

ESTUDO DA DEPOSIÇÃO DE REVESTIMENTO BIOMIMÉTICO EM TITÂNIO
POROSO PARA IMPLANTES CIRÚRGICOS

Waléria Silva de Medeiros

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA COORDENAÇÃO DOS
PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS EM
ENGENHARIA METALÚRGICA E DE MATERIAIS

Aprovada por:

Prof. Luiz Carlos Pereira, DSc.

Dra. Marize Varella de Oliveira, DSc.

Prof^a. Renata Antoun Simão, DSc.

Prof. Carlos Alberto Alves Cairo, DSc.

Prof^a. Mônica Calixto Andrade, DSc

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

MARÇO DE 2006

MEDEIROS, WALÉRIA SILVA DE

Estudo da Deposição de Revestimento
Biomimético em Titânio Poroso para Im-
plantas Cirúrgicos [Rio de Janeiro] 2006

VIII, 99 p. 29,7 cm (COPPE/UFRJ, M.Sc.,
Engenharia Metalúrgica e de Materiais, 2006)

Dissertação – Universidade Federal do Rio de
Janeiro, COPPE

- 1) Biomateriais
- 2) Titânio Poroso
- 3) Revestimento Biomimético

I. COPPE/UFRJ II. Título (série)

Um só é o Mestre e todos vós sois irmãos.

Mt. 23, 8.

AGRADECIMENTOS

- A Kazik pelo apoio e incentivo.
- Ao Prof. Luiz Carlos Pereira pela orientação e oportunidade da realização deste trabalho.
- A incansável Dra. Marize Varella de Oliveira (Instituto Nacional de Tecnologia, INT/RJ) pela orientação, paciência e disponibilidade no esclarecimento de inúmeras dúvidas desde o início, incentivo para publicação de diversos trabalhos científicos e pela “luta” por aparelhos de última geração (quase impossíveis) para caracterização do material.
- A Dra. Mônica Calixto de Andrade (Instituto Politécnico da UERJ) pelo importante esclarecimento de diversas dúvidas e sugestões para este trabalho.
- Ao Prof. Carlos Alberto Cairo (Centro Técnico Aeroespacial, CTA/SP) pelo fornecimento de equipamentos necessários.
- Aos bolsistas Leonardo Moura Reis, Luciano de Lima e Rone Felipe do Instituto Nacional de Tecnologia (INT/RJ) pela dedicação e competência nas etapas experimentais importantes para esta tese.
- Ao Laércio Guzela, pela dedicação e auxílio fundamentais na realização de etapas experimentais e análises no Laboratório Termic/PEMM-UFRJ.
- Aos funcionários do INT, em especial Nilza Moutinho, Antônio José, Cássio Barbosa e José Brant, pela dedicação, sugestões e análises durante as etapas desta tese.
- A todos os funcionários do laboratório de microscopia eletrônica, principalmente a Márcia Sader e ao Felipe Sabatino pela competente realização das análises em microscópio eletrônico de varredura do PEMM-UFRJ.
- Ao Prof. Waldemar e ao Sr. Renato de Mendonça do (Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, CDTN/MG) pela importante colaboração nas análises das amostras em XPS.
- Aos funcionários do CTA pela dedicação e competência na realização da sinterização.
- Ao Laboratório de Cerâmicas Dentais do PEMM-UFRJ e ao doutorando Vinícius Bemfica pelo suporte na realização do pré-tratamento químico.
- Aos membros do Laboratório de Corrosão e Laboratório de Biomateriais para Engenharia Óssea do PEMM-UFRJ pela prestimosa colaboração e utilização de equipamentos.

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

ESTUDO DA DEPOSIÇÃO DE REVESTIMENTO BIOMIMÉTICO EM TITÂNIO POROSO PARA IMPLANTES CIRÚRGICOS

Waléria Silva de Medeiros

Março/2006

Orientadores: Luiz Carlos Pereira

Marize Varella de Oliveira

Programa: Engenharia Metalúrgica e de Materiais

O presente trabalho apresenta o desenvolvimento de uma metodologia utilizada na produção de um revestimento biomimético em titânio puro poroso fabricado via metalurgia do pó para utilização em implantes cirúrgicos. A porosidade deste material promove o crescimento ósseo dentro dos poros e reduz o módulo de elasticidade do material, melhorando a fixação óssea dos implantes cirúrgicos. Uma alternativa para a redução dos custos da fabricação do titânio é a utilização das tecnologias *near-net-shape*, como a metalurgia do pó usada neste trabalho, que permite um melhor aproveitamento da matéria-prima e a redução da temperatura de processamento. A fim de melhorar as características de biocompatibilidade e bioatividade do titânio poroso, foi estudado neste trabalho a utilização do processo biomimético para obter um revestimento na forma de um filme de fosfato de cálcio (hidroxiapatita). Este fosfato de cálcio possui composição similar ao osso e tem a finalidade de acelerar uma ligação química do titânio com o tecido ósseo, diminuindo o período de fixação óssea dos implantes cirúrgicos. Foram utilizadas diversas condições de tratamento superficial para avaliar a que melhor se aplica ao titânio com macro e micro porosidade. Os resultados mostraram que o processo biomimético utilizado levou à precipitação de um filme de fosfato de cálcio na superfície do titânio poroso.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

Waléria Silva de Medeiros

March/2006

Advisors: Luiz Carlos Pereira

Marize Varella de Oliveira

Department: Metallurgy and Materials Engineering

This work presents a method for the production of a biomimetic coating on pure porous titanium manufacture by powder metallurgy for surgical implants. Porous titanium promotes bone ingrowth into pores and reduces material Young's modulus. Therefore, it improves the bone fixation of surgical implants. A method to reduce the titanium processing costs is the *near-net-shape* technologies (powder metallurgy) which allow the total use of raw material and reduce the processing temperature. In order to enhance the porous titanium biocompatibility and bioactivity, this work studied a biomimetic method for calcium phosphate coating, such as hydroxyapatite. This phosphate has bonelike composition and promotes titanium chemical bond to bone tissue, so it stimulates bone fixation of implants. Some pre-treatments and biomimetic conditions were studied in order to find the best one for porous titanium with macro and microporosity. The results showed that the biomimetic process led to deposition of calcium phosphate film on porous titanium surface.

ÍNDICE DE TEXTO

	Página
CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
II. 1 - Propriedades do Titânio e suas Ligas	3
II. 2 - Implantes Porosos	6
II. 3 - Implantes Porosos Fabricados via Metalurgia do Pó	11
II. 4 - Revestimentos de Fosfatos de Cálcio no Titânio	13
II. 5 - Processos Biomiméticos	15
II. 5.1 - Camada de Óxido de Titânio	17
II. 5.2 - Pré-tratamentos Químicos e Térmicos	18
II. 5.3 - Íons Cálcio e Fosfato no Corpo Humano	20
II. 5.4 - Formação de Fosfatos de Cálcio em FCS	21
CAPÍTULO III – MATERIAIS E MÉTODOS	
III. 1 - Matérias Primas	25
III.1.1 - Caracterização das Matérias Primas	
III. 1.1.1 - Análise Química	25
III.1.1.2 - Análise Morfológica	26
III.1.1.3 - Distribuição Granulométrica dos Pós	27
III. 2 - Processamento dos Pós	28
III.3 - Pré-tratamentos Químico e Térmico	31
III.4 - Processo Biomimético	31
III.5- Caracterização das Amostras	
III.5.1 - Análise Morfológica	35
III.5.2 - Análise Quantitativa da Porosidade	35
III.5.3 - Análise por Difração de Raios X	35
III.5.4 - Análise por Infravermelho	36
III.5.5 - Análise por Espectroscopia de XPS	36

CAPÍTULO IV – RESULTADOS	
IV. 1 - Caracterização das Matérias Primas	39
IV.2 - Caracterização das Amostras Biomiméticas	
IV.2.1- Análise Morfológica	39
IV.2.2 - Análise Quantitativa da Porosidade	68
IV.2.3 -Análise por Difração de Raios X	69
IV.2.4 - Análise por Infravermelho	69
IV.2.5 - Análise por Espectroscopia de XPS	74
CAPÍTULO V – DISCUSSÃO	80
CAPÍTULO VI - CONCLUSÕES	90
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	92
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

I. INTRODUÇÃO

Durante séculos, a perda ou dano de uma parte do corpo humano significava remoção cirúrgica, perda da função, isolamento social e principalmente distúrbios psicológicos. Este quadro começou a mudar com o progresso das ciências biomédicas.

A partir do século 20 houve um grande progresso na área dos biomateriais. Atualmente há diversos biomateriais metálicos, cerâmicos, poliméricos e compósitos usados pela medicina e odontologia capazes de reabilitar os pacientes. Portanto, os biomateriais são fundamentais na melhoria da qualidade de vida de uma população.

O titânio comercialmente puro e suas ligas representam o grupo de biomaterial metálico com as melhores propriedades mecânicas e de biocompatibilidade. Dentre estes se destaca o titânio poroso, por promover o crescimento do tecido ósseo dentro da estrutura porosa. Para aumentar as características de biocompatibilidade e bioatividade tecidual do titânio, tem sido recomendado o uso de recobrimento do titânio com hidroxiapatita. A hidroxiapatita acelera o período de fixação óssea e aumenta a longevidade do implante cirúrgico. Diversas técnicas de revestimento de hidroxiapatita podem ser aplicadas, mas vêm se destacando os processos biomiméticos.

Materiais usados em implantes cirúrgicos são testados em modelos *in vivo* (animais) e em modelos *in vitro* por meio de soluções que simulam o fluido corpóreo. Essa metodologia baseia-se nas propriedades físicas, químicas e mecânicas dos materiais, fornecendo informações se o material pode ser implantado com segurança nos seres humanos. Nos modelos *in vitro*, o material é submetido aos efeitos das soluções aquosas simulando a parte inorgânica do plasma sanguíneo na presença ou não de cultura de células. Os processos biomiméticos relatados na literatura não foram padronizados. Portanto, é necessário mencionar se foram aplicados pré-tratamentos químicos e térmicos e as condições da solução simuladora utilizada: composição, temperatura, pH e o tempo de exposição do material. O fluido corpóreo simulado (FCS) é o mais usado entre as soluções, pois atua como parte inorgânica do plasma sanguíneo humano.

O objetivo deste trabalho é melhorar as características de biocompatibilidade do substrato de titânio puro poroso, fabricado via metalurgia do pó, por meio de processo biomimético. A metodologia estudada envolve as etapas de tratamento químico, tratamento térmico e tempo de imersão em fluido corpóreo simulado modificado

(mFCS) em diferentes tempos. Visando desenvolver um método de revestimento mais eficaz para as amostras de titânio poroso, optou-se pelo uso de FCS modificado segundo pesquisa anterior do Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais (PEMM/UFRJ). Nestes estudos foram empregados diferentes temperaturas de tratamento térmico e de tempo de imersão em mFCS.

O número de publicações sobre os processos biomiméticos *in vitro* aplicados em implantes de titânio poroso é bastante reduzido. Portanto, este trabalho visa contribuir para um melhor conhecimento desse processo aplicado a este biomaterial.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II. 1 - Propriedades do Titânio e suas Ligas

O titânio e suas ligas são materiais bastante utilizados em aplicações médicas e odontológicas, especialmente quando é necessária a combinação de propriedades como a resistência mecânica, ductilidade, módulo de elasticidade, resistência à fadiga, alta resistência à corrosão e biocompatibilidade (HELSEN *et al.*, 1998; OH *et al.*, 2003). A figura II. 1 apresenta uma seqüência de fotos que mostra as etapas da reabilitação oral de um paciente por meio de implantes dentários na maxila e posterior colocação de uma “*overdenture*” (prótese sobre implante), comprovando a importância da utilização do titânio como um biomaterial.

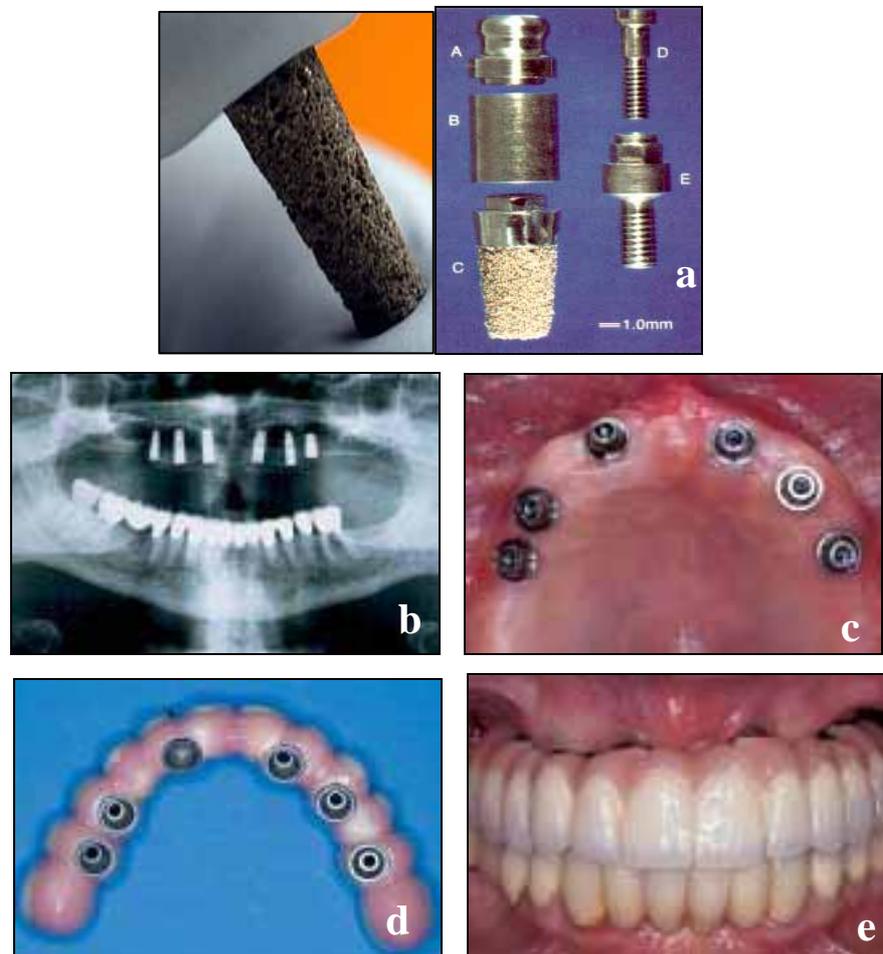


Figura II.1 - Reabilitação oral com a colocação de implantes dentários na maxila e prótese tipo “*overdenture*”: (a) implante dentário de titânio poroso; (b) radiografia panorâmica com 6 implantes dentários na maxila; (c) 6 implantes dentários colocados na maxila; (d) “*overdenture*” para maxila; (e) reabilitação do paciente com a “*overdenture*” na maxila.

A tabela II.1 apresenta a classificação do titânio comercial puro de acordo com a designação ASTM B 265 , com os valores de resistência à tração e composição química. As classes de maior pureza, com menor quantidade de elementos intersticiais, possuem resistência, dureza e temperatura de transição mais baixas. Os elementos intersticiais com raio atômico pequeno (O, H e N) alteram significativamente as propriedades do titânio (BRÈME, 1998).

Tabela II.1 - Classificação do titânio comercialmente puro, segundo a norma ASTM B 265.

Designação ASTM B 265	Resistência à Tração MPa	N (max.)	C (max.)	H (max.)	Fe (max.)	O (max.)
Grau 1	290 - 410	0,03	0,10	0,015	0,20	0,18
Grau 2	390 - 540	0,03	0,10	0,015	0,30	0,25
Grau 3	460 - 590	0,05	0,10	0,015	0,30	0,35
Grau 4	540 - 740	0,05	0,10	0,015	0,50	0,40

O titânio possui baixas taxas de liberação de íons metálicos quando implantado, oferecendo boa estabilidade química no corpo humano. A toxicidade clínica do titânio nos tecidos humanos é da ordem de 2000 ppm, considerada assim como de pequena concentração. Este fato indica que este metal não provoca reações do sistema imunológico (HELSEN *et al.*, 1998; OH *et al.*, 2003). Apesar das diversas vantagens deste material, o custo do titânio é muito alto, o que limita a sua aplicação. Uma alternativa para a redução dos custos da fabricação industrial é aplicação das tecnologias “*near-net-shape*” nas quais o produto apresenta a forma definitiva em poucas etapas, como a metalurgia do pó, permite um melhor aproveitamento da matéria-prima, a eliminação de operações complementares a exemplo da usinagem, além da possibilidade de obtenção de produtos com rígido controle de composição química e microestrutural (FROES *et al.*, 1985).

Segundo BRÈME *et al.* (1989) e WACK *et al.* (1989), um dos principais problemas no uso dos implantes é a grande diferença entre o módulo de elasticidade desses materiais quando comparado com o osso humano (Tabela II.2). As tensões funcionais sobre os implantes criam tensões de cisalhamento na interface osso-implante,

danificando o osso e provocando o afrouxamento do implante. O implante ideal deve possuir rigidez próxima ao osso humano, tornando-se isoelástico, de modo a transferir apropriadamente a carga do implante ao osso. OH *et al.* (2003) revelaram que as tensões exercidas sobre os implantes “*stress-shielding*” (o titânio age como um escudo impedindo a transferência de tensões do osso ao implante) dificultam a remodelagem óssea e a cicatrização, aumentando a porosidade óssea. Um método para reduzir a força de cisalhamento e o módulo de elasticidade dos materiais metálicos é torná-los porosos, minimizando os danos aos tecidos adjacentes ao implante, promovendo a interligação osso-implante poroso, aumentando a fixação óssea e prolongando sua duração. A geometria superficial do implante promove o crescimento ósseo dentro dos poros e não serve apenas de ancoragem para fixação, mas como um sistema que transfere a carga do implante ao osso. A tabela II.2 compara os módulos de elasticidade do osso humano e dos biomateriais metálicos, LONG *et al.* (1998).

Tabela II.2 - Módulos de elasticidade do osso humano e dos biomateriais metálicos.

Material	Módulo de Elasticidade (GPa)
Aço Inoxidável	200-210
Ligas de Cobalto	200-230
Titânio	105
Ligas de Titânio	55-113
Osso	10-40

A resposta óssea e o sucesso dos implantes dependem das propriedades químicas e físicas da sua superfície (BIGI *et al.*, 2005; KIM *et al.*, 2000; NISHIGUCHI *et al.*, 1999). O titânio é considerado um material bioinerte, podendo ser transformado em material bioativo quando tratado quimicamente e termicamente. Este titânio bioativo mostra uma capacidade de formação de fosfatos de cálcio *in vitro*, hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), que poderá se ligar diretamente ao osso quando implantado (FUJIBAYASHI *et al.*, 2004; WEI *et al.*, 2002b).

A osteocondução é um processo no qual um material, hidroxiapatita (HAp), serve de arcabouço para o crescimento ósseo. A osteoindução é um mecanismo

estimulador de neoformação óssea (ILAN *et al.*, 2003). O titânio bioativo é osteocondutor, mas não osteoindutor (FUJIBAYASHI *et al.*, 2004; WEI *et al.*, 2002b). NAKAMURA *et al.* (2004) relataram que implantes de titânio porosos tratados com solução alcalina e tratamento térmico são osteocondutores quando usados em artroplastia total do quadril. FUJIBAYASHI *et al.* (2004) relataram que alguns biomateriais podem ser osteoindutores na presença adicional de agentes osteoindutores (como as proteínas ósseas morfogênicas e fatores de crescimento).

Entretanto, alguns biomateriais à base de fosfato de cálcio foram identificados como osteoindutores quando possuem estrutura porosa. Induzem a formação óssea sem a necessidade adicional de células osteogênicas. A implantação em tecidos moles comprova a indução óssea pelo biomaterial. Alguns fatores importantes para a osteoindução são: a composição química do biomaterial, propriedades específicas de dissolução do biomaterial e morfologia da superfície. Clinicamente, um biomaterial ideal deve agir como substituto ósseo sendo osteocondutor, osteoindutor e com propriedades mecânicas adequadas (FUJIBAYASHI *et al.*, 2004).

O mecanismo de osteoindução dos biomateriais não é completamente compreendido. Portanto, não se sabe ao certo se é o biomaterial ou, possivelmente, a interação entre o biomaterial e as proteínas corpóreas os responsáveis pelo processo de indução óssea. Para iniciar a diferenciação das células osteoprogenitoras indiferenciáveis (células precursoras ósseas) em células formadoras de osso, a composição química e a geometria do material em contato com as células são fundamentais. Portanto, o microambiente em torno das células é fundamental para osteocondução e osteoindução (HABIBOVIC *et al.*, 2005).

II.2 - Implantes Porosos

JONÁSOVÁ *et al.* (2004), NISHIGUCHI *et al.* (2001) e SYKARAS *et al.* (2000) mostraram que os implantes de titânio com superfície lisa quando não submetidos às solicitações mecânicas durante algum tempo possuem uma tendência a serem encapsulados por tecido fibroso e apresentam força de ligação óssea reduzida. Na maioria dos casos, não há osseointegração (conexão direta, estrutural e funcional do osso com a superfície de um implante submetido a uma carga funcional) no caso dos implantes metálicos com superfície lisa em artroplastia total do quadril não cimentada.

Segundo BARRÈRE *et al.* (2003), a presença de tecido fibroso afeta a fixação óssea dos implantes, levando, a descalcificação e finalmente na perda dos implantes. Entretanto, NISHIGUCHI *et al.* (2001) afirmaram que tratamentos alcalinos e térmicos aplicados aos implantes cirúrgicos aumentam a força de ligação óssea na superfície do titânio liso submetidos à solitação mecânica.

Visando a melhoria da fixação dos implantes de titânio, diversas técnicas têm sido investigadas. NISHIGUCHI *et al.* (2001) afirmaram que dispositivos protéticos não cimentados com superfície porosa são cada vez mais usados como uma alternativa às próteses convencionais cimentadas. Esta superfície porosa estimula o crescimento de tecido ósseo dentro da estrutura porosa, levando a uma melhor fixação do implante. Além disso, reduz o tempo para a fixação mecânica do implante que em geral exige um longo período de imobilização da aérea reabilitada (KIM *et al.*, 2000; LIANG *et al.*, 2003; NAKAMURA *et al.*, 2004; RIGO *et al.*, 2004). A morfologia da superfície afeta a força de ancoragem óssea dos implantes, já que superfícies porosas apresentam uma ancoragem mecânica, evitando a perda dos parafusos de implantes ou a perda de próteses ortopédicas não cimentadas (WILKE *et al.*, 1990).

Segundo HAHN e MIURA (1985), o comportamento de um implante com revestimento poroso está relacionado com a fração volumétrica e tamanho dos poros. O tamanho de poro mínimo exigido para o crescimento ósseo é aquele que evita a formação de tecidos moles entre o implante e o tecido ósseo. A conectividade entre os poros permite a penetração do tecido ósseo e sua vascularização. JONES (2001) relatou que a percentagem de macroporosidade deve estar na faixa 30-90%, com tamanho desses poros na faixa de 50-500 μm e a microporosidade na faixa de 1-50 μm .

Segundo HABIBOVIC *et al.* (2005), a presença de macroporos parece ser pré-requisito para a osteoindução pelos biomateriais. Macroporos interconectados são importantes para um suprimento eficiente de fluidos corpóreos com nutrientes por todo o implante. Além disso, HABIBOVIC *et al.* (2004), relataram que os formatos de implantes ortopédicos modernos incluem a combinação de materiais metálicos porosos e revestimentos de fosfato de cálcio (CaP) para aumentar ainda mais a integração óssea devido à interligação mecânica. HABIBOVIC *et al.* (2005) verificaram a liberação de íons cálcio e fosfato, podendo ser esta atividade química a origem da bioatividade dos biomateriais contendo de fosfato de cálcio seguida da precipitação da hidroxiapatita biológica. A precipitação ocorre quando há as concentrações de íons de cálcio e fosfato

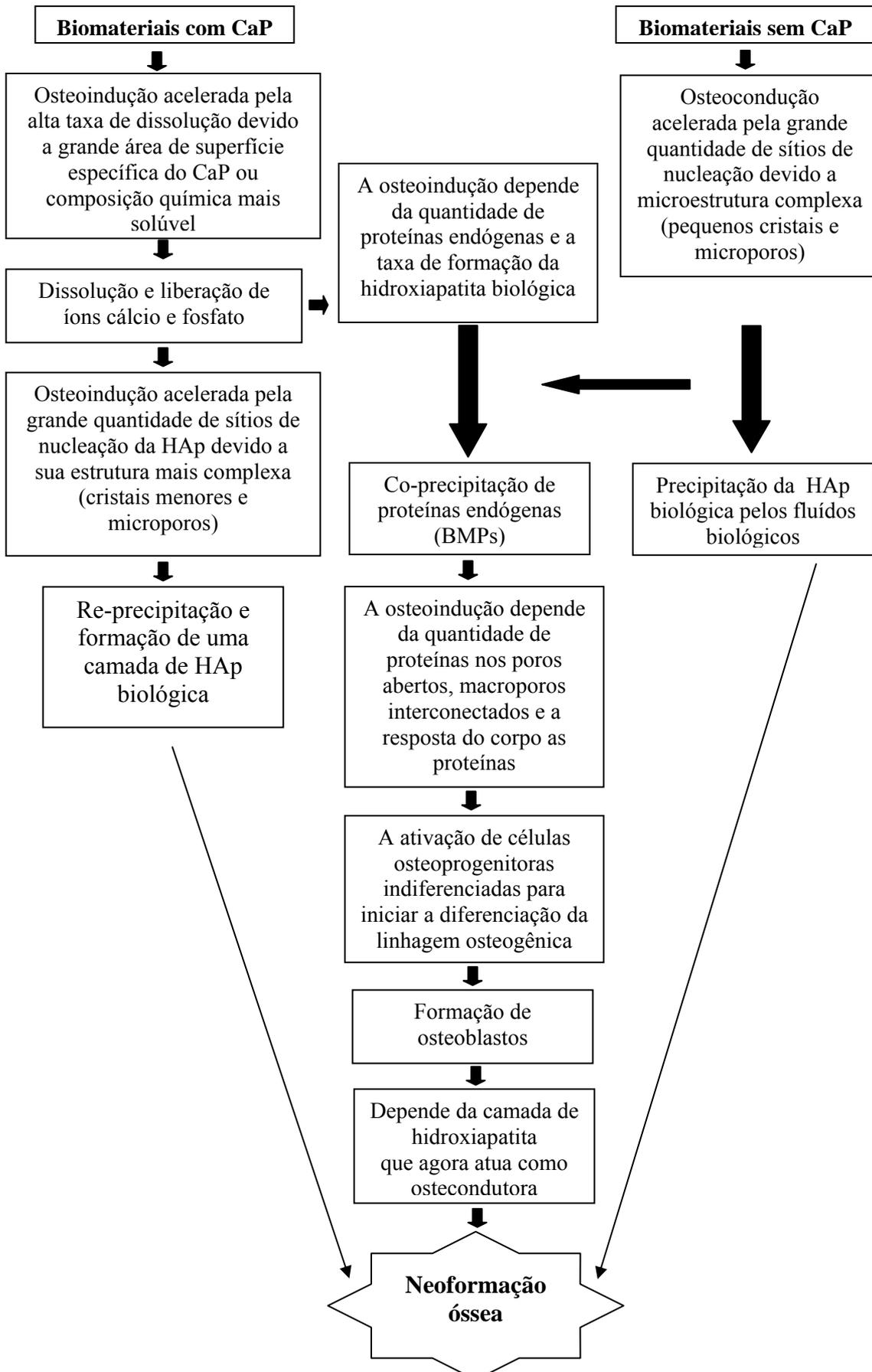
atingem a supersaturação. Talvez isto explique o fato da osteoindução ocorrer nos poros no centro do implante e não na periferia. Acredita-se que a difusão de íons cálcio e fosfatos ocorra rapidamente na periferia do implante, não permitindo o aumento da concentração de íons necessárias para a formação da HAp biológica.

O mecanismo de osteoindução ainda não é completamente compreendido. Portanto, não se sabe se é o biomaterial ou possivelmente a interação entre biomaterial e as proteínas humanas os responsáveis por este processo. Já que a maioria dos implantes não induz a neoformação óssea, as propriedades específicas dos materiais são aparentemente necessárias para iniciar a osteoindução. Para iniciar a diferenciação das células indiferenciáveis osteoprogenitoras, acredita-se que a química e a geometria da superfície do biomaterial em contato com as células são importantes. A temperatura de sinterização do CaP influencia na microestrutura do cristal (área superficial específica), alterando as propriedades mecânicas, a ligação óssea inicial da cerâmica e a propriedade osteoindutora. Uma maneira de influenciar a taxa de dissolução do material é modificar a área de superfície específica da HAp. Materiais com área de superfície específica abaixo da ideal se degradam lentamente, levando a menor estimulação do tecido ósseo. Materiais com área específica acima da ideal podem se degradar rapidamente, perdendo a forma e a estabilidade necessárias para osteoindução (HABIBOVIC *et al.*, 2005).

Em biomateriais sem o revestimento de CaP, como o titânio e a alumina, a formação da HAp biológica será mais lenta que a comparada com os materiais com CaP. Nos biomateriais sem este revestimento, os íons cálcio e fosfato dos fluidos corpóreos precipitam nos microporos dos materiais que atuam como um centro de sítios de nucleação da precipitação. A camada de CaP biológica pode ser um fator estimulante físico-químico para as células se diferenciarem na linha osteogênica, acelerando a neoformação óssea. As proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) e as demais proteínas também influenciam na capacidade osteoindutora dos biomateriais. Portanto, a precipitação biológica da camada de HAp *in vivo* pode ser acompanhada da co-precipitação de importantes proteínas que estimulam as células a se diferenciarem na linhagem osteogênica. A concentração das proteínas co-precipitadas que variam de acordo com as proteínas endógenas em conjunto com a resposta corpórea a estas proteínas podem explicar a diferença observada entre as espécies animais (HABIBOVIC *et al.*, 2005).

A figura II. 2 apresenta um fluxograma onde são comparados biomateriais na presença ou ausência de fosfatos de cálcio. Os biomateriais com CaP quando implantados estimulam a formação do tecido ósseo (osteointutores) e dependendo da quantidade de proteínas na região e taxa de formação da HAp biológica, podem permitir a co-precipitação de proteínas endógenas importantes como as proteínas morfogenéticas ósseas (BMP). Sendo assim, há a formação de osteoblastos e a neoformação óssea. Portanto, biomateriais com CaP atuam como osteointutores e não apenas como osteocondutores da neoformação óssea (HABIBOVIC *et al.*, 2005).

Figura II.2 - Fluxograma do mecanismo proposto para osteoindução pelos biomateriais (HABIBOVIC *et al.*, 2005).



II.3 - Implantes Porosos Fabricados via Metalurgia do Pó

Em 1963, Welsh estudou os primeiros revestimentos porosos metálicos produzidos pela metalurgia do pó (GERMAN, 1994). Há dois processos de fabricação via metalurgia do pó: o método de mistura elementar e o método de pré-ligas (FROES *et al.*, 1985). O método de mistura de pós é um processo de fabricação de peças metálicas onde se misturam dois ou mais pós, realiza-se a compactação (uniaxial ou isostática) da mistura de pós e a sinterização em forno a vácuo. No método de pré-ligas o pó já possui a composição final da liga e portanto a etapa da mistura tem a finalidade de homogeneizar os pós com aglomerantes e/ou lubrificantes. As demais etapas são semelhantes ao método de mistura de pós. A figura II.3 apresenta o fluxograma das etapas convencionais do processamento via metalurgia do pó (GERMAN, 1994).

