

Artigo Original

Recebido em 06/09/2006, aceito em 10/04/2007

Recobrimento biomimético de hidroxiapatita com pré-tratamento alcali-térmico sobre aços inoxidáveis austeníticos

Hydroxyapatite biomimetic coating with previous thermal-alkaly treatment on stainless steels

Marcelo de Souza Zanin

Laboratório de Biocerâmicas,
Departamento de Engenharia de Materiais/UFSCar,
Caixa Postal 676
13565-905, São Carlos, SP
E-mail: marcelo.zanin@gmail.com

Eliana Cristina da Silva Rigo*

Departamento de Ciências Básicas,
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/USP
13635-970, Pirassununga, SP
E-mail: licarigo@yahoo.com.br

Anselmo Ortega Boschi

Laboratório de Biocerâmicas, DEMa/UFSCar
E-mail: daob@power.ufscar.br

*Autor para correspondência

Resumo

O aço inoxidável ASTM F1586 (ISO 5832-9) foi desenvolvido a fim de se obter alta resistência mecânica e resistência à corrosão, que são alcançados pelo alto teor de nitrogênio e pelo reduzido teor de níquel. É utilizado como alternativa ao crescente registro de casos em que o níquel aparece como elemento tóxico ao corpo humano. O presente trabalho estudou o efeito das variáveis de processo do mecanismo de precipitação e crescimento de hidroxiapatita pelo método biomimético com tratamento alcali térmico prévio da superfície dos aços, utilizando solução de silicato de sódio como agente nucleante, estabelecendo uma comparação entre duas ligas de aço inoxidáveis, o aço ASTM F138 (ISO 5832-1), normalmente utilizado na fabricação de próteses, e o aço ASTM F1586 (ISO 5832-9) com 0.37% N e com um conteúdo de níquel reduzido. Para obtenção do recobrimento, os substratos foram imersos em solução aquosa de NaOH. Em seguida os substratos foram lavados e tratados termicamente a 600 °C e submetidos à etapa de nucleação em duas condições: T2 – imersão dos substratos em uma solução de silicato de sódio, e T3 – imersão dos substratos em uma solução de silicato de sódio mais uma solução sintética que simula o plasma sanguíneo (SBF). Após essa etapa, os substratos foram imersos em uma solução de SBF mais concentrada. Ambos os aços apresentaram características interessantes para receberem uma camada de hidroxiapatita e o tratamento prévio com a solução de NaOH e a utilização da solução de silicato contribuíram para que ocorresse a formação dessa camada.

Palavras-chave: Aços inoxidáveis, Recobrimento biomimético, Silicato de sódio, Hidroxiapatita.

Abstract

ASTM F1586 (ISO 5832-9) stainless steel was developed in order to obtain a greater mechanical strength and corrosion resistance that are reached due to its high nitrogen content and on account of its lower nickel content, and is used as a solution to the release of nickel trace element, which is toxic to the human body. The present work studied the effects of the process variables of coating mechanisms and hydroxyapatite growth by biomimetic method with a previously alkali-thermal treatment on the stainless steels surface, using sodium silicate solution as nucleating agent, and establishing a comparison between two commercial austenitic stainless steels, namely ASTM F138 (ISO 5832-1), generally used in the fabrication of prostheses, and ASTM F1586 (ISO 5832-9) with 0.37% N and a reduced nickel content. All substrates were immersed in an aqueous NaOH solution and after were washed and thermally treated at 600 °C and submitted to the nucleation step in two distinct conditions: T2 – immersion of the substrates in a sodium silicate, and T3 – immersion of the substrates in a sodium silicate solution plus SBF. After this nucleation phase, the substrates were immersed in a 1.5 SBF. Both steels presented interesting superficial characteristics to receive a hydroxyapatite coating and the previous treatment with NaOH and the use of the sodium silicate solution contributed to the formation of this layer.

Keywords: Stainless steels, Biomimetic coating, Sodium silicate, Hydroxyapatite.

Extended Abstract

Introduction

Stainless steel is one of the metallic biomaterials widely used as dental and orthopedic devices due to its lower cost, good mechanical properties and elevated contrast in radiographic exams. However, the metallic biomaterials implanted in the human body are exposed to a very aggressive environment, where they make contact with the chloride ion, amino acids and many proteins, besides being in conditions of lower partial pressure of oxygen than when in contact with air. Thus, the largest problem with these materials is the corrosion process that releases metal ions in the surrounding tissues, leading to toxic effects.

