

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROESFERAS DE ALGINATO/VIDRO BIOATIVO

Obtaining and characterization of alginate/bioactive glass beads

Mariane Rezende Dias^{1*}; Hermes de Souza Costa¹; Rayane Crisley Leão¹

¹Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.
Autora para correspondência: marianedias94@gmail.com

Recebido em: 04/08/2020, Aceito em: 26/08/2020, Publicado em: 17/09/2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.22407/1984-5693.2020.v12.p.122-137>

RESUMO

Microesferas do compósito alginato/vidro bioativo foram obtidas pela produção de suspensão aquosa de alginato e sol precursor do vidro-bioativo, combinados diretamente em diferentes proporções. Para obtenção das esferas foi realizada a extrusão das misturas através de agulha, gota a gota, em solução reticulante a base de CaCl_2 . Análise morfológica das microesferas indicou que adição de vidro bioativo reduziu o diâmetro médio das amostras hidratadas, alterou a morfologia esférica durante a secagem e promoveu maior contração volumétrica, sendo que a caracterização por MEV indicou dispersão de elementos da fase vidro bioativo na matriz polimérica, sem regiões de segregação. Resultados de EDS identificaram presença de Si e P, com valores crescentes de fósforo e cálcio para aumentos na concentração de vidro. Os ensaios de DRX indicaram que adição de vidro reduziu os picos do alginato promovendo estrutura mais amorfa. Análises termogravimétricas apresentaram valores similares no grau de hidratação para as diferentes amostras obtidas e ampla variação na concentração da fase orgânica incorporada, sugerindo reações de competição durante o processamento, entre os componentes do vidro com o alginato. Os resultados deste trabalho indicaram que a rota utilizada permitiu produção de compósitos poliméricos com fase composta por vidro bioativo em faixa de tamanho que pode auxiliar na liberação de componentes em crescimento ósseo, com possibilidade de modulação da composição.

Palavras-chave: alginato, vidro bioativo, microesferas, compósito, biomaterial.

ABSTRACT

Microspheres of alginate/bioactive glass composite were obtained by producing aqueous suspension of alginate and sol of precursor for the synthesis of bioactive glass, both directly combined in different proportions. To obtain the beads, the mixtures were extruded through the needle, drop by drop, in a CaCl_2 based cross-linking solution. Morphological analysis of the microspheres indicated that the addition of bioactive glass decrease the average diameters of the hydrated samples, changed its spherical morphology at the drying process and increased the volumetric contraction.

SEM characterization indicated elements of the bioactive glass phase dispersed on the polymer matrix, without regions of segregation. EDS results identified the presence of Si and P and increases in the phosphorus and calcium values when glass concentration increase. The XRD tests showed that the addition of glass reduced the alginate peaks, resulting in a more amorphous structure. Thermogravimetric analyzes showed similar values in the degree of hydration for the different samples obtained and wide variation in the concentration of the organic phase incorporated, suggesting competitive chemical reactions during the processing between the glass components with the alginate. The results of this work indicated that the route used allowed the production of composites of polymer with bioactive glass phase in a size range that can assist in release of components for bone growth with the possibility of modulation of its composition.

Keywords: alginate, bioactive glass, beads, composite, biomaterial.

INTRODUÇÃO

A demanda crescente por regeneração e reparos ósseos torna necessário o desenvolvimento de materiais com características específicas, que levam a diferentes ligações com o organismo, cujos sistemas são dependentes de sua aplicação. Considerando materiais absorvíveis ou biodegradáveis, é necessário que o tempo de degradação seja adequado ao processo de regeneração do tecido, sendo compatível com o processo de reestabelecimento das funções.

Nesse sentido o alginato é um polissacarídeo, não ramificado, constituído de dois componentes, sendo eles o ácido D-manurônico (bloco M) e o ácido L-gulurônico (bloco G), dispostos de maneira não ordenada e com ligações variáveis. A ligação do ácido manurônico faz com que os segmentos do bloco M sejam lineares e com conformação flexível, enquanto o ácido gulurônico possui ligações com impedimento estérico químico nos grupos carboxílicos, de forma com que diferentes proporções entre os blocos M e G definirão as propriedades mecânicas e a formação de gel do alginato. Esse polímero pode ser produzido a partir de algas marrons ou bactérias, sendo considerado um polímero natural.

Entre as principais propriedades do alginato estão o fato desse polímero ser biocompatível, biodegradável, hidrofílico, com alta bioadesividade, alta capacidade de absorção de água, baixa toxicidade e baixo custo. Contudo, uma das características mais atrativas do alginato é sua capacidade de formação de géis, que ocorre a partir da reticulação dos blocos G, formando um hidrogel. Para que a reticulação ocorra é necessária a presença de cátions divalentes, como Ca^{2+} , Ba^{2+} e Sr^{2+} , que entram nas cavidades eletronegativas do alginato, formando ligações iônicas com os ânions carboxilatos e com os grupos hidroxilas.

A partir do processo de reticulação, o alginato passa a apresentar alta resistência, devido as ligações cruzadas eletrostáticas, conhecidas como estrutura de caixa de ovo. As propriedades do gel formado irão variar de acordo com diversos fatores, como velocidade de gelificação, que pode ser controlada através do agente reticulante utilizado ou pela redução da temperatura, e proporção entre blocos G e M, uma vez que a reticulação ocorre nos blocos G, quanto maior sua proporção, mais rígido o gel formado.

Outro exemplo de material pode ser representado pelos vidros bioativos, que são materiais inorgânicos, a base de silicatos e com composição de SiO_2 , Na_2O , CaO e P_2O_5 em diferentes proporções. A ligação entre o osso e o vidro bioativo é desenvolvida a partir da formação de uma camada de hidroxiapatita carbonatada na superfície, devido ao contato com os fluidos corporais.

Os vidros bioativos apresentam características de osteocondução, osteoindução e rápida ligação com o tecido ósseo. Também apresenta ligação com tecidos moles conectivos, a partir da adesão do colágeno na superfície do vidro. A obtenção desse material pode ocorrer a partir de duas rotas distintas: a rota tradicional, em que se realiza a fusão dos precursores do vidro, e a rota sol-gel, que utiliza o processo físico-químico para se obter os óxidos cerâmicos.