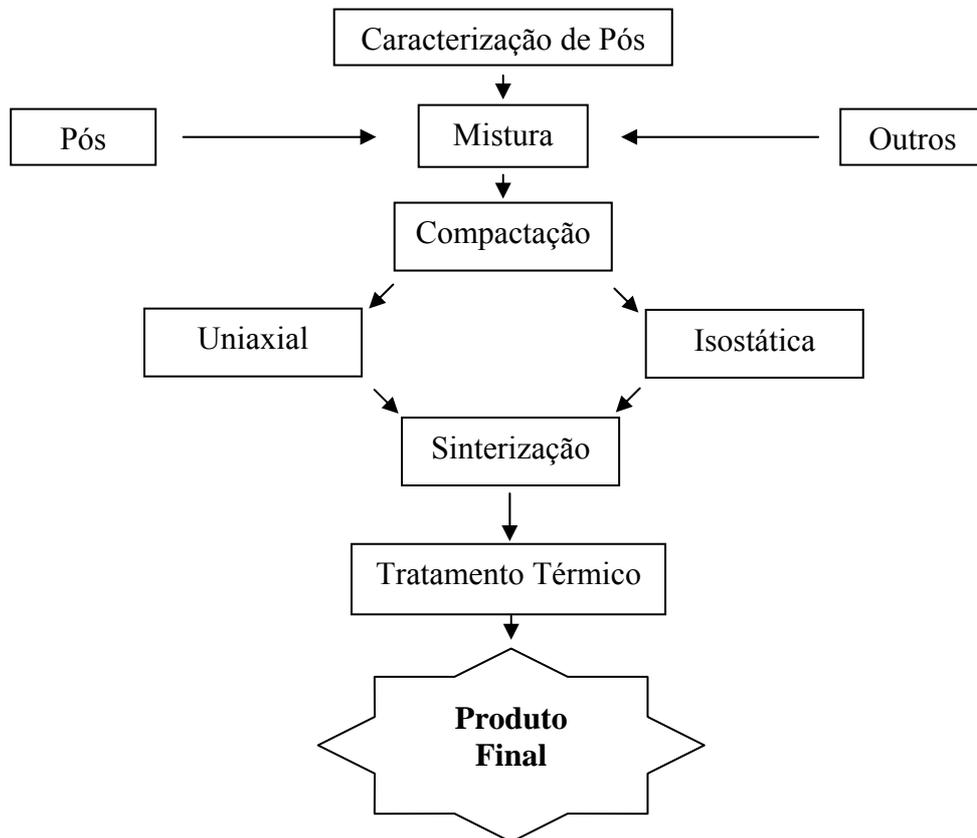


Figura II. 3 - Fluxograma das etapas do processamento pela metalurgia do pó.

Na etapa da mistura, os pós são misturados até se obter uma distribuição homogênea e adicionam-se aglomerantes e/ou lubrificantes (éter de petróleo) para reduzir o atrito entre os pós durante a compactação (GERMAN, 1994). Aditivos

orgânicos (uréia) são adicionados e misturados aos pós de titânio com a finalidade de conferir uma porosidade superior com relação à compactação sem aditivos e nas mesmas condições de pressão. A uréia vem sendo utilizada na fabricação de espumas metálicas de titânio (BRAM *et al.*, 2000; OLIVEIRA, 2003).

A compactação conforma o pó na forma planejada, fornece as dimensões específicas do produto compactado a verde, densidade e resistência para o manuseio adequado na etapa da sinterização (CLAPP, 1995; GERMAN, 1999).

Na compactação uniaxial os pós são acondicionados em matriz metálica rígida com o formato do produto final e a pressão é aplicada de forma unidirecional. A compactação isostática a frio conforma o pó pela aplicação de pressão hidrostática, aplicada simultaneamente e com a mesma intensidade em todas as direções. Os pós são colocados em moldes flexíveis, selados e condicionados em um vaso de pressão com fluido (gás, óleo ou água), sendo pressurizado até a pressão desejada, que é removida lentamente. Esta compactação apresenta as seguintes vantagens em relação à compactação uniaxial: propriedades uniformes em todas as direções, produção de formas inviáveis pela compactação uniaxial, redução das tensões internas devido a gradientes de densidade, obtenção de maior relação espessura/diâmetro, alta resistência a verde, baixo custo do molde flexível (JACKSON, 1967).

A sinterização é um tratamento térmico que une partículas em uma estrutura sólida por transferência de massa em escala atômica, que é o mecanismo de difusão no estado sólido. Neste tratamento, o compactado é aquecido em temperatura abaixo do ponto de fusão do metal base em condições controladas de tempo e atmosfera para permitir a ligação entre as partículas. Esta temperatura favorece a aplicação desses materiais no processamento dos metais e ligas com alto ponto de fusão, na medida em que o metal não necessita ser fundido, a exemplo dos processos de fundição. O titânio puro é sinterizado em temperaturas da ordem de 1100-1400°C (GERMAN, 1994 e 1996).

Os poros estão presentes desde o compactado verde, consistindo em espaços existentes entre as partículas. Na sinterização, os poros são formados a partir da distribuição de fases, mecanismos de difusão e reações com a atmosfera (GERMAN, 1999).

Segundo GERMAN (1994), há diversas vantagens no processamento via metalurgia do pó como: alta produtividade, fácil automação, controle exato da

composição química do material, possível fabricação de peças com alta pureza, utilização de 100% das matérias primas, homogeneidade estrutural e de propriedades, produção de peças com formas complexas e definitivas sem a necessidade de usinagem posterior, obtenção de porosidade controlada e excelente acabamento superficial das peças.

Além disso, o módulo de elasticidade pode ficar na faixa de 60 GPa, inferior ao módulo de elasticidade dos titânios densos. Os implantes totalmente porosos não são indicados para implantes ortopédicos submetidos a altas solicitações mecânicas, pois possuem a resistência mecânica e tenacidade inferior aos materiais densos. O implante com região central densa e revestimento poroso tem menor rigidez e maior biocompatibilidade quando comparado com implantes com superfície lisa. A camada porosa distribui melhor as tensões reduzindo a concentração de tensões e serve como amortecedor, dissipando as cargas quando o indivíduo se movimenta. Esses implantes promovem a interligação entre a porosidade e os tecidos que crescem na direção dos poros. Há baixa possibilidade de corrosão desses implantes devido à formação espontânea da camada protetora de óxido de titânio, autopassivação (GERMAN, 1994).

As técnicas de metalurgia do pó contribuem significativamente para o desenvolvimento de implantes cirúrgicos adequados à reabilitação dos pacientes. Um grande número de implantes ortopédicos atuais, criados para uma adequada fixação osso-implante, apresenta regiões com superfície porosa obtida por sinterização para aumentar o crescimento ósseo nos poros e a interligação mecânica para uma fixação óssea segura (BIASOTTO *et al*, 2003).

II. 4 - Revestimentos de Fosfatos de Cálcio no Titânio

O titânio e suas ligas são considerados metais bioinertes e não se ligam quimicamente ao osso, exceto em condições específicas. Os metais têm sido revestidos com cerâmicas bioativas ou cerâmicas de vidro para melhor aposição óssea e fixação inicial dos implantes (YANG *et al*. 1997).

NISHIGUCHI *et al*. (1999 e 2001) relataram o uso do titânio liso revestido com hidroxiapatita pela técnica de spray térmico ou processo biomimético em próteses ortopédicas. Entretanto, quando os titânios com superfície lisa são implantados, tendem a ser encapsulados por tecido fibroso e possuem pouca adesão ao osso. Recentemente,

verificou-se que a fixação dos implantes de titânio ao osso depende da fixação mecânica e biológica dos poros da superfície.

HABIBOVIC *et al.* (2004) afirmaram que os formatos de implantes ortopédicos modernos incluem a combinação de materiais metálicos porosos e fosfato de cálcio para aumentar ainda mais a integração óssea devido à interligação mecânica. Segundo ANDRADE *et al.*, 2002, metais revestidos com fosfatos de cálcio tornaram-se de grande interesse, pois o produto final é um material compósito com boas propriedades mecânicas devido ao metal e a boa biocompatibilidade do fosfato de cálcio.

O objetivo do revestimento de fosfato de cálcio nos implantes de titânio é aumentar a bioatividade do metal e obter materiais bioativos com baixo módulo de elasticidade. Há uma adesão química entre o fosfato de cálcio e substrato de titânio resultando na manutenção do revestimento e adequada fixação do implante. Após a implantação, este implante possui uma energia de superfície reduzida, onde o osteoblasto pode proliferar e diferenciar para produzir neoformação óssea e colágeno na camada de fosfato de cálcio. O osso circunjacente pode entrar em contato direto com a superfície do implante sem a intervenção do tecido fibroso (KOKUBO, 1998).

Segundo WEI *et al.* (2002a), diversas técnicas têm sido aplicadas na deposição de revestimentos de filmes finos, como spray-térmico, “*sputtering*”, “*dip coating*”, deposição eletroforética e deposição eletroquímica. Quase todas essas técnicas são realizadas a altas temperaturas resultando na baixa aderência da camada de fosfato de cálcio ao substrato metálico, sua decomposição em outras fases e deterioração do substrato metálico.

As técnicas de revestimento do tipo spray-térmico são as mais usadas comercialmente e apresentam desvantagens no controle da composição e estrutura do fosfato de cálcio formado sobre o metal (ANDRADE *et al.*, 2002). Não há uniformidade da espessura da camada depositada e não há controle sobre a integridade estrutural e a cristalinidade do revestimento (YANG *et al.*, 1997). KIM *et al.* (2000) e NISHIGUCHI *et al.* (1999 e 2001) relatam que nesta técnica há redução do espaço disponível do poro para o crescimento do tecido ósseo devido ao revestimento. Há dificuldade em revestir materiais bioativos com superfícies irregulares e degradação do revestimento. Além disso, observou-se que *in vivo*, a HAp se desprende do substrato mesmo no período inicial de implantação, devido a sua baixa adesão ao substrato e o tecido fibroso muitas vezes se estende por de baixo da camada de HAp.

A perda da camada de HAp (aplicada por spray térmico) ocorre progressivamente *in vivo* com o tempo, levando a reabsorção óssea (osteólise) e consequentemente perda do implante (YANG *et al.*,1997). Segundo NISHIGUCHI *et al.*(1999), quando a HAp está completamente degradada, a interface entre o osso e a sua superfície fica instável. Portanto, devido a necessidade de um revestimento bioativo com maior aderência, uniformidade e alta resistência mecânica, pesquisou-se um método de revestimento biomimético para a produção de HAp pela imersão em fluido corpóreo simulado, FCS, (YANG *et al.*,1997).

Processos biomiméticos de revestimento de HAp sobre o titânio baseiam-se na nucleação e crescimento do fosfato de cálcio quando imersos em FCS a 37°C. Associa-se também o pré-tratamento químico da amostra metálica para aumentar significativamente a adesão química da HAp nucleada e crescida na superfície do titânio. Este processo estimula o crescimento ósseo da superfície pelo revestimento de fosfato de cálcio, sem a necessidade de estimulação elétrica e agentes osteocondutores (ANDRADE *et al.*, 2002).

II. 5 - Processos Biomiméticos

Segundo HABIBOVIC *et al.*(2002), uma das técnicas mais promissoras para a produção de fosfato de cálcio é o processo biomimético que imita a mineralização óssea. Os implantes metálicos são imersos em FCS com temperatura e pH fisiológicos. Uma fina camada de fosfato de cálcio pode ser depositada em substratos pré-tratados após imersão em FCS. Os processos biomiméticos apresentam diversas vantagens: baixo custo, processo a baixa temperatura aplicada a qualquer substrato com sensibilidade térmica, incluindo polímeros; possibilidade de formação de cristais de hidroxiapatita similares ao osso contendo características de alta bioatividade e boa reabsorção; deposição em superfície porosa e em implantes com geometria complexa; possibilidade de incorporação de fatores estimulantes de crescimento ósseo. Segundo LIU *et al.* (2003), moléculas de proteínas podem ser co-precipitadas como componentes inorgânicos e podem então ser incorporadas a rede cristalina em vez de ficarem depositadas na superfície. Diferentemente, com a técnica de plasma-spray, moléculas biologicamente ativas não podem ser adicionadas durante a preparação da camada de fosfato de cálcio devido à alta temperatura do processo (> 2000°C). Esta facilidade de

incorporação de proteínas na rede cristalina significa que a matriz pode ser preparada biomimeticamente, tornando-se em carreadoras orgânicas com propriedades de cicatrização óssea. As proteínas são liberadas gradualmente do revestimento. STIGTER *et al.* (2002) relataram a possibilidade da incorporação de antibióticos uniformemente pelo revestimento biomimético e liberação em um ritmo controlado, prevenindo ou eliminando a infecção local pós-operatória. NG *et al.* (2005) afirmaram que o fosfato de cálcio forma um filme fino na superfície do titânio e suas ligas quando imerso em FCS, agindo como uma barreira contra a difusão de íons.

As composições das soluções mais usadas de FCS diferem do plasma sanguíneo humano em alta concentração de íons Cl^- e baixa de íons HCO_3^- . A solução FCS utilizada neste trabalho, mFCS, é similar às outras soluções presentes na literatura, porém contém concentrações inferiores de $[\text{K}^+] = 5.00 \text{ mmol/l}$ e $[\text{SO}_4^{2-}] = 0.050 \text{ mmol/l}$. A vantagem do uso de mFCS (fluido corpóreo simulado modificado) é o preparo mais simples da solução e seu melhor controle. A tabela II.3 compara as diferentes concentrações (mmol/l) dos íons que compõem o plasma sanguíneo humano, a solução de FCS proposta por Kokubo (KOKUBO, 1998) e a mFCS. Observa-se a similaridade entre as soluções e o potencial biomimético das soluções FCS e mFCS.

Tabela II.3 - Concentrações dos íons do plasma sanguíneo humano, FCS e mFCS.

	Na^+	K^+	Mg^{+2}	Ca^{+2}	Cl^-	HCO_3^-	HPO_4^{-2}	SO_4^{-2}
Plasma Sanguíneo	142,00	3,60- 5,50	1,00	2,10- 2,60	95,00 - 107,00	27,00	0,65 - 1,45	1,00
FCS	142,00	6,50	1,50	2,50	148,00	4,20	1,00	0,00
mFCS*	142,00	5,00	1,50	2,50	147,80	4,20	1,00	0,05

* solução utilizada neste trabalho

O processo de formação de sólidos precipitados a partir de soluções supersaturadas de FCS possui três etapas: quimisorção dos íons da rede do cristal (interação química das espécies da superfície do sólido com a solução) e formação

heterogênea de núcleos de sólido amorfo; lenta transformação dos núcleos em HAp cristalina e crescimento do cristal de HAp (ATTAIA *et al.*, 1988). Durante a nucleação, há a formação de uma interface e esta prossegue durante a etapa do crescimento. As características da transformação são estabelecidas e o produto final se forma durante o crescimento pela transferência dos íons da interface solução-precipitado (WONG *et al.*, 1993).

II. 5.1 - Camada de Óxido de Titânio

O titânio possui grande afinidade por gases a exemplo do hidrogênio, nitrogênio e oxigênio (LYMAN *et al.*, 1967). Este metal é revestido espontaneamente com uma camada passiva de óxido de titânio quando exposto ao ar ou a outros ambientes oxidantes (como o FCS), tornando-se assim quimicamente estável (BIASOTTO *et al.*, 2003). O titânio puro e suas ligas são considerados materiais autopassivados que possuem alta resistência à corrosão em meios oxidantes, sendo uma das principais razões para o sucesso dos implantes cirúrgicos de titânio. A camada de óxido passiva estável na superfície do titânio previne a introdução de produtos de corrosão no tecido adjacente ao implante. O óxido se forma espontaneamente em ar atingindo a espessura de 2-10 nm e pode ser reconstruído quando danificado em meio fisiológico a temperatura de 37°C (FUJITA *et al.*, 1996; SUTHERLAND *et al.*, 1993).

Os óxidos estequiométricos do titânio são o TiO, TiO₂, Ti₂O₃, Ti₃O₄. O TiO₂ é o mais abundante na natureza e existe em três formas cristalinas: anatase (tetragonal), rutilo (tetragonal) e brookita (ortorrômbico) (DONACHIE, 1998; FUJITA *et al.*, 1996; JONES 2001).

A capacidade de melhor osteointegração do titânio quando comparado a outros biomateriais, deve-se ao óxido de titânio passivado sobre o substrato (BARRÈRE *et al.*, 2003 e NG *et al.*, 2005). Grupos hidroxilas na superfície do titânio favorecem as ligações químicas com íons cálcio e fosfato (BARRÈRE, *et al.*, 2004).

Dependendo da composição, estrutura, espessura e estabilidade, a superfície de TiO₂ pode atuar como uma barreira para a difusão de íons metálicos. Na interface osso-implante, o TiO₂ fica em contato com o ambiente fisiológico. Portanto, a camada de TiO₂ pode determinar a taxa de difusão de íons cálcio e fosfato e influenciar a nucleação da hidroxiapatita (NG *et al.*, 2005).

Segundo KOKUBO (1998) e HA *et al.* (1997), há dissolução da camada de óxido quando o titânio é pré-tratado com solução alcalina à base de NaOH. A taxa de dissolução da camada de óxido depende da concentração da solução alcalina. A reação da camada de óxido de titânio em solução alcalina é a seguinte:



O substrato do titânio reage segundo as equações abaixo (KOKUBO, 1998):



II. 5.2 - Pré-tratamentos Químicos e Térmicos

NISHIGUCHI *et al.* (1999 e 2001) e TAKEMOTO *et al.* (2005) mostraram que implantes de titânio com tratamento alcalino e térmico possuem ligação direta ao osso, melhor força de adesão e maior ligação óssea. WEI *et al.* (2002a) afirmaram que diversos pré-tratamentos nos metais (tratamento alcalino, ácido e com H₂O₂) e revestimentos pela técnica sol-gel à base de TiO₂ são usados na tentativa de formar uma superfície bioativa no titânio.

Tratamentos alcalinos sem posterior tratamento térmico também são capazes de formar fosfato de cálcio no titânio quando imerso em FCS, mas a ligação do titânio ao osso não é observada (WEI *et al.*, 2002a). Segundo HA *et al.* (1997), quando o pré-tratamento químico com solução de 10M NaOH é usado a temperatura de 60°C sob agitação por 2 horas em titânio comercialmente puro, observa-se por meio de microscópio eletrônico de varredura (MEV) a presença de agulhas na superfície do substrato. Nesse caso os substratos de titânio comercialmente puro foram submetidos ao pré-tratamento químico, mas não ao pré-tratamento térmico.

Quando o HTiO₃⁻·nH₂O que é o produto final da reação do óxido de titânio e solução aquosa reage com a solução de NaOH durante o pré-tratamento, incorpora os

íons sódio formando uma camada de titanato de sódio (KOKUBO, 1998). Segundo HA *et al.* (1997), a reação de formação do titanato de sódio é a seguinte:



Segundo o tratamento proposto por KOKUBO (1998), o titânio pré-tratado alcalinamente (NaOH) é submetido a posterior tratamento térmico a 600°C e a camada de hidrogel de titanato de sódio se desidrata. Esta camada se estabiliza como uma camada de titanato de sódio amorfo contendo pequenas quantidades de titanato de sódio cristalino (Na₂Ti₅O₁₁) e rutilo (TiO₂). Entretanto, LIN *et al.* (2005) relataram que os tratamentos térmicos presentes na literatura estão na faixa de 500-700 °C. Mas, quando a morfologia do titânio apresenta maior área superficial para a deposição de hidroxiapatita, como no caso dos titânios porosos, a camada de titanato de sódio tende a se formar em menos tempo e a temperatura de tratamento térmico utilizada poderá ser inferior a 400 °C. O titânio tratado com solução de 5M NaOH a 60°C por 24 horas, posteriormente submetido a tratamento térmico a 200 °C e imerso em FCS durante 15 dias a 80 °C, apresenta um crescimento ao longo do eixo c de cristais de hidroxiapatita com aspecto de agulhas.

Uma alternativa ao tratamento alcalino é a utilização de um ataque ácido. No tratamento ácido, a camada passiva de óxido de titânio se dissolve para formar o TiH₂, em vez de titanato de sódio (JONÁSOVÁ *et al.*, 2002).

NISHIGUCHI *et al.* (1999 e 2001) afirmaram que esses tratamentos são de baixo custo e seus efeitos atuam sobre todas as irregularidades da superfície dos implantes, que são imersos na solução de tratamento químico. Portanto, representam uma técnica superior ao spray-térmico para HAp no qual o mesmo tende a ser aplicado nas áreas mais superficiais, resultando em um tratamento não uniforme. Notou-se que os tratamentos químicos e térmicos não reduzem o espaço da porosidade disponível ao crescimento ósseo, pois causam pouca mudança na morfologia superficial do implante, afetando cerca de 1µm da superfície.

II. 5.3 - Íons Cálcio e Fosfato no Corpo Humano

O tecido ósseo é um tipo especializado de tecido conjuntivo formado por células e material intercelular calcificado (matriz óssea). A parte orgânica da matriz óssea é formada por fibras colágenas (95%) constituídas de colágeno do tipo I e por pequena quantidade de substância fundamental amorfa com proteoglicanas e glicoproteínas. A parte inorgânica representa cerca de 50% do peso da matriz óssea. Os íons encontrados em maior concentração são o fosfato e o cálcio e em pequenas quantidades os íons bicarbonato, magnésio, potássio, sódio e citrato. Os ossos armazenam íons, liberando-os de maneira controlada, para manter constante a concentração desses íons importantes nos líquidos corporais, líquido intersticial, sangue e linfa (JUNQUEIRA *et al.*, 1995).

O cálcio e o fósforo fazem parte dos cristais da hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Os cristais da hidroxiapatita mineral são relativamente pequenos (200-400 Å em sua maior dimensão) quando comparados com os cristais de hidroxiapatita encontrados no esmalte dentário. Este pequeno tamanho facilita a incorporação e adsorção de íons, tornando o osso mineral capaz de se dissolver durante a remodelagem óssea. Além disso, este tamanho permite que os cristais transformem as fibras colágenas flexíveis do composto mineral-colágeno em estrutura rígida. Os cristais do osso mineral podem ter aspecto de agulhas ou placas aglomeradas ou difusas, conforme a maturação óssea (SEIBEL *et al.*, 1999). Esses cristais se posicionam ao longo das fibras colágenas e são envolvidos por substância fundamental amorfa. A associação da hidroxiapatita com fibras colágenas é responsável pela dureza e resistência característica do tecido ósseo. Após a remoção do cálcio, os ossos mantêm sua forma intacta, porém tornam-se tão flexíveis quanto os tendões (JUNQUEIRA *et al.*, 1995).

A deposição de fosfato de cálcio mineral nos tecidos ósseos é um processo físico-químico. Quando a concentração de íons aumenta, ocorre a deposição de cristais. Durante a nucleação, íons ou íons “clusters” se associam para formar uma configuração estável contendo os cristais. Uma vez formado o núcleo crítico grande o suficiente para se manter em solução, necessita-se de menor quantidade de energia para continuar a adição de íons ou íons “clusters” durante o processo de crescimento do cristal. A nucleação secundária ocorre quando novos cristais começam a se formar sobre os

crístais iniciais. Posteriormente, estes crístais se separam e oferecem núcleos extras de crescimento (SEIBEL *et al.*, 1999).

II. 5.4 - Formação de Fosfatos de Cálcio em FCS

O sistema imunológico rejeita materiais estranhos ao corpo humano, portanto estudou-se a utilização de materiais inorgânicos à base de compostos similares ao osso. Os fosfatos de cálcio são de grande interesse pela sua similaridade com o osso, sua bioatividade e osteocondutividade (DE GROOT , 1990). Alguns fosfatos de cálcio são hidratados e outros da família das hidroxiapatitas possuem íons OH⁻. Os fosfatos de cálcio são: fosfato de cálcio amorfo (FCA), fosfato cálcico dihidratado ou Brushita (FDCA), fosfato cálcico anidro ou Monetita (FDCA), fosfato tetracálcico (FTTC), fosfato octacálcico (FOC), fosfato tricálcico ou Whitlockita (FTC), pirofosfato de cálcio dihidratado (PFCDH), apatita (Ap), hidroxiapatita (HAp), fluorhidroxiapatitas (FHAp) e hidroxiapatitas não estequimétricas (ELLIOTT, 1994). Somente dois fosfatos de cálcio são estáveis à temperatura ambiente quando em solução aquosa e o pH da solução vai determinar o fosfato de cálcio mais estável. Em solução aquosa com pH menor que 4,2, a Brushita é mais estável enquanto que em pH maior 4,2 a hidroxiapatita é mais estável (DE GROOT , 1990). A tabela II.4 apresenta os fosfatos de cálcio de aplicação biológica (ELLIOTT, 1994).

Tabela II.4 - Fosfatos de cálcio de aplicação biológica.

Fosfato de Cálcio	Fórmula Química
Fosfato de cálcio amorfo (FCA)	$\text{Ca}_{10-x}\text{H}_{2x}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Fosfato cálcico dihidratado ou Brushita (FDCDH)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Fosfato cálcico anidro ou Monetita (FDCA)	CaHPO_4
Fosfato tetracálcico (FTTC)	$\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$
Fosfato octacálcico (FOC)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Fosfato tricálcico ou Whitlockita (FTC)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
Pirofosfato de cálcio dihidratado (PFCDH)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Apatita (Ap)	$(\text{Ca},\text{M})_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Z}_2$
Hidroxiapatita (HAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Fluorhidroxiapatitas (FHAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$
Hidroxiapatitas não estequiométricas	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$

Ligas de titânio, como Ti-6Al-4V, Ti-6Al-2Nb-Ta, Ti-15Mo-5Zr-3Al, são capazes de formar hidroxiapatita em suas superfícies quando imersas em FCS (KOKUBO, 1998). BIGI *et al.* (2005) relataram que desde as primeiras composições de FCS criadas, diversas modificações têm sido propostas e vários pré-tratamentos são usados a fim de acelerar o revestimento de HAp. YANG *et al.*, (1997) mostraram que as soluções FCS são utilizadas para reproduzir *in vitro* a formação de uma camada de fosfato de cálcio *in vivo* na superfície bioativa dos materiais após implantação.

A capacidade do metal de formar fosfato de cálcio é atribuída ao titanato de sódio amorfo formado sobre o metal durante o tratamento com NaOH e posterior tratamento térmico (YANG *et al.*, 2004). Poros superficiais em escala submicrométrica e superfície revestida com óxido de titânio carregado negativamente são favoráveis a nucleação da HAp (LIANG *et al.*, 2003).

Quando o titânio tratado em solução alcalina e termicamente é imerso em FCS, forma-se uma camada densa e uniforme de HAp na superfície. O íon sódio na superfície da camada substitui o H_3O^+ no FCS para produzir grupos Ti-OH na superfície do Ti e aumentar a atividade iônica da HAp no FCS. Esses grupos induzem a nucleação da

HAp, aumentando a sua atividade. O núcleo da HAp cresce espontaneamente através do consumo de íons cálcio e íons de fosfato do FCS. A camada de HAp resultante é fortemente ligada ao substrato já que se integra ao titânio através do óxido de titânio hidratado e o não hidratado que são gradualmente modificados em sua concentração (KOKUBO, 1998, WEI *et al.*, 2002b, UCHIDA *et al.*, 2002).

TAKADAMA *et al.*, (2001) demonstraram que a formação da HAp na liga de titânio ocorre da mesma forma que no titânio puro. Por exemplo, a liga Ti-6Al-4V libera Al e V durante o tratamento com NaOH e forma titanato de sódio livre de Al e V na superfície. Acredita-se que a formação de titanato de cálcio e fosfato de cálcio amorfo seja resultado das interações eletrostáticas entre os grupos Ti-OH da liga de titânio e os íons Ca^{+2} e PO_4^{-2} no FCS. O pH do FCS é igual a 7,4 e aumenta muito com a imersão da liga de titânio.

A figura II.4 apresenta as mudanças na superfície do titânio quando submetido a tratamento com NaOH, com posterior tratamento térmico e imersão em FCS (KOKUBO, 1998).

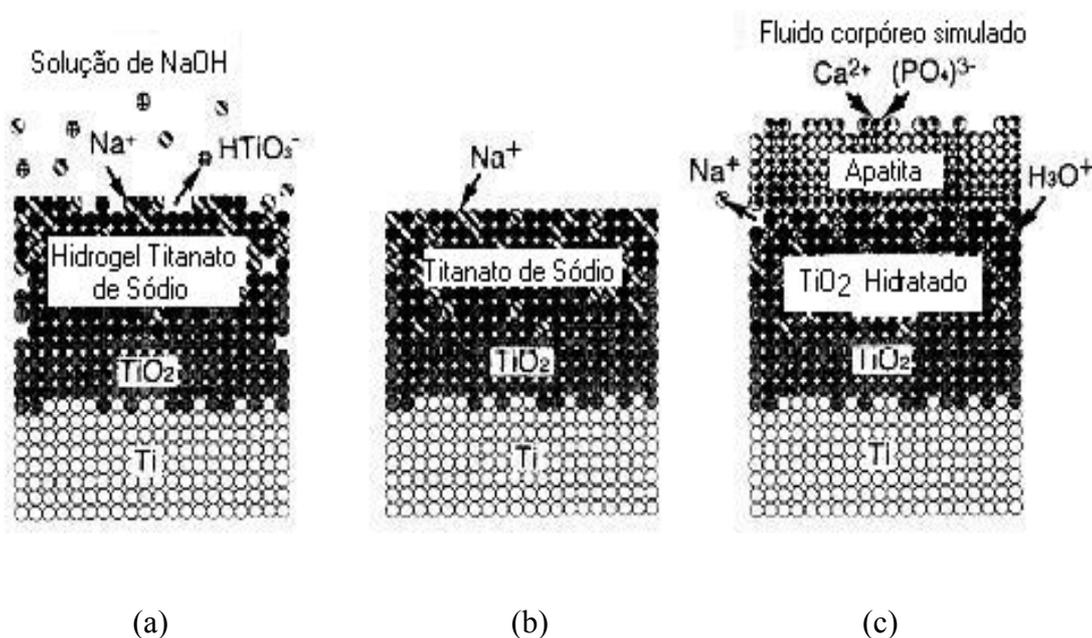


Figura II.4 - Mudanças na superfície do titânio submetido à pré-tratamentos e imersão em FCS: (a) formação da camada hidrogel do titanato de sódio por meio de tratamento com NaOH; (b) representação da formação da camada de titanato de sódio amorfo e/ou cristalino através do tratamento térmico; (c) formação da camada de HAp em FCS (KOKUBO, 1998).

ZHU *et al.*, (2004) afirmaram ser importante manter o FCS estável durante a imersão sem nenhum precipitado para garantir uma nucleação adequada da HAp. TAKADAMA *et al.*, (2001) relataram que os grupos de Ti-OH formados tendem a se dissociar e condensar em unidades negativamente carregadas de óxido de titânio. Estas cargas interagem com os íons cálcio carregados positivamente no fluido para formar o titanato de cálcio.

A camada de titanato de cálcio acelera a taxa de nucleação da HAp (WEI *et al.*, 2002a, UCHIDA *et al.*, 2002). Este titanato incorpora íons fosfatos do fluido para formar um fosfato de cálcio amorfo, no qual mais tarde converte-se em fosfato de cálcio cristalino, crescendo espontaneamente através do consumo de íons Ca^{+2} e PO_4^{+2} no fluido. Estes resultados indicam que os grupos Ti-OH formados na superfície da liga induzem indiretamente a formação do titanato de cálcio e fosfato de cálcio amorfo (TAKADAMA *et al.*, 2001).

III - MATERIAIS E MÉTODOS

III. 1- Matérias Primas

Foi utilizado o pó de titânio puro grau 2, importado da empresa Micron Metals/EUA, fabricado pelo processo HDH (hidrogenação/dehidrogenação). O processo de fabricação de pó de titânio HDH utiliza a esponja de titânio como matéria prima. A vantagem em relação aos pós finos de esponja são os baixos níveis de cloreto devido à dupla ou tripla fusão a vácuo, porém apresenta maior quantidade de elementos intersticiais. Outra vantagem do processo HDH é a redução do tamanho da partícula e o conseqüente aumento da área superficial do pó, resultando no aumento do teor de oxigênio que não é reduzido na prensagem isostática ou na sinterização a vácuo. Este teor de oxigênio aumenta a dureza e a resistência mecânica e reduz a ductilidade e a resistência à fadiga (HANSON, 1990; MOXSON, 1998).

Os pós de titânio e de uréia foram separados em faixas granulométricas estreitas, conforme estabelecido em pesquisa anterior (OLIVEIRA, 2003). O aditivo orgânico na forma de grânulos (uréia fabricada pela Vetec) foi misturado ao pó de titânio puro para aumentar a porosidade do material. Este aditivo vem sendo utilizado na fabricação de espumas metálicas de titânio (SAVITCH, 1998; BRAM, 2000). A uréia em grânulos foi moída em gral para formação de pós, separados em faixa granulométrica por peneiramento.