It is estimated that nickel compounds are carcinogenic. Metallic nickel in concentrations higher than 12% in the ASTM F138 stainless steel (ISO 5832-1) is possibly carcinogenic to the human body. Nevertheless, nickel concentrations lower or equal to 0.2%, in accordance with medical requirements, lead to considerable additional costs in order to produce nickel-free stainless steel (Hal-lab et al., 2000; Swiontkowski et al., 2001). Within this context, stainless steels with an elevated level of N, Ni-free and with high concentrations of Mn have been used in medical applications due to the high mechanical and corrosion resistances caused by the addition of nitrogen (Fini et al., 2003; Sumita et al., 2004).

It is known that hydroxyapatite (HA) is the main mineral component of bones, with its biocompatibility and bioactivity being therefore largely diffused (Fishman et al., 1995). However, its use in implants is restricted to situations of low pressure or of compression stress only. Nevertheless, metals that present improved mechanical properties are biotolerant materials unattachable to the bone tissue.

The biomimetic method allows the coating of practically any type of substrate with a uniform layer of biological hydroxyapatite (HA) (Abe et al., 1990), using particles of bioactive glass with a nucleation agent, as well as, in a few conditions, previous substrate treatments with an aqueous NaOH (Tanahashi et al., 1994) or HCl (Tanahashi et al., 1995) solution in order to reduce the induction period for the HA nucleation.

The present work studied the effect of the process variables upon the precipitation mechanism and apatite growth through the biomimetic method on the surfaces of two commercial austenitic stainless steels, namely ASTM F138 (ISO 5832-1), generally used in the fabrication of prostheses, and ASTM F1586 (ISO 5832-9) with 0.37% N and a reduced nickel content.

Material and Methods

All substrates were immersed for 24 hours in an aqueous 5 M

NaOH solution and kept in these conditions at 60 °C. After this period, the substrates were washed and thermally treated at 600 °C for one hour and then submitted to the nucleation step in two distinct conditions: T2 – immersion of the substrates in a sodium silicate solution for 7 days at 37 °C, and T3 – immersion of the substrates in a sodium silicate solution plus SBF in a ratio of 1:1 for 7 days at 37 °C. After this nucleation phase, the substrates were immersed in a 1.5 SBF solution and kept at 37 °C for 21 days, changing the solution every 48 hours.

Results

Besides the apatite phase ($2\theta = 26^\circ$ and 32°), the identification of the FeCrO_4 phase through the X-ray diffraction spectra for the F1586 stainless steel substrate submitted to the T3 procedure was observed (Figure 2b). Analyzing the micrographs in each procedure, the morphology of the hydroxyapatite layers on the F138 and F1586 steels were similar, composed of globule layers (Figures 3 and 4).

Discussion

Both steels presented interesting superficial characteristics to receive a hydroxyapatite coating and the previous treatment with NaOH and the use of the sodium silicate solution contributed to the formation of this layer. Lin et al. (2002) submitted F138 steels to a previous surface treatment with an aqueous NaOH solution in various conditions and temperatures and, following that, immersed them in SBF. They verified that the formation of hydroxyapatite was only possible when the substrates were re-immersed in a modified SBF solution with high concentrations of the Ca and P ions, after 4 weeks. The work of Lin and coll. indicated the need of creating previous favorable conditions for the nucleation of the hydroxyapatite to take place and grow as layer on biotolerant materials surface. In this case, confronted with the results presented by the XRD patterns, it was observed that independently of the initial conditions used for the nucleation, both were prone to the formation of a hydroxyapatite layer. Nevertheless, the condition named T2 provided a more favorable condition considering that the observation of the hydroxyapatite formation phase was possible through the XRD patterns (Figures 1 and 2) while FeCrO_4 could not be detected. Although accepting the idea that FeCrO_4 has formed, the important feature is that the formation of the hydroxyapatite layer has not been markedly affected. Besides, it may be inferred that the T2 procedure gave rise to a more homogeneous hydroxyapatite layer with a larger volume of globules.

