

ESTUDO DE CORROSÃO DE AÇOS INOXIDÁVEIS UTILIZADOS COMO BIOMATERIAIS

S. O. Rogero, M. Saiki, O. V. Correa, J. R. Rogero, I. Costa
sorogero@net.ipen.br

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
Av. Prof Lineu Prestes, 2242 - São Paulo - 05508-900

RESUMO

A análise de um material para uso em implantes inclui sua biocompatibilidade: corrosão em meio fisiológico e avaliação da toxicidade dos produtos de corrosão, fatores que contribuem para a rejeição do implante. Atualmente, alguns aços inoxidáveis são usados como biomateriais por apresentarem propriedades físicas e mecânicas adequadas e serem moldados numa variedade grande de tamanhos e formas. Neste trabalho foi investigada a corrosão dos aços inoxidáveis AISI 316L convencional e o mesmo aço produzido por moldagem por injeção (AISI 316L PIM), além do aço inoxidável 17-4 PH, também produzido por moldagem por injeção (17-4 PH PIM). Estas ligas metálicas foram imersas em meio de cultura celular MEM durante 10 dias para o estudo de corrosão e os extratos foram analisados quanto à presença de elementos químicos pela análise por ativação com nêutrons e a presença de elementos tóxicos foi avaliada pelo teste *in vitro* de citotoxicidade. Todos os materiais ensaiados apresentaram comportamento passivo em MEM no potencial de corrosão. O aço AISI 316L convencional apresentou toxicidade maior do que o 316L PIM, sendo que o aço 17-4 PH PIM não mostrou citotoxicidade.

Palavras-Chaves: Corrosão, Aços inoxidáveis, Biomateriais, Citotoxicidade, Análise por ativação com nêutrons

INTRODUÇÃO

Os materiais metálicos que têm sido mais utilizados como biomateriais são os aços inoxidáveis austeníticos, especialmente os tipos 316 e 316L, as ligas cobalto-cromo e o titânio e suas ligas⁽¹⁾. Uma das principais características dos aços inoxidáveis é sua resistência à corrosão⁽²⁾. Aços inoxidáveis produzidos por metalurgia do pó, entretanto, geralmente apresentam resistência à corrosão inferior à dos aços produzidos por metalurgia convencional, devida principalmente à porosidade aberta presente nestes materiais⁽³⁻⁶⁾. A porosidade aberta causa um aumento na área exposta ao meio corrosivo e, conseqüentemente, favorece a corrosão em frestas ou por pite, dependendo do tamanho da cavidade. A formação de células de concentração no interior dos poros reduz a passividade dos aços produzidos por metalurgia do pó⁽⁷⁻⁹⁾. Vários aspectos como porosidade, atmosfera de sinterização, e homogeneidade do pó, podem determinar a taxa de corrosão do material.

A técnica de moldagem por injeção é uma técnica de metalurgia do pó relativamente recente. Esta pode ser aplicada para a produção de materiais metálicos como uma rota alternativa para fabricação de peças sinterizadas de maior resistência à corrosão⁽¹⁰⁻¹¹⁾, que podem ser moldadas numa variedade grande de tamanhos e formas. Apesar da maior resistência à corrosão dos aços produzidos por moldagem por injeção, estas ligas ainda sofrem corrosão quando em contato com meio fisiológico, conseqüentemente liberando elementos que podem apresentar efeitos tóxicos e/ou carcinogênicos no meio, sendo esta a principal limitação ao uso destas ligas.