III. 1.1 - Caracterização das Matérias Primas

III. 1.1.1 - Análise Química

A análise química quantitativa de pós de titânio puro foi realizada segundo procedimentos estabelecidos em pesquisa anterior do PEMM/UFRJ conforme as técnicas a seguir (OLIVEIRA, 2003).

- Nitrogênio e oxigênio: aparelho LECO TC 436 (gás inerte), absorção por condutividade térmica e absorção por infravermelho.

- Hidrogênio: aparelho LECO CHN 2000 (ignição a 900°C) em forno com atmosfera de oxigênio onde o hidrogênio é transformado em vapor de água e medido em célula de infravermelho.
- Carbono e enxofre: aparelho LECO 044 por combustão direta e absorção em célula de infravermelho.
- Magnésio e sódio: espectrometria de absorção atômica.
- Ferro: dissolução em H₂SO₄ e medida por espectrometria de absorção atômica.
- Silício: espectrometria de fluorescência de raios X.

III.1.1.2 - Análise Morfológica

A morfologia dos pós de titânio puro e a uréia foram analisadas qualitativamente por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em equipamento Carl Zeiss 940A no Centro Técnico Aeroespacial (CTA, SP). A figura III.1 apresenta a análise morfológica dos pós de titânio puro fabricados por HDH e a uréia separados em faixas estreitas de distribuição granulométrica para processamento das amostras porosas segundo pesquisa anterior (OLIVEIRA, 2003). Os pós de titânio apresentam formato irregular e poroso, de acordo com a especificação “British Standard 2955 - Glossary of Terms Relating to Powders”. A uréia foi recebida na forma de grânulos que foram quebrados em partículas sendo posteriormente peneiradas.

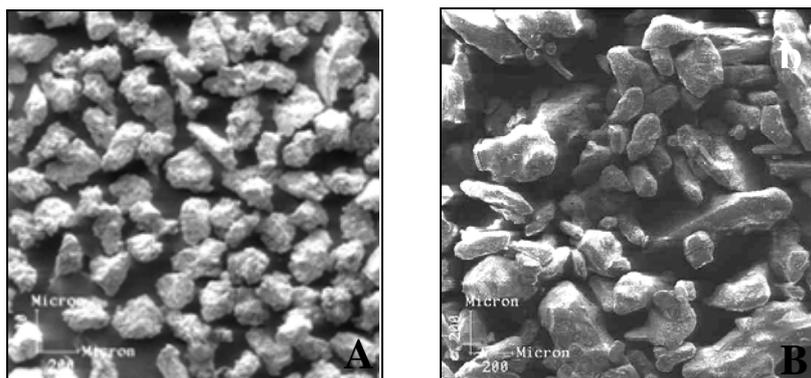


Figura III.1 - Análise morfológica: (a) titânio HDH (149-177µm); (b) uréia em pó.

III.1.1.3 - Distribuição Granulométrica dos Pós

A distribuição granulométrica dos pós de titânio e o tamanho médio das partículas foram estabelecidos por peneiramento de acordo com a norma ASTM B214-86. A uréia foi recebida na forma de grânulos que foram quebrados em partículas, posteriormente separadas por peneiramento no vibrador de peneiras. A figura III.2 apresenta o vibrador de peneiras.



Figura III.2 - Vibrador de peneiras.

A tabela III.1 apresenta o tamanho de partícula dos pós de titânio e o aditivo orgânico separados por peneiramento para o processamento das amostras porosas.

Tabela III.1 - Tamanho de partícula dos pós de titânio e da uréia.

Material	Tamanho de Partícula	
	μm	mesh
Pó de titânio	149-177	80-100
Pó de uréia	250-297	50-60

III. 2- Processamento dos Pós

Os parâmetros do processamento foram estabelecidos em pesquisa anterior do Instituto Nacional de Tecnologia (INT) e Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, PEMM/UFRJ, (OLIVEIRA, 2003). O processamento dos pós de titânio para obtenção do titânio poroso foi realizado com as seguintes etapas: mistura de pós, compactação isostática a frio, retirada do ligante, e sinterização.

- Mistura

Foi realizada manualmente a mistura de pós de titânio com o aditivo orgânico na proporção de 70% titânio e de 30% uréia, com a finalidade de homogeneização dos pós de titânio com o aditivo e quebra de aglomerados de partículas que afetam a sinterabilidade dos pós. BRAM *et al.* 2000 relataram que a uréia é utilizada para a obtenção de esponjas metálicas de materiais de alta reatividade, a exemplo do titânio, devido a sua baixa temperatura de decomposição (150-200°C). Segundo OLIVEIRA (2003), a utilização de um percentual de uréia acima de 40% dificulta o manuseio das amostras após a etapa de compactação. Notou-se que a uréia pode se separar do titânio durante a mistura, devido à diferença de densidade entre os materiais. Portanto, foi adicionado como solvente o éter de petróleo a fim de umedecer a uréia e favorecer a aglomeração do pó de titânio, antes da etapa de compactação.

- Compactação

A mistura de pós de titânio e uréia foi preenchida em moldes flexíveis de silicone (diâmetro 1,5 cm x altura 2,7 cm) por meio de um funil, e selados com rolhas de silicone. Algumas batidas foram dadas em ambos os lados do molde para o assentamento do pó. Os moldes contendo as misturas foram submetidos à compactação isostática a frio a uma carga de 300MPa.

Segundo, OLIVEIRA 2003, quando se aplica baixas cargas, menores que 200MPa, os pós tem pouca adesão entre si e ficam aderidos ao molde. Utilizando-se a pressão de 300 MPa, obtém-se uma boa adesão entre as partículas e uma resistência a verde adequada para o manuseio do compactado. A figura III.3 apresenta o molde e os

equipamentos utilizados na compactação isostática a frio da mistura dos pós de titânio e uréia.

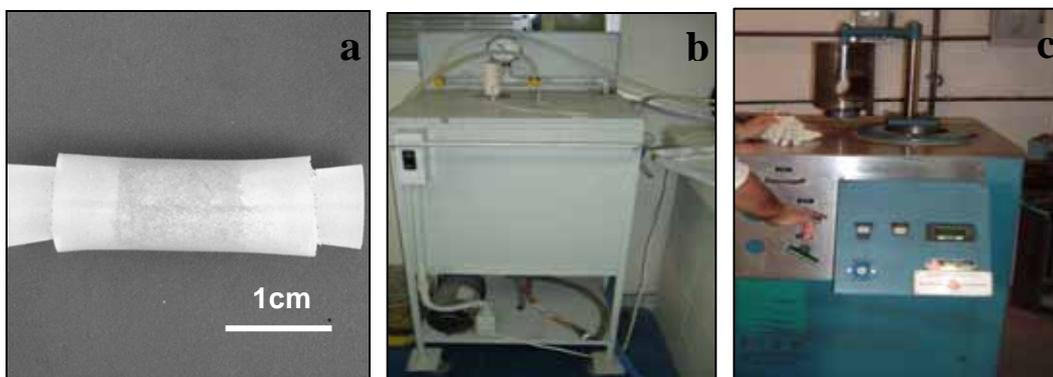


Figura III.3 - Molde e equipamentos utilizados na compactação isostática a frio: (a) molde de silicone; (b) bomba a vácuo; (c) prensa hidráulica.

- Retirada do Ligante

Posteriormente a compactação isostática, as amostras foram levadas a uma estufa a 200°C por 1 hora a fim de eliminar a uréia (Lab. Termic/UFRJ). Esse tempo e temperatura foram otimizados em estudo preliminar (DOS REIS, 2005) onde se determinou a condição ótima para a retirada do aditivo orgânico. A mistura dos pós de titânio e uréia deve resultar na homogeneização entre os mesmos e, após a retirada da uréia, em uma forte ligação mecânica entre as partículas de pós metálicos. A figura III.4 mostra as amostras compactadas sendo levadas à estufa para eliminação da uréia.



Figura III.4 - Eliminação da uréia: (a) amostras em navículas cerâmicas; (b) estufa.

- Sinterização

Nos materiais porosos a temperatura de sinterização deve ser inferior aos materiais densos devido ao número inferior de pontos de contato entre as partículas e também porque não é necessária a densificação do material. Quanto mais alta a temperatura utilizada neste processo, maiores os danos à microestrutura, como por exemplo o aumento do tamanho de grão que deteriora as propriedades mecânicas do titânio. A sinterização consiste na completa consolidação dos pós sem que ocorra o crescimento do grão de titânio

A sinterização foi realizada em forno a vácuo com resistência de grafite fabricado pela Thermal Technology (modelo Astro) utilizando vácuo de 10^{-6} a 10^{-7} Torr (CTA). O cadinho tubular para a colocação das amostras é de titânio puro, evitando a contaminação do material sinterizado já que o titânio é um metal altamente reativo. O ciclo térmico foi ajustado para um aquecimento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até a temperatura de sinterização de 1200°C e patamar de sinterização de 1 hora para a completa sinterização da mistura. Conforme estudado em pesquisa anterior esses parâmetros permitem a completa consolidação do material (OLIVEIRA, 2003).

A figura III.5 mostra o forno a vácuo (modelo Astro) para sinterização das amostras de titânio e as amostras sinterizadas.



Figura III.5 - Forno a vácuo para a sinterização (a); amostra sinterizada (b).

III. 3 - Pré-tratamentos Químico e Térmico

Os parâmetros utilizados nos pré-tratamentos basearam-se em pesquisa anterior do PEMM/UFRJ (ANDRADE, 1999). As amostras foram limpas em aparelho ultra-som (Pantec, modelo Metasom 14) e posteriormente foram tratadas com solução de 1M NaOH em autoclave (Parr, modelo 4842) numa temperatura de 130 °C por diferentes tempos (40 e 60 min) para posterior comparação. Subseqüentemente ao tratamento químico foram realizados tratamentos térmicos a 200 °C, 400 °C e 600 °C durante 1 hora em forno tipo mufla (Quimis, modelo Q-318s), com taxa de aquecimento lenta (10°C/min).

O tratamento químico tem o objetivo de ativar à superfície do titânio e o tratamento térmico tem a finalidade de desidratar e estabilizar a camada de titanato de sódio sobre o titânio poroso. O tratamento térmico foi realizado com três temperaturas diferentes com o objetivo de estabelecer uma menor temperatura que possa evitar alteração das características microestruturais do titânio temperatura de 600°C, sugerida por Kokubo (KOKUBO,1998).

Após, os pré-tratamentos térmicos, as amostras foram resfriadas dentro do forno.

III.4 - Processo Biomimético

O material utilizado (vidraria e espátula) para o preparo da solução de fluido simulador corpóreo modificado (mFCS) foi lavado com HNO₃ a 25% , em seguida com solução detergente e enxaguado com água destilada. Posteriormente, o material foi lavado com álcool e submetido à secagem na estufa.

A dissolução dos reagentes da solução mFCS foi feita em béquer sob agitação moderada. Um terço de água deionizada pré-aquecida a 37 °C foi colocada no frasco para dissolução. Os reagentes são pesados em balança analítica e transferidos ao frasco um a um na seguinte ordem com intervalos de pelo menos 5 minutos entre adições. A tabela III.2 apresenta os reagentes da solução e suas massas.

Tabela III.2 - Reagentes e massas utilizadas no preparo da solução (vf= 1000ml).

Reagentes da solução mFCS	Massa (g)
NaCl	7,94
KCl	0,372
CaCl ₂	0,200
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,3051
NaHCO ₃	0,353
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	0,245
CaSO ₄ .2H ₂ O	0,086

A fim de ajustar o pH, a solução biomimética a 37°C sob agitação moderada foi calibrada com solução ácida e/ou alcalina. O pH foi estabelecido a 7,4 (pH fisiológico), caso contrário deve ser controlado com HCl (se pH > 7,4) ou NaOH (se pH < 7,4) de acordo com sua condição. Com um funil de vidro, transferiu-se toda a solução de mFCS para o balão volumétrico de 1000ml e completou-se o volume do balão com água destilada até alcançar 1000ml. A solução de mFCS preparada foi armazenada em frasco de polietileno limpo e conservado sob refrigeração (10°C).

A solução de mFCS antes do uso foi submetida a agitação manual e com pipeta adicionou-se 5ml de mFCS aos tubos de ensaios que continham as amostras, sendo recobertos com filme de PVC. Os períodos de permanência na solução mFCS foram de 02, 07, 14 e 28 dias. Estes tubos de ensaios foram aquecidos em água (37°C), e permaneceram nessa temperatura durante todo o período de tratamento em estufa. As soluções dos tubos de ensaio foram renovadas a cada 02 dias, fazendo-se assim o controle do volume necessário à imersão total das amostras e pH da solução. Após a retirada das amostras da solução, estas foram lavadas com água destilada, secas sobre filtro de papel à temperatura ambiente e colocadas em dessecador.

No início desta pesquisa, o pré-tratamento químico com NaOH foi realizado durante 40 e 60 minutos sendo o tratamento térmico fixado a 600°C para posterior comparação. De acordo com os resultados obtidos, optou-se pela continuidade da pesquisa utilizando o tratamento alcalino por 60 minutos e variando a temperatura de pré-tratamento térmico (200, 400 e 600°C) e tempo de imersão em mFCS (02,07,14 e 28 dias). Torna-se importante ressaltar que foram estudadas apenas 01 amostra para o grupo

de amostra controle e 01 amostra para cada grupo submetidos à pré-tratamentos (40 e 60 min em NaOH e tratamento térmico a 200, 400 e 600°C). Entretanto, nos demais grupos de amostras foram estudadas 02 amostras para cada condição, exceto no caso do pré-tratamento com NaOH (60 minutos), térmico a 200°C e imersas 07 dias em mFCS com total de 03 amostras (54, 55 e 61). A tabela III.3 apresenta a amostra controle (sem tratamentos ou imersão em mFCS) e as amostras com pré-tratamentos (químico e térmico). A tabela III.4 identifica as amostras sem pré-tratamentos e imersas em mFCS. A tabela III.5 apresenta as amostras submetidas a pré-tratamentos e imersão em mFCS.

Tabela III.3 - Amostra controle e amostras com pré-tratamentos (químico e térmico).

Amostras	Tratamento Químico (min)	Tratamento Térmico (°C)	Imersão mFCS (dias)
38 (controle)	----	----	----
39	40	600	-----
40	60	600	-----
50	60	400	-----
60	60	200	-----

Tabela III.4 - Amostras imersas em mFCS.

Amostras	Tratamento Químico (min)	Tratamento Térmico (°C)	Imersão mFCS (dias)
14	-----	-----	02
15			02
16			07
17			07
18			14
19			14
20			28
21			28

Tabela III.5 - Amostras submetidas a pré-tratamentos e imersão em mFCS.

Amostras	Trat. Químico (min)	Trat. Térmico (°C)	Imersão mFCS (dias)
22	40	600	02
23			02
24			07
25			07
26			14
27			14
28			28
29			28
30	60	600	02
31			02
32			07
33			07
34			14
35			14
36			28
37			28
42	60	400	02
43			02
44			07
45			07
46			14
47			14
48			28
49			28
52	60	200	02
53			02
54			07
55			07
61 (repetição)			07
56			14
57			14
58			28
59	28		

III.5 - Caracterização das Amostras

III.5.1 - Análise Morfológica

As análises topográficas da superfície das amostras tratadas ou não foram realizadas para visualizar a morfologia da porosidade. Foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura, MEV, (Jeol JSM 6460LV) e espectrometria por dispersão de energia, EDS, (Noran System Six model 200).

III.5.2 - Análise Quantitativa da Porosidade

Esta etapa foi realizada utilizando-se o programa IMAGE-PRO PLUS versão 4 (Media Cybernetics) para determinar a fração volumétrica de poros da superfície das amostras. O titânio se apresenta com uma coloração clara, os poros com coloração escura e a interface titânio/poros apresenta uma coloração cinza. Foi selecionada a melhor faixa na escala de cinza para a detecção dos poros e o programa calcula as opções selecionadas.

Foram obtidas em média 15 imagens para cada amostra de forma que toda superfície preparada foi fotografada. A distribuição da porosidade nem sempre é uniforme na amostra, principalmente quando a mistura e enchimento dos moldes de compactação são efetuados manualmente. A interconectividade entre os poros não pode ser estimada por técnicas estereológicas. A medição real da conectividade só pode ser obtida por métodos tridimensionais.

III.5.3 - Análise em Difração de Raios X

As amostras submetidas aos pré-tratamentos químico e térmicos com ou sem imersão em mFCS foram analisadas em difratômetro de raios X no INT e com o aparato de baixo de ângulo na Pontifícia Universidade Católica (PUC, RJ) com objetivo de identificar o titanato de sódio nas amostras pré-tratadas e o filme biomimético nas amostras imersas em solução mFCS.

III.5.4 - Análise em Infravermelho

As amostras foram analisadas em aparelho de Infra-vermelho (Nicolet, modelo Magna IR 760) no Instituto de Química da UFRJ. A tabela III.6 apresenta a amostra de titânio poroso controle (38), hidroxiapatita em pó (HAP 118) que serviram de padrões para comparação e a análise das demais amostras em infravermelho.

Tabela III.6 - Análise da amostra controle (38), hidroxiapatita em pó (HAP 118) e as demais amostras.

Material	Pré-tratamentos Químico (min) e Térmico (°C)	Imersão em mFCS (dias)
HAP 118		
38	-----	-----
14	-----	02
20	-----	28
22	40; 600	02
24	40; 600	07
26	40 ; 600	14
28	40 ; 600	28
30	60 ; 600	02
32	60; 600	07
34	60; 600	14
36	60; 600	28
40	40 ; 600	-----

III.5.5 - Análise em Espectroscopia de XPS

A técnica de espectroscopia de XPS (X-Ray Photoelectron Spectroscopy) foi utilizada na identificação dos elementos químicos presente na superfície das amostras analisadas.

As amostras foram montadas em um porta-amostra de aço inoxidável com uma fita condutora de dupla face e então inseridas na câmara de ultra alto vácuo (*UHV*). A

pressão de base da câmara era de $5,0 \times 10^{-10}$ mbar, mas após o início das medidas, a câmara chegou a atingir pressões da ordem de $3,0 \times 10^{-8}$ mbar. As medidas foram realizadas com raios X não monocromático do Al $K\alpha$ ($E = 1486,6$ V) e com um analisador de elétrons de hemisférios concêntricos (CLAM2 da VG Microtech). As energias de ligação dos picos foram corrigidas com relação ao pico referência do C (1s) situado a 284,6 eV. As concentrações relativas dos elementos identificados foram calculadas usando as áreas dos picos e os fatores de sensibilidade de cada elemento.

A figura III.6 mostra o equipamento para análise em XPS do Laboratório de Física Aplicada do Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear (LFA/CDTN). A figura III.7 apresenta a amostra posicionada em um porta-amostra de inox, sendo que a esquerda está a entrada do analisador de elétrons e a direita o canhão de raios X. A tabela III.7 apresenta as amostras analisadas segundo os pré-tratamentos e imersão em mFCS.

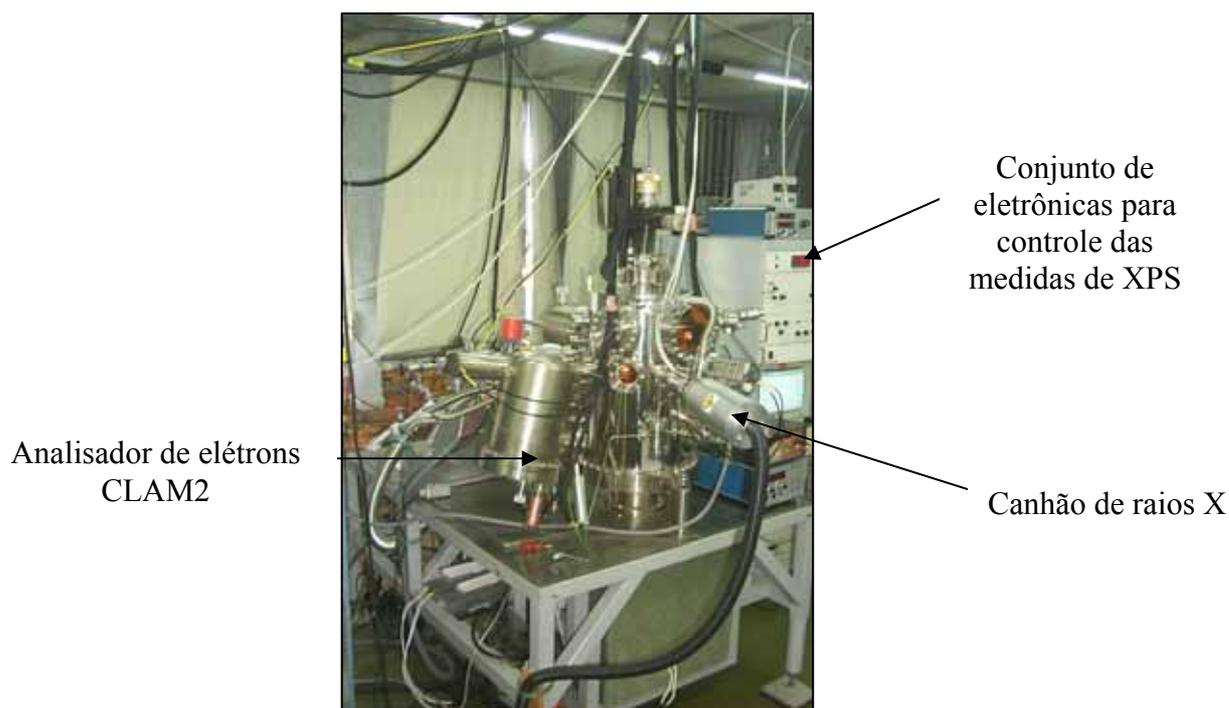


Figura III.6 - Equipamento para análise em XPS.

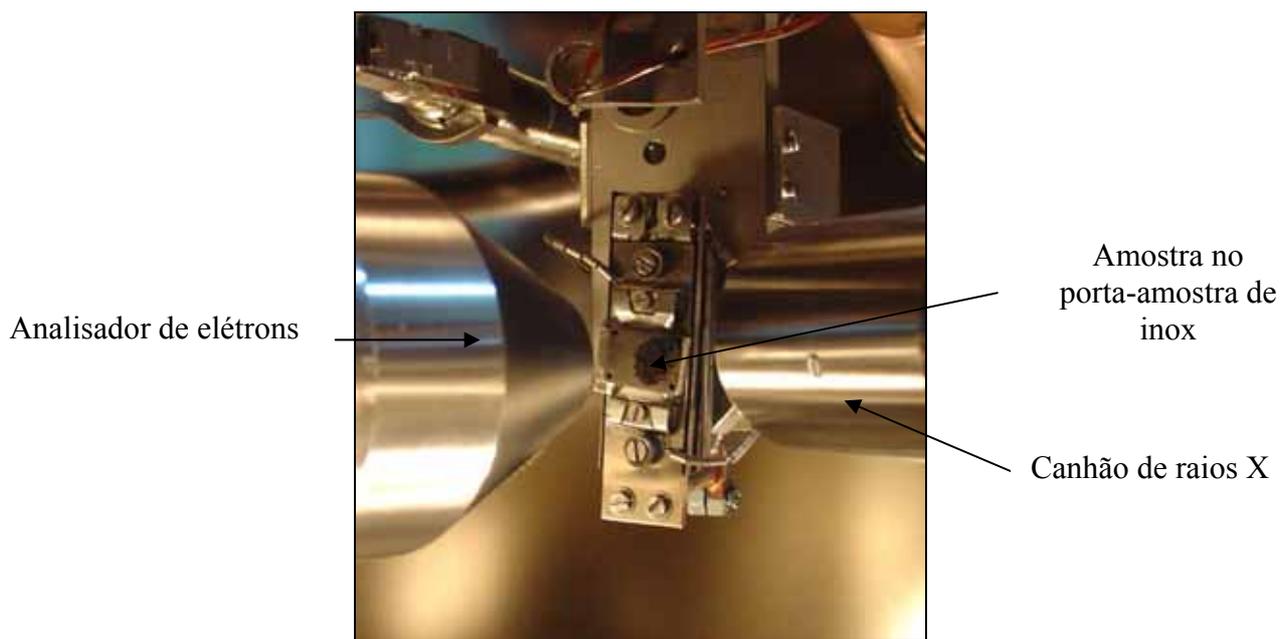


Figura III.7 - Amostra posicionada no XPS.

Tabela III.7 - Amostras analisadas em Espectroscopia de XPS.

Amostras	Pré-tratamentos Químico (min) e Térmico (°C)	Imersão em mFCS (dias)
44	60; 400	07
48		28
54	60; 200	07
58		28
60		-----

IV - RESULTADOS

IV.1 - Caracterização das Materiais Primas

▪ Análise Química

Os resultados da análise química dos pós de titânio são apresentados na tabela IV.1 segundo pesquisa anterior (OLIVEIRA, 2003). O titânio comercialmente puro agrupa-se em diferentes classes, cuja diferença se refere à quantidade de oxigênio e ferro presentes especificados pela norma ASTM B 265. As análises do teor dos elementos químicos dos pós segundo especificação de fábrica e análise dos pós realizada por OLIVEIRA, 2003 revelaram que não houve alterações significativas nestes pós.

Tabela IV.1 - Composição química do pós de titânio HDH: especificação do pó de titânio puro grau 2 (ASTM B 265), especificação de fábrica e resultado da análise química.

Pó de Titânio	Teor % ²									
	N	O	Na	S	C	Fe	Cl	H	Mg	Si
ASTM B 265 (max.)	0,03	0,25	0,015	0,30	0,10	0,30	----	0,015	----	----
Especificação de fábrica ¹	0,040	0,250	0,03	----	0,02	0,04	0,02	0,04	0,02	0,01
Análise química	0,014	0,223	0,006	----	0,021	0,052	----	----	0,006	----

¹Micron Metals

²Os elementos que não contem resultado não foram analisados.

IV. 2 - Caracterização das Amostras Biomiméticas

IV.2.1 - Análise Morfológica

As superfícies das amostras foram caracterizadas quanto a sua microtopografia por meio de microscopia eletrônica de varredura.

- Amostra Controle

A figura IV.1 apresenta a morfologia e o espectro do EDS da amostra controle (38), sem pré-tratamentos e sem imersão em mFCS. A figura IV.1 (a) revela a distribuição uniforme dos macroporos da amostra. A seta na figura IV.1 (b) identifica a formação de pescoço entre pós de titânio representando uma sinterização adequada. Na figura IV.1 (c) observa-se a existência de microporos da ordem de até 5 μ m. A figura IV.1 (d) apresenta o espectro de EDS da superfície do titânio puro.

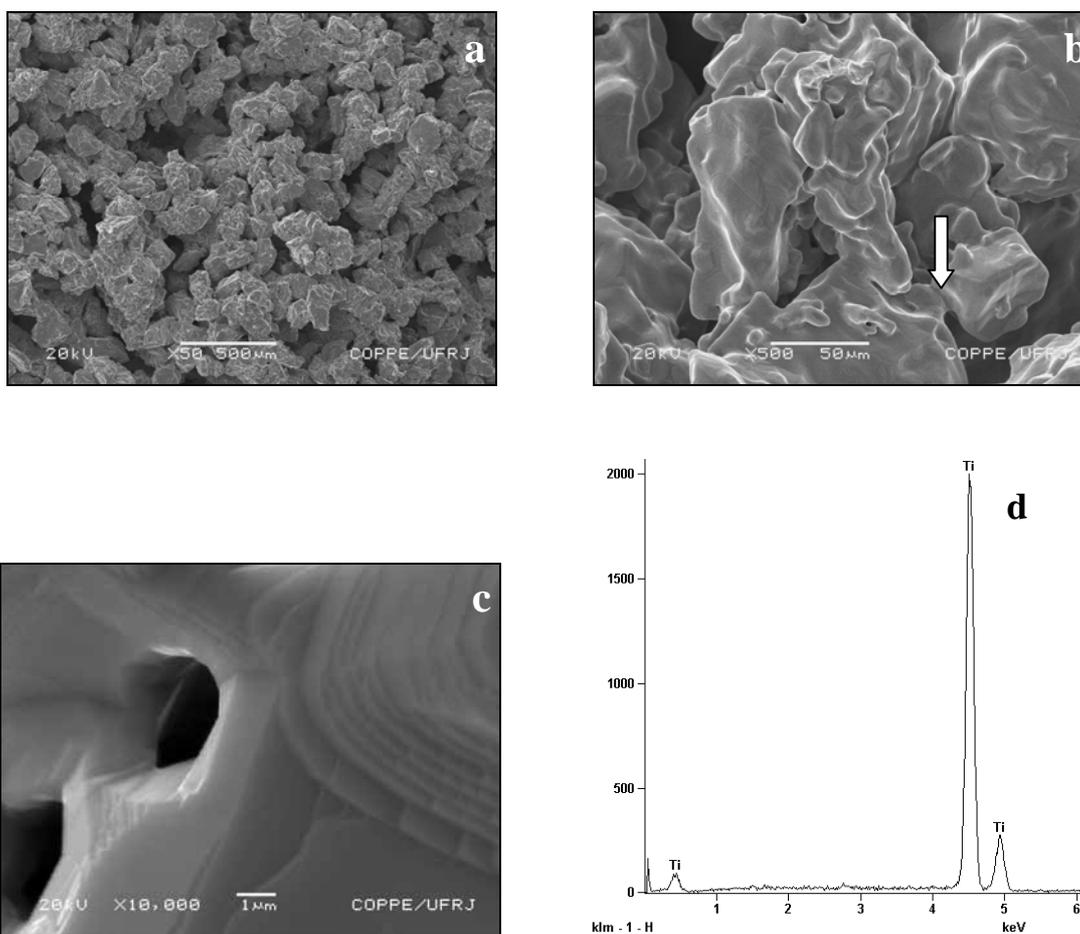
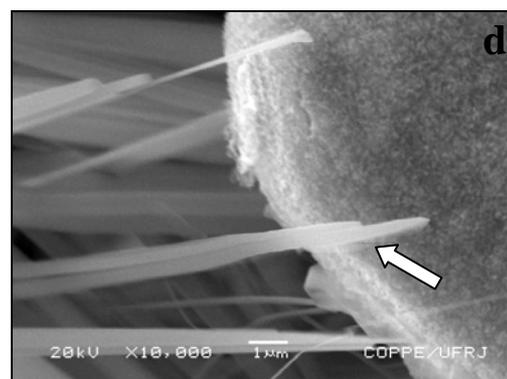
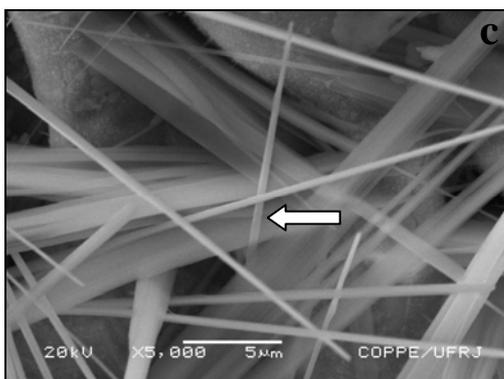
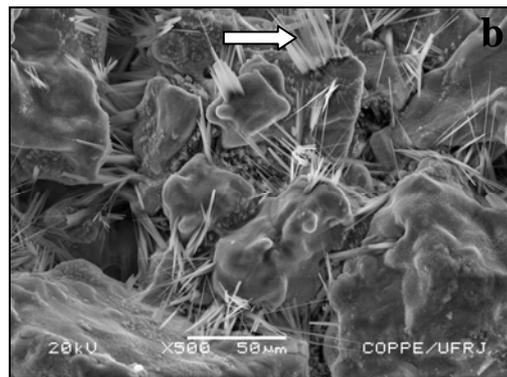
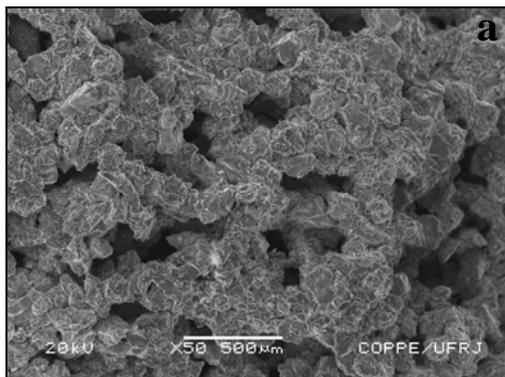


Figura IV.1 - Amostra 38 controle sem pré-tratamentos e sem imersão em mFCS: (a) 50X; (b) 500X - pescoço de sinterização (seta); (c) 10.000X - microporos (5 μ m); (d) espectro do EDS.