Introdução

O aço inoxidável é um dos biomateriais metálicos extensamente utilizados como dispositivos dentais e ortopédicos, bem como *stents* na área cardiovascular em decorrência de seu menor custo, boa resistência mecânica e elevado contraste em exames radiográficos. No entanto, os biomateriais metálicos implantados no corpo humano são expostos a um ambiente muito agressivo, onde entram em contato com íon cloreto, aminoácidos e várias proteínas, além de estarem em contato com uma pressão parcial de oxigênio menor do que a atmosférica. Dessa forma, o maior problema desses materiais é o processo de corrosão, que acaba liberando íons do metal nos tecidos circunvizinhos, causando efeitos tóxicos nesses tecidos.

O aço inox ASTM F138 (ISO 5832-1), amplamente utilizado, contém níquel como um dos elementos de liga em teores acima de 12% e, de acordo com a agência internacional para a pesquisa sobre o câncer (AIPC) da organização mundial de saúde (OMS), estima-se que os compostos de níquel são carcinogênicos, e níquel metálico e ligas de níquel são possivelmente carcinogênicos ao corpo humano. Um teor abaixo de 0,2% atende as exigências médicas. Porém, teores de níquel menores ou iguais a 0,2% conduzem a consideráveis custos adicionais a fim de produzir implantes feitos com aço inoxidável livres de níquel (Hallab *et al.*, 2000; Swiontkowski *et al.*, 2001). Dessa forma, para amenizar esse problema, aços inoxidáveis com elevado teor de N, livres de Ni e com elevados teores de Mn, estão sendo utilizados em aplicações médicas, devido à alta resistência mecânica e à corrosão em decorrência da adição de nitrogênio (Fini *et al.*, 2003; Sumita *et al.*, 2004).

Sabe-se que a hidroxiapatita (HA) é o principal componente mineral dos ossos, sendo, portanto que sua biocompatibilidade e bioatividade é amplamente difundida (Fishman *et al.*, 1995). Porém, seu uso em implantes é restrito a situações de baixas tensões ou apenas tensões de compressão. No entanto os metais, que apresentam propriedades mecânicas mais elevadas, são materiais biotoleráveis, não sendo capazes de ligar-se ao tecido ósseo. A partir disso, esforços têm sido feitos para combinar a resistência mecânica dos metais com as propriedades biológicas da hidroxi-

apatita e uma das possibilidades consiste em recobrir um substrato metálico com uma camada de material bioativo. Dentre técnicas como *Ion Sputtering*, *Plasma Spraying*, sol-gel, eletrólise, o método denominado biomimético tem recebido grande atenção nos últimos anos.

O método biomimético permite recobrir praticamente qualquer tipo de substrato com uma camada uniforme de hidroxiapatita (HA) similar à biológica (Abe *et al.*, 1990), utilizando partículas de vidro bioativo como agente nucleante, bem como, em algumas condições, tratamentos prévios dos substratos com solução aquosa de NaOH (Tanahashi *et al.*, 1994) ou HCl (Tanahashi *et al.*, 1995) para diminuição do período de indução para a nucleação da HA.

O presente trabalho estudou o efeito das variáveis de processo sobre o mecanismo de precipitação e crescimento de apatita pelo método biomimético sobre as superfícies de dois aços inoxidáveis austeníticos comerciais, a saber: ASTM F138 (ISO 5832-1), usualmente utilizado na fabricação de próteses e ASTM F1586 (ISO 5832-9) com 0,37% N.

Os substratos desses aços foram submetidos a um tratamento prévio em solução aquosa de NaOH e submetidos ao recobrimento biomimético, utilizando-se de uma solução de silicato de sódio como agente nucleante em substituição ao vidro bioativo (Rigo *et al.*, 1999). As análises das superfícies recobertas foram realizadas utilizando-se das técnicas de difração de raios-X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Materiais e Métodos

Composição química dos aços

Foram utilizados dois aços inoxidáveis austeníticos comerciais: ASTM F138 (ISO 5832-1), usualmente utilizado na fabricação de próteses, utilizado como referência para comparação com o comportamento do aço com alto teor de nitrogênio e baixo teor de níquel ASTM F1586 (ISO 5832-9).

Preparo das soluções

Para o presente trabalho foi necessário o emprego de soluções de NaOH, de silicato de sódio (SS), solução sintética que simula o plasma sanguíneo (SBF) e a

Tabela 1. Composições químicas nominais dos materiais usados como substratos. **Table 1.** Nominal chemical composition of the materials used as substrates.