O método sol-gel permite utilização de concentrações superiores de sílica, além de maior taxa de formação de hidroxiapatita carbonatada e maior índice de bioatividade, quando comparados ao método de fusão. Além de permitir a obtenção do vidro em temperaturas mais baixas, compatível com a adição de biomoléculas, alterações de morfologia e menor gasto energético. Contudo, o vidro bioativo apresenta baixa resistência à compressão quando comparado ao osso cortical ou medular, limitando seu uso direto na regeneração óssea. Uma solução para otimizar as suas propriedades é a associação com polímeros biodegradáveis.

Assim a produção de estrutura na forma de micropartículas pode permitir o preparo de misturas híbridas de alginato e vidros bioativos capaz de promover estrutura polimérica com presença de fase inorgânica de vidro bioativo dispersa em faixa nanométrica, onde a composição química e a morfologia possam promover efeito significativo nas propriedades mecânicas do material, além de regular a liberação dos produtos de degradação do vidro, visando aumento na bioatividade, compatível com o tempo demandado para o processo de reparação de tecido calcificados.

O presente estudo tem como objetivo a obtenção de microesferas compósitas de alginato e vidro bioativo em diferentes concentrações, analisando suas propriedades, como morfologia, dimensão e composição química, verificando seu potencial de aplicação como matriz de regeneração óssea.

MATERIAL E MÉTODOS

Para obtenção do compósito foram utilizados: alginato de sódio, de média viscosidade, obtido de *Macrocistis pirifera* (Sigma-Aldrich), água destilada, água deionizada, balança analítica, solução de ácido acético 1M, tetraetilortossilicato (TEOS), 98% (Aldrich Chemical Company Inc.), trietilfosfato (TEP, Sigma Aldrich), cloreto de cálcio dihidratado P.A. ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Vetec), solução HCl 2N, béqueres de polietileno, seringa de 15mL, agulhas tamanho 27,5G.

PREPARAÇÃO DO COMPÓSITO

A suspensão de alginato foi produzida utilizando alginato de sódio, em concentração de 1% em massa por volume de água destilada. A suspensão foi submetida ao processo de agitação magnética por um período de 24 horas até completa dispersão do alginato e homogeneização do sistema. Após o período de agitação o pH foi corrigido utilizando solução de ácido acético, gotejada até se obter pH $5,3 \pm 0,1$ e foi agitado por mais 30 minutos para homogeneização.

A solução precursora de vidro bioativo foi obtida através de rota sol-gel, na presença de ácido clorídrico como catalisador da hidrólise do alcóxido. A água deionizada foi adicionada em béquer de polietileno, com ajuste de pH para $2,0 \pm 0,1$ utilizando solução de HCl 2N em agitação branda. Adicionou-se então o TEOS em razão molar de 12:1 água/TEOS, com agitação vigorosa por 45 minutos. Após o tempo de agitação da solução água/TEOS foi adicionado o TEP, mantendo a agitação por mais 30 minutos. O cálcio presente no vidro bioativo foi adicionado no processo de reticulação do compósito.

As soluções do compósito alginato/vidro bioativo foram obtidas em diferentes concentrações, considerando a massa seca do componente no compósito final. A solução precursora do vidro bioativo foi adicionada a suspensão de alginato e a suspensão compósita mantida em agitação até completa homogeneização do sistema. O compósito foi produzido em concentrações conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Proporção entre componentes e nomenclatura dos compósitos.

PROPORÇÃO ENTRE COMPONENTES (%)		
ALGINATO	VIDRO BIOATIVO	NOMENCLATURA
100	0	1AS0BG
75	25	3AS1BG
50	50	1AS1BG
25	75	1AS3BG

As suspensões do compósito foram então colocadas em seringa e gotejadas através da agulha, gota a gota, em solução de cloreto de cálcio 0,1M, resfriada a $7 \pm 2^\circ \text{C}$ e mantido por 7 dias, conforme diagrama apresentado na Figura 1. Após o tempo de reticulação, o sistema foi filtrado e as microesferas fotografadas. As amostras foram então secas em dessecador a vácuo, por períodos de 7 dias na temperatura de $20 \pm 2^\circ \text{C}$.

ANÁLISE DIMENSIONAL

O diâmetro médio das microesferas foi medido através de imagens obtidas por fotografia das microesferas úmidas, com presença de escala. Foram analisadas 30 unidades por concentração, utilizando o software ImageJ. A partir dos dados obtidos foram calculados os diâmetros médio, desvio padrão e variância para cada concentração adotada.

Os valores obtidos foram analisados pelo método ANOVA, verificando a diferença estatística entre os dados obtidos.

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E EDS

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram obtidas no equipamento SSX-550 Superscan, da empresa Shimadzu, com aceleração de feixe de 15kV. Foi utilizada a técnica de elétrons secundários para obtenção das imagens, com ampliações de 50 e 500x. Para garantir a condutividade da superfície das amostras, foi realizado o processo de metalização com camada de ouro, em metalizadora SC701 Quick Coater, Sanyu Electron, utilizando corrente de 1,5mA por 3 minutos. Associada ao MEV foi realizada a análise química pontual por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) na superfície das amostras.

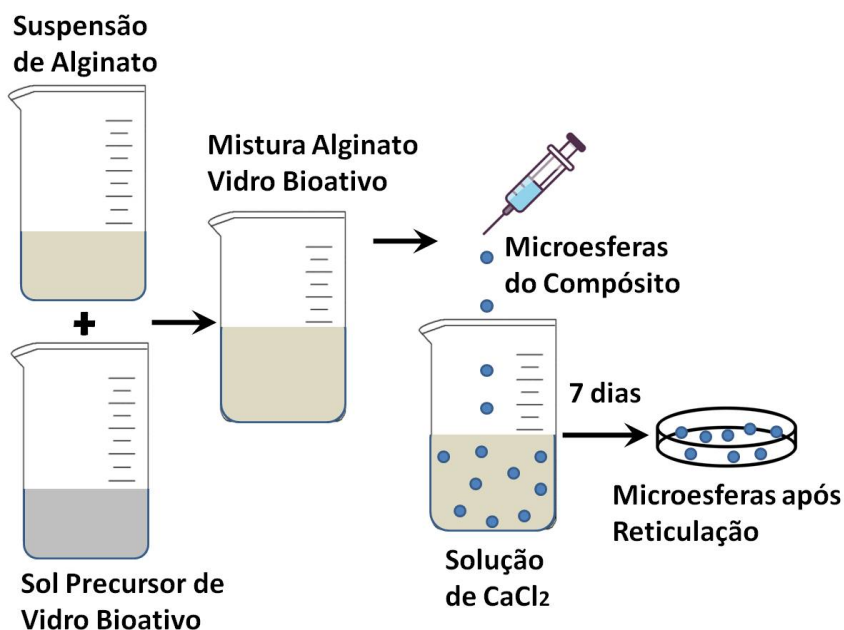


Figura 1: Diagrama do processo de produção das microesferas

ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURRIER

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada em equipamento IR Prestige 21, Shimadzu, com varredura entre 4000-400cm⁻¹.