- Amostras submetidas à pré-tratamentos químico por 40 minutos e térmico a 600°C

A figura IV.2 apresenta a amostra 39 pré-tratada com NaOH durante 40 min e tratamento térmico a 600 °C. A figura IV.2 (a) revela a distribuição uniforme dos macroporos da amostra. As setas nas figuras IV.2 (b), (c) e (d) mostram agulhas de um material que é composto supostamente de titanato de sódio, uma vez que não foi possível a sua identificação em outras análises realizadas. A figura IV.2 (e) revela a mudança na textura da superfície do titânio após os pré-tratamentos, comparativamente à amostra controle (figura IV.1 c). O espectro de EDS (figura IV.2 f) apresenta elevado pico de Na decorrente do pré-tratamento com NaOH, picos característicos de Ti e O e picos de S e C caracterizando uma provável contaminação no preparo e/ou manipulação do material.



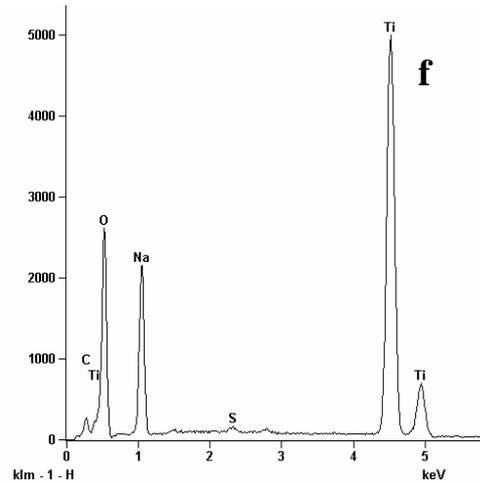
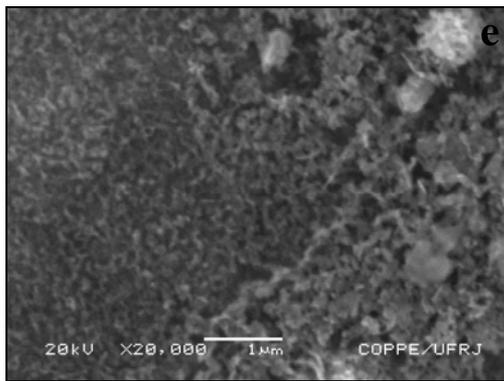


Figura IV.2 - Amostra 39 com tratamento químico durante 40 minutos e tratamento térmico a 600 °C: (a) 50X; (b) 500X - agulhas (seta); (c) 5.000X - agulhas (seta); (d) 10.000X - agulhas (seta); (e) 20.000X; (f) espectro do EDS.

- Amostras submetidas à pré-tratamentos químico por 60 minutos e térmico a 600°C

A figura IV.3 apresenta a micrografia da amostra 40 pré-tratada quimicamente durante 60 minutos e tratamento térmico em forno a 600 °C. A seta nas figuras IV.3 (b , c) mostram um material que é composto supostamente de agulhas de titanato de sódio. A seta nas figuras IV.3 (d, e, f) indica a presença de precipitados da solução NaOH que não reagiram com o titânio, conseqüentemente não formando o titanato de sódio.

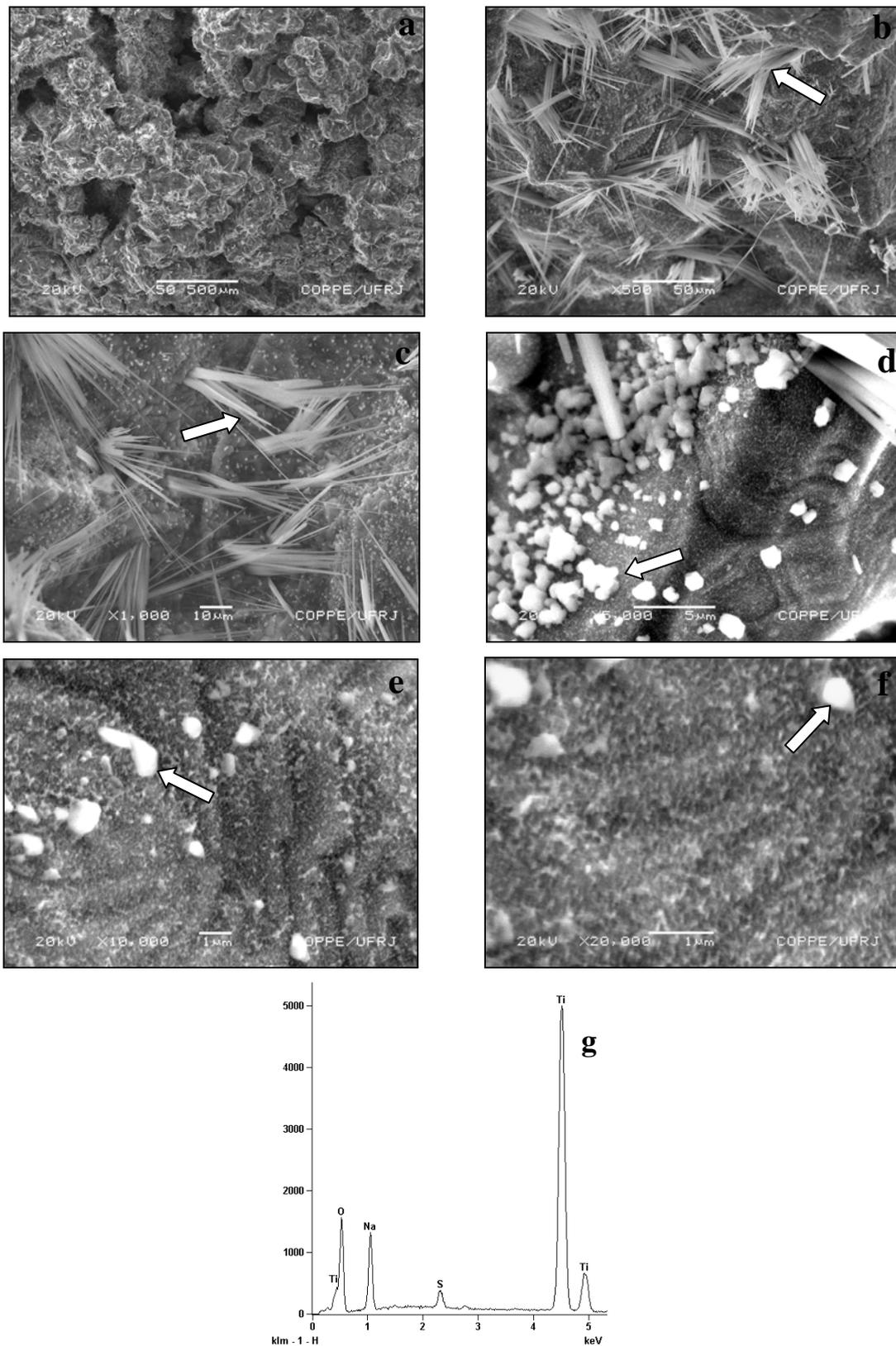


Figura IV.3 - Amostra 40 com tratamento químico tratada com NaOH a 130^oC por 60 minutos e tratamento térmico a 600^oC: (a) 50X ; (b) 500X - agulhas (seta); (c) 1.000X - agulhas (seta); (d) 5.000X - precipitados (setas); (e) 10.000X - precipitados (seta); (f) 20.000X - precipitados (seta); (g) espectro do EDS.

- Amostras submetidas à pré-tratamentos químico por 60 minutos e térmico a 400°C

A figura IV.4 apresenta a amostra 51 pré-tratada quimicamente durante 60 min e submetida a tratamento térmico a 400 °C. A figura IV.4 (a) revela a distribuição uniforme da porosidade da amostra. A figura IV.4 (b) apresenta a superfície da amostra com pequenas agulhas, mesmo com baixo aumento (500X). A seta na figura IV.4 (c) mostra um material que é composto supostamente de agulhas de titanato de sódio. O espectro de EDS (figura IV.4 d) revela pico de Na resultante do pré-tratamento alcalino e picos de C e Al provavelmente decorrente de contaminação no preparo e/ou manipulação do material.

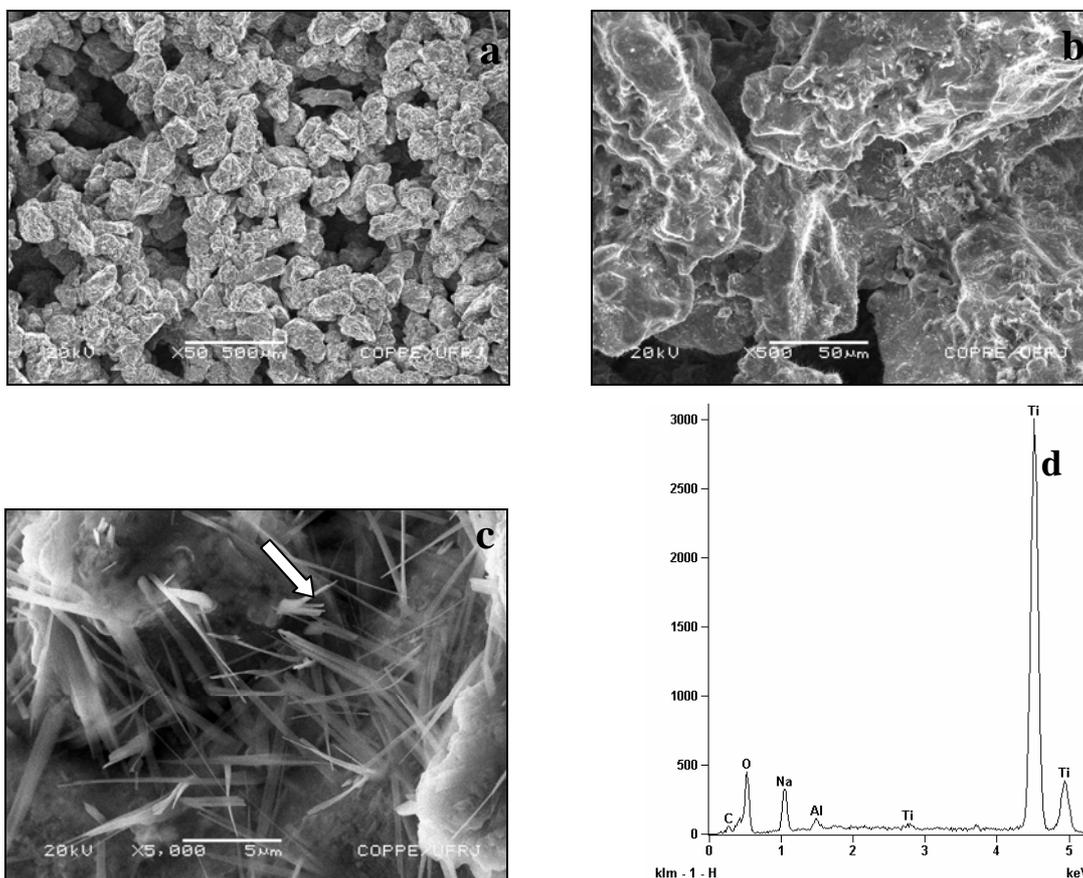


Figura IV.4 - Amostra 51 com pré-tratamento químico por 60 min e térmico a 400°C: (a) 50X; (b) 500X; (c) 5000X- agulhas (seta); (d) espectro de EDS .

- Amostras submetidas à pré-tratamentos químico por 60 minutos e térmico a 200°C

A figura IV.5 apresenta a amostra 60 pré-tratada quimicamente durante 60 min e submetida a tratamento térmico a 200°C. A figura IV.5 (a) revela a distribuição uniforme da porosidade da amostra. As figuras IV.5 (b) e (c) apresentam a superfície da amostra com agulhas de titanato de sódio dispersas uniformemente. A seta na figura IV.5 (d) mostra um material que é composto supostamente de agulhas de titanato de sódio, as quais são mais largas que as presentes nas amostras anteriores. O espectro de EDS (figura IV.5 e) revela pico de Na resultante do pré-tratamento alcalino e pico de Al provavelmente decorrente de contaminação no preparo e/ou manipulação do material.

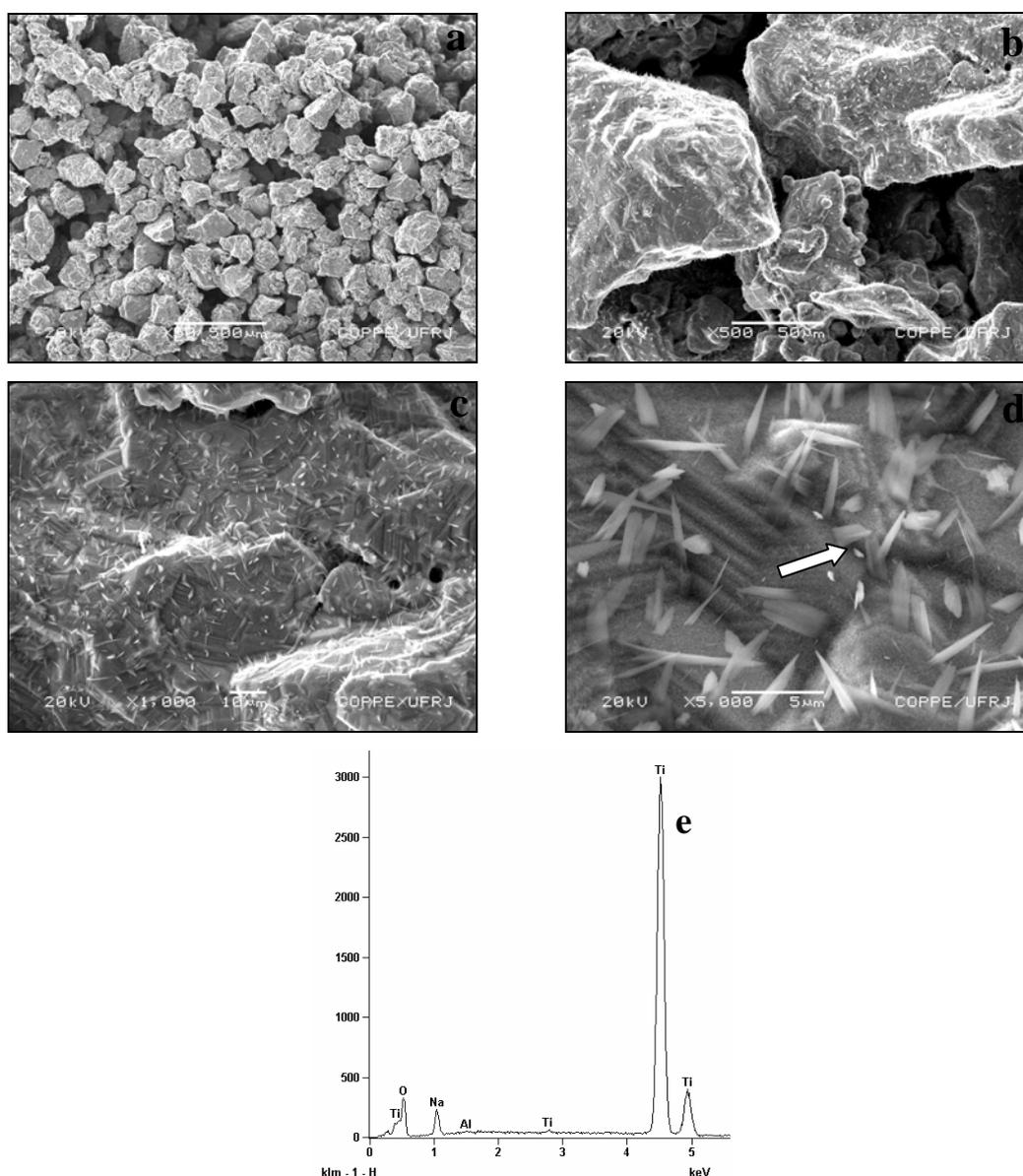


Figura IV.5 - Amostra 60 pré-tratada quimicamente por 60 min e termicamente a 200°C: (a) 50X; (b) 500X; (c) 1.000X; (d) 5.000X - agulhas (seta); (e) espectro do EDS.

- Amostras imersas em mFCS sem pré-tratamentos químico e térmico

A figura IV.6 apresenta a amostra 14 sem pré-tratamentos e com imersão em mFCS durante 02 dias. A figura IV.6 (a) revela a distribuição uniforme da porosidade da amostra. A seta na figura IV.6 (b) revela a presença de precipitados nos poros da solução biomimética em forma de flocos. A figura IV.6 (c) ilustra microporos com tamanho até 5 μm . A figura IV.6 (d) apresenta superfície do titânio não revestida pelo fosfato de cálcio. Entretanto, o espectro do EDS (figura. IV.6 e) apresenta picos de Ca e P característicos de revestimento de fosfato de cálcio.

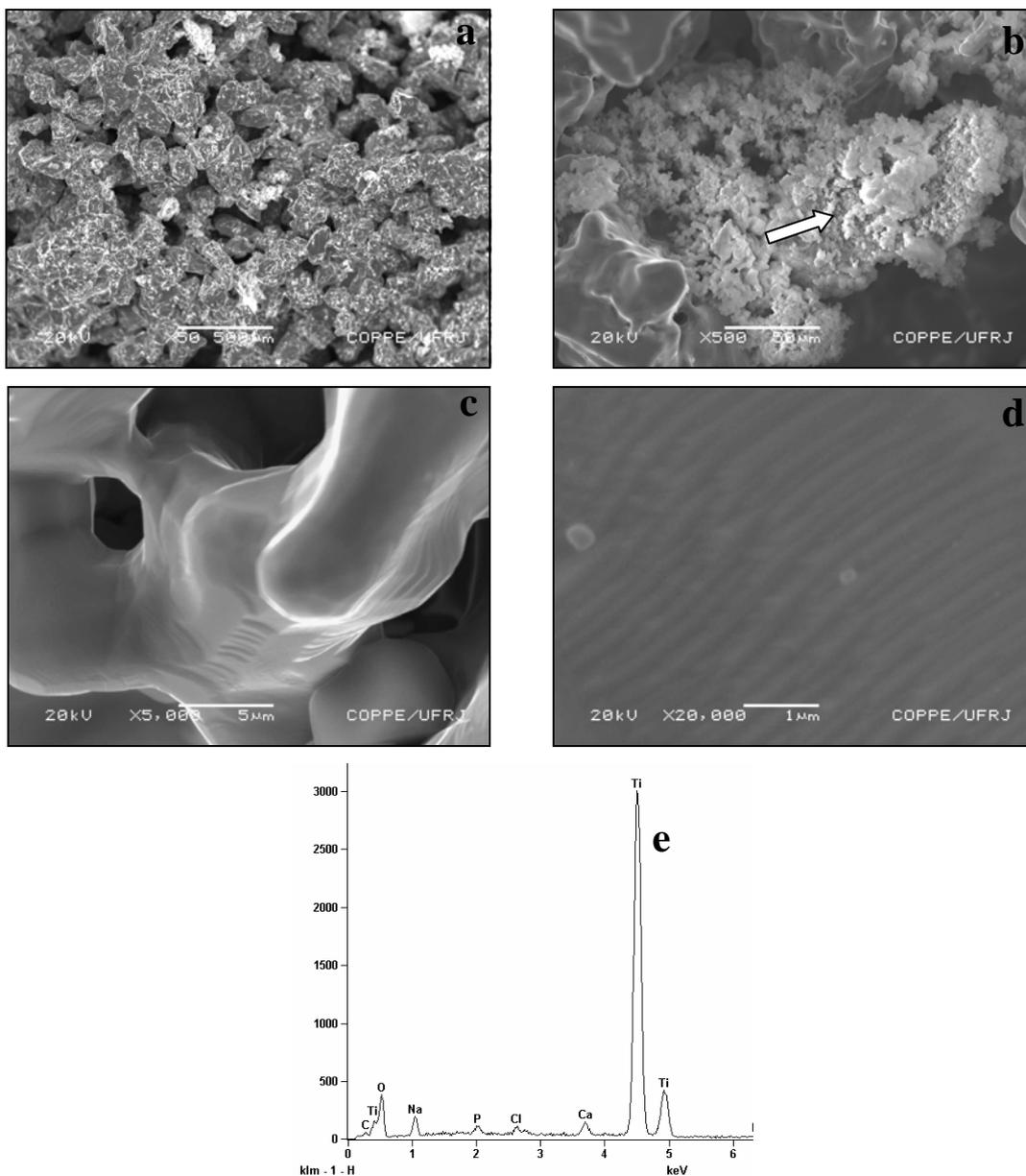


Figura IV.6 - Amostra 14 sem pré-tratamentos e com imersão em mFCS durante 02 dias: (a) 50X; (b) 500X - flocos (seta); (c) 5.000X; (d) 20.000; (e) espectro do EDS.

A figura IV.7 apresenta a amostra 16 sem pré-tratamentos e com imersão em mFCS durante 07 dias. A figura IV.7 (a) revela a distribuição uniforme da porosidade da amostra. A seta na figura IV.7 (b) identifica a formação de pescoço entre os pós de titânio representando uma sinterização adequada. A figura IV.7 (c) apresenta precipitados da solução biomimética em forma de flocos (seta). A partir da figura IV.7 (d) não é possível identificar a morfologia típicas (nucleação dos cristais) de revestimento de fosfato de cálcio. O espectro do EDS (figura IV.7 e) revela picos de elementos químicos que compõem os reagentes da solução mFCS, em especial Ca e P (característicos do revestimento).

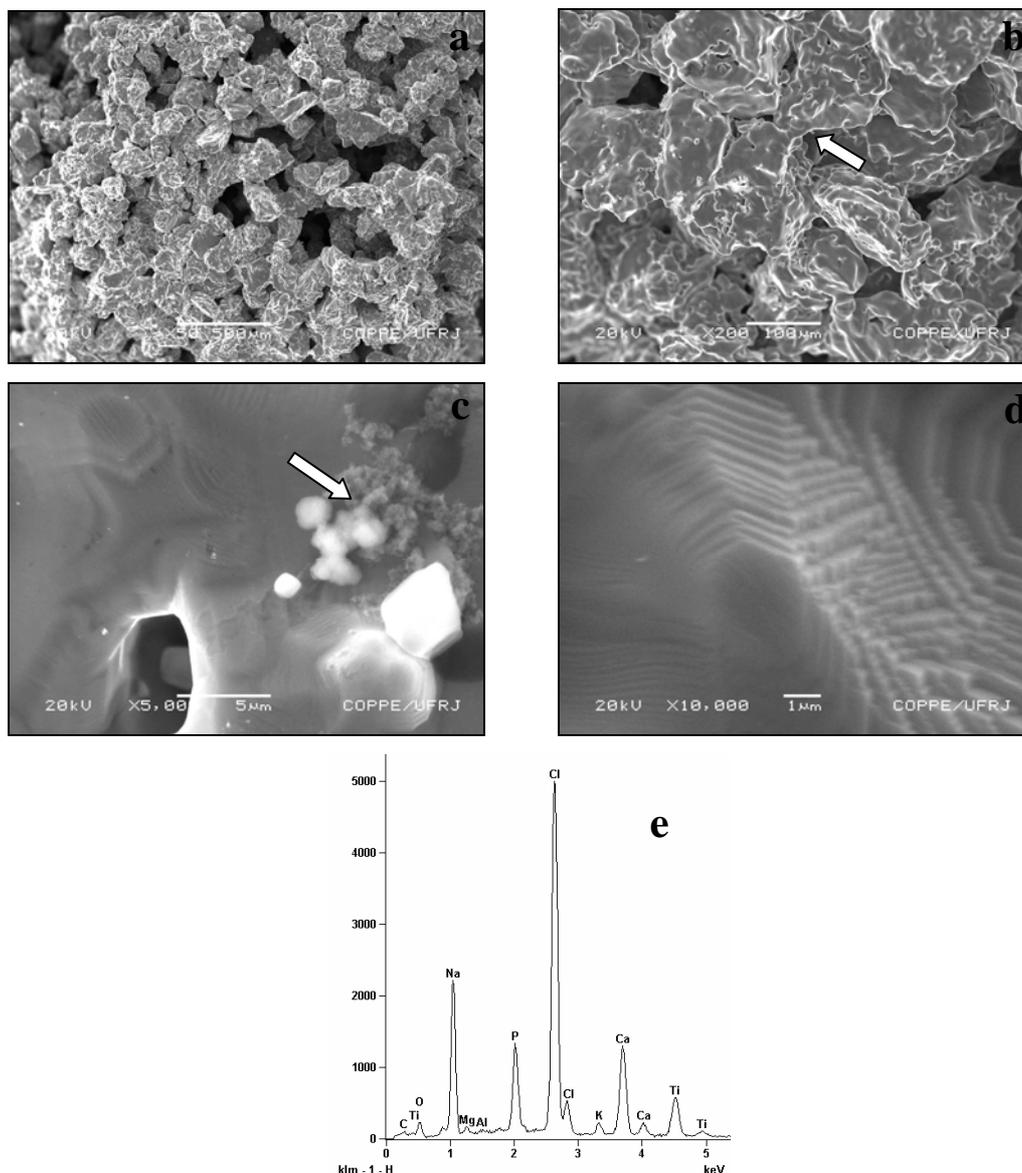


Figura IV.7 - Amostra 16 sem pré-tratamentos e com imersão em mFCS por 07 dias: (a) 50X; (b) 200X - pescoço de sinterização (seta); (c) 5.000X - flocos (seta); (d) 10.000X; (e) espectro do EDS.

A figura IV.8 apresenta a amostra 18 sem pré-tratamento químico e térmico e com imersão em mFCS durante 14 dias. A figura IV.8 (a) revela a distribuição uniforme da porosidade da amostra. A seta na figura IV.8 (b) identifica a formação de pescoço entre os grãos do titânio representando uma sinterização adequada. A figura IV.8 (c) apresenta precipitados em forma de flocos (seta) da solução mFCS. O espectro do EDS (figura IV.8 d) identifica pequenos picos de Na, Cl e Ca.

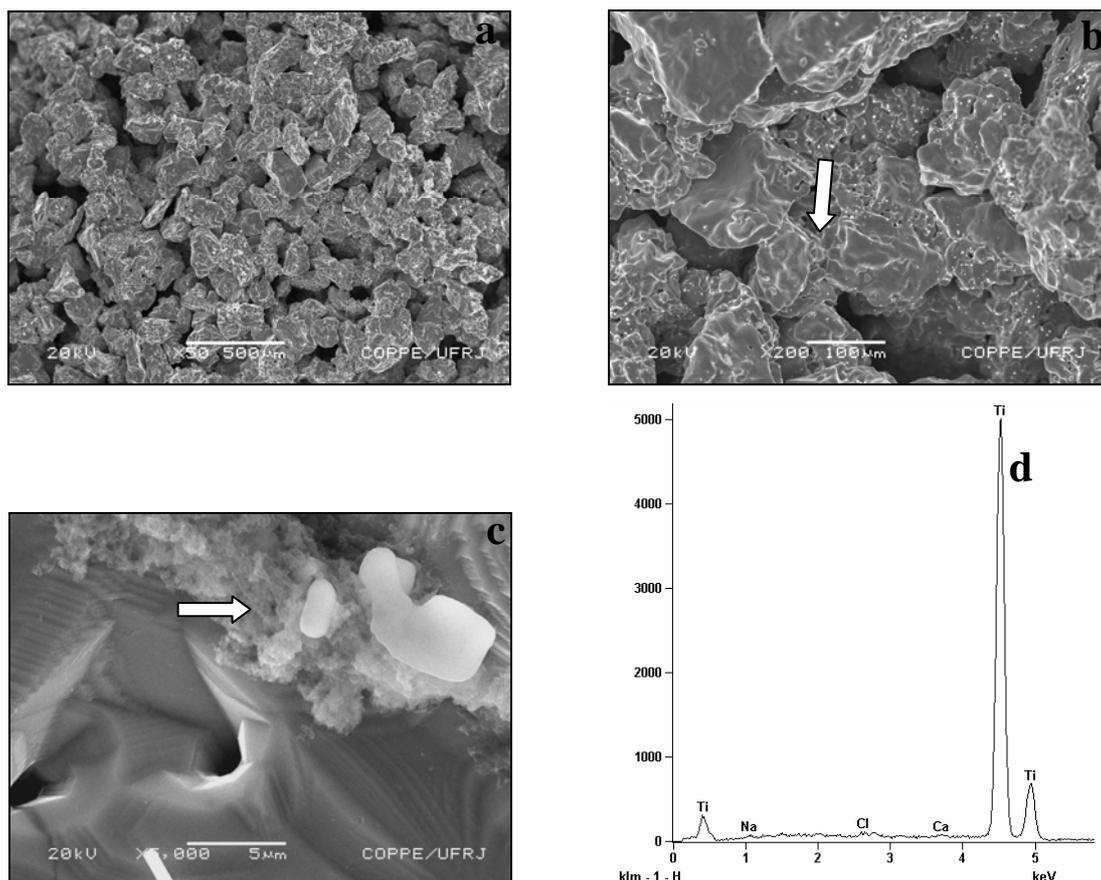


Figura IV.8 - Amostra 18 sem pré-tratamentos e com imersão em mFCS por 14 dias: (a) 50X; (b) 200X - pescoço de sinterização; (c) 5.000X - flocos (seta); (d) espectro do EDS.

A figura IV.9 apresenta a amostra 20 sem pré-tratamentos químicos e térmicos e com imersão em mFCS durante 28 dias. A figura IV.9 (a) revela a distribuição uniforme da porosidade da amostra. As figuras IV.9 (c) e (d) apresentam a nucleação e crescimento dos cristais de fosfato de cálcio (setas) e a figura IV.9 (e) mostra esses cristais com maior aumento. O espectro de EDS (figura IV.9 f) revela picos de Ca e P característicos do revestimento. Entre as amostras sem pré-tratamentos e com imersão

em mFCS, apenas esta amostra 20 com imersão durante 28 dias apresentou a morfologia típica de revestimento de fosfato de cálcio significativo.

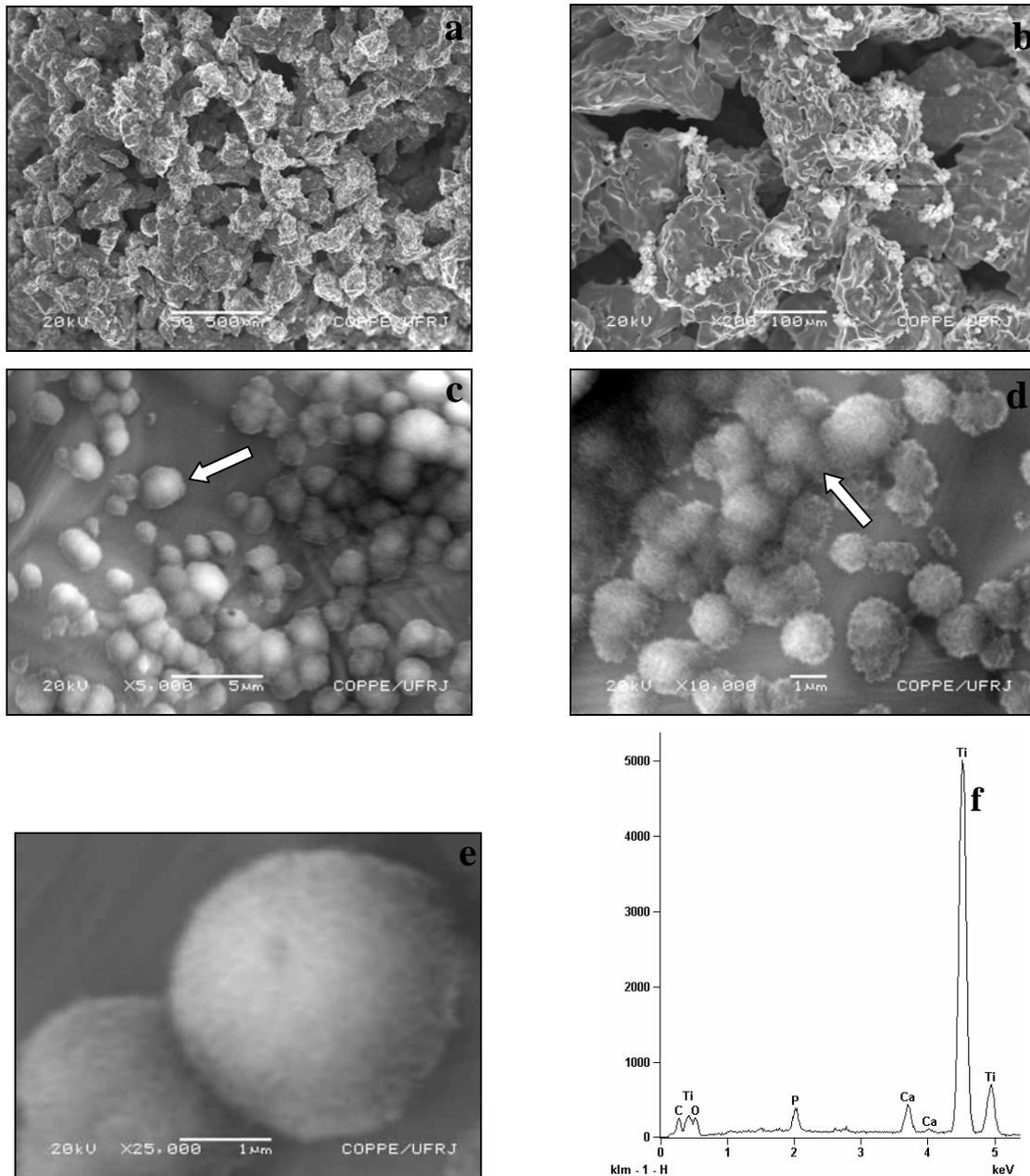


Figura IV.9 - Amostra 20 sem pré-tratamentos e com imersão em mFCS por 28 dias: (a) 50X; (b) 200X; (c) 5.000X - nucleação e crescimento dos cristais (seta); (d) 10.000X- nucleação e crescimento dos cristais (seta); (e) 25.000X; (f) espectro de EDS.

