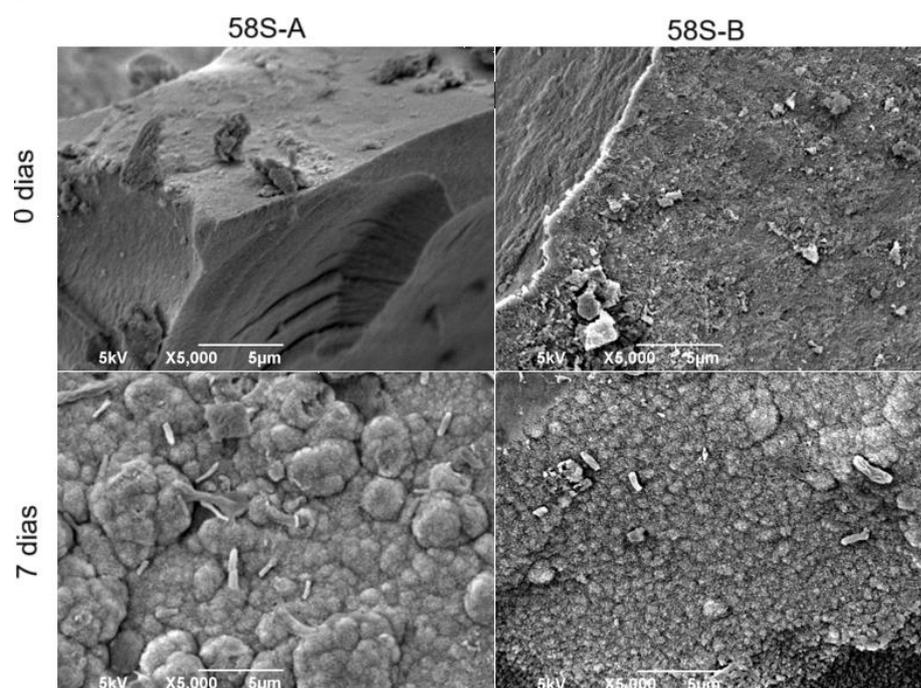


A partir das razões Ca/Si e P/Si foi possível identificar que, inicialmente, a taxa de modificação da superfície foi maior no vidro 58S-A. Surpreendentemente, a área de superfície assim como o volume de mesoporos calculado para esse vidro foram menores que os observados no vidro 58S-B. Assim, se esperaria um vidro menos reativo e com menor capacidade de formar hidroxiapatita, o que não ocorreu. Uma das hipóteses para explicar esse comportamento seria uma difusão mais favorecida no vidro 58S-A. Uma vez que o raio médio de poros foi maior nesse vidro do que no vidro 58S-B, e tratando-se de raios na escala nanométrica, pode-se inferir que os poros menores que 2 nm observados no vidro 58S-B acabaram por dificultar a difusão dos íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} , desacelerando a transformação (11).

Apesar das diferentes taxas de modificações nas razões Ca/Si e P/Si ambas as amostras mantem um comportamento similar para a razão Ca/P. Inicialmente, ocorreu uma queda brusca nos valores quando comparamos os vidros antes e após 1 dia de imersão. Em seguida, um patamar foi alcançado com pequenas flutuações até o dia 7. Os valores se mantiveram entre 1,80 e 2,0 estando acima da razão conhecida para a hidroxiapatita que é de 1,67. Esse valor elevado pode ser apenas um reflexo do alto teor de Ca^{2+} nos vidros originais.

As modificações na superfície dos vidros também foram acompanhadas por MEV (Figura 4). Estruturas precipitadas semelhantes a couves-flores foram precipitadas após a imersão em SBF por 7 dias.