DIFRAÇÃO DE RAIOS X

A análise de difração de raios X (DRX) foi realizada no equipamento XDR 7000, Shimadzu, utilizando radiação CuK α , operando com 40kV e corrente de 30mA. O ângulo de varredura utilizado foi de 5° a 80°, com velocidade de varredura de 2°.min⁻¹ e passo de 0,02°. A identificação dos picos apresentados foi realizada utilizando o *software* X Powder e difratogramas presentes na literatura em *e*.

ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

A análise termogravimétrica (TG) foi realizada em equipamento SII EXSTAR, modelo TG/DTA 7200, utilizando fluxo de nitrogênio com vazão de 90mL.min⁻¹ e suporte de alumina. A análise foi realizada com variação de temperatura de 25° a 900°C e taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

OBTENÇÃO DO COMPÓSITO

A metodologia adotada produziu compósito na morfologia característica do processo de gotejamento, conforme apresentado pela Figura 2, onde as microesferas estão em sua forma úmida. A partir da figura foi observado que todas as concentrações levaram a obtenção de microesferas com formato esferoide após a reticulação, sem grandes variações de forma para a adição do vidro bioativo.

Foi possível observar também variação no diâmetro médio a partir da adição do vidro bioativo no compósito. A adoção do processo de reticulação nas temperaturas utilizadas permitiu controlar a taxa de gelificação, garantindo que todo o volume da amostra fosse reticulado a partir da difusão de cálcio para o interior da microesfera. Isso ocorre devido a redução da reatividade do íons de cálcio em temperaturas baixas, com difusão mais lenta, permitindo assim a reticulação do interior da estrutura .

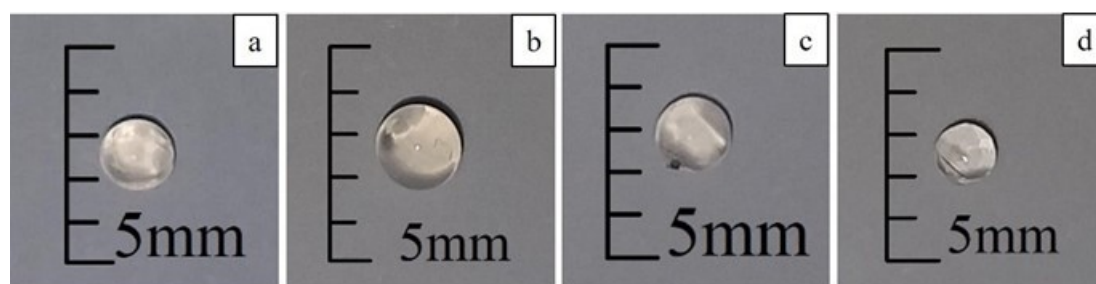


Figura 2: Fotografia de microesferas alginato/vidro bioativo antes do processo de secagem.
a) 0%BG, b)25%BG, c)50%BG e d)75%BG

ANÁLISE DIMENSIONAL

Na Tabela 2 são apresentados os dados de média, desvio padrão e variância das medidas de diâmetro realizadas para cada concentração adotada. Como complementação aos dados, a Tabela 3 apresenta a análise ANOVA dos dados, com o valor de F calculado e P-VALUE, o que permite a análise da diferença entre os dados obtidos.

Tabela 2: Diâmetro médio, desvio e variância das amostras

CONCENTRAÇÃO	MÉDIA (MM)	DESVIO	VARIÂNCIA
0BG	1,8915	0,17156	0,02943
25BG	1,9807	0,17878	0,03196
50BG	1,7545	0,07383	0,00545
75BG	1,6859	0,10974	0,01204

A partir dos dados de média de diâmetro foi identificado que a adição do vidro bioativo em concentração de 25% levou ao aumento no diâmetro médio das microesferas. Contudo, a partir da análise ANOVA percebe-se que o F calculado na comparação entre as concentrações de 25%BG e 100% alginato é menor que o F crítico, o que indica que não há diferença estatística entre os valores obtidos. Já para a adição de 50% de vidro bioativo, há uma redução do diâmetro médio, resultado que é estatisticamente diferente, visto que o F calculado é maior que o F crítico para comparação com as amostras de 100% alginato e 25% vidro bioativo. O mesmo comportamento de redução do diâmetro médio foi observado para composição de 75% de vidro bioativo, com diferença estatística para comparação com todas as demais concentrações. Essa redução no diâmetro médio deve ser relacionada à redução da concentração de alginato no compósito, material esse que atua como matriz estabilizando o sistema que, antes da secagem, é composto de 99% de água na sua estrutura.

Tabela 3: Análise ANOVA

CONCENTRAÇÕES COMPARADAS	F CRÍTICO = 4,0069	SIGNIFICÂNCIA = 0,05
	F calculado	P-VALUE
0BG-25BG	3,8852	$2,35 \times 10^{-4}$
0BG-50BG	16,1499	$2,35 \times 10^{-11}$
0BG-75BG	30,5873	$4,75 \times 10^{-15}$
25BG-50BG	41,0301	$8,36 \times 10^{-17}$
25BG-75BG	59,2519	$4,95 \times 10^{-19}$
5 0BG-75BG	8,0708	$1,19 \times 10^{-7}$

A partir da análise ANOVA identificou-se a concentração de 50% de vidro bioativo como concentração crítica para redução do diâmetro das amostras, visto que a partir da mesma passa a ocorrer redução significativa no diâmetro das microesferas.

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA

Com a variação da composição das amostras, a estabilidade morfológica e dimensional das microesferas pode variar, visto que há redução na proporção de alginato, que atua como matriz do compósito. Na Figura 3 são apresentadas microesferas nas composições adotadas, após processo de secagem. Em a), referente a microesferas de 100% de alginato, a amostra apresenta maior estabilidade morfológica, com menor contração volumétrica e aspecto menos rugoso, indicando que a contração volumétrica ocorrida durante a secagem se deu de forma mais homogênea. A partir da adição de vidro bioativo as microesferas passam a apresentar maior contração, com superfície mais irregular e maior contração volumétrica.