Portanto, para aplicação dessas ligas metálicas como biomateriais em implantes, essas devem apresentar biocompatibilidade, o que inclui a caracterização do comportamento de corrosão e da avaliação da toxicidade dos produtos de corrosão pois, a liberação de produtos de corrosão para o meio fisiológico pode contribuir para a rejeição do implante.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os diferentes aços utilizados como biomateriais, quanto à corrosão e toxicidade e analisar os produtos liberados no teste de corrosão.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os aços inoxidáveis utilizados neste trabalho foram o AISI 316L convencional, o AISI 316L PIM e o 17-4 PH PIM. Os aços inoxidáveis produzidos por moldagem por injeção (PIM), seguida de pré-

Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências
dos Materiais, 25, 2002, Natal, RN

92749280

sinterização e sinterização, foram fornecidos pela Lupatech S/A, Caxias do Sul. Os resultados da composição elementar das amostras, determinada pelo método instrumental de análise por ativação com nêutrons (INAA), estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição elementar das amostras de aços inoxidáveis

Elementos	AISI 316L	AISI 316L PIM	17-4 PH PIM
As, $\mu\text{g g}^{-1}$	46,8 \pm 0,4*	17,5 \pm 0,6	16,7 \pm 0,4
Co, $\mu\text{g g}^{-1}$	1229 \pm 16	2388 \pm 31	247 \pm 4
Cr, %	17,80 \pm 0,03	14,81 \pm 0,02	15,49 \pm 0,02
Cu, %	ND**	0,37 \pm 0,03	4,4 \pm 0,2
Fe, %	57,8 \pm 0,2	60,0 \pm 0,2	70,0 \pm 0,2
Mn, %	1,44 \pm 0,02	0,179 \pm 0,002	0,196 \pm 0,002
Mo, %	1,97 \pm 0,12	1,88 \pm 0,01	ND
Ni, %	12,9 \pm 0,1	11,61 \pm 0,09	4,27 \pm 0,04
V, $\mu\text{g g}^{-1}$	120 \pm 23	763 \pm 14	793 \pm 11

* A incerteza foi obtida considerando erros nas medidas das taxas de contagens do padrão e amostra.

** ND – Não detectado

Os parâmetros de pré-sinterização e sinterização são dados na Tabela 2. As densidades do AISI 316L PIM e do 17-4PH PIM sinterizados foram 7,59 e 7,61 g.cm^{-3} , respectivamente[12].

Tabela 2. Parâmetros de pré-sinterização e sinterização.

Processo	Aço	T ($^{\circ}\text{C}$)	Tempo (h)	Atmosfera de sinterização
Pré-sinterização	316 L	980	1	H ₂
	17-4 PH	980	1	H ₂
Sinterização	316L	1300	4	(Ar + H ₂)
	17-4 PH ^(b)	1350	3	(Ar + H ₂)

Ensaio de Corrosão:

As ligas de aço inoxidável, após limpeza e esterilização em autoclave foram imersas em meio de cultura celular MEM (meio mínimo de Eagle) na proporção de 1 cm^2 de área superficial/mL de MEM, e deixadas em estufa a 37 $^{\circ}\text{C}$ por 10 dias. Decorrido o tempo de incubação, as ligas metálicas foram retiradas e suas superfícies examinadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e o MEM resultante, denominado extrato, foi dividido e encaminhado para análise química e análise de toxicidade.

Investigou-se também neste estudo a suscetibilidade à corrosão intergranular dos aços utilizados, uma vez que este tipo de corrosão eventualmente pode ocorrer com estes aços, caso sofram processo de sensitização. A suscetibilidade à corrosão intergranular foi avaliada pela norma ASTM A262 Prática A modificada, utilizando-se como solução para ataque eletrolítico o persulfato de sódio.

Análise dos Produtos de Corrosão:

1. Análise química

Os elementos das ligas de aço inoxidável e dos seus produtos de corrosão foram analisados pelo método INAA, de acordo com o procedimento descrito em trabalho anterior⁽¹³⁾. Para isso 500 microlitros de cada extrato foram pipetados e secos em capsulas de polietileno de alta pureza da Faculty of Biology (Vrije Universiteit, Amsterdam) para irradiação no reator IEA-R1 com os padrões sintéticos de elementos. As amostras juntamente com os padrões foram irradiados por 5min e 16h sob um fluxo de nêutrons térmicos de $5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Após adequados tempos de decaimento, as medidas da radiação gama induzida foram realizadas usando um detector de Ge hiperpuro ligado a um espectrômetro de raios gama. A análise do branco (cápsula de polietileno + meio de cultura celular) foi realizada usando as mesmas condições experimentais adotadas nas análises dos extratos.