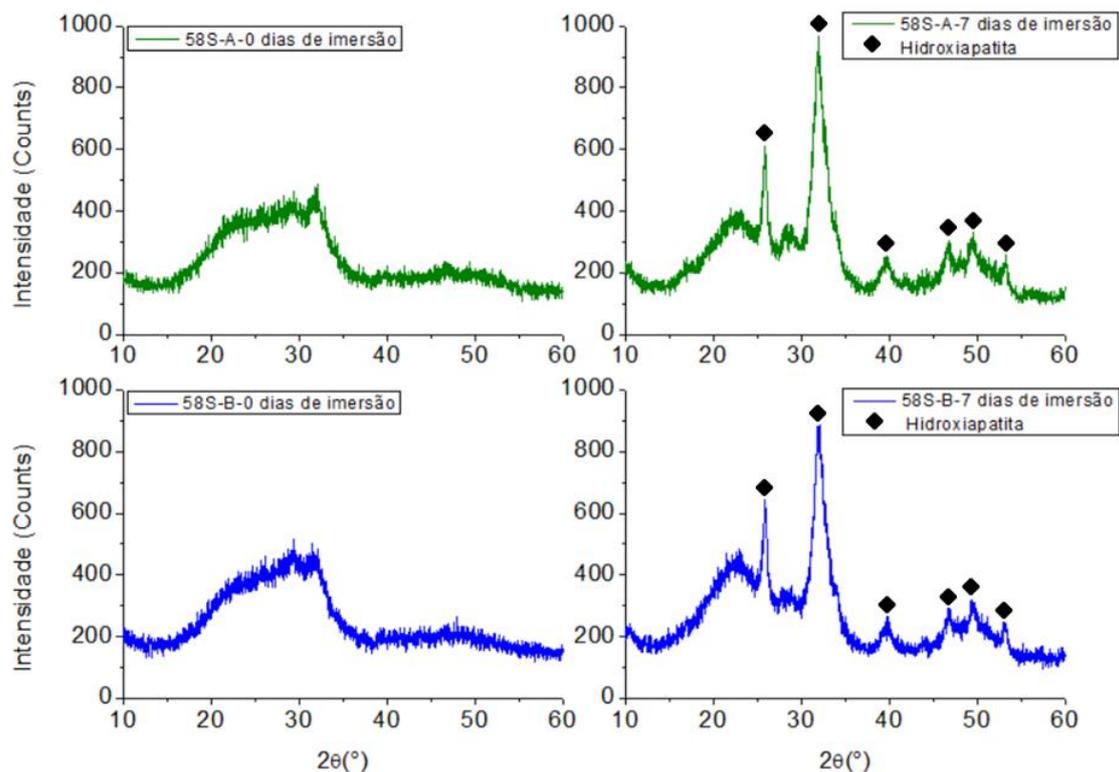
Figura 4: Imagens obtidas por MEV das amostras imersas em SBF por 0 e 7 dias.



Essas formações indicam a formação típica de cristais de hidroxiapatita sobre a superfície das amostras em ensaios de bioatividade. A amostra 58S-B apresentou a formação de estruturas menores em relação a 58S-A corroborando com os resultados de EDS que mostraram que a taxa de precipitação foi maior no 58S-A.

Para identificar a fase precipitada, foram realizadas análises de DRX para as amostras imersas em SBF por 0 e 7 dias, como pode ser observado na Figura 5. Em ambas as amostras surgiram picos de difração característicos da fase hidroxiapatita, indicando a precipitação dessa fase e confirmando que as estruturas do tipo couve-flor observadas por MEV, assim como, o aumento do teor de Ca e P na superfície, se deviam realmente à formação da hidroxiapatita.

Figura 5: Padrões de difração obtidos por DRX das amostras imersas em SBF por 0 e 7 dias.



4. CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos podemos demonstrar a influência da porosidade e da área superficial sobre a bioatividade dos vidros 58S. A amostra 58S-A, apesar de possuir menor área superficial, devido seus poros de raios maiores, apresentou uma precipitação mais acelerada inicialmente com uma diminuição dessa reatividade com o tempo. Comportamento oposto a amostra 58S-B que, apesar de possuir valores

maiores de volume de poros e área superfície, apresentaram uma precipitação de hidroxiapatita mais lenta inicialmente, provavelmente devido a predominância de poros menores, inferindo uma maior dificuldade de difusão dos íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} . Apesar dessa diferença inicial na precipitação da hidroxiapatita, ao fim dos 7 dias de imersão, ambos os vidros foram recobertos apresentando razão Ca/P semelhantes. Isso indica que, em longo tempo de exposição ao SBF, independentemente da porosidade inicial, ambos os vidros foram recobertos com uma fase hidroxiapatita de características semelhantes.

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa utilizou as instalações do Condomínio de Laboratórios Multiusuários do Departamento de Ciência e Engenharia de Materiais (CLMDCEM) da UFS sob o número de 062025P001.