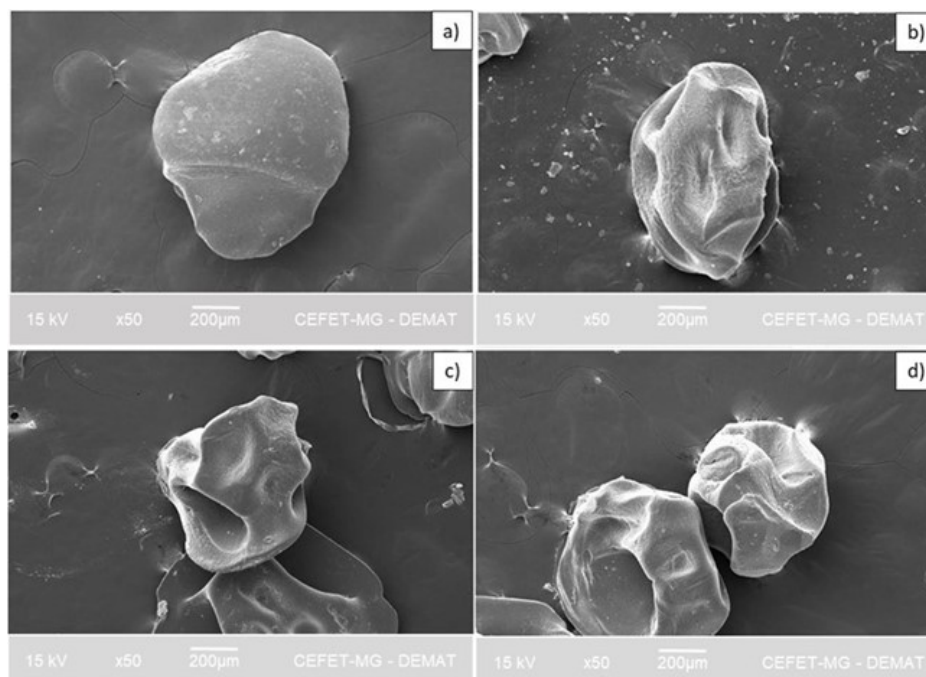


Figura 3: Imagem obtida por Microscopia Eletrônica de Varredura de microesferas em ampliação de 50x nas composições de a)0%BG, b)25%BG, c)50%BG e d)75%BG

Em todas as concentrações observou-se modificação na conformação das microesferas, que deixaram de apresentar a característica esférica do processo de gotejamento, o que foi mais pronunciado com o aumento na concentração de vidro bioativo. Essa alteração evidencia a atuação do alginato como matriz do compósito, mesmo quando em menor concentração que o vidro bioativo. A redução na concentração de alginato reduziu a massa de matriz no compósito, que parece ser o responsável pela estrutura do material. Com a matriz reduzida, a estrutura não se mantém estável durante o processo de secagem, o que deve levar às alterações morfológicas apresentadas após a secagem.

Da mesma forma que a adição do vidro bioativo levou a alterações na morfologia esférica das amostras, as camadas superficiais também apresentaram alterações em seus aspectos, conforme apresentado na Figura 4. A microscopia realizada com aumento de 500 vezes indicou que na Fig.4a, onde não há adição do vidro bioativo, a amostra apresentou superfície mais regular, com menor rugosidade. Na Fig.4b, onde houve adição de 25% de vidro bioativo, a amostra passou a apresentar superfície rugosa, comportamento que também foi observado em 4c e 4d, indicando que a adição de vidro levou a alterações consideráveis na superfície das amostras. Em 4b pode ser observado que a rugosidade se apresenta de forma mais circular, compatível com a interação entre o alginato e o vidro bioativo, que após secagem definiu as áreas de contato. Com a adição de maiores concentrações de vidro, como apresentadas em 4c e 4d, observa-se que há maior homogeneização entre os componentes, com superfícies mais organizada, o que indica que a maior concentração de vidro deve ter promovido maior número de ligações com o polímero, estabilizando a estrutura. Para a concentração de 75% observa-se que a estrutura se apresenta de forma alongada em um eixo preferencial, indicando a maior organização dos componentes. A partir das micrografias pode ser percebido que não ocorreram zonas de segregação do vidro bioativo, o que é indicativo de boa homogeneização do sol precursor do vidro bioativo na suspensão de alginato, sem separação de fases durante o processo de reticulação para todas as concentrações de vidro bioativo adicionados.

Associada a microscopia da superfície das amostras, realizou-se a análise EDS pontual, verificando a composição das amostras na região analisada. Na Tabela 4, onde se apresenta os dados da composição pontual da superfície, observa-se a presença de silício e fósforo para todas as composições em que se adicionou o vidro bioativo, o que indica que os componentes do sol precursor do vidro bioativo se mantiveram na estrutura mesmo após o processo de reticulação, não sendo difundido para solução de reticulação.

A concentração de cálcio no compósito aumenta, à medida que há o aumento da concentração do vidro bioativo, indicando da sua atuação como reticulante do alginato e na formação do vidro bioativo, o que era esperado no processo de reticulação e é benéfico para utilização como biomaterial. O fósforo também apresentou aumento na sua concentração com o aumento da adição de vidro, o que é compatível com a adição do vidro bioativo no compósito. Os valores de P e Ca se mantiveram estáveis para a adição de 75% de vidro quando comparada a concentração de 50%, o que é explicado pelo menor diâmetro médio das microesferas e protonação do alginato que ocorre devido ao pH baixo do vidro bioativo. O cloro identificado é residual do processo de reticulação, necessitando de processamento posterior para retirada. A análise de EDS por ser pontual e semiquantitativa não corresponde a concentração total da amostra.