Elemento	%Cr	%Mn	%Mo	%N	%C	%Si	%Ni	%Nb
ASTM-F138	17,50	1,69	2,70	0,068	0,01	0,16	14,50	--
ASTM-F1586	21,06	3,62	2,44	0,37	0,017	0,16	10,60	0,40

mesma solução 50% mais concentrada (1,5 SBF). As soluções de SBF e 1,5 SBF foram preparadas dissolvendo-se quantidades exatas de NaCl, NaHCO₃, KCl, K₂HPO₄, MgCl₂·6H₂O, CaCl₂·2H₂O, Na₂SO₄, e tris(hidroxiometil)aminometano (CH₂OH)₃CNH₂. Para a solução de SS foi utilizado (Na₂O)·SiO₂ de grau analítico. Todas as soluções foram preparadas utilizando-se água destilada e deionizada. O pH das soluções de SBF, 1,5 SBF e SS foi ajustado em 7,25 a 37 °C, e foram guardadas em frascos fechados de polietileno.

Tratamento alcali-térmico e nucleação

Antes de iniciar qualquer etapa, as amostras foram todas lixadas com SiC #80, lavadas com detergente comum, enxaguadas com água destilada e deionizada e secas ao ar à temperatura ambiente.

Todos os substratos foram imersos em solução aquosa de NaOH 5 M a 60 °C e mantidos nesta condição por 24 horas. Terminado esse período, os substratos foram lavados e tratados termicamente a 600 °C/1h, sendo em seguida submetidos à etapa de nucleação em duas condições distintas: T2 – imersão dos substratos em solução de silicato de sódio mantidos a 37 °C por 7 dias, e T3 – imersão dos substratos em solução de silicato de sódio mais SBF na proporção de 1:1 (em volume) mantidos a 37 °C por 7 dias.

Recobrimento biomimético

Terminada a etapa de nucleação, os substratos foram imersos em solução de 1,5 SBF e mantidos a 37 °C por 21 dias, trocando-se a solução a cada 48 horas.

Caracterização das amostras

As amostras foram caracterizadas após a finalização do recobrimento utilizando as técnicas de difração de raios-X (equipamento de difração de raios-X Siemens, modelo D5005 com tubo de Cu com $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) e microscopia eletrônica de varredura (Zeiss, modelo DSM 940A).

Resultados

Difração de raios-X (DRX)

As Figuras 1 e 2 apresentam os espectros de difração de raios-X dos aços F138 e F1586 respectivamente. Foi possível observar que para os substratos submetidos ao procedimento T3, além da fase de apatita ($\sim 2\theta = 26^\circ$ e 32°), a fase FeCrO₄ foi identificada (Figura 2b).

Microscopia eletrônica de varredura

As Figuras 3 e 4 apresentam as imagens das superfícies

recobertas dos aços F138 e F1586 respectivamente, obtidas pela microscopia eletrônica de varredura.

Discussão

Lin *et al.* (2002) submeteram o aço F138 a tratamento prévio da superfície com solução aquosa de NaOH em várias condições e temperaturas. Esses aços em seguida foram imersos em SBF; segundo os autores a idéia inicial era a de que nessas condições a solução de NaOH favoreceria o crescimento de hidroxiapatita. No entanto, os autores verificaram que a formação da hidroxiapatita só foi possível quando os substratos