REFERÊNCIAS

- (1) - HENCH, L. L. The story of Bioglass®. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 17, n. 11, p. 967–978, 22 nov. 2006. DOI 10.1007/s10856-006-0432-z
- (2) - SHEARER, A.; MONTAZERIAN, M.; SLY, J. J.; HILL, R. G.; MAURO, J. C. Trends and perspectives on the commercialization of bioactive glasses. *Acta Biomaterialia*, v. 160, p. 14–31, abr. 2023. doi.org/10.1016/j.actbio.2023.02.020
- (3) - SINGH, S.; PATIL, A.; MALI, S.; JAISWAL, H. Bioglass: A New Era in Modern Dentistry. *European Journal of General Dentistry*, v. 11, n. 01, p. 001–006, 7 jan. 2022. DOI <https://doi.org/10.1055/s-0042-1742356>.ISSN 2320-4753
- (4) - KAUR, G.; PICKRELL, G.; SRIRANGANATHAN, N.; KUMAR, V.; HOMA, D. Review and the state of the art: Sol–gel and melt quenched bioactive glasses for tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, v. 104, n. 6, p. 1248–1275, 9 ago. 2016. DOI: 10.1002/jbm.b.33443
- (5) - MOORTHI, A.; PARIHAR, P. R.; SARAVANAN, S.; VAIRAMANI, M.; SELVAMURUGAN, N. Effects of silica and calcium levels in nanobioglass ceramic particles on osteoblast proliferation. *Materials Science and Engineering: C*, v. 43, p. 458–464, out. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2014.07.040>
- (6) - MORICHE, R.; BELTRÁN, A. M.; BEGINES, B.; RODRÍGUEZ-ORTIZ, J. A.; ALCUDIA, A.; TORRES, Y. Influence of the porosity and type of bioglass on the micro-mechanical and bioactive behavior of coated porous titanium substrates. *Journal of*

Non-Crystalline Solids, v. 551, p. 120436, jan. 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2020.120436>

(7) - FERNANDO, D.; COLON, P.; CRESSWELL, M.; JOURNET, C.; PRADELLE-PLASSE, N.; JACKSON, P.; GROSGOGEAT, B.; ATTIK, N. The influence of precursor addition order on the porosity of sol–gel bioactive glasses. *Dental Materials*, v. 34, n. 9, p. 1323–1330, set. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.06.003>

(8) - SANTOS, S. C.; BARRETO, L. S.; SANTOS, E. A. DOS. Nanocrystalline apatite formation on bioactive glass in a sol–gel synthesis. *Journal of Non-Crystalline Solids*, v. 439, p. 30–37, maio 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2016.02.013>

(9) - KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, v. 27, n. 15, p. 2907–2915, maio 2006. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.01.017

(10) - THOMMES, M.; KANEKO, K.; NEIMARK, A. V.; OLIVIER, J. P.; RODRIGUEZ-REINOSO, F.; ROUQUEROL, J.; SING, K. S. W. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, v. 87, n. 9–10, p. 1051–1069, 1 out. 2015. DOI 10.1515/pac-2014-1117

(11) - OLIVEIRA, J. F. R.; FILHO, U. A. DE O.; ROCHA, A. J. S.; SANTOS, H. C. DOS; BARRETO, L. S.; SANTOS, E. A. DOS. The role of calcium nitrate in early crystallization of hydroxyapatite and its effects on the bioactivity and protein adsorption of a 58S glass. *Journal of Non-Crystalline Solids*, v. 637, p. 123036, ago. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2024.123036>

EFFECT OF POROSITY AND SURFACE AREA ON THE BIOACTIVITY OF 58S-TYPE GLASSES OBTAINED BY SOL-GEL

ABSTRACT

This study examined the influence of porosity and surface area on the bioactivity of 58S glass. Two types of glasses with different porosity and surface area were produced via a sol-gel route in an acidic medium, varying the timing of precursor addition: 58S-A ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ added after the hydrolysis of TEOS and TEP) and 58S-B ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ added simultaneously with TEOS and TEP). Although the 58S-A glass has a lower surface area and larger pore radii, it exhibited a more accelerated hydroxyapatite precipitation up to 24 hours. This behavior was the opposite for the 58S-B glass, which had smaller pores and a larger surface area. Despite this initial difference in hydroxyapatite precipitation, after 7 days of immersion, both glasses were covered with a layer of hydroxyapatite with a similar Ca/P ratio. This indicates that, over a longer period, regardless of initial porosity and surface area, both glasses were coated with a hydroxyapatite phase with similar characteristics.

KEYWORDS: hydroxyapatite, porosity, surface area, bioactive glass, bioactivity.