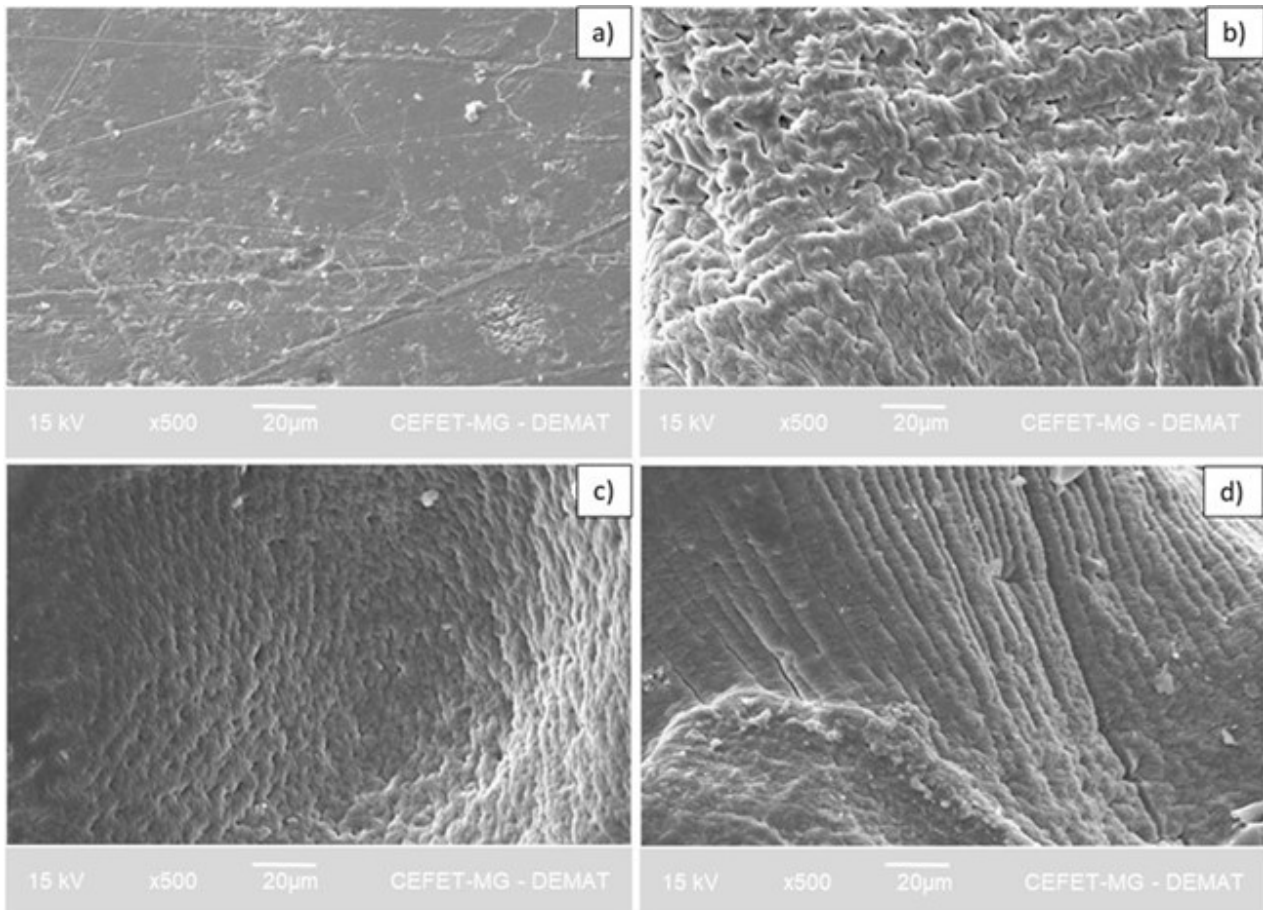


Figura 4: Microscopia da superfície das amostras. a) 0%BG, b)25%BG, c)50%BG e d)75%BG

Tabela 4: Composição pontual da superfície das amostras

AMOSTRA	C	O	Si	P	Cl	Ca
1AS0BG	28	60	-	-	7	6
3AS1BG	27	63	0,7	0,4	-	9
1AS1BG	27	60	0,5	0,5	1	12
1AS3BG	40	43	1,2	0,5	4	12

ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURRIER

A análise dos grupamentos químicos presentes no compósito apresentou as bandas características do alginato e do vidro bioativo, conforme apresentado na Figura 5 e Tabela 5.

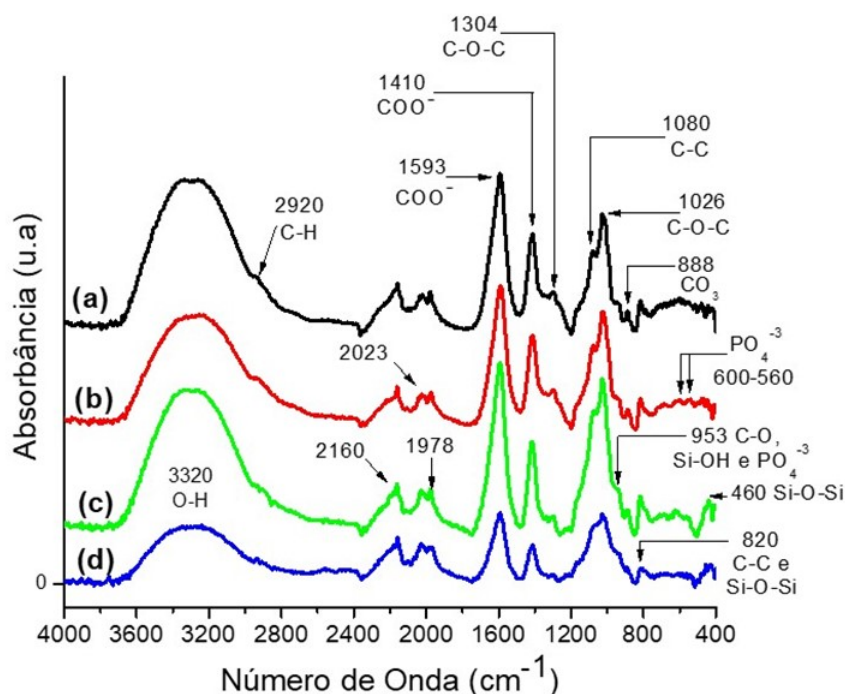


Figura 5: FTIR das amostras de esferas de alginato com (a) 0%BG; (b) 25%BG; (c) 50%BG e (d) 75%BG.

A banda presente em 3320cm^{-1} é associada ao estiramento do grupo hidroxila (-OH), enquanto a banda presente em 2930cm^{-1} é característica do estiramento do grupamento C-H. Já as bandas em 1600cm^{-1} e 1410cm^{-1} são associadas aos estiramentos assimétrico e simétrico, respectivamente, do grupo carboxílico (COO^-), que se apresentou intensa em amostras preparadas com 50% de vidro bioativo e com redução significativa para amostras preparadas com adição de 75% de vidro. As bandas presentes em 1295cm^{-1} e 1026cm^{-1} são características do estiramento do grupo C-O-C.