- Amostras submetidas à pré-tratamentos com NaOH por 40 min, térmico a 600°C e imersão em mFCS

A figura IV.10 apresenta a amostra 22 pré-tratada quimicamente por 40 min, submetida a tratamento térmico a 600 °C e imersa em solução mFCS por 02 dias. A seta na figura IV.10 (b) e (c) mostra precipitados da solução em forma de flocos. A figura IV.10 (d) espectro de EDS revela um pequeno pico de cálcio.

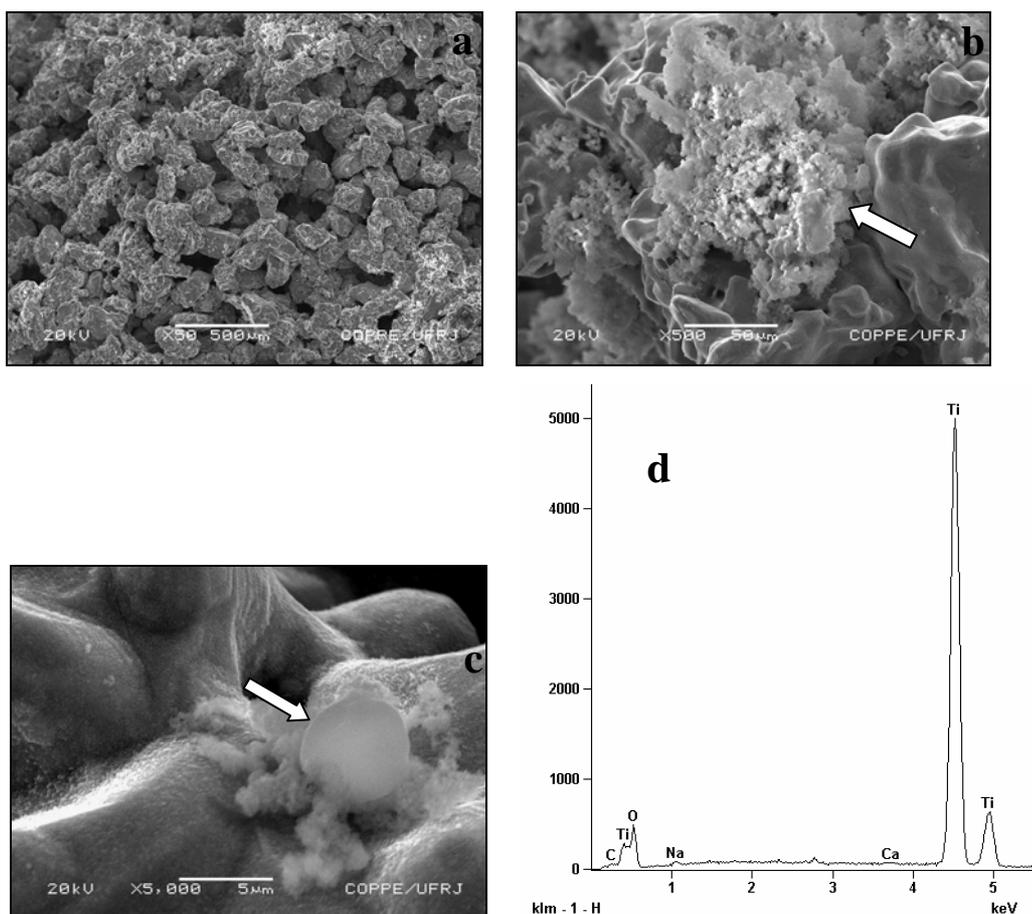


Figura IV.10 - Amostra 22 pré-tratada quimicamente por 40 min, tratamento térmico a 600°C e imersa em mFCS por 02 dias: (a)50X; (b) 500X - flocos (seta); (c) 5.000X - flocos (seta) ; (d) espectro de EDS.

A figura IV.11 apresenta a amostra 24 pré-tratada quimicamente por 40 min, submetida a tratamento térmico a 600 °C e imersa em solução por 07 dias. As figuras IV.11 (d, e) mostram as superfícies do titânio com precipitados da solução (setas). O espectro do EDS (figura IV.11 f) apresenta picos de Ca e P.

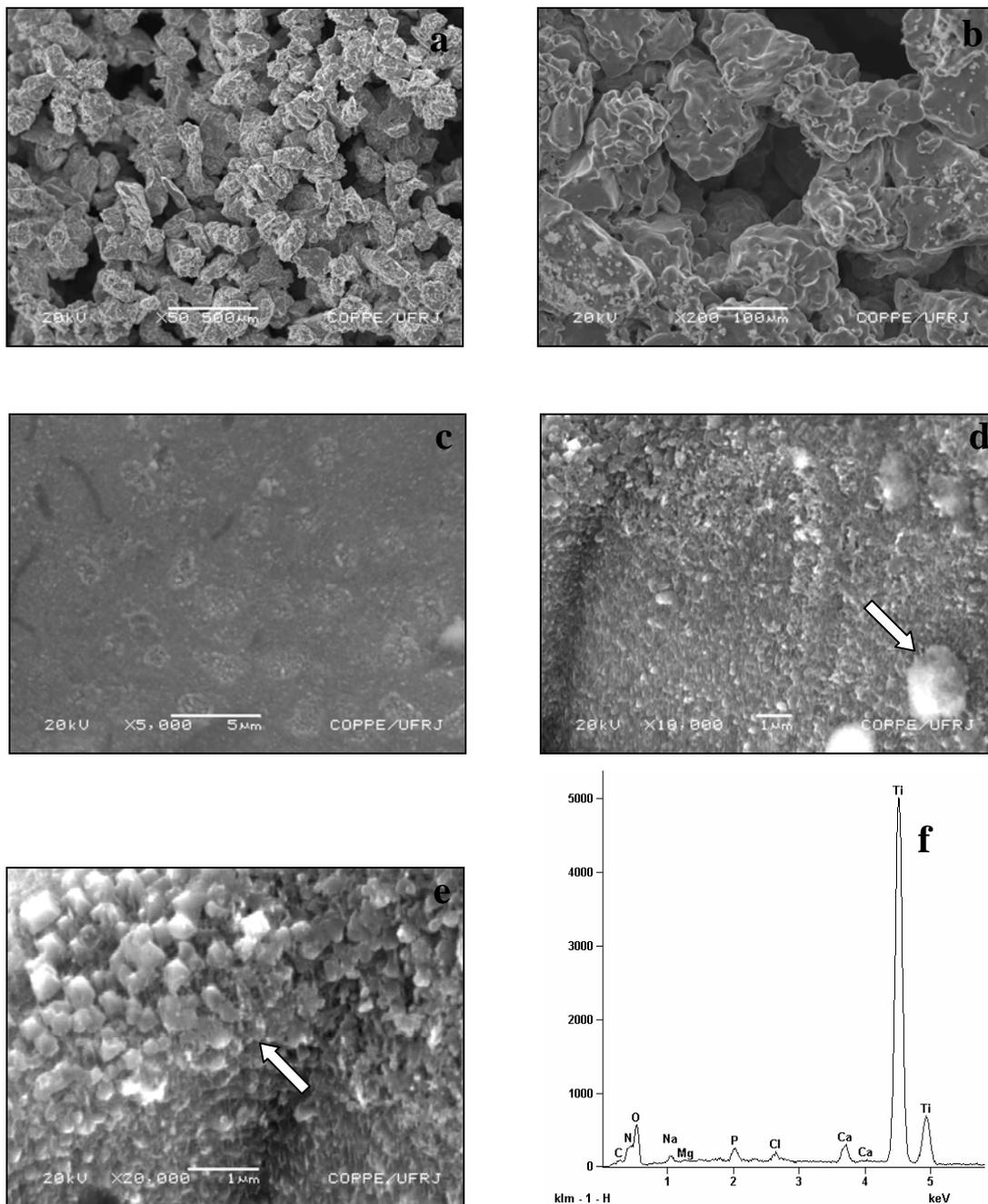


Figura IV.11 - Amostra 24 pré-tratada quimicamente por 40 min, tratamento térmico a 600°C e imersa em mFCS por 07 dias: (a) 50X; (b) 200X; (c) 5.000X; (d) 10.000X - flocos (seta); (e) 20.000X - flocos (seta); (f) espectro do EDS.

A figura IV.12 apresenta a amostra 26 pré-tratada quimicamente por 40 min, submetida a tratamento térmico a 600 °C e imersa em solução por 14 dias. A figura IV.12 (c) apresenta cristais de fosfato de cálcio (seta). O espectro do EDS (figura IV.12 e) apresenta picos de Ca e P.

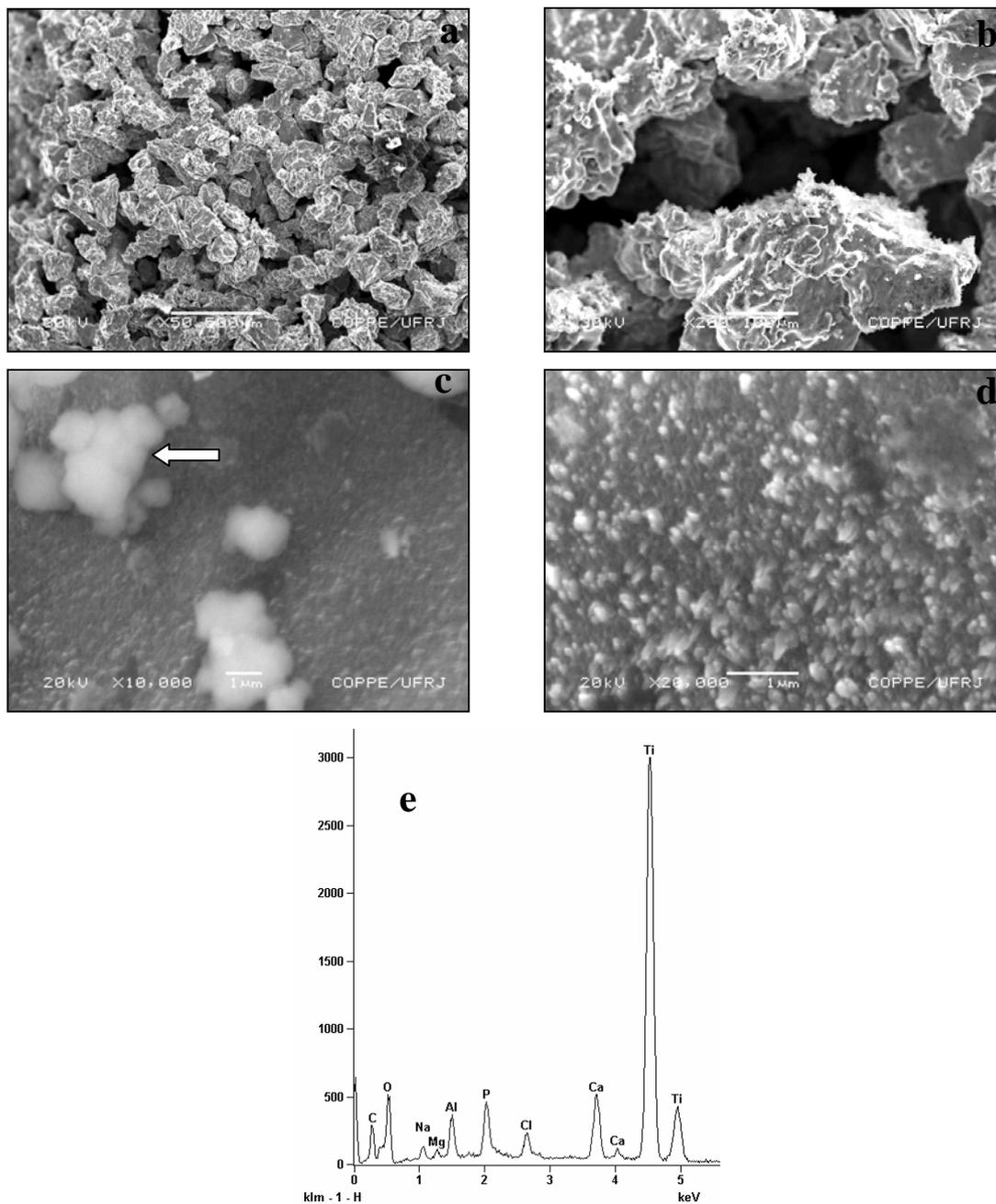


Figura IV.12 - Amostra 26 com 1M NaOH a 130°C por 40 min, tratamento térmico a 600 °C e imersa em mFCS por 14 dias: (a) 50X; (b) 200X; (c) 10.000X - cristais de fosfato de cálcio (seta); (d) 20.000X; (e) espectro do EDS.

A figura IV.13 apresenta a amostra 28 pré-tratada quimicamente por 40 min, submetida a tratamento térmico a 600 °C e imersa em solução por 28 dias. A figura IV.13 (b) apresenta precipitados da solução biomimética em forma de flocos (seta). As figuras IV.13 (c), (d) e (e) revelam a formação de revestimento de fosfato de cálcio. O espectro do EDS (figura IV.13 f) apresenta picos elevados de Ca e P, que é um dos indicativos da formação do filme biomimético.

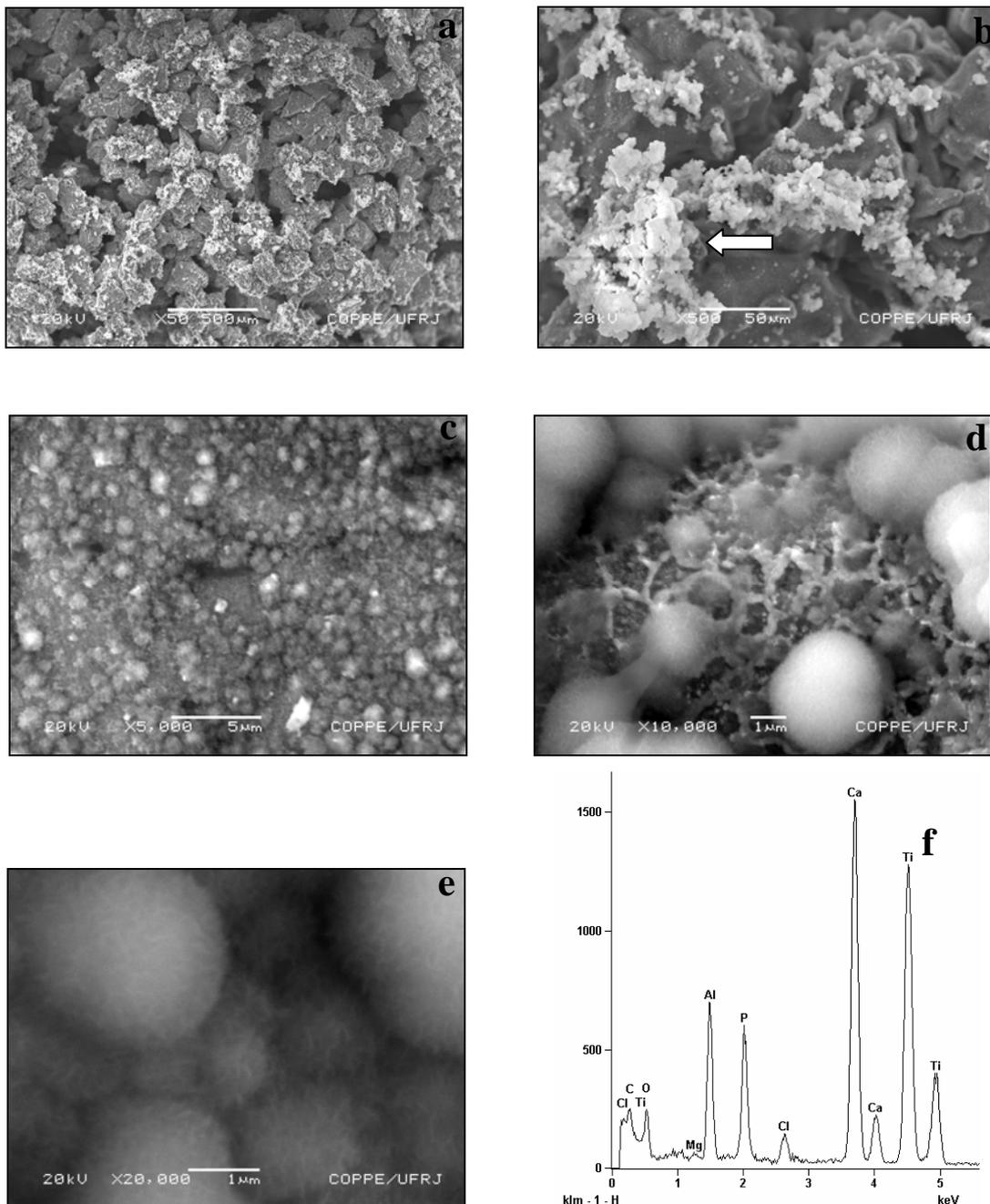


Figura IV.13 - Amostra 28 pré-tratada quimicamente por 40 min, tratamento térmico a 600 °C e imersa em mFCS por 28 dias: (a) 50X; (b) 500X - flocos (seta); (c) 5.000X; (d) 10.000X; (e) 20.000X; (f) espectro do EDS.

- Amostras submetidas à pré-tratamentos com NaOH por 60 min, térmico a 600°C e imersão em mFCS

A figura IV.14 apresenta a amostra 30 pré-tratada quimicamente por 60 min, tratada termicamente a 600 °C e imersa em mFCS durante 02 dias. As figuras IV.14 (c) e (d) apresentam o titânio sem aparência típica de revestimento de fosfato de cálcio, embora a superfície não seja lisa como a da amostra controle (figura IV.1 c). O espectro do EDS (figura IV.14 e) apresenta um pequeno pico de Ca.

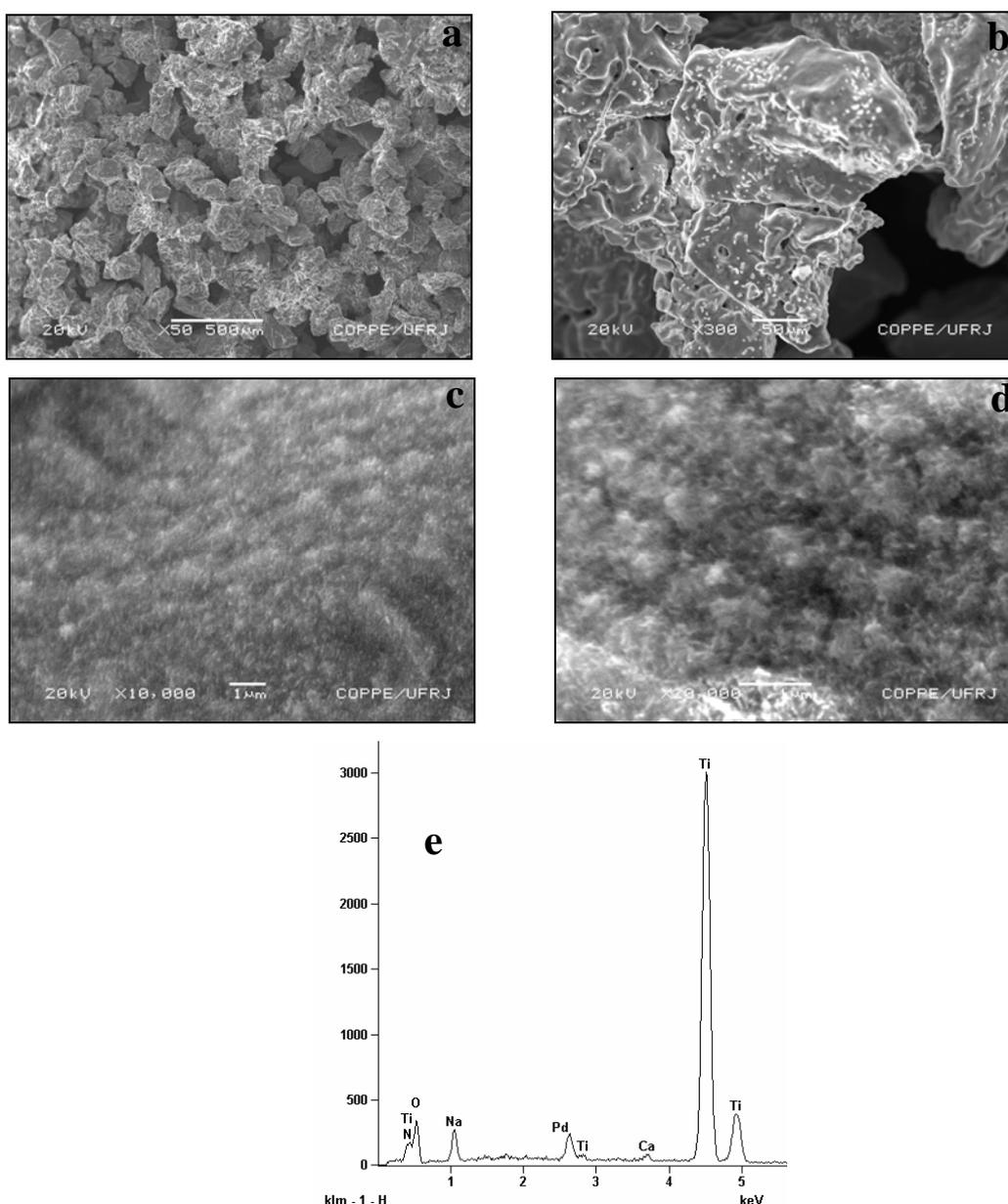


Figura IV.14 - Amostra 30 pré-tratada quimicamente por 60 min, tratamento térmico a 600 °C e imersa em mFCS por 02 dias: (a) 50X; (b) 300X; (c) 10.000X; (d) 20.000X; (e) espectro do EDS.

A figura IV.15 mostra a amostra 32 pré-tratada quimicamente por 60 min, tratada termicamente a 600 °C e imersa em mFCS durante 07 dias. A seta na figura IV.15 (b) mostra a região do pescoço entre os pós de titânio. As figuras IV.15 (c, d, e) apresenta uma alteração na textura da superfície. A figura IV.15 (f) apresenta o espectro do EDS com picos de Ca e P.

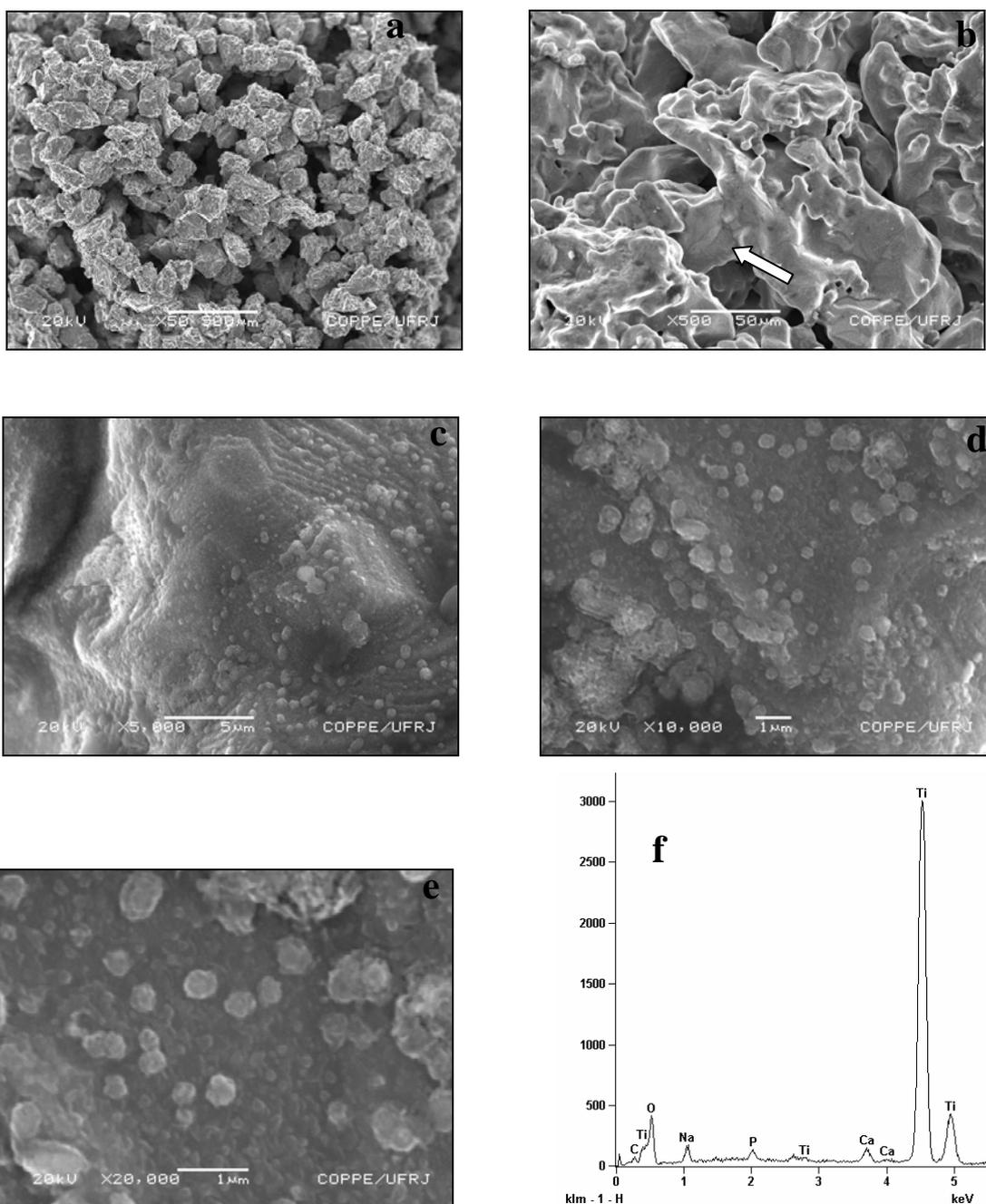


Figura IV.15 - Amostra 32 por 60 min, tratamento térmico a 600 °C e imersa em mFCS por 07 dias: (a) 50X; (b) 500X - pescoço de sinterização (seta); (c) 5.000X; (d) 10.000X; (e) 20.000X; (f) espectro do EDS.

A figura IV.16 mostra a amostra 34 pré-tratada quimicamente por 60 min, tratada termicamente a 600 °C e imersa em mFCS durante 14 dias. A figura IV.16 (d) apresenta o espectro do EDS com picos de Ca e P e outros elementos químicos contaminantes.

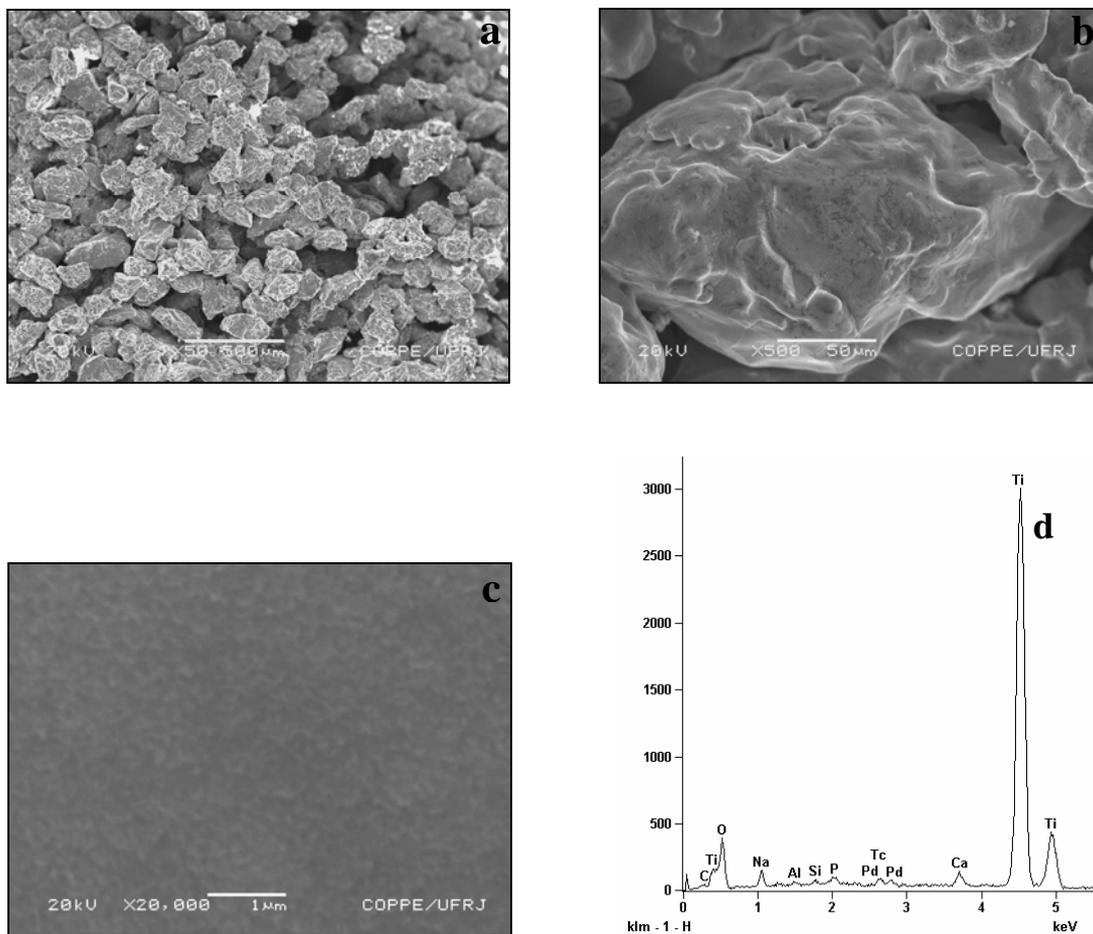


Figura IV.16 - Amostra 34 pré-tratada quimicamente por 60 min, tratamento térmico a 600 °C e imersa em mFCS por 14 dias: (a) 50X; (b) 500X; (c) 20.000X; (d) espectro do EDS.

A figura IV.17 mostra a amostra 36 pré-tratada quimicamente por 60 min, tratada termicamente a 600 °C e imersa em mFCS durante 28 dias. As figuras IV.17 (d) e (e) apresentam o substrato sem revestimento. Entretanto, o espectro do EDS (figura IV.17 f) apresenta picos de Ca e P.