2. Análise de toxicidade

A toxicidade dos produtos de corrosão foi avaliada *in vitro*, colocando-se diluições seriadas do extrato da liga em contato com uma cultura de células NCTC clone L929 da ATCC, em microplaca de 96 poços, no ensaio de citotoxicidade^(14,15).

Se no extrato estiverem presentes elementos tóxicos as células serão lesadas ou mortas. A lesão ou morte celular é verificada com a adição do corante vital vermelho neutro, após contato entre o extrato e a cultura celular, de 24h.

Após substituição do extrato por MEM contendo vermelho neutro, a microplaca é deixada em estufa 37°C/3h, para incorporação do corante. Decorrido este período a solução é descartada, a placa é lavada com solução tampão fosfato-salina e o vermelho neutro é liberado pela ruptura celular com uma solução alcoólica de ácido acético e a leitura da densidade óptica (DO) da solução colorida resultante é realizada em espectrofotômetro, leitor de ELISA, em 540nm. Através da DO foi calculada a % de viabilidade celular em relação ao controle de células (100%).

Neste ensaio foram utilizados como controle negativo placa de Ti e como controle positivo uma solução de fenol 0,02%. Os controles devem seguir o mesmo tratamento das amostras. Foi utilizado também um controle de células que durante o processo recebeu meio de cultura MEM fresco no lugar do extrato.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

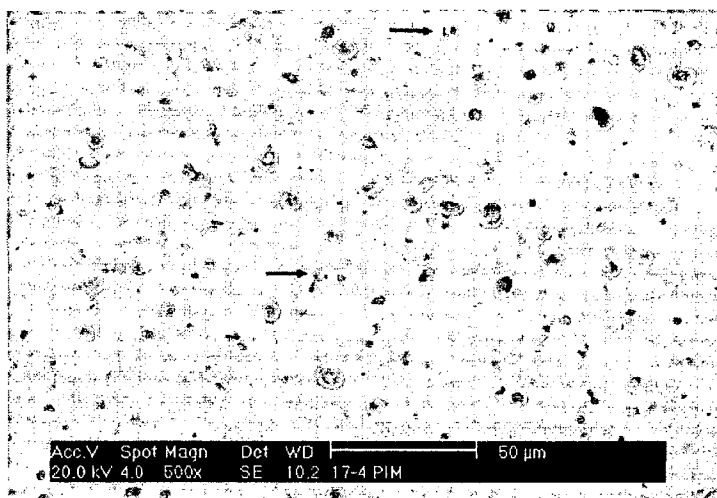
Os resultados das análises químicas dos extratos de ligas de aço inoxidável apresentados na Tabela 3 indicam que a corrosão destes materiais foi muito baixa, praticamente inexistente, no tempo de ensaio adotado, de 10 dias. Somente o Co foi encontrado em quantidades superiores as do branco (cápsula + meio de cultura). As concentrações dos elementos Ca, Cr e Zn foram da mesma ordem de grandeza dos valores do branco. O elemento Ni presente em teores relativamente altos nas ligas não foi detectado nos extratos devido seu valor de limite detecção nesses extratos.

Tabela 3. Concentrações de elementos nos extratos de aços inoxidáveis e no branco, obtidas pelo método de INAA.