O pico característico do vidro bioativo se apresenta próximo a 953cm^{-1} , associado ao estiramento Si-OH, aparecendo como um ombro ao pico característico do alginato. O vidro bioativo apresenta estiramento do grupo hidroxila presente nos silanóis, estando assim essa banda também associada a adição do vidro. Além disso são observados os picos em 820 e 460cm^{-1} , ambos característicos do estiramento Si-O-Si, referente a presença do vidro bioativo no compósito.

As bandas apresentadas em 1978, 2023 e 2160cm^{-1} podem ser associadas com gases à base de carbono, presentes na atmosfera resultante a partir do processo de secagem durante a formação de poros na estrutura das matrizes. Observa-se ainda a presença de bandas em 953, 600 e 560cm^{-1} associadas aos grupos fosfato formados no vidro bioativo.

Tabela 5: Grupamentos característicos do alginato e vidro bioativo.

BANDAS	GRUPAMENTOS QUÍMICOS	REFERÊNCIAS
ALGINATO		
3300CM ⁻¹	Estiramento de –OH	
2920CM ⁻¹	Estiramento de –CH	
1600CM ⁻¹	Estiramento assimétrico de COO ⁻	
1380CM ⁻¹	Estiramento simétrico de COO ⁻	
1290CM ⁻¹	Estiramento de C-O-C	
1030CM ⁻¹	Estiramento de C-O-C	
VIDRO BIOATIVO		
3500CM ⁻¹	Estiramento de –OH	
953CM ⁻¹	Estiramento Si-OH	
820CM ⁻¹	Estiramento Si-O-Si	
460CM ⁻¹	Flexão SiO	

DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Os difratogramas, apresentados na Figura 6, indicam os principais picos observados para as amostras nas concentrações adotadas. A partir dos difratogramas observa-se a presença dos picos característicos dos blocos G em 15°, associados ao ácido L-gulurônico, e dos blocos M em 22°, associados ao ácido M-manurônico, além de uma porção amorfa, todos referentes ao alginato. O pico característico do bloco M do alginato apresenta maior intensidade, o que é esperado, visto que o alginato de sódio utilizado na obtenção do compósito possui maior concentração de ácido manurônico (61%) que ácido gulurônico (39%). Com a adição do vidro bioativo os difratogramas passam a apresentar uma redução da intensidade dos picos característicos do alginato, o que pode ser observado nas figuras 6b, 6c e 6d. Essa redução dos picos cristalinos no compósito se deve à característica amorfa do vidro bioativo, que ao ser adicionado ao alginato reduz sua cristalinidade. Esse comportamento de redução de cristalinidade é observado com maior intensidade a medida que a concentração de vidro bioativo aumenta no compósito, comportamento mais evidente para concentração de 75% de vidro bioativo, apresentada em 6d.

É possível observar também um pico cristalino de pequena intensidade em aproximadamente 27,5° que pode ser proveniente da formação de compostos a base de silício e cálcio na obtenção do vidro bioativo. O pico também pode ser associado a presença residual de cloreto de sódio precipitado a partir da solução reticuladora durante o processo de secagem, o que é compatível com sua presença na amostra sem adição de vidro bioativo, apresentada em a.

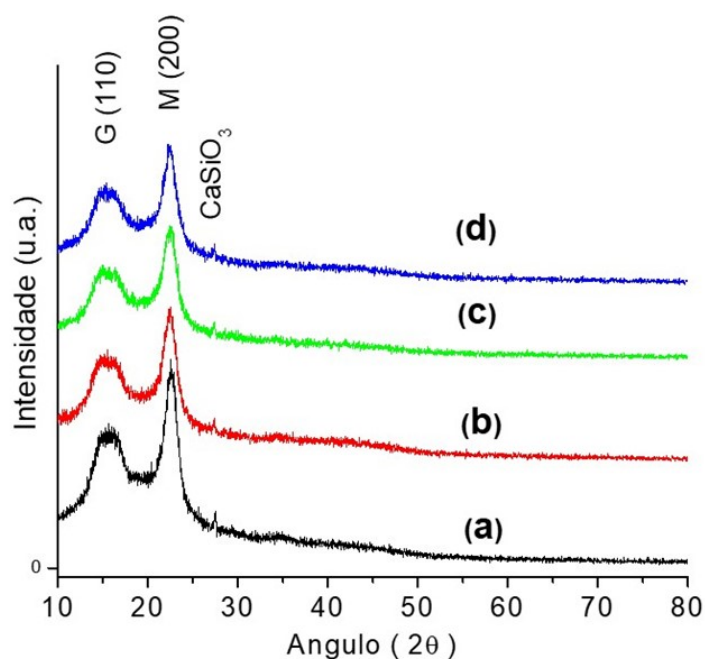


Figura 6: DRX das microesferas de alginato com (a) 0%BG; (b) 25%BG; (c) 50%BG e (d) 75%BG

ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

O resultado da análise termogravimétrica, apresentado na Figura 7 em forma de gráfico, e na Tabela 6 com os dados de perdas de massa por evento térmico, identificam as perdas de massa das amostras a medida em que se aumenta a temperatura, sendo divididos em eventos térmicos de desidratação, decomposição térmica do alginato, degradação do alginato e resíduo final da análise.

Os resultados mostram que entre a temperatura ambiente e 200°C houve uma perda de massa das amostras de 100% alginato em torno de 23%, com leve redução do grau de hidratação quando se adiciona 25% de vidro bioativo, o que indica formação de ligações entre o vidro e o alginato. A adição de 50% de alginato levou a um discreto aumento na hidratação, compatível com a adição de grupos Si-OH que apresentam potencial de reação com a água. Já a adição de 75% de vidro bioativo promoveu redução na hidratação da amostra, associado a redução do tamanho da amostra, com gelificação mais intensa da interface da gota, promovendo microesferas com maiores áreas superficiais.

Na faixa de temperatura entre 200 e 530°C, onde ocorre a decomposição do alginato, as amostras apresentam perdas de massa superiores as identificadas na desidratação, com perda de massa de 47% para as amostras com 100% de alginato. A adição do vidro bioativo levou a uma redução na perda de massa, o que é esperado visto que a concentração de polímero foi reduzida, contudo o valor de 43% é considerado elevado, visto que houve redução de 25% de alginato. Esse valor elevado é indicativo da atuação do silício do vidro bioativo na gelificação, competindo com o cálcio, o que não ocorre nas amostras 100% alginato. Como a massa molar do silício é menor que a do cálcio, menores teores de elementos inorgânicos seriam incorporados ao material, resultando em menor razão da parcela de material orgânico, representada pelo alginato.