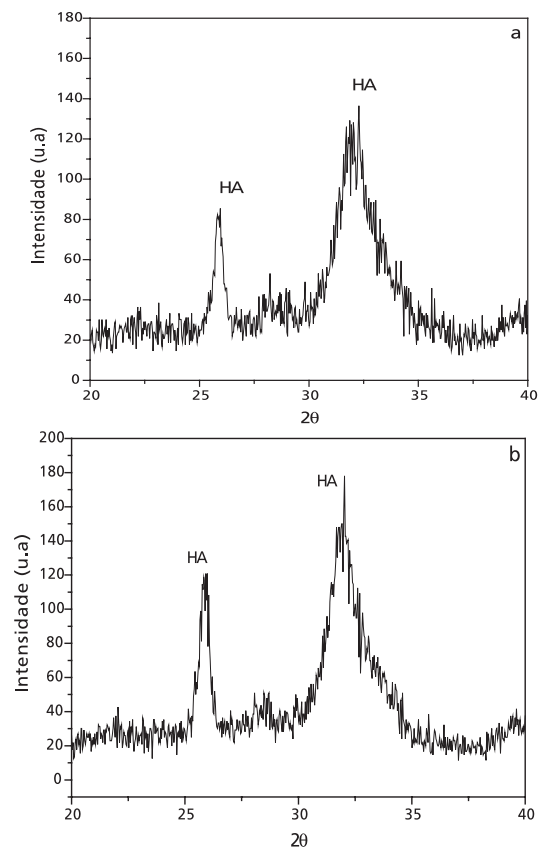


Figura 1. DRX dos aços inoxidáveis F138 recobertos: a) submetidos ao procedimento T2 (imersão dos substratos em solução de silicato de sódio mantidos a 37 °C por 7 dias), e b) submetido ao procedimento T3 (imersão dos substratos em solução de silicato de sódio mais SBF na proporção de 1:1 (em volume) mantidos a 37 °C por 7 dias).

Figure 1. XRD spectra of coated F138 stainless steel: a) submitted to T2 procedure (immersion of the substrates in a sodium silicate solution for 7 days at 37 °C), and b) submitted to T3 procedure (immersion of the substrates in a sodium silicate solution plus SBF in a ratio of 1:1 (volume) for 7 days at 37 °C).

foram reimersos em uma solução de SBF modificado com altas concentrações de íons Ca e P, após 4 semanas. Além disso, eles constataram que possivelmente essa camada poderia ser solubilizada, e provavelmente se tratava apenas de precipitação espontânea de hidroxiapatita da própria solução de SBF modificado.

O trabalho de Lin *et al.* (2002) é um indicativo de que é necessário criar condições para que inicialmente possa ocorrer a nucleação de hidroxiapatita e posterior crescimento dessa camada em materiais biotoleráveis. Neste caso, mediante os resultados apresentados pela técnica de DRX (Figuras 1 e 2) observou-se que independente da condição inicialmente utilizada para a

nucleação, ambas foram propícias para que ocorresse a formação de uma camada de hidroxiapatita, porém a condição na qual se utiliza apenas solução de silicato de sódio (T2), mostrou-se mais favorável, visto que pelos difratogramas foi possível observar a formação de um fosfato de cálcio, possivelmente hidroxiapatita (Figuras 1a e 2a) e, se houve formação da fase FeCrO_4 , sua identificação não foi possível mediante esta técnica.

Analisando cada procedimento, as morfologias das camadas de hidroxiapatita sobre os aços F138 e F1586 se mostraram semelhantes, composta por camadas de glóbulos, como mostrado nas Figuras 3 e 4. No entanto, pode-se inferir que, comparando os dois procedimen-