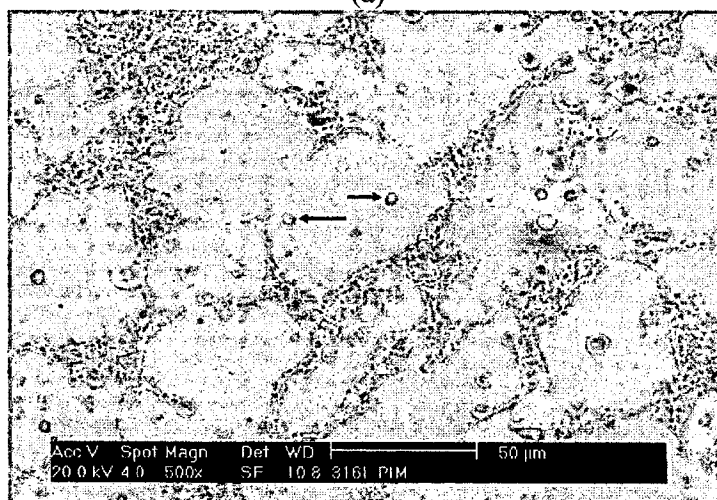
Elementos	Extrato			Branco
	AISI 316L	AISI 316L PIM	17-4 PH PIM	
Ca, ng mL ⁻¹	82 ± 11	110 ± 15	91 ± 7	81 ± 8
Co, ng mL ⁻¹	6,6 ± 0,2	8,8 ± 0,2	6,3 ± 0,2	0,0014 ± 0,0001
Cr, ng mL ⁻¹	792 ± 5	774 ± 13	761 ± 4	618 ± 3
Ni, ng mL ⁻¹	≤ 0,61	≤ 0,61	≤ 0,61	≤ 0,61
Zn ng mL ⁻¹	0,40 ± 0,01	0,31 ± 0,02	0,36 ± 0,01	0,45 ± 0,02

A observação da superfície por MEV confirmou a alta resistência dos materiais testados, nas condições de ensaio adotadas neste estudo, meio de cultura celular MEM à 37°C, não sendo observada alteração nas características das superfícies dos aços após o ensaio de corrosão.

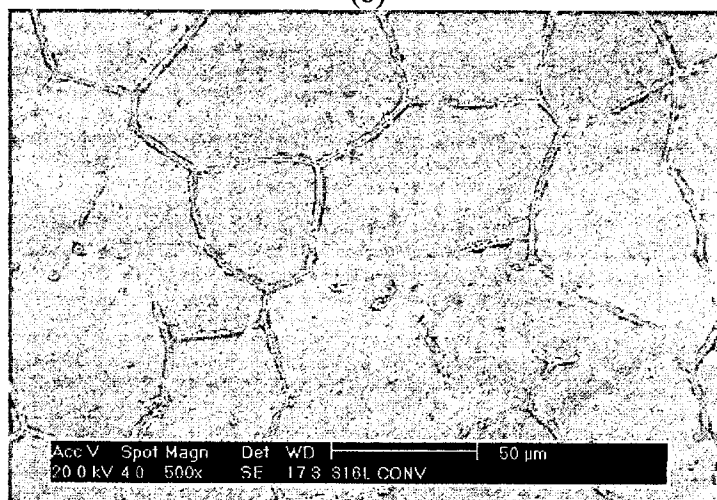
Os resultados do estudo da susceptibilidade à corrosão intergranular para os três tipos de aço testados são mostrados na Fig 1.



(a)



(b)



(c)

Figura 1. Micrografias dos aços tratados a 650 °C por 1 h seguido de ataque eletrolítico em persulfato de sódio. (a) 17-4PH PIM, (b) 316L PIM, (c) 316L.

Nota-se que todos os aços produzidos por moldagem por injeção (PIM) apresentaram estruturas similares após o ataque, que correspondem à estrutura "End-Grain Pitting I", Fig 1a e 1b,

isto é, nenhum dos aços produzidos por metalurgia do pó mostrou tendência ao ataque intergranular. Observam-se inclusões de óxido dentro dos poros (indicadas com setas), o que confirma resultados de outros pesquisadores (16,17). Áreas de poros com inclusões de óxidos diminuem a resistência à corrosão do material, podendo causar a corrosão por pite. Em trabalho realizado anteriormente com a liga 316L PIM (18), utilizando análise dispersiva, mostrou que estas partículas (contêm) consistem de SiO_2 . Estas partículas devem ficar presas dentro dos poros durante o processo de fabricação, o que deve reduzir a resistência à corrosão por pite do aço fabricado por moldagem por injeção. O aço inoxidável AISI 316L convencional, por sua vez, mostrou apenas um leve ataque nos contornos do grão, não se notando a presença de pites na superfície do material, o que indica uma maior resistência à corrosão por pite associada a estes aços. Estudos para avaliação da tendência destes materiais à corrosão por pite, em soluções simulando meios fisiológicos, estão em andamento.

No ensaio de citotoxicidade a média da porcentagem de viabilidade celular em função da concentração do extrato, lançada em gráfico fornece a curva de viabilidade celular, mostrado na Fig 2. Através desta curva obtém-se o índice de citotoxicidade ($\text{IC}_{50\%}$) que significa a concentração do extrato que induz 50% de inibição de captação de vermelho neutro.

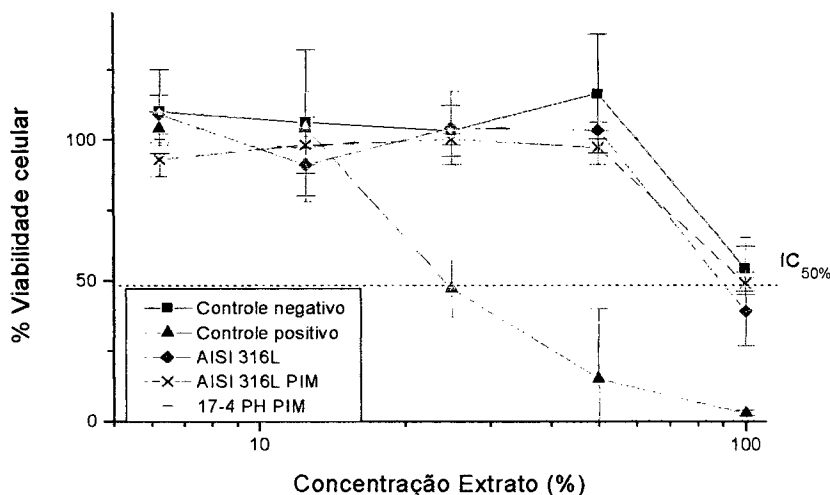


Figura 2. Teste de Citotoxicidade: Curvas de viabilidade celular de aços inoxidáveis utilizados como biomateriais em implantes.

A fig 2 mostra as curvas de viabilidade celular dos diferentes tipos de aços inoxidáveis utilizados como biomateriais em implantes. Os aços AISI 316L PIM e 17-4 PH PIM apresentaram comportamento semelhante ao controle negativo, com $\text{IC}_{50\%} > 100$, não tóxicos. O AISI 316L mostrou-se praticamente atóxico, com $\text{IC}_{50\%}$ de 92, sendo que o controle positivo apresentou-se tóxico, com $\text{IC}_{50\%}$ de 26.

CONCLUSÃO

Os resultados das análises químicas dos extratos comprovaram a alta resistência à corrosão das ligas de aço inoxidável investigadas neste trabalho uma vez que não foram detectados nos produtos da corrosão os elementos constituintes das ligas, com exceção do Co, porém em concentrações muito baixas. Os aços testados não apresentaram suscetibilidade à corrosão intergranular. A microestrutura dos aços PIM sugere a tendência destes a corrosão por pite, embora os testes para avaliação da tendência à corrosão por pite em meio de cultura celular ainda não tenha sido realizada. A citotoxicidade dos produtos de corrosão foi verificada nos extratos dos aços AISI 316L, AISI 316L PIM e 17.4 PH PIM e os resultados mostraram que todos esses aços podem ser praticamente considerados atóxicos.

AGRADECIMENTOS

by *in vitro* test of cytotoxicity. All the samples presented in the corrosion potential passive behavior in MEM. Conventional AISI 316L showed higher toxicity than 316L PIM, and 17-4 PH PIM sample did not present cytotoxicity.

Keywords: corrosion, stainless steel, biomaterials, cytotoxicity, neutron activation analysis