O mesmo efeito é responsável pela redução da perda de massa apresentada para as amostras de 50% de vidro bioativo, associado a redução do alginato presente na formulação. Já para as amostras de 75% de vidro, a perda de massa de 39% sugere os mesmos efeitos associados a redução do diâmetro das microesferas, com reação mais vigorosa. O pH reduzido, devido a maior adição do sol precursor de vidro bioativo que possui pH baixo, associado à elevada concentração do sol de vidro pode ter promovido a protonação dos grupos carboxílicos do alginato, diminuindo sua reatividade ao cálcio e silício, resultado em menor diâmetro, com consequente aumento nos teores de alginato, o que leva a perdas de massa elevadas nessa faixa de temperatura.

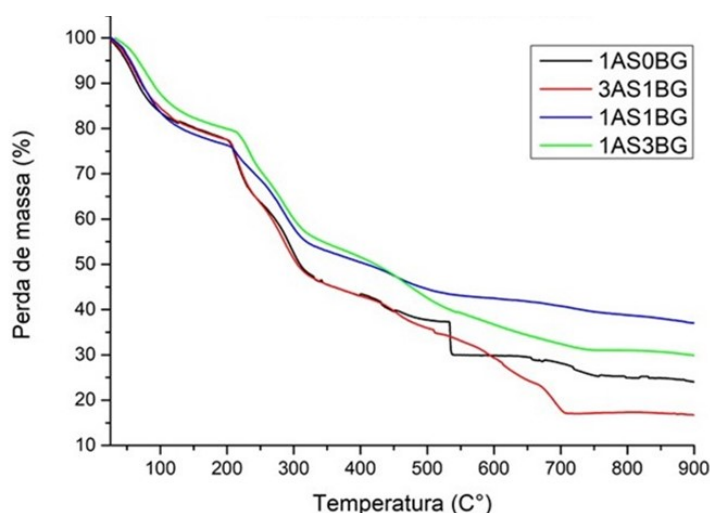


Figura 7: Análise termogravimétrica de microesferas de alginato com (a) 0%BG; (b) 25%BG; (c) 50%BG e (d) 75%BG

Tabela 6: Perdas de massa no ensaio termogravimétrico.

EVENTO TÉRMICO	TEMPERATURA (°C)	PERDA DE MASSA (%)			
		0BG	25BG	50BG	75BG
DESIDRATAÇÃO	22 a 200	23	22	25	21
DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA DO ALGINATO	200 a 530	47	43	31	39
DEGRADAÇÃO DO ALGINATO	530-900	6	18	7	10
RESÍDUO FINAL	900	24	17	37	30

Os valores da termogravimetria observados para faixas de temperatura entre 500 e 900°C sugerem que possa ter havido elevada reação entre o alginato e o cálcio nas amostras de 100% alginato, sendo observada menor perda de massa nessa faixa, em torno de 6% e maior massa residual para a temperatura de 900°C (24%). A adição de 25% de vidro bioativo, como dito sobre a competição entre o cálcio e o silício, nessas faixas de temperatura, corrobora para a maior incorporação de silício em detrimento do cálcio. Nas amostras com 50% de vidro bioativo, a maior adição de vidro promove o evento esperado da redução da perda de alginato e o maior resíduo.

Já para as amostras preparadas com 75% de vidro, nessa faixa de temperatura, as perdas de massa sugerem que deve ter ocorrido a diminuição da incorporação de silício no interior da microesfera, pois a elevada concentração de silício deve promover reticulação mais rápida na interface das esferas e o pH neutralizando os grupos carboxílicos do alginato, associado ao sol do vidro menos viscoso, podem ter limitado o seu volume. Dessa forma foi verificada maior perda de massa nessa faixa de temperatura, em torno de 10% e diminuição no resíduo, em torno de 30%.

A Figura 8 apresenta um esquema sugerido para a formação das microesferas nas diferentes concentrações, desde o momento em que a gota sai da agulha até o fim do processo de reticulação. Esse esquema apresenta a redução do pH do compósito, com sua reticulação, que passa a ser interferida pela adição do fósforo e silício que atuam como reticulante, e redução do diâmetro médio, devido a redução da concentração de alginato e protonação dos grupos carboxílicos devido ao pH baixo. Esse comportamento corrobora os resultados apresentados pela análise termo gravimétrica, com as variações das perdas de massa a partir da adição do vidro bioativo.

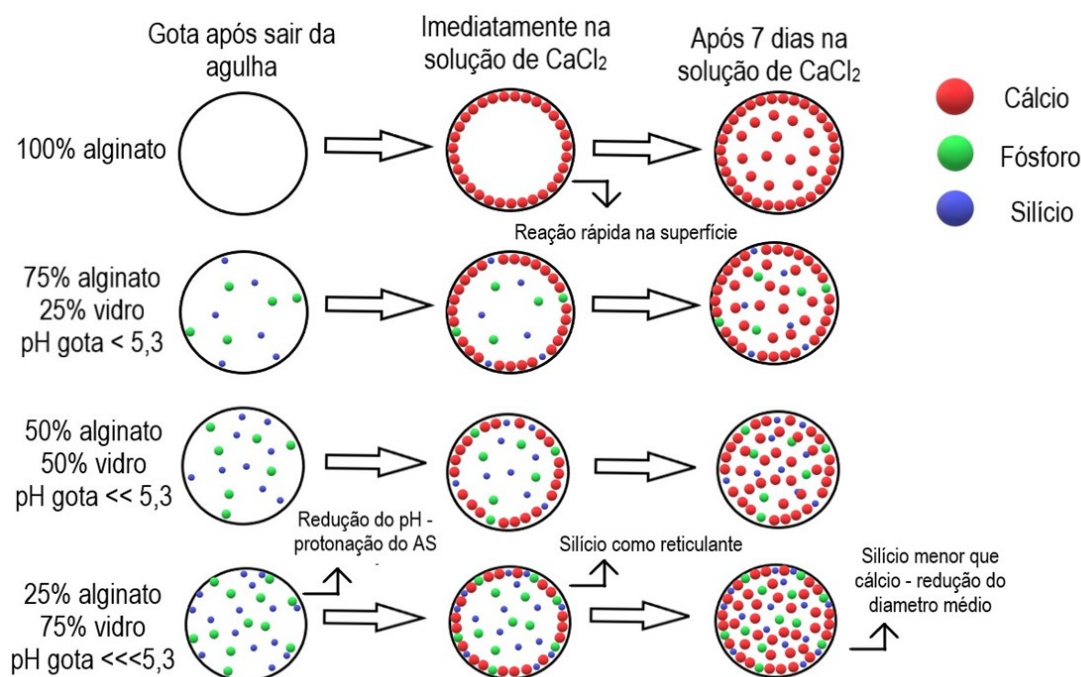


Figura 8: Esquema de formação das microesferas para as diferentes concentrações.