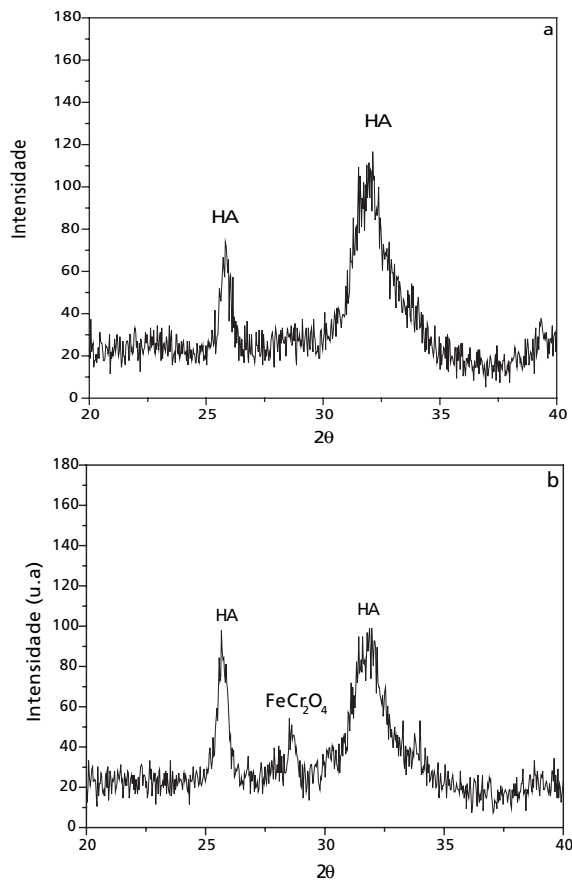


Figura 2. DRX dos aços inoxidáveis F1586 recobertos: a) submetidos ao procedimento T2 (imersão dos substratos em solução de silicato de sódio mantidos a 37 °C por 7 dias), e b) submetido ao procedimento T3 (imersão dos substratos em solução de silicato de sódio mais SBF na proporção de 1:1 (em volume) mantidos a 37 °C por 7 dias).
Figure 2. XRD spectra of coated F1586 stainless steel: a) submitted to T2 procedure (immersion of the substrates in a sodium silicate solution for 7 days at 37 °C), and b) submitted to T3 procedure (immersion of the substrates in a sodium silicate solution plus SBF in a ratio of 1:1 (volume) for 7 days at 37 °C).

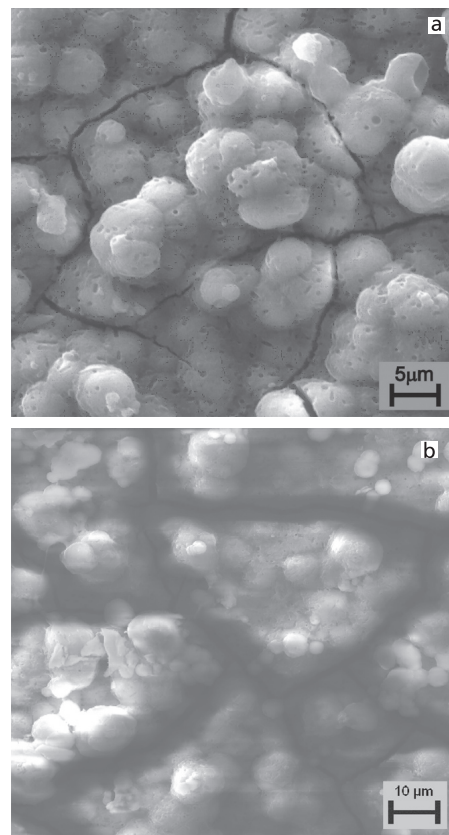


Figura 3. MEV dos aços inoxidáveis F138 recobertos: a) submetidos ao procedimento T2 (imersão dos substratos em solução de silicato de sódio mantidos a 37 °C por 7 dias), e b) submetido ao procedimento T3 (imersão dos substratos em solução de silicato de sódio mais SBF na proporção de 1:1 (em volume) mantidos a 37 °C por 7 dias).
Figure 3. SEM of coated F138 stainless steel: a) submitted to T2 procedure (immersion of the substrates in a sodium silicate solution for 7 days at 37 °C), and b) submitted to T3 procedure (immersion of the substrates in a sodium silicate solution plus SBF in a ratio of 1:1 (volume) for 7 days at 37 °C).

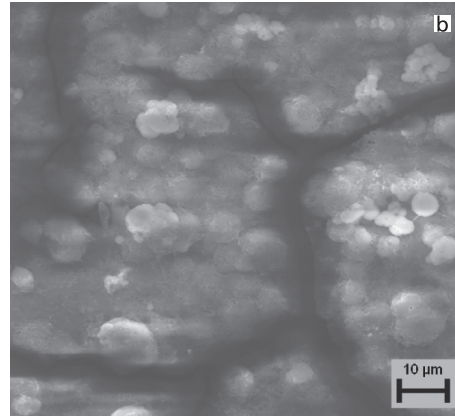
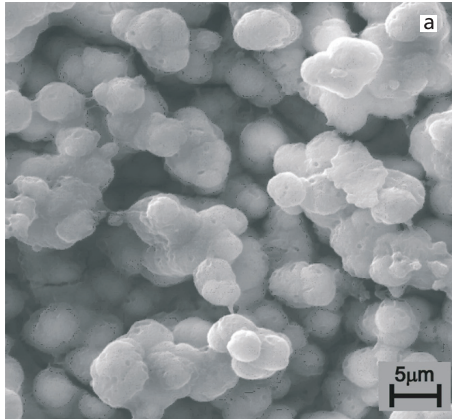