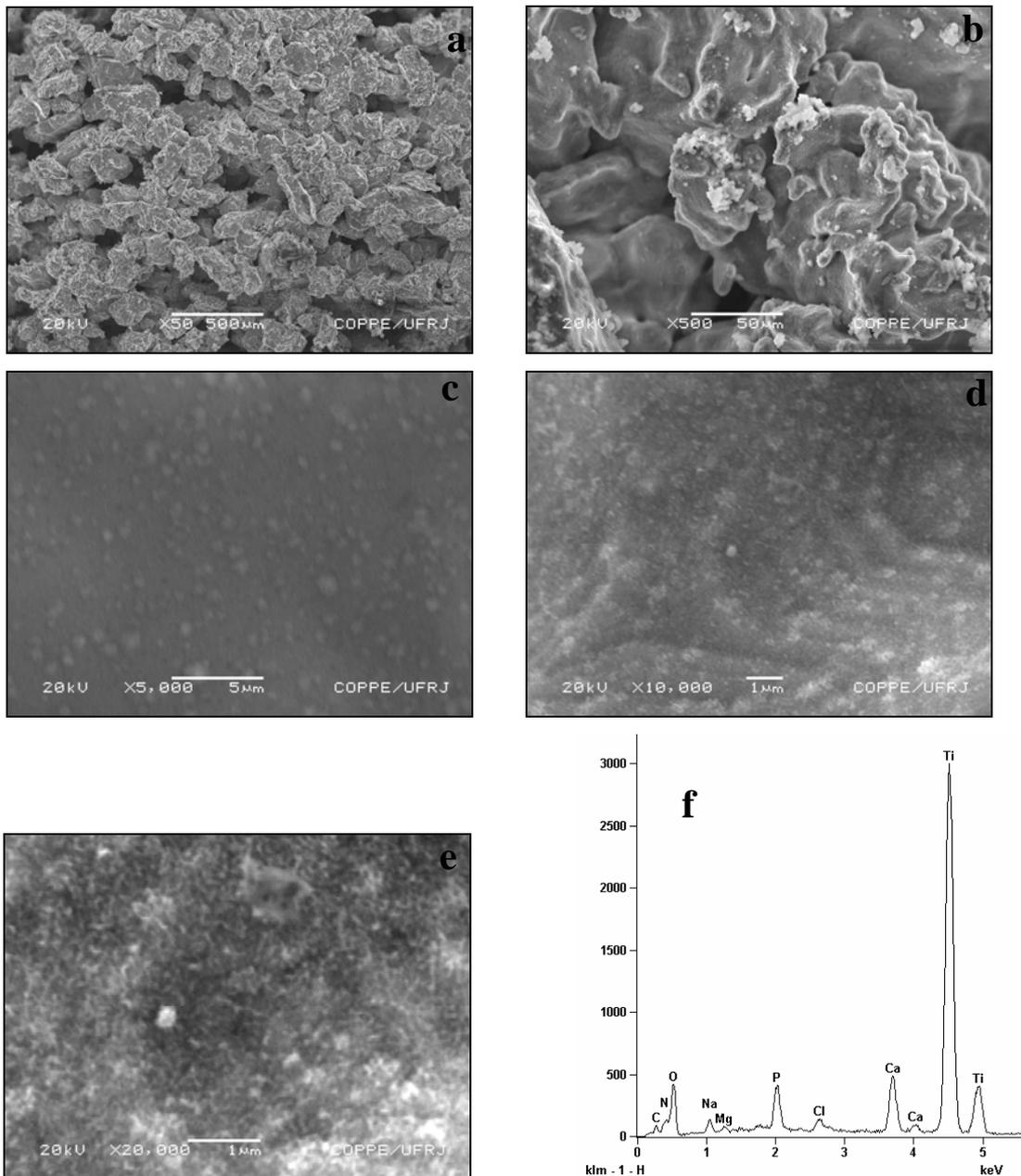


Figura IV.17 - Amostra 36 pré-tratada quimicamente por 60 min, tratamento térmico a 600 °C e imersa em mFCS por 28 dias: (a) 50X; (b) 500X; (c) 5.000X; (d) 10.000X; (e) 20.000X; (f) espectro do EDS.

- Amostras submetidas à pré-tratamentos com NaOH por 60 min, térmico a 400°C e imersão em mFCS

A figura IV.18 apresenta a amostra 42 tratada pré-tratada quimicamente por 60 min, tratada termicamente a 400 °C e imersa em mFCS durante 02 dias. A figura IV.18 (d) mostra precipitados sobre o substrato, mas não há aparência típica de revestimento biomimético, embora a superfície não seja lisa como a da amostra controle (figura IV.1 c). O espectro do EDS (figura IV.18 e) revela picos de Ca e P.

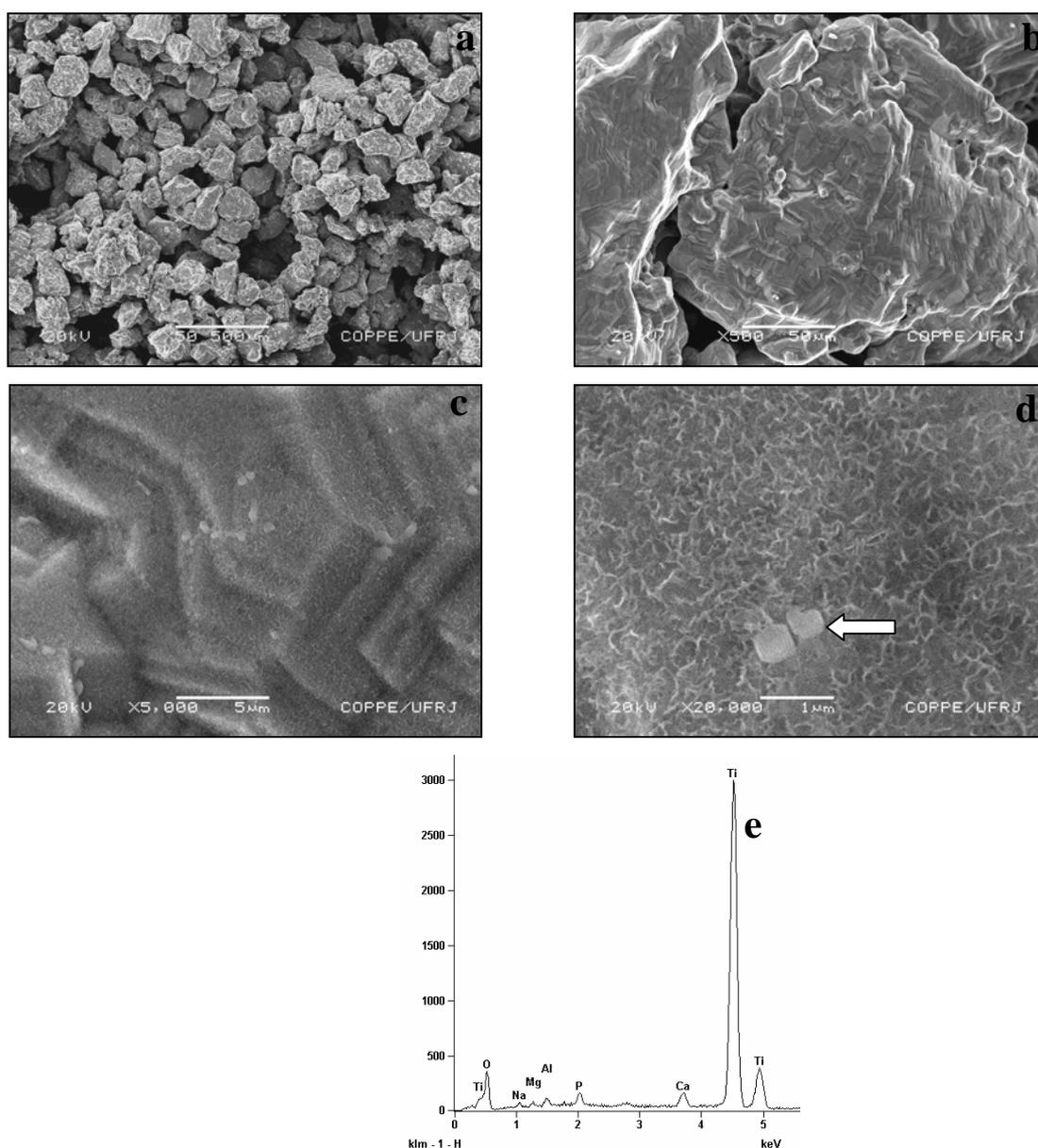


Figura IV.18 - Amostra pré-tratada quimicamente por 60 min, tratamento térmico a 400°C e imersão em mFCS por 2 dias: (a) 50X; (b) 500X; (c) 5.000X; (d) 20.000X - precipitados (seta); (e) espectro do EDS.

A figura IV.19 mostra a amostra 44 pré-tratada quimicamente por 60 min, tratada termicamente a 400 °C e imersa em mFCS durante 07 dias. As figuras IV.19 (c) e (d) apresentam o titânio aparência típica de revestimento de fosfato de cálcio. A seta na figura (e) demonstra uma estrutura com característica de nucleação e crescimento dos cristais de fosfato de cálcio. O espectro do EDS (figura IV.19 f) revela picos de Ca e P.

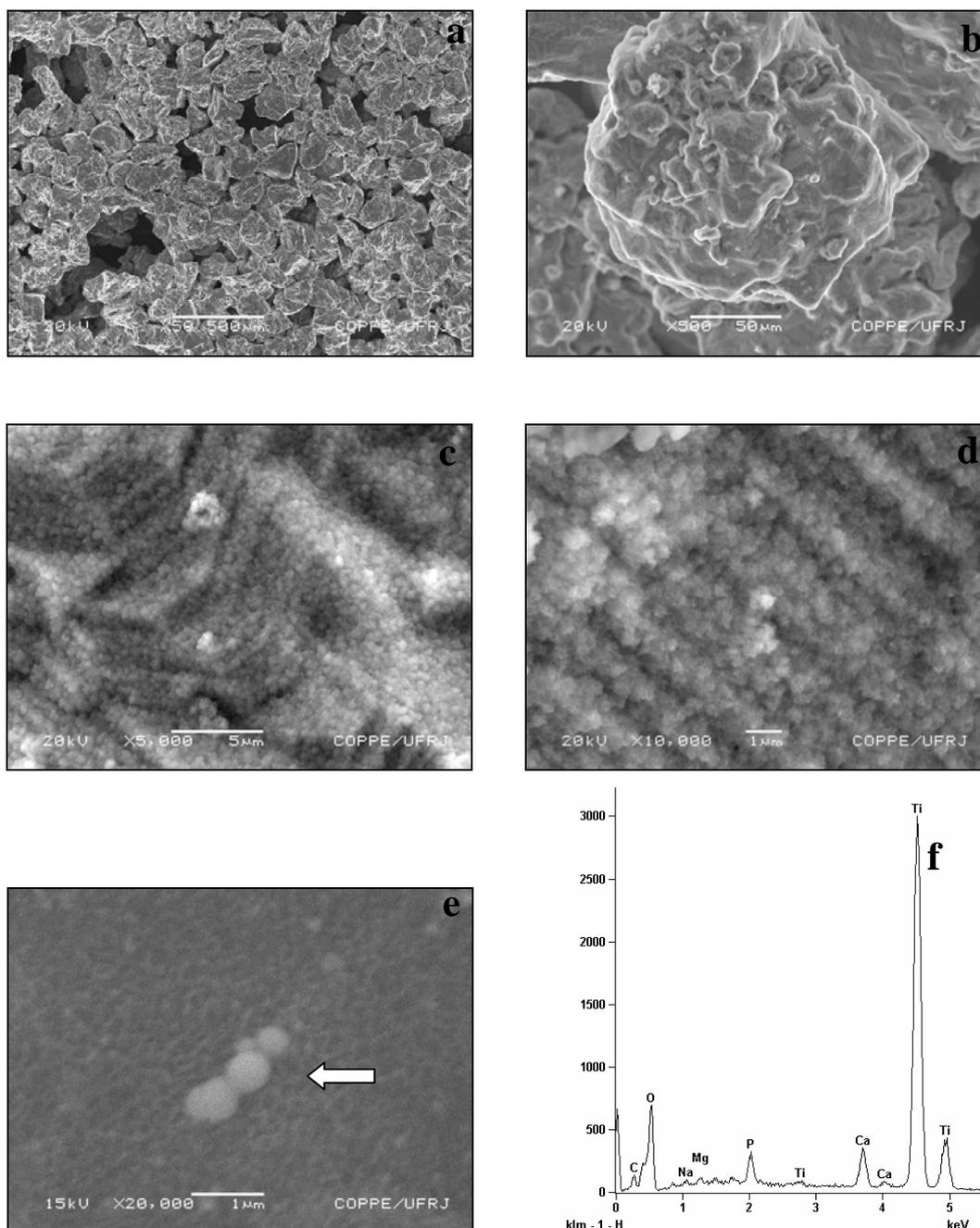


Figura IV.19 - Amostra 44 pré-tratada quimicamente por 60 min, tratamento térmico a 400°C e imersão em mFCS por 07 dias: (a) 50X; (b) 500X; (c) 5.000x; (d) 10.000X; (e) 20.000X - nucleação e crescimento dos cristais de CaP (seta); (f) espectro do EDS.

A figura IV.20 apresenta a amostra 46 pré-tratada quimicamente por 60 min, tratada termicamente a 400 °C e imersa em mFCS durante 14 dias. A figura IV.20 (b) mostra regiões de precipitação a partir da solução mFCS. As figuras IV.20 (c) e (d) apresentam o titânio onde se verifica a formação do revestimento de fosfato de cálcio. O espectro do EDS (figura IV.20 e) revela picos elevados de Ca e P.

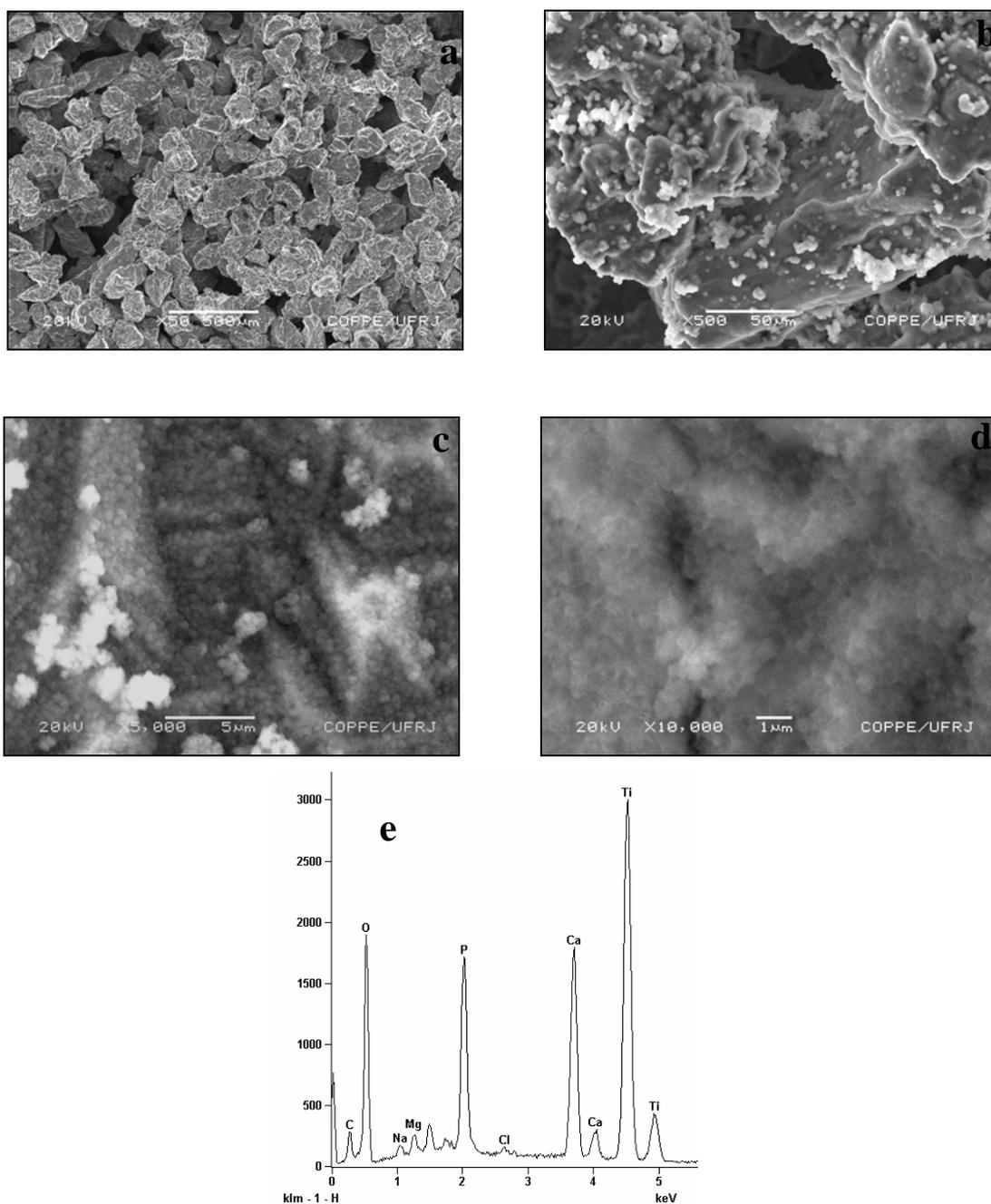


Figura IV.20 - Amostra 46 com NaOH por 60 min, tratamento térmico a 400°C e imersão em mFCS por 14 dias: (a) 50X; (b) 500X; (c) 5.000X; (d) 10.000X; (e) espectro do EDS.

A figura IV.21 apresenta a amostra 48 pré-tratada quimicamente por 60 min, termicamente a 400 °C e imersa em mFCS durante 28 dias. A figura IV.20 (b) mostra regiões de precipitação a partir da solução mFCS. As figuras IV.20 (c, d, e) apresentam o titânio onde se verifica a formação do revestimento de fosfato de cálcio. O espectro do EDS (figura IV.20 f) revela picos elevados de Ca e P.

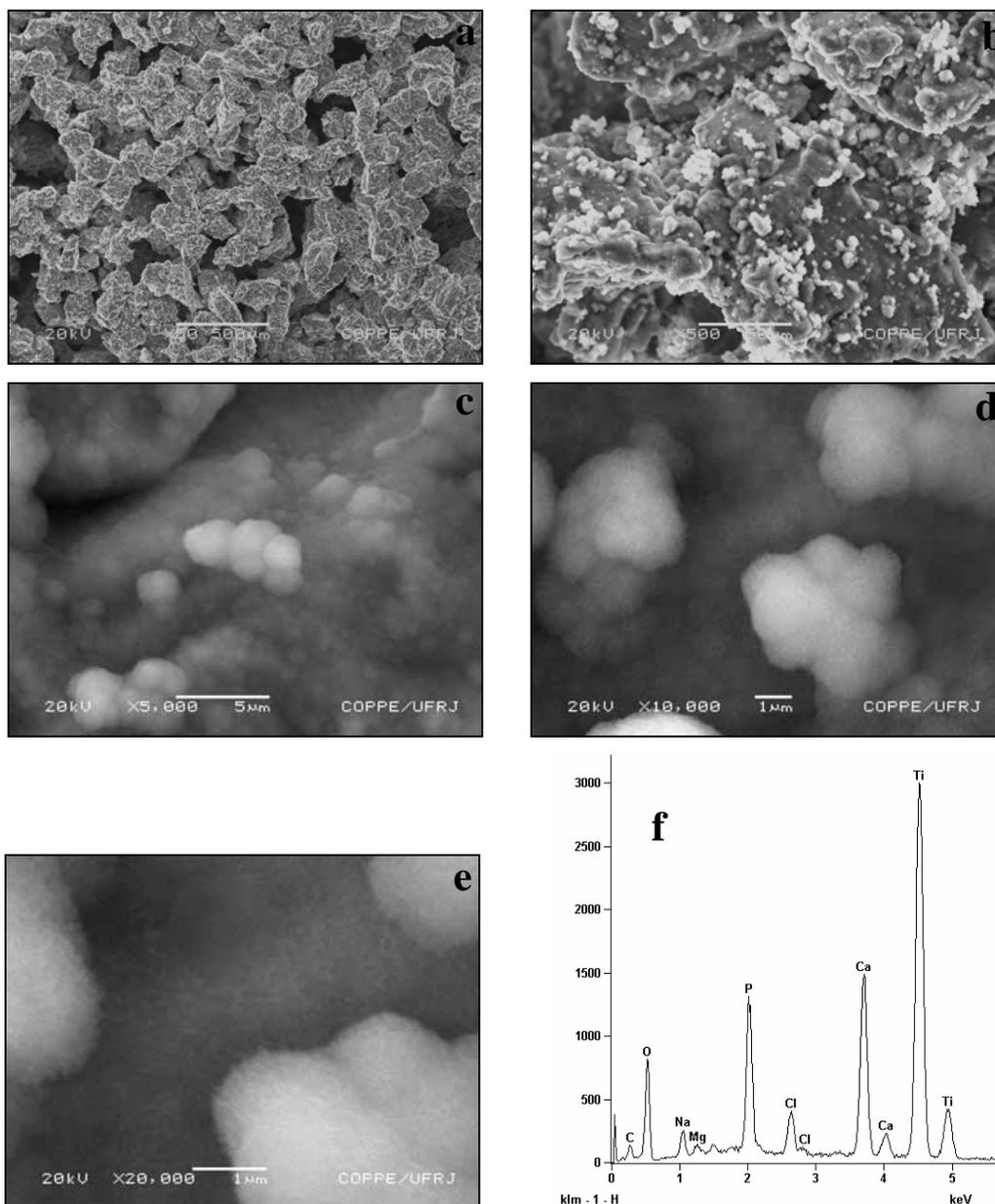


Figura IV.21 - Amostra 48 com NaOH por 60 min, tratamento térmico a 400°C e imersão em mFCS por 28 dias: (a) 50X; (b) 500X; (c) 5.000X; (d) 10.000X; (e) 20.000X; (f) espectro do EDS.

- Amostras submetidas à pré-tratamentos com NaOH por 60 min, térmico a 200°C e imersão em mFCS

A figura IV.22 apresenta a amostra 52 pré-tratada quimicamente por 60 min, termicamente a 200 °C e imersa em mFCS durante 02 dias. As figuras IV.22 (c, d) revelam a presença de precipitados. A figura IV.22 (e) apresenta formação de uma rede sobre o titânio. O espectro de EDS (figura IV.22 f) apresenta pequenos picos de Ca e P.

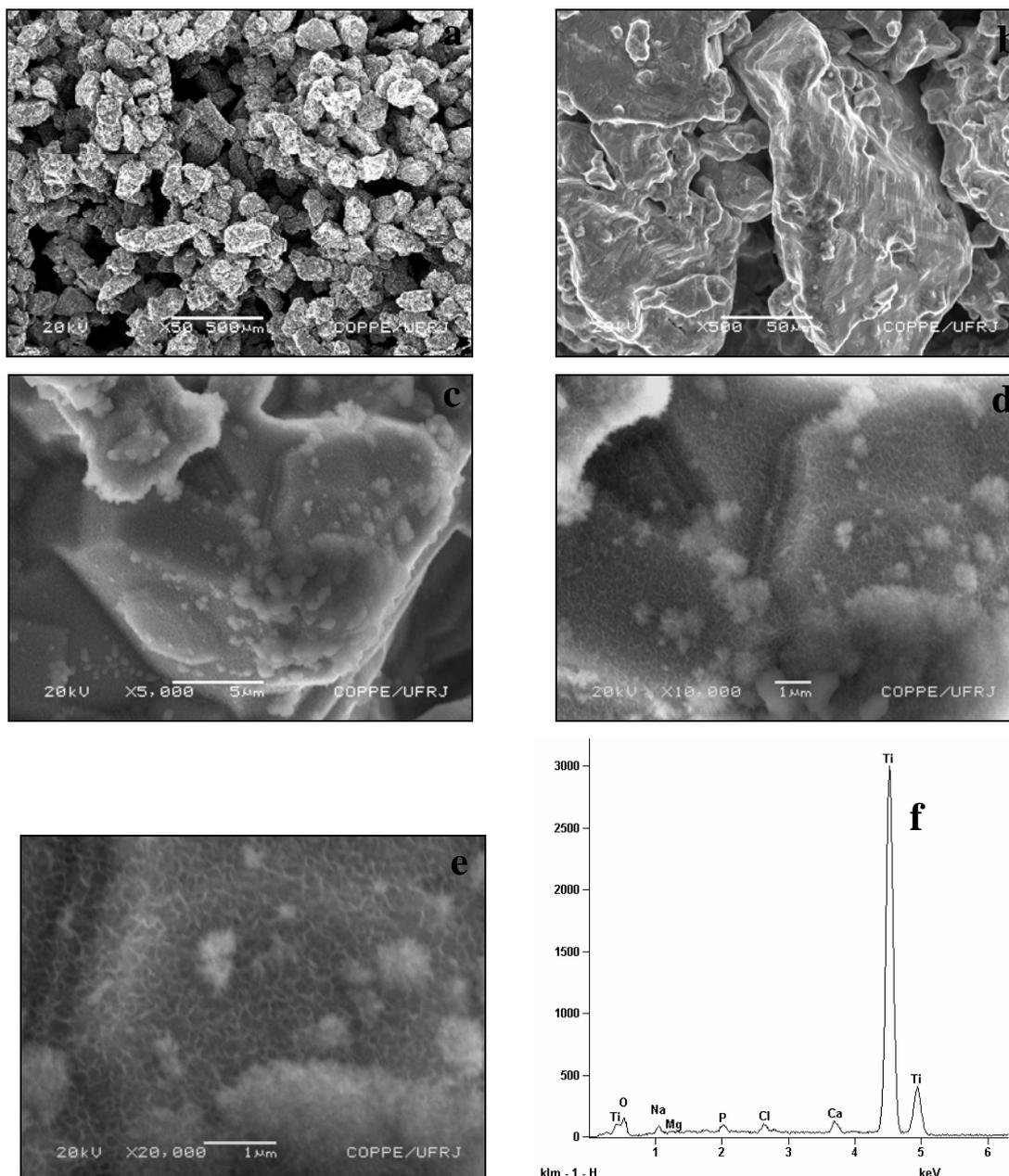


Figura IV.22 - Amostra 52 com NaOH por 60 min, tratamento térmico a 200°C e imersão em mFCS por 02 dias: (a) 50X; (b) 500X; (c) 5.000X; (d) 10.000X; (e) 20.000X; (f) espectro do EDS.

A figura IV.23 apresenta a amostra 54 pré-tratada quimicamente por 60 min, termicamente a 200 °C e imersa em mFCS durante 07 dias. As figuras IV.23 (c), (d) e (e) mostram o titânio com revestimento de fosfato de cálcio uniforme. O espectro do EDS (figura IV.23 f) revela picos de Ca e P.

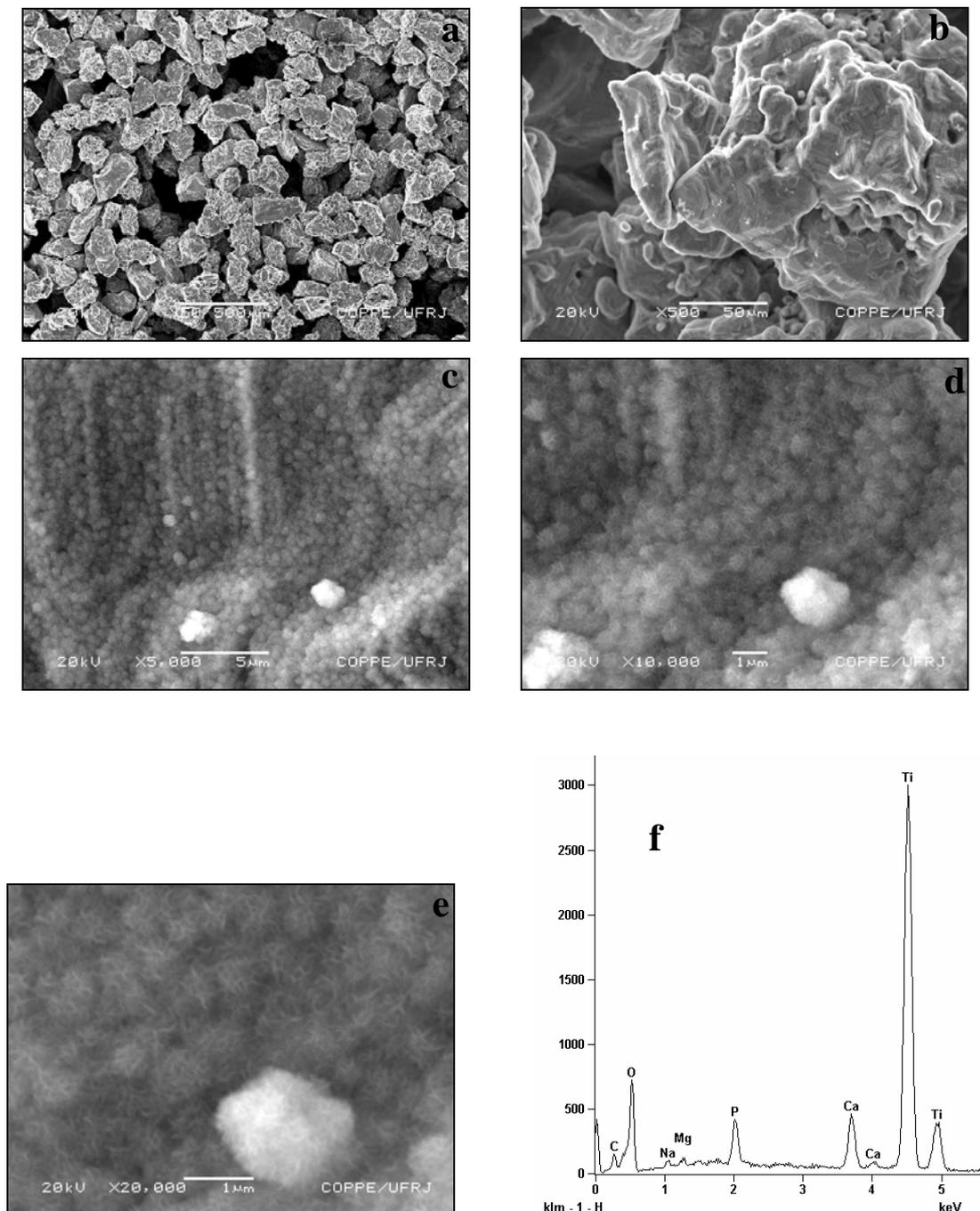


Figura IV.23 - Amostra 54 com NaOH por 60 min, tratamento térmico a 200°C e imersão em mFCS por 07 dias: (a) 50X; (b) 500X; (c) 5.000X; (d) 10.000X; (e) 20.000X; (f) espectro do EDS.

A figura IV.24 apresenta a amostra 55 pré-tratada quimicamente por 60 min, termicamente a 200 °C e imersa em mFCS durante 07 dias. A figura IV.24 (b) mostra regiões de precipitação a partir da solução biomimética. A figura IV.24 (c) revela um revestimento biomimético mais espesso e com trincas (seta). A seqüência das figuras IV.24 (d) e (e) apresenta a nucleação e crescimento dos cristais de fosfato de cálcio. O espectro do EDS (figura IV.24 f) revela picos elevados de Ca e P.

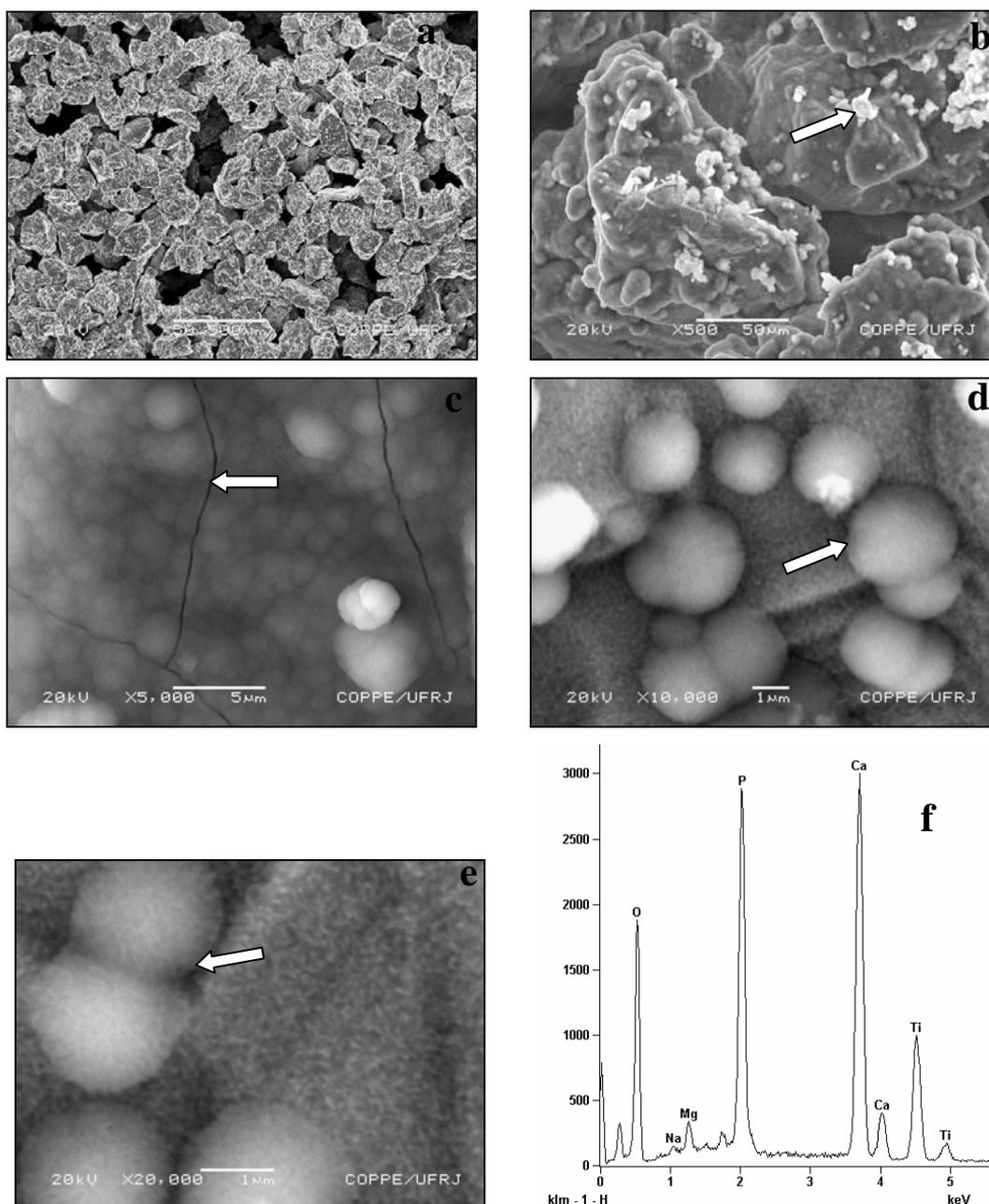


Figura IV.24 - Amostra 55 com NaOH por 60 min, tratamento térmico a 200°C e imersão em mFCS por 07 dias: (a) 50X; (b) 500X - flocos (seta); (c) 5.000X - trinca (seta); (d) 10.000X - nucleação e crescimento de cristais (seta); (e) 20.000X - nucleação e crescimento de cristais (seta); (f) espectro do EDS.

A figura IV.25 apresenta a amostra 61 (réplica das amostras 54 e 55) pré-tratada quimicamente por 60 min, termicamente a 200 °C e imersa em mFCS durante 07 dias. Com esta réplica tentou-se obter em especial o resultado obtido (revestimento de fosfato de cálcio com trincas) pela amostra 55 (figura IV.24 c). A seqüência das figuras IV.25 (c, d, e) revela um revestimento de fosfato de cálcio uniforme. O espectro do EDS (figura IV.25 f) revela picos elevados de Ca e P.

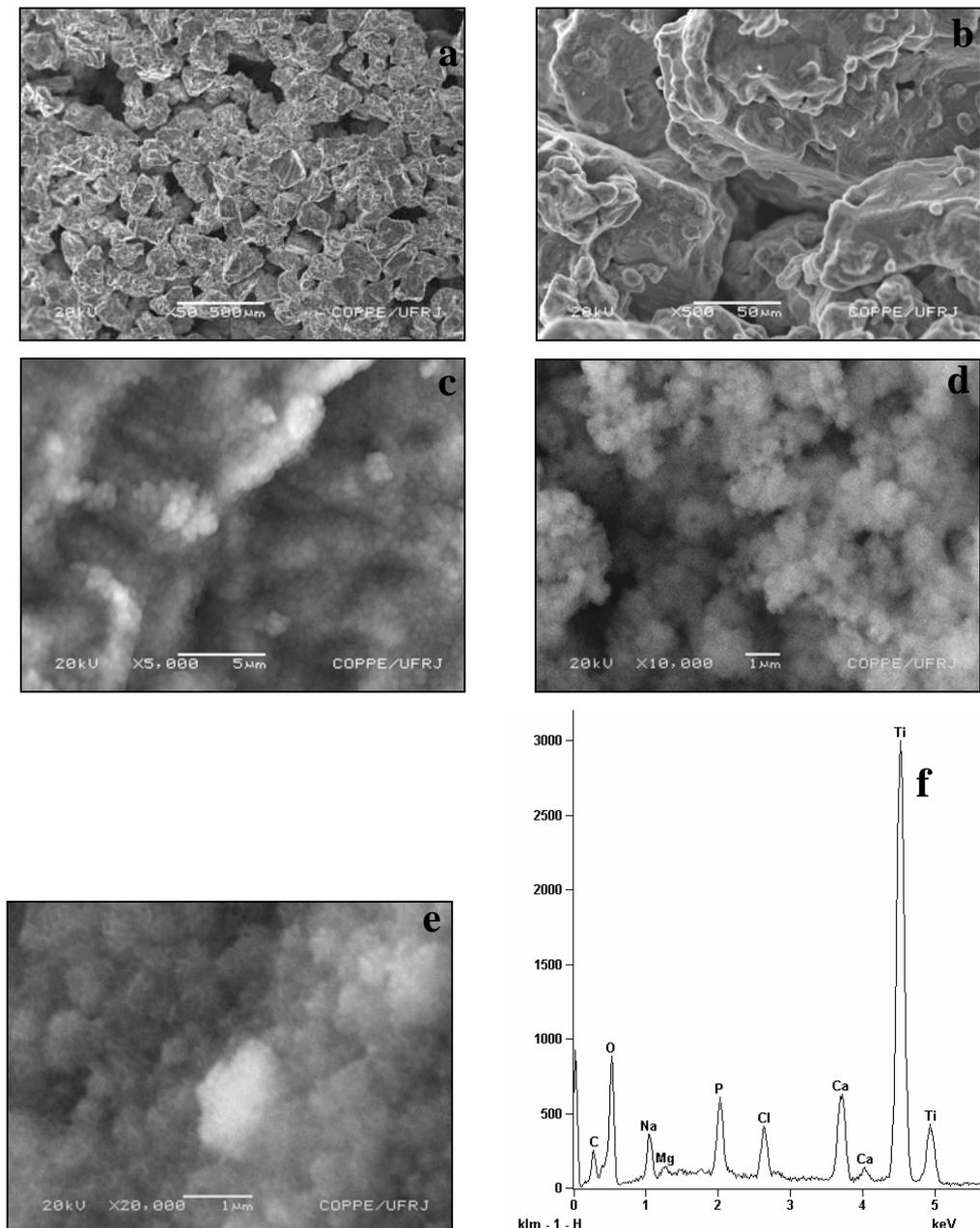


Figura IV.25 - Amostra 61 com NaOH por 60 min, tratamento térmico a 200°C e imersão em mFCS por 07 dias: (a) 50X; (b) 500X; (c) 5.000X; (d) 10.000X; (e) 20.000X; (f) espectro do EDS.

A figura IV.26 apresenta a amostra 56 pré-tratada quimicamente por 60 min, termicamente a 200^oC e imersa em solução mFCS durante 14 dias. As figuras IV.26 (c) e (d) mostram o titânio com o revestimento uniforme de fosfato de cálcio. O espectro do EDS (figura IV.26 e) revela picos elevados de Ca e P.

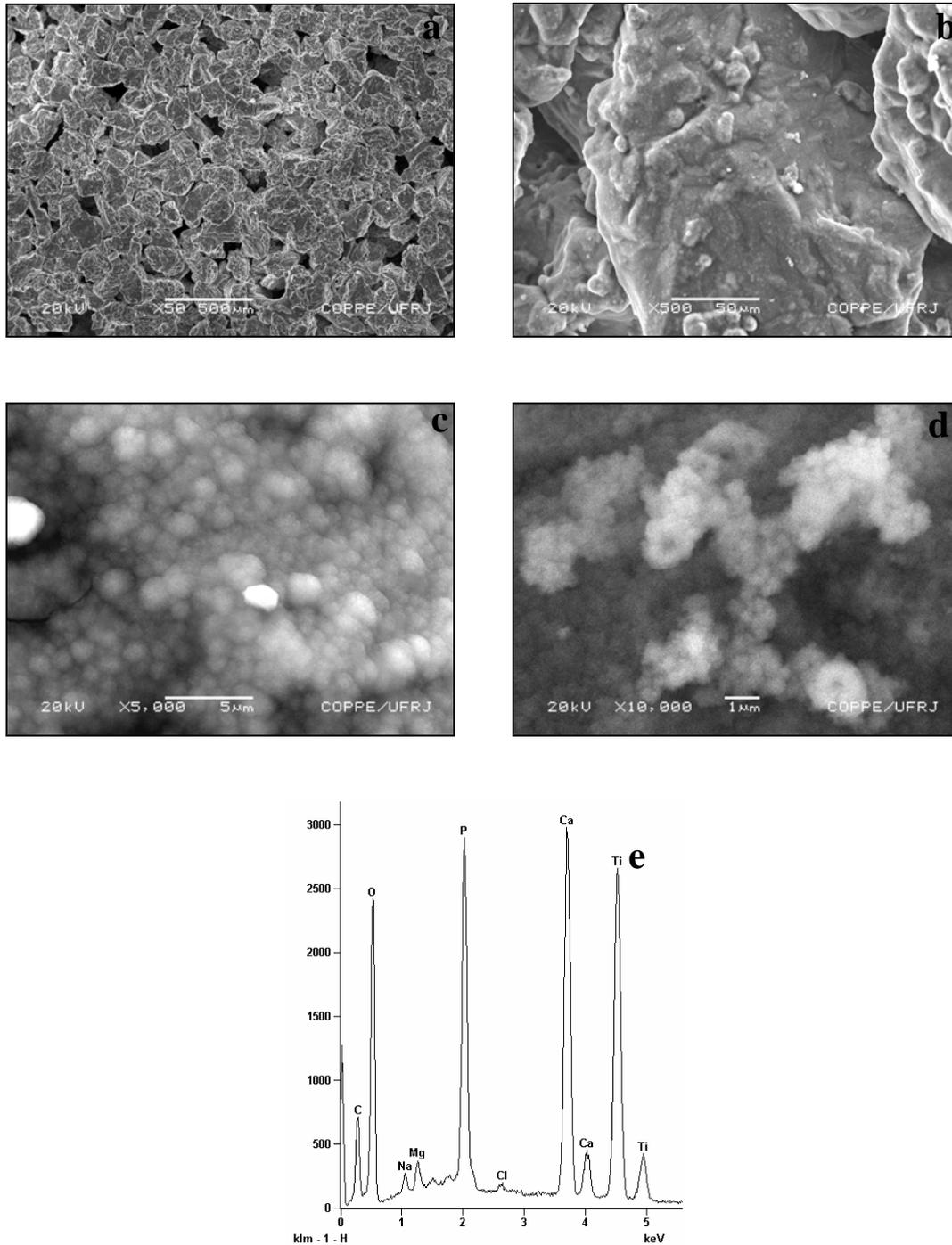


Figura IV.26 - Amostra 56 com NaOH por 60 min, tratamento térmico a 200^oC e imersão em mFCS por 14 dias: (a) 50X; (b) 500X; (c) 5.000X; (d) 10.000X; (e) espectro do EDS.

A figura IV.27 apresenta a amostra 59 pré-tratada quimicamente por 60 min, termicamente a 200°C e imersa em solução mFCS durante 28 dias. As figuras IV.27 (c, d) apresentam a superfície do titânio totalmente revestida pelo fosfato de cálcio. A figura IV.27 (e), espectro do EDS, revela picos elevados de Ca e P.

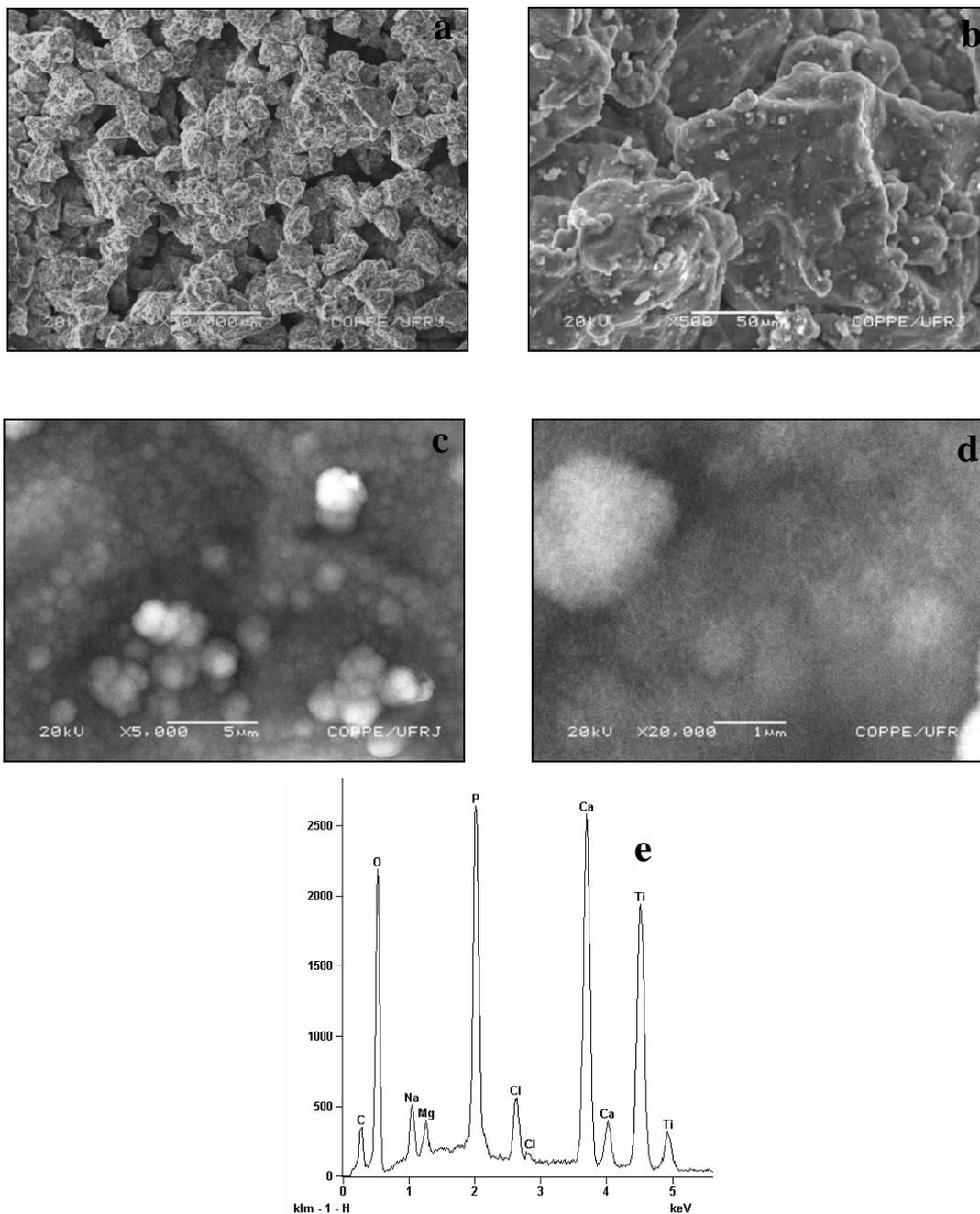


Figura IV.27 - Amostra 59 com NaOH por 60 min, tratamento térmico a 200°C e imersão em mFCS por 28 dias: (a) 50X; (b) 500X; (c) 5.000X; (d) 20.000X; (e) espectro do EDS.

IV.2.2 - Análise Quantitativa da Porosidade

A figura abaixo ilustra a fotomicrografia da seção transversal das amostras estudadas. Observa-se que a microestrutura da amostra apresenta macroporosidade do tipo interconectada e microporos na faixa de tamanho até 50 μm . A figura IV.28 revela as fotomicrografias das amostras: 21 (imersa em solução mFCS sem pré-tratamentos); 29 (pré-tratadas com NaOH/40 minutos, a 600°C e imersa em mFCS); 37 (NaOH/60 minutos, a 600°C e imersa mFCS); 49 (NaOH/60 minutos, a 400°C e imersa em solução mFCS) e 59 (NaOH/60 minutos, a 200°C e imersa em mFCS).

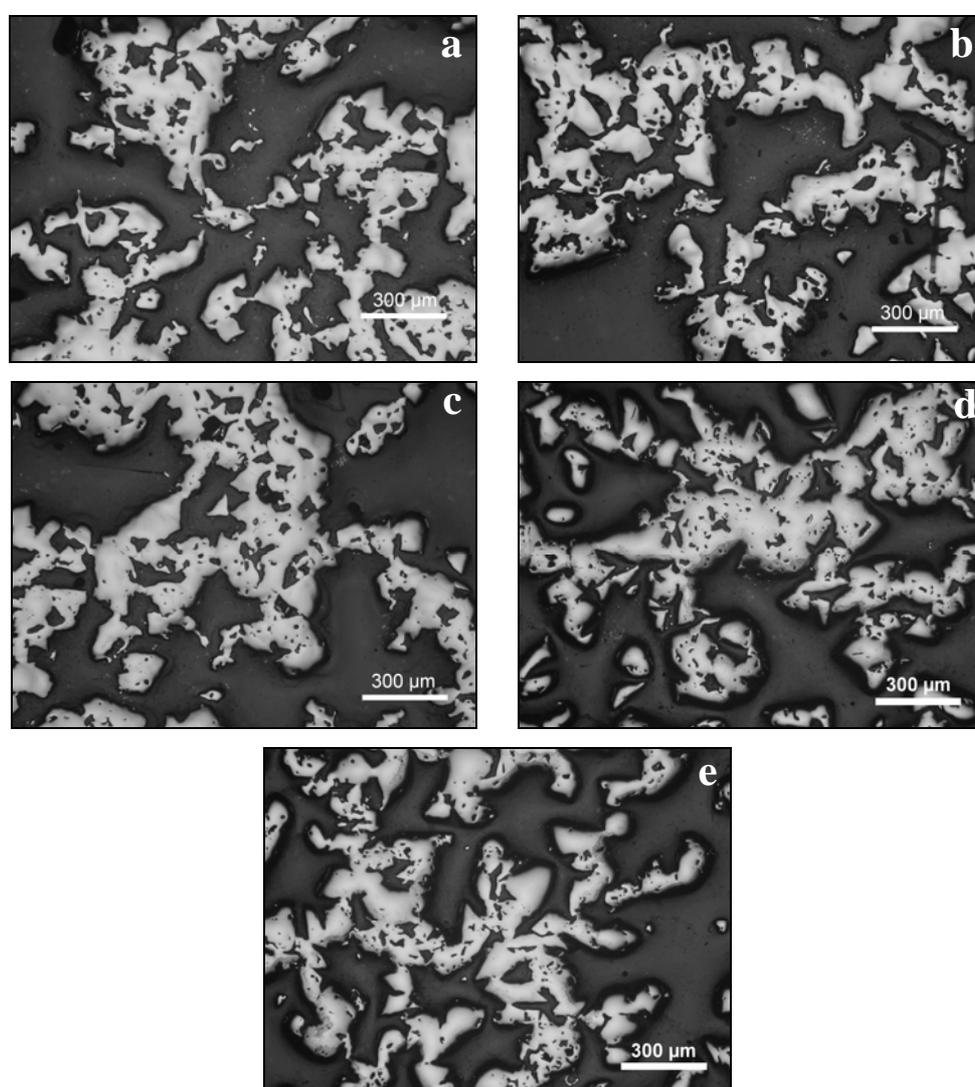


Figura IV.28 - Fotomicrografias das amostras: (a) 21; (b) 29; (c) 37; (d) 49; (e) 59.

A tabela IV.2 apresenta a análise da porosidade (média da fração volumétrica dos poros e desvio padrão) das amostras analisadas no programa Image Pro Plus.

Tabela IV.2 - Análise da fração volumétrica dos poros das amostras.

Grupos de Amostras	Tratamento Químico (min)	Tratamento Térmico (°C)	mFCS (dias)	Porosidade Média (%)	Desvio Padrão (%)
21	----	600	28	68,40	4,08
29	40	600		72,51	6,27
37	60	600		66,17	4,73
49	60	400		69,73	2,79
59	60	200		65,50	5,79

A análise dos diferentes grupos de amostras revelou que não houve alteração estatisticamente significativa da fração volumétrica dos poros.

IV.2.3 - Análise em Difração de Raios X

As análises em raios X no INT e com raios X de baixo ângulo na PUC não permitiram a identificação do titanato de sódio e do filme biomimético devido às altas porosidade e rugosidade do material difratar o feixe de raios X e interferir no registro da análise.

IV.2.4 - Análise em Infravermelho

A caracterização do material foi difícil devido à alta porosidade das amostras que refratava os feixes. Os espectros apresentaram ruídos dificultando a interpretação. Sendo assim, a análise em infravermelho só foi realizada nos grupos de amostras inicialmente estudados com pré-tratamento térmico a 600°C. A análise em equipamento de infravermelho pela técnica de reflectância difusa utilizou a amostra controle (sem pré-tratamentos e sem imersão mFCS) como padrão para as amostras de titânio puro porosas e como padrão para hidroxiapatita a análise da HAP 118 em pó. A figura IV.29 apresenta o espectro de infravermelho da amostra 38 (controle).

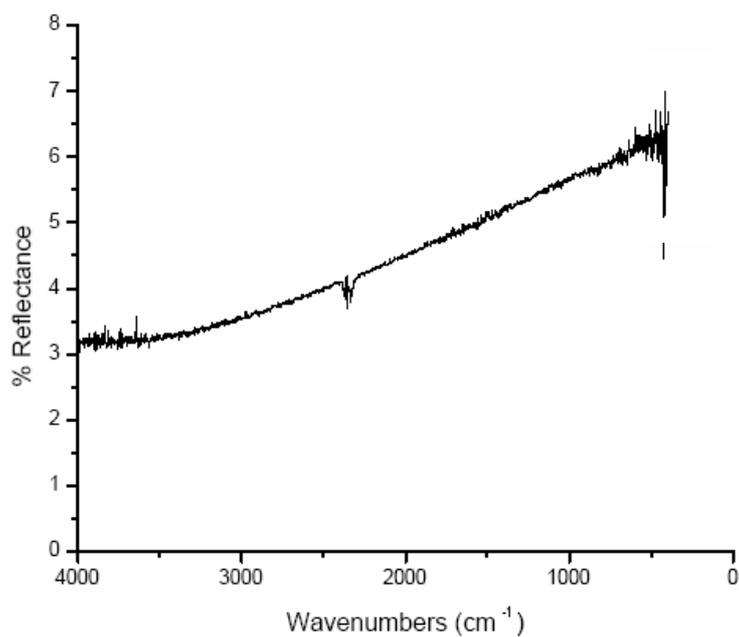


Figura IV.29 - Espectro de infravermelho da amostra 38 (controle).

A figura IV.30 apresenta o espectro de infravermelho da hidroxiapatita em pó (HAP118) utilizada como padrão para comparação com as amostras de titânio porosas imersas em solução biomimética.

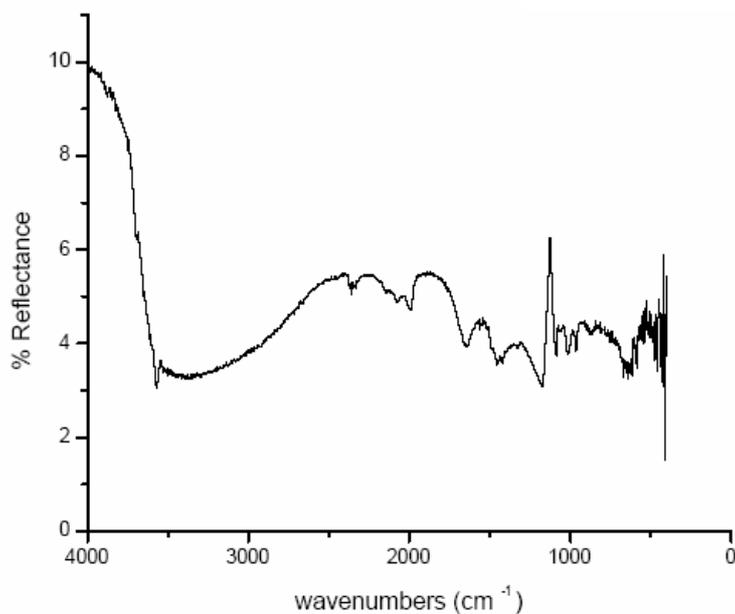


Figura IV.30 - Espectro de infravermelho da hidroxiapatita em pó.

A figura IV.31 apresenta o espectro do infravermelho da amostra 14 não submetida à pré-tratamentos, mas imersa em mFCS durante 02 dias. O pico em torno de 1034 cm^{-1} (indicado pela seta) representa o PO_4^{-3} (íon fosfato) formado após imersão durante 02 dias em solução biomimética.

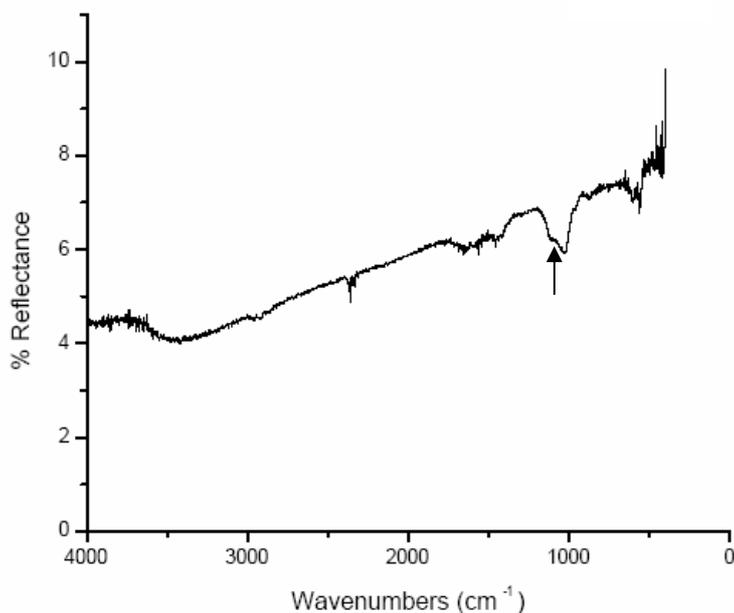


Figura IV.31 - Espectro de infravermelho da amostra 14: seta indica o pico de PO_4^{-3} .

A figura IV.32 apresenta o espectro do infravermelho da amostra 20 sem pré-tratamento, mas imersa em solução mFCS por 28 dias. O espectro indica o pico em torno de 1030 cm^{-1} (indicado pela seta) representando o PO_4^{-3} e pico em torno de 569 cm^{-1} de hidroxiapatita cristalina (seta) formado após imersão durante 28 dias em solução biomimética.

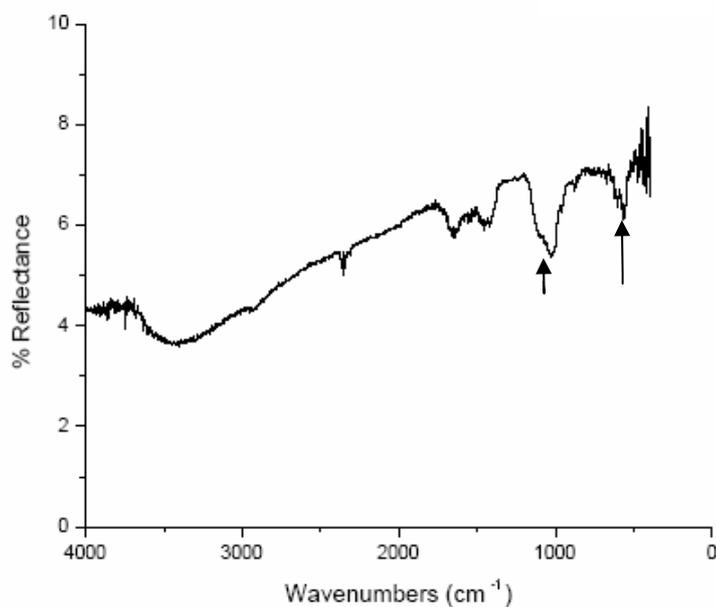


Figura IV.32 - Espectro de infravermelho da amostra 20: picos de HAp (569 cm^{-1}) e PO_4^{-3} (1030 cm^{-1}) identificados por setas.

A figura IV.33 apresenta o espectro do infravermelho da amostra 26 submetida à pré-tratamento químico por 40 min, tratamento térmico a 600°C e imersa em mFCS durante 14 dias. O espectro indica picos de hidroxiapatita cristalina em torno de 560 cm^{-1} e 958 cm^{-1} . O pico em torno de 1030 cm^{-1} representa PO_4^{-3} e pico de 1400 cm^{-1} da carboxiapatita.

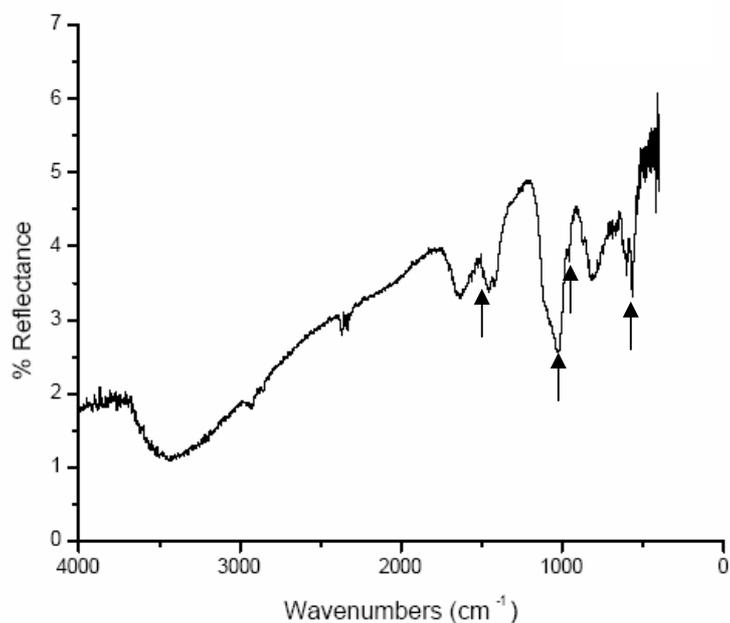


Figura IV.33 - Espectro de infravermelho da amostra 26: picos da HAp cristalina (560 e 958 cm^{-1}), PO_4^{-3} (1030 cm^{-1}) e carboxiapatita (1400 cm^{-1}) estão indicados pelas setas.

A figura IV.34 apresenta o espectro do infravermelho da amostra 36 submetida à pré-tratamento químico por 60 min, tratamento térmico a 600°C e imersa em mFCS durante 28 dias. O espectro apresenta picos em torno de 961 cm^{-1} (hidroxiapatita cristalina) e 1030 cm^{-1} (PO_4^{-3}).

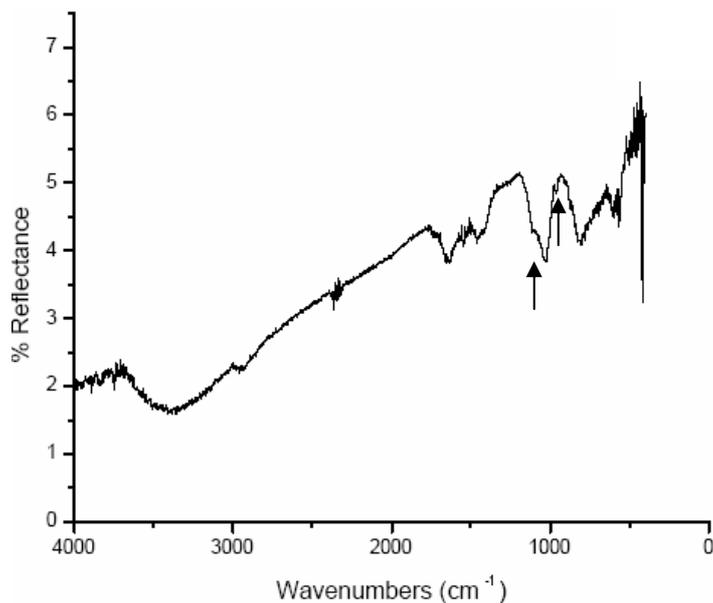


Figura IV.34 - Espectro de infravermelho da amostra 36: picos da HAp (961 cm^{-1}) e PO_4^{-3} (1030 cm^{-1}) estão representados por setas.

A figura IV.35 apresenta os seguintes espectros do infravermelho: (a) amostra 22 (NaOH/40 min, a 600°C e 02 dias em mFCS); (b) amostra 24 (NaOH/40 min, a 600°C e 07 dias em mFCS); (c) amostra 28 (NaOH/40 min, a 600°C e 28 dias em mFCS); (d) amostra 30 (NaOH/60 min, a 600°C e 02 dias em mFCS); (e) amostra 34 (NaOH/60 min, a 600°C e 14 dias em mFCS); (f) amostra 40 (NaOH/60 min, a 600°C e sem mFCS). Não foi possível identificar corretamente os picos destes espectros.

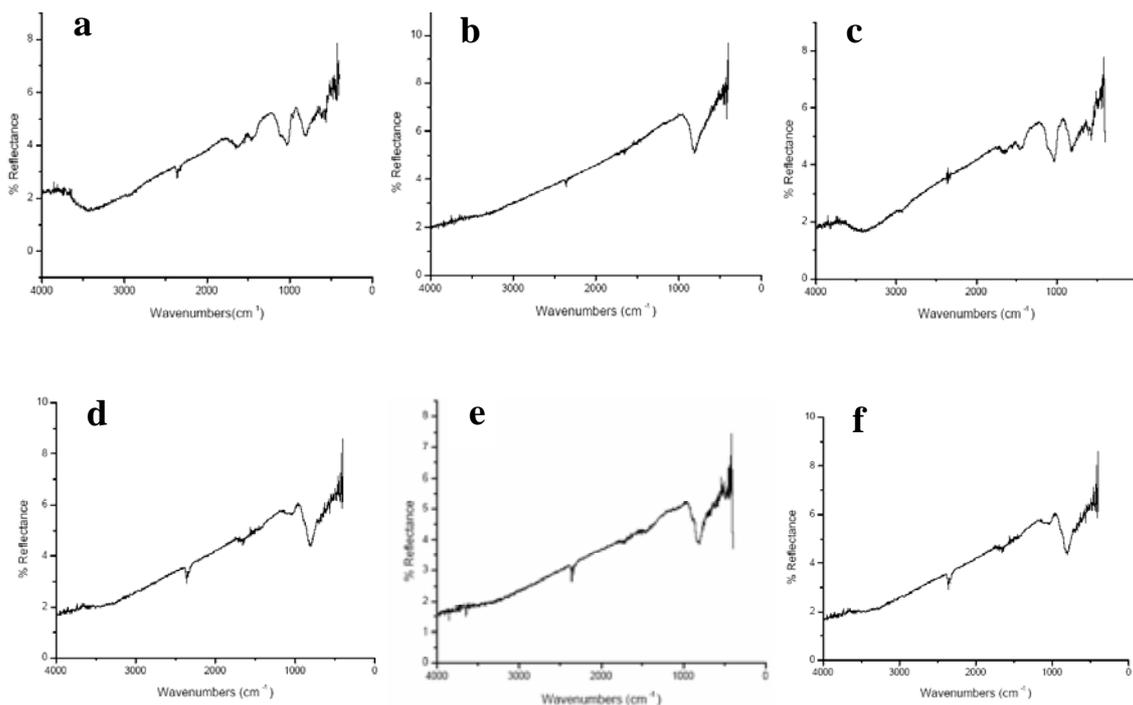


Figura IV.35 - Espectros do infravermelho nos quais não foram identificados picos do revestimento: (a) amostra 22; (b) amostra 24; (c) amostra 28; (d) amostra 30; (e) amostra 34; (f) amostra 40.

IV.2.5 - Análise em Espectroscopia de XPS

São apresentados resultados de uma análise semi-quantitativa da composição química da superfície das amostras utilizando como fonte de dados às áreas dos espectros amplos, realizados com CAE50 das amostras. A relação Ca/P foi calculada utilizando espectros detalhados do Ca e do P, realizados nas mesmas condições em todas as amostras, o que confere maior precisão aos cálculos de concentração.

A figura IV.36 apresenta o espectro da amostra 44 submetida à pré-tratamento químico por 60 minutos, térmico a 400°C e imersão em solução mFCS por 07 dias. A tabela IV.3 apresenta a energia de ligação e percentual dos elementos químicos encontrados na amostra 44.

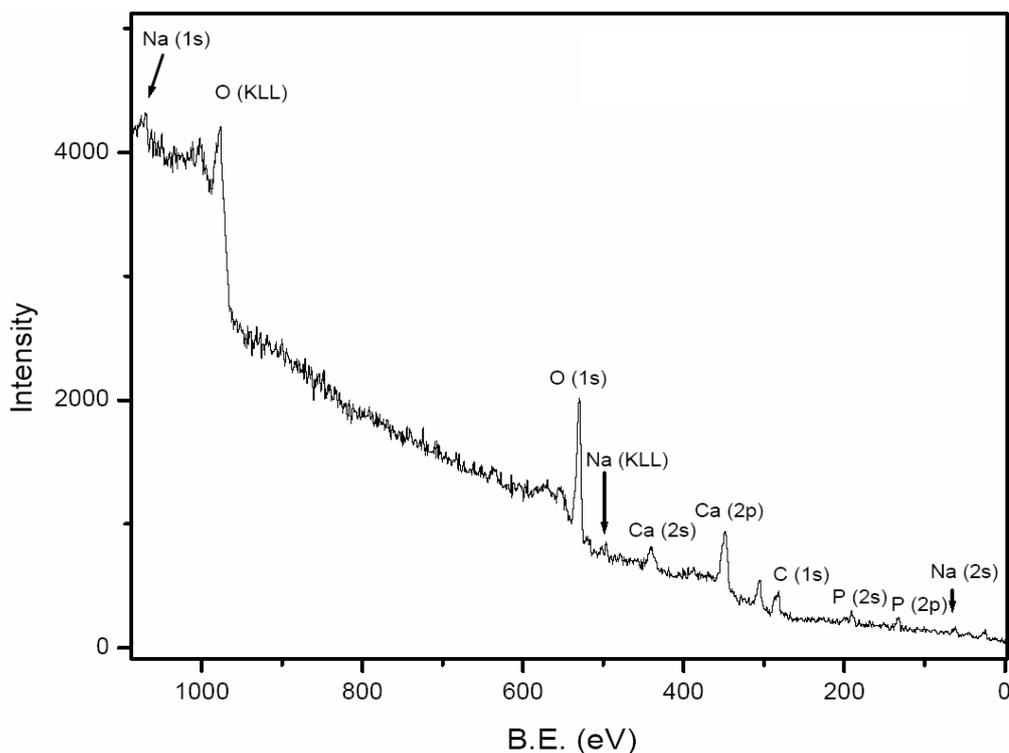


Figura IV.36 - Espectro do XPS da amostra 44.

TabelaIV.3 - Elementos químicos identificados na amostra 44.

Elemento	Na	O	C	Ca	P
Energia de ligação (eV)	1072,5	529,1	284,6	347,6	131,6
%	7	52	24	11	6

As energias de ligação e a relação Ca/P da amostra 44 sugere a formação de fosfatos diferentes da hidroxiapatita, como por exemplo, o fosfato octacálcio (FOC).

A figura IV.37 apresenta o espectro da amostra 48 submetida à pré-tratamento químico por 60 minutos, térmico a 400°C e imersão em solução mFCS por 28 dias. A tabela IV.4 mostra a energia de ligação e percentual dos elementos químicos encontrados na amostra 48.

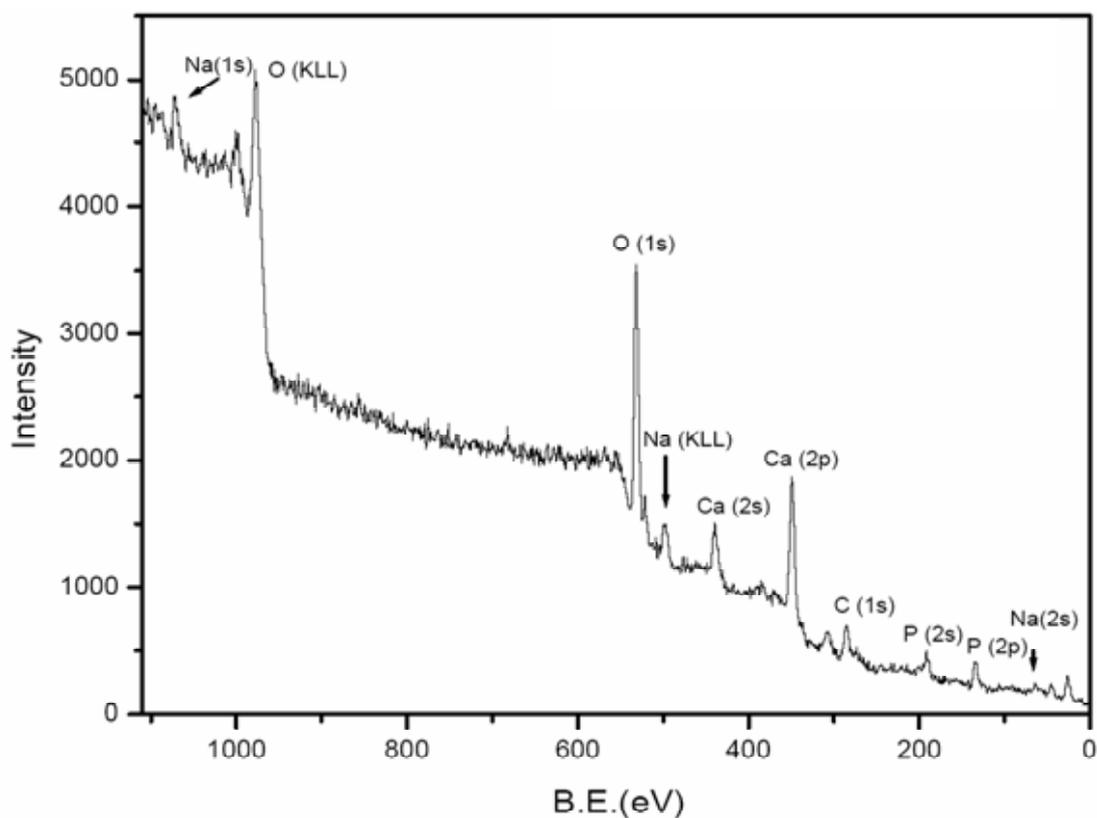


Figura I.V.37 - Espectro do XPS da amostra 48.

Tabela IV.4 – Elementos químicos presentes na amostra 48.

Elemento	Na	O	C	Ca	P
Energia de Ligação (eV)	1070,7	530,8	284,6	347,6	133,2
%	6	51	22	14	8

As energias de ligação e a relação Ca/P da amostra 48 indicam a formação de hidroxiapatita, mas ocorre a formação de outras apatitas em menor quantidade.

A figura IV.38 apresenta o espectro da amostra 60 submetida à pré-tratamento químico por 60 minutos, térmico a 200°C e sem imersão em mFCS. A tabela IV.5 identifica a energia de ligação e percentual dos elementos químicos encontrados na amostra 60.

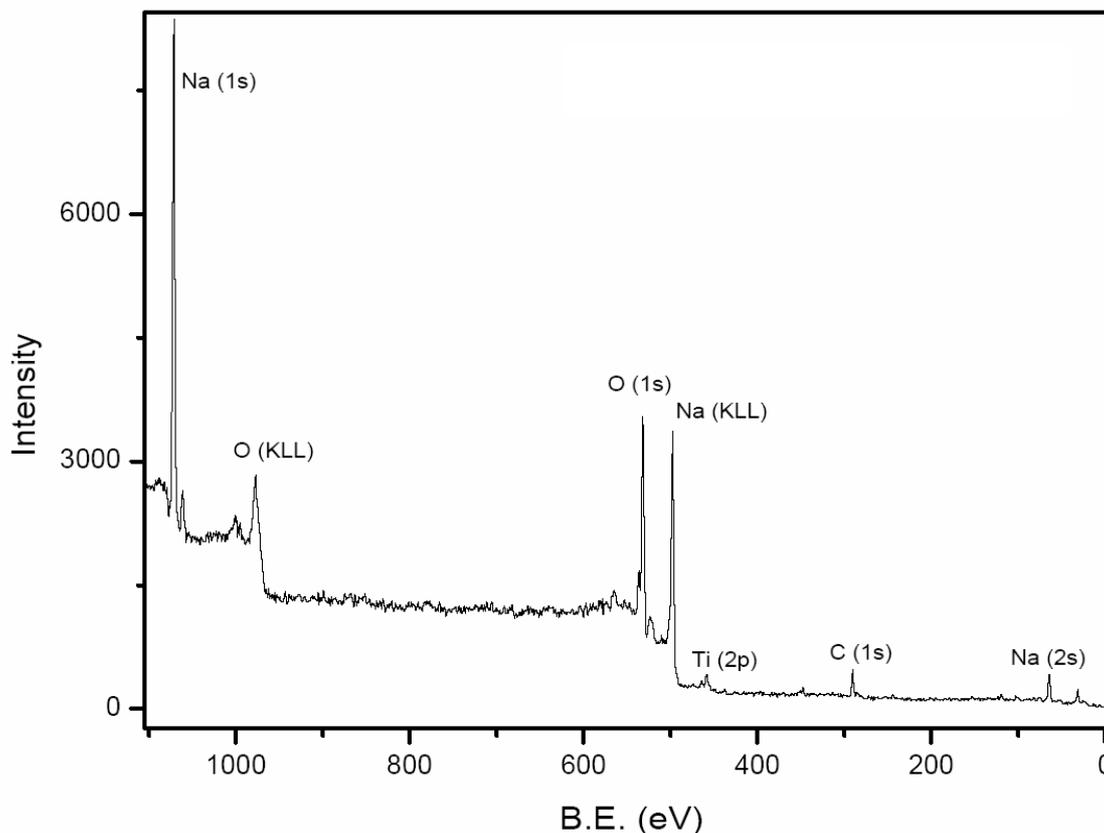


Figura IV.38 - Espectro do XPS da amostra 60.

Tabela IV.5 - Elementos químicos identificados na amostra 60.

Elemento	Na	O	C	Ti
Energia de ligação (eV)	1072,3	532,3	284,6	458,7
%	43	45	10	2

As concentrações relativas e energias de ligação do Na e do O para a amostra 60 indicam a formação de NaOH.

A figura IV.39 apresenta o espectro da amostra 54 submetida à pré-tratamento químico por 60 minutos, térmico a 200°C e imersão em solução mFCS por 07 dias. A tabela IV.6 identifica a energia de ligação e percentual dos elementos químicos encontrados na amostra 54.

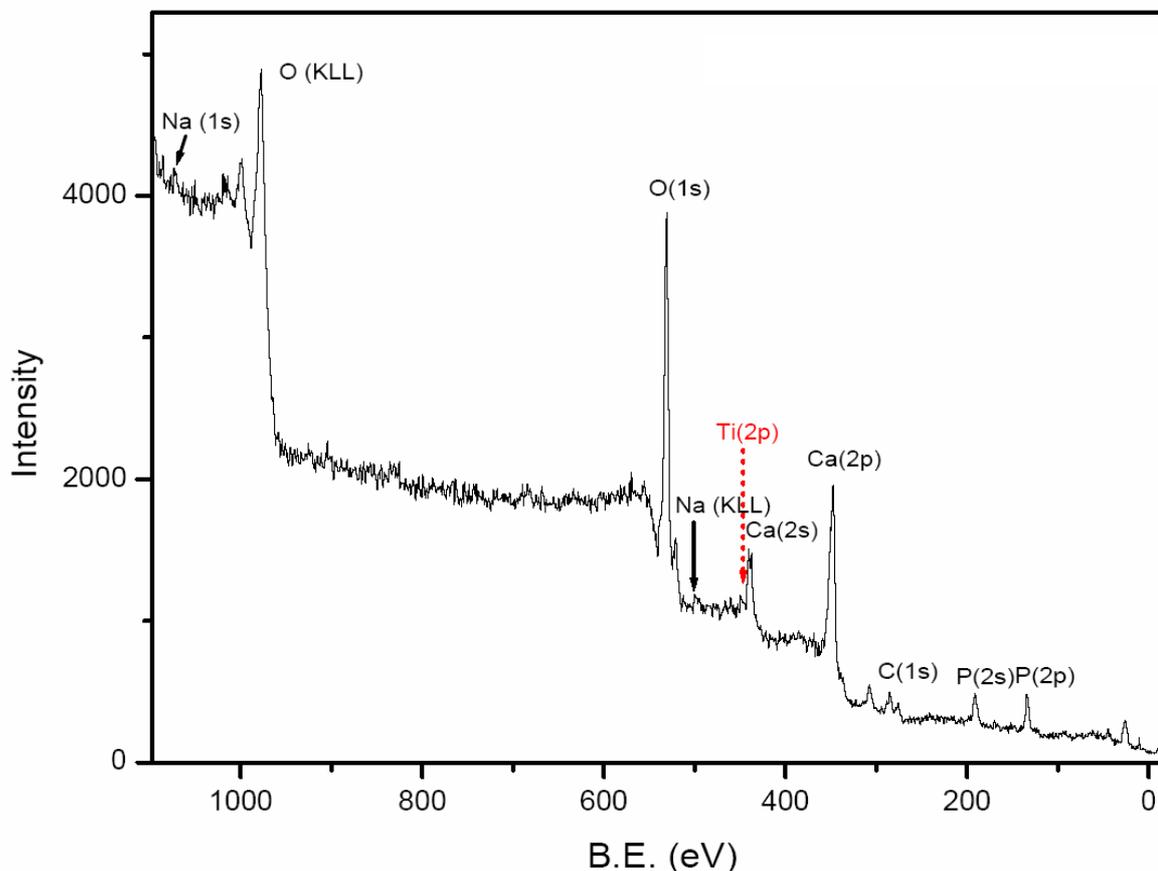


Figura IV.39 - Espectro do XPS da amostra 54.

Tabela IV.6 - Elementos químicos encontrados na amostra 54.

Elemento	Na	O	C	Ca	P
Energia de ligação (eV)	1070,4	530,6	284,6	347,4	133,3
%	1	59	17	14	9

A análise da amostra 54 revela valores das energias de ligação de acordo com os valores encontrados para a hidroxiapatita. A relação Ca/P encontrada sugere falta de P na estequiometria da hidroxiapatita, sendo provável a formação de hidroxiapatita carbonatada e hidroxiapatita.

A figura IV.40 apresenta o espectro da amostra 58 submetida à pré-tratamento químico por 60 minutos, térmico a 200°C e imersão em mFCS por 28 dias. A tabela IV.7 apresenta a energia de ligação e percentual dos elementos químicos encontrados na amostra 58.

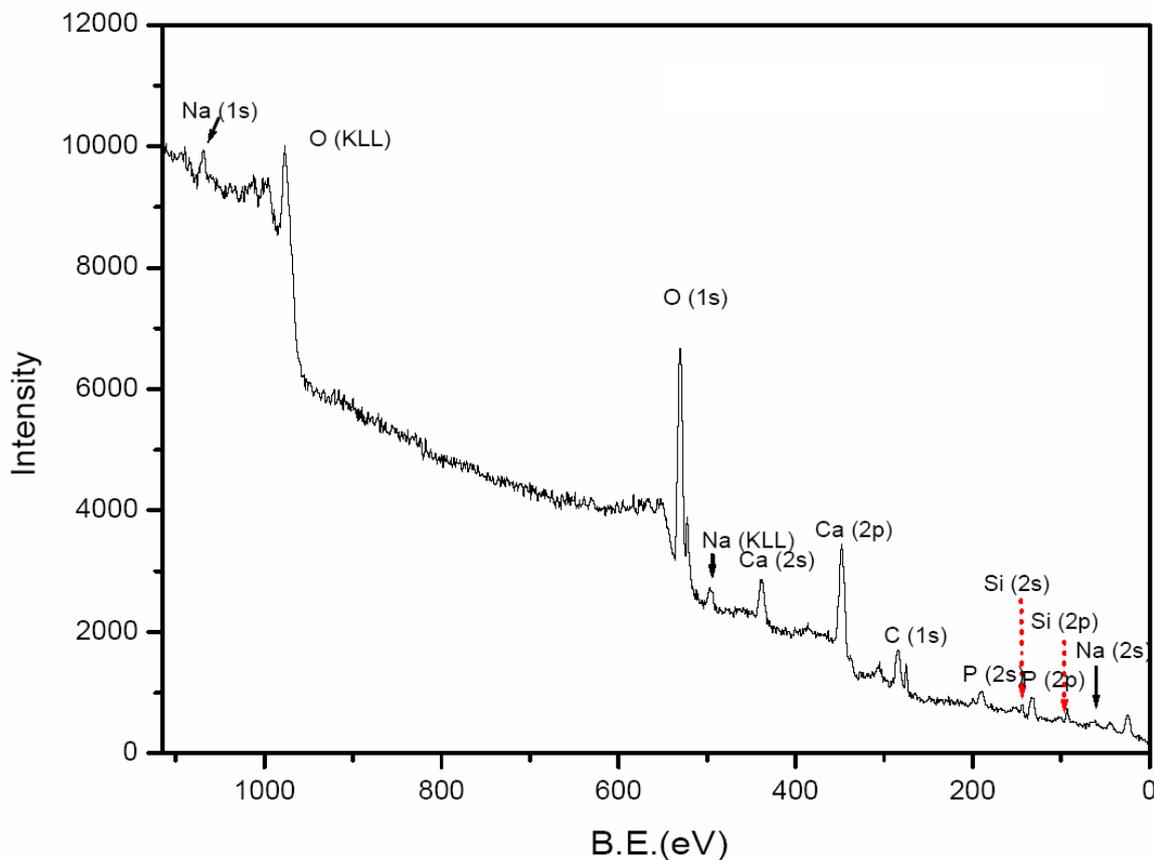


Figura IV.40 - Espectro do XPS da amostra 58.

Tabela IV.7 - Elementos químicos encontrados na amostra 58.

Elemento	Na	O	C	Ca	P
Energia de ligação (eV)	1072,7	532,5	284,6	347,65	132,2
%	4	49	28	11	7

Os valores das energias de ligação encontrados na amostra 58 indicam a ausência de hidroxiapatita. A energia de ligação do O sugere formação de grupos OH⁻ e a energia de ligação do Ca está de acordo com a energia de ligação de fosfatos. O Na possui energia de ligação representando a presença dos grupos OH⁻.

V- DISCUSSÃO

Várias condições de pré-tratamentos e métodos biomiméticos estão presentes na literatura. Neste trabalho amostras de titânio puro porosas foram: sem pré-tratamentos e sem imersão em mFCS (amostra controle); sem pré-tratamentos e imersas em mFCS; com pré-tratamentos e sem imersão em mFCS; submetidas à pré-tratamentos químico (NaOH durante 40 ou 60 min) e térmico (200, 400 ou 600°C) com imersão em solução mFCS. O tempo do pré-tratamento químico, a temperatura do tratamento térmico e o período de imersão em mFCS foram alterados com o objetivo de avaliar seus efeitos na formação do revestimento de fosfato de cálcio.

Amostras de titânio porosas

As análises das amostras porosas apresentaram distribuição uniforme dos poros e formação da região de pescoço de sinterização entre os pós de titânio representando uma sinterização apropriada do material (figuras IV.1a,b). Além disso, as fotomicrografias da amostra de controle (38) revelaram a microrugosidade superficial do material mesmo sem tratamentos (figura IV.1c). O espectro do EDS da amostra 38 comprova que não houve incorporação de elementos químicos contaminantes a sua estrutura durante as etapas do processamento (figura IV.1d). Além disso, após os pré-tratamentos, as amostras apresentaram um aumento da rugosidade visível em MEV (figura IV.2e). A contaminação presente nas amostras submetidas à pré-tratamentos com NaOH, térmico a 600°C e imersas em mFCS provavelmente ocorreram durante a manipulação nas etapas dos tratamentos e/ou em mFCS, pois este grupo de amostras foram processadas no mesmo lote da amostra controle.

Análises preliminares anteriores a essa dissertação comprovaram que a porosidade das amostras pré-tratadas com NaOH e termicamente a 600°C não se alterava quando comparadas com a amostra de controle. Neste trabalho, foram estudadas amostras com pré-tratamento químico e térmico a 200, 400 e 600°C e considerando o desvio padrão das análises, não se observou alteração da porosidade. Além disso, a análise metalográfica não tem capacidade de detectar alterações na superfície das amostras, como filmes de fosfato de cálcio e alteração da rugosidade por ataque químico.

Pré-tratamentos químico e térmico

As análises das amostras (39) submetidas a pré-tratamentos com NaOH durante 40 minutos e térmico a 600°C apresentaram mudanças na morfologia da superfície quando comparada com a amostra de controle (38). Ocorreu o aparecimento de estruturas na forma de agulhas visíveis no MEV, mesmo com baixo aumento (figura IV.2b). Essas agulhas, finas e longas, estão distribuídas aleatoriamente pelos poros (figuras IV.2 c,d). De acordo com as informações disponíveis na literatura (HA *et al.*, 1997) essas agulhas são de titanato de sódio e estão associadas aos pré-tratamentos aplicados às amostras. Em se tratando de titanato de sódio, isso representa formação do composto químico citado na literatura como sendo de grande importância para a formação do filme de fosfato de cálcio quando da imersão em solução biomimética (KOKUBO,1998). Entretanto, não foi possível uma caracterização adequada dessas agulhas com as técnicas analíticas utilizadas no presente estudo.

As amostras (como a 40) pré-tratadas com NaOH durante 60 minutos e mesma temperatura de tratamento térmico a 600°C mostraram uma maior quantidade de agulhas, distribuídas de maneira mais uniforme na superfície do substrato, quando comparadas com as amostras (39) pré-tratadas em NaOH por 40min e tratamento térmico a 600°C (figuras IV b,c). Portanto, o aumento do tempo de permanência na solução de NaOH de 40 minutos para 60 minutos parece influenciar na formação das agulhas. Assim, um aumento de permanência nessa solução em 20 minutos resultou num aumento de precipitação. Embora o titanato de sódio esteja presente, o espectro de infravermelho obtido a partir da técnica de reflectância difusa, não o identificou nas amostras (amostra 40) com tratamento de NaOH/60 min a 600°C devido à quantidade de ruídos na análise (figura IV.35f). Verificou-se também que o aumento do tempo de permanência em NaOH aumentou a microrugosidade superficial das amostras. Sendo assim, optou-se pelo tratamento alcalino com duração de 60 minutos. O aumento do tempo de exposição possibilitou uma melhor distribuição das agulhas.

As fotomicrografias das amostras, como a 51, pré-tratada com NaOH por 60 min e tratamento térmico a 400°C mostraram a formação de agulhas de tamanho reduzido quando comparado com as amostras NaOH 40 ou 60min/600°C (figura IV.4c). O espectro de EDS revelou pico de Na bem inferior ao encontrado nas amostras 39 e 40.

As amostras, como a amostra 60, submetidas à solução de NaOH por 60 minutos e tratamento térmico a 200°C apresentaram agulhas distribuídas uniformemente por toda a superfície (figura IV.5b) visíveis mesmo sob baixo aumento (500X). As agulhas são mais largas e menores do que aquelas presentes nas outras amostras pré-tratadas (39, 40 e 51). O espectro do EDS (figura IV.5.e) indicou uma redução na quantidade de sódio quando comparada com as amostras tratadas em solução de NaOH durante 60 minutos e tratamento térmico a 400°C e 600°C. Verifica-se assim que o decréscimo da temperatura de tratamento térmico influenciou na formação do titanato de sódio e na quantidade de sódio presente nas amostras. As análises semi-quantitativa em XPS (figura IV.38) da composição química da superfície apresentou energia de ligação do Na(1s) (1072,3 eV) e do O(1s) (532,3 eV) indicando a formação de NaOH e um pico de óxido de titânio (458 eV). A identificação do Ti encontrado na análise em XPS é difícil, já que a energia de ligação do TiO₂ e dos titanatos se confundem.

HA *et al.* (1997) relataram a formação de agulhas de titanato de sódio na superfície das amostras de titânio (comercialmente puro) lisas, pré-tratadas com 10M NaOH a 60°C sob agitação de 80 rpm durante 2 horas. Neste caso, a formação destas agulhas influenciou a nucleação da hidroxiapatita após imersão em solução biomimética convencional desenvolvida por Kokubo. As agulhas relatadas neste artigo são similares àquelas encontradas nas amostras deste trabalho. Entretanto, as amostras aqui estudadas são de titânio poroso e foram pré-tratadas com solução NaOH com concentração dez vezes menor quando comparada com aquela do artigo citado. Além disso a temperatura de 130°C é 70°C superior à utilizada por HA *et al.*(1997), as amostras não foram mantidas sob agitação, o tempo deste tratamento foi reduzido pela metade (apenas 1 hora), e as amostras estudadas no presente trabalho foram tratadas termicamente a 200, 400 ou 600°C. Portanto, podemos verificar a formação de agulhas em pré-tratamentos químicos distintos com ou sem tratamento térmico.

Imersão em mFCS

Sem pré-tratamentos químico e térmico

Verificou-se a formação de precipitados na forma de flocos na maioria das amostras pré-tratadas ou não e imersas em solução mFCS. A presença desses precipitados é considerada aleatória, já que a porosidade pode reter flocos em algumas

amostras mas em outras não, dependendo de determinado tamanho de poros que facilite essa retenção e que pode ser mais freqüente em algumas amostras estudadas.

As fotomicrografias em MEV das amostras sem pré-tratamentos, mas imersas em mFCS revelaram a presença de precipitados a partir dessa solução (flocos). A quantidade de precipitados aumentou de acordo com o tempo de imersão em mFCS. Os espectros do EDS indicaram a presença de cálcio e fósforo para estes tratamentos de imersão em solução mFCS com duração de 02, 07 e 28 dias. As amostras (como a 18) imersas por 14 dias indicaram picos de cálcio, mas não de fósforo (figura IV.8d). O espectro do EDS para as amostras imersas por 07 dias (figura IV.7e) apresentou picos de cálcio e fósforo bem mais elevados quando comparado com o espectro de 02 dias (figura IV.6e), caracterizando uma maior deposição do fosfato de cálcio com o aumento do tempo de imersão em mFCS. O espectro do EDS para o tempo de imersão por 14 dias, quando comparado com o espectro de 07 dias, apresentou pico de cálcio muito menor e ausência do pico de fósforo. Entretanto, o filme de fosfato de cálcio só foi visível nas fotomicrografias das amostras com 28 dias em mFCS (figuras IV.9 c,d,e), apesar do espectro do EDS (figura IV.9f) apresentar picos de cálcio e fósforo inferiores aos espectros das amostras com 07 dias.

As análises deste grupo de amostras revelaram que foi possível a formação do revestimento de fosfato de cálcio das amostras apenas imersas em solução biomimética, mesmo sem o pré-tratamento na solução de NaOH e tratamento térmico. Além disso, as fotomicrografias mostraram a nucleação e crescimento dos cristais de fosfato de cálcio com aumento de 5.000X (figura IV.9c). Este aumento é bem inferior àquele de 20.000X recomendado pela literatura para visualização do filme. Análises de filmes de fosfato de cálcio obtidos por processos biomiméticos revelaram espessuras em escala nanométrica (KOKUBO,1998), sendo portanto de difícil visualização em MEV (escala micrométrica). Os espectros de infravermelho apresentaram picos de PO_4^{-3} nas amostras (14 e 20) imersas em mFCS durante 02 e 28 dias, mas pico de hidroxiapatita cristalina só foi identificado na amostra com 28 dias (figuras IV.31, IV.32). As análises deste grupo de amostras revelam que é possível o revestimento das amostras imersas em solução biomimética, mesmo sem o pré-tratamento de NaOH, porém esse revestimento só foi