CONCLUSÕES

Foram obtidas microesferas do compósito alginato/vidro bioativo, em diferentes concentrações, com apresentação homogênea e conformação adequada ao processo de gotejamento.

A análise dimensional das microesferas úmidas indicou que a adição de vidro bioativo levou a uma redução do diâmetro médio das microesferas. Amostras submetidas ao processo de secagem indicaram que a adição do vidro bioativo levou a uma maior alteração da morfologia esférica e também levou a uma maior contração volumétrica, com apresentação mais rugosa.

A microscopia indicou dispersão do vidro bioativo na matriz polimérica, sem aparecimento de regiões de segregação. A análise EDS identificou presença de Si e P nas amostras com adição de vidro e valores crescentes de fósforo e cálcio com o aumento da concentração de vidro, o que pode indicar sua atuação como reticulante do alginato e na formação do vidro bioativo.

No ensaio de DRX foram observados que adição do vidro levou a uma redução dos picos do alginato, e aspecto mais amorfo do material. Já a análise de termogravimetria apresentou a variação das perdas de massa para as faixas de temperatura com a adição de vidro bioativo.

A complexidade das interações entre o vidro, o alginato e o reticulante indicaram alguns efeitos associados à atuação do Si e P que podem interferir no tamanho médio das amostras.

A partir dos resultados obtidos, percebe-se que o material possui características favoráveis para sua aplicação como biomaterial. A composição de 75% de vidro bioativo sugere estratégia promissora, visto que associa maior concentração de vidro bioativo na matriz, com manutenção da estrutura e menor valor do diâmetro médio.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CEFET-MG e ao DEMAT pela disponibilidade de estrutura e materiais para realização do projeto. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEN HAMMOUDA, S; ADHOUM, N; MONSER, L. Chemical oxidation of a malodorous compound, indole, using iron entrapped in calcium alginate beads. **Journal of Hazardous Materials**, 301, 350–361, 2016.
- BENVENUTTI, EV *et al.* Materiais híbridos à base de sílica obtidos pelo método sol-gel. **Química Nova**, 32(7), 1926–1933, 2009.
- CAO, Y; WANG, B. Biodegradation of silk biomaterials. **International Journal of Molecular Sciences**, 10(4), 1514–1524, 2009.
- COSTA, Hermes de Souza. Síntese, Caracterização e Avaliação do Comportamento Degradativo de Híbridos Porosos de Poli (Álcool Vinílico)/Vidro Bioativo [Tese], Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.
- DALHEIM, MØ *et al.* Efficient functionalization of alginate biomaterials. **Biomaterials**, 80, 146–156, 2016.
- FERNANDES, RS; MOURA, MR; AOUADA, FA. Otimização da síntese de hidrogéis nanocompósitos intercalados para possível aplicação na área médica. **Química Nova**, 2016.
- HENCH, LL. Bioceramics: From concept to clinic. **Journal of the American Ceramic Society**, 74(7), 1487–1510, 1991.
- HENCH, LL. Sol-gel materials for bioceramic applications. **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, 2(5), 604–610, 1997.
- HENCH, Larry L. **An Introduction to Bioceramics**. 2nd ed., Imperial College Press, 2013.
- LEE, KY; MOONEY, DJ. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, 37(1), 106–126, 2012.
- MELO, Bárbara Machado e. **Síntese e caracterização de matrizes híbridas tridimensionais de vidro bioativo reforçadas com polímero poli (ácido acrílico) (PAA)** [Dissertação], Belo Horizonte: Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, 2016.
- MÜLLER, JM; SANTOS, RL; BRIGIDO, RV. Produção de alginato por microrganismos. **Polímeros**, 21(4), 305–310, 2011.
- NOOEAD, P. *et al.* Development of bioactive glass based scaffolds for controlled antibiotic release in bone tissue engineering via biodegradable polymer layered coating. **Biointerphases**, 9(4), 041001, 2014.

- PAULA, HCB *et al.* Esferas (beads) de alginato como agente encapsulante de óleo de croton zehntneri Pax et Hoffm. **Polímeros**, 20(2), 112–120, 2010.
- PEREIRA, MM *et al.* Preparation of bioactive glass-polyvinyl alcohol hybrid foams by the sol-gel method. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, 16(11), 1045–1050, 2005.
- PIRES, ALR; BIERHALZ, ACK; MORAES, ÂM. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, 2015.
- RODRIGUES, Ana Paula. **Preparação e caracterização de membranas de quitosana e alginato para aplicação na terapia de lesões** [Tese], Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2008.
- RODRIGUEZ-NAVARRO, C *et al.* Effects of ferrocyanide ions on NaCl crystallization in porous stone. **Journal of Crystal Growth**, 243(3–4), 503–516, 2002.
- SILVA, GA *et al.* The effect of starch and starch-bioactive glass composite microparticles on the adhesion and expression of the osteoblastic phenotype of a bone cell line. **Biomaterials**, 28(2), 326–334, 2007.
- SILVA JUNIOR, PE; ORÉFICE, RL. Compósitos bioativos obtidos a partir da inserção de vidro bioativo em matriz de poli(metacrilato de metila). **Polímeros**, 11(3), 109–115, 2001.
- SUNDARRAJAN, P. *et al.* One pot synthesis and characterization of alginate stabilized semiconductor nanoparticles. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, 33(10), 3218–3224, 2012.
- VENKATESAN, J *et al.* Alginate composites for bone tissue engineering: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, 72, 269–281, 2015.
- YANG, JS; XIE, YJ; HE, W. Research progress on chemical modification of alginate: A review. **Carbohydrate Polymers**, 84(1), 33–39, 2011.
- ZENG, Q *et al.* Bioglass/alginate composite hydrogel beads as cell carriers for bone regeneration: BG/ALG Composite Hydrogel Beads. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, 102(1), 42–51, 2014.