Figura 4. MEV dos aços inoxidáveis F1586: a) submetidos ao procedimento T2 (imersão dos substratos em solução de silicato de sódio mantidos a 37 °C por 7 dias), e b) submetido ao procedimento T3 (imersão dos substratos em solução de silicato de sódio mais SBF na proporção de 1:1 (em volume) mantidos a 37 °C por 7 dias). **Figure 4.** SEM of coated F1586 stainless steel: a) submitted to T2 procedure (immersion of the substrates in a sodium silicate solution for 7 days at 37 °C), and b) submitted to T3 procedure (immersion of the substrates in a sodium silicate solution plus SBF in a ratio of 1:1 (volume) for 7 days at 37 °C).

tos, T2 proporcionou a formação de uma camada mais homogênea e com um volume maior de glóbulos.

Conclusões

- Os dois aços apresentaram características superficiais interessantes para receberem um recobrimento de hidroxiapatita;
- A possível formação de FeCrO_4 na superfície de aço inoxidável não parece ter influenciado negativamente na formação da camada de fosfato de cálcio;
- O tratamento com NaOH e a utilização da solução de silicato de sódio contribuíram para a formação dessa camada;
- Das condições empregadas como etapa de nucleação, a condição na qual se utiliza apenas a solução de silicato de sódio parece ser uma condição mais favorável para a obtenção de uma camada mais homogênea.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processos 04/08147-1 e 04/07297-0. Ao Dr. André Paulo Tschiptschin e à Dra. Claudia Patrícia Ossa Orozco pela doação dos aços utilizados neste trabalho.

Referências

Abe, Y., Kokubo, T., Yamamuro, T. (1990), "Apatite coating on ceramics, metals and polymers utilizing a biological process", *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, v. 1, n. 4, p. 233-238.

- Fini, M., Nicoli Aldini, N., Torricelli, P., Giavaresi, G., Borsari, V., Lenger, H., Bernauer, J., Giardino, R., Chiesa, R., Cigada, A. (2003), "A new austenitic stainless steel with negligible nickel content: an in vitro and in vivo comparative investigation", *Biomaterials*, v. 24, n. 27, p. 4929-4939.
- Fishman, G., Clare, A., Hench, L.L. (1995), *Bioceramics: Materials and Applications*, Westerville: American Ceramic Society.
- Hallab, N., Jacobs, J.J., Black, J. (2000), "Hypersensitivity to metallic biomaterials: a review of leukocyte migration inhibition assays", *Biomaterials*, v. 21, n. 13, p. 1301-1314.
- Lin, F., Hsu, Y., Lin, S., Sun, J. (2002), "The effect of Ca/P concentration and temperature of simulated body fluid on the growth of hydroxyapatite coating on alkali-treated 316L stainless steel", *Biomaterials*, v. 23, n. 19, p. 4029-4038.
- Rigo, E.C.S., Santos, L.A., Oliveira, L.C., Carrodéguas, R.G., Boschi, A.O. (1999), "Biomimetic method for obtaining hydroxyapatite", *Materials Science Forum*, v. 299-300, p. 99-103.
- Sumita, M., Hanawa, T., Teoh, S.H. (2004), "Development of nitrogen-containing nickel-free austenitic stainless steels for metallic biomaterials – review", *Materials Science and Engineering C*, v.24, n. 6-8, p. 753-760.
- Swiontkowski, M.F., Agel, J., Schwappach, J., McNair, P., Welch, M. (2001), "Cutaneous metal sensitivity in patients with orthopaedic injuries", *Journal of Orthopaedic Trauma*, v. 15, n. 2, p. 86-89.
- Tanahashi, M., Yao, T., Kokubo, T., Minoda, M., Miyamoto, T., Nakamura, T., Yamamuro, T. (1994), "Apatite coated on organic polymers by biomimetic process: improvement in its adhesion to substrate by NaOH treatment", *Journal of Applied Biomaterials*, v. 5, n. 4, p. 339-347.
- Tanahashi, M., Yao, T., Kokubo, T., Minoda, M., Miyamoto, T., Nakamura, T. e Yamamuro, T. (1995), "Apatite coated on organic polymers by biomimetic process: improvement in adhesion to substrate by HCl treatment", *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, v. 6, n. 6, p. 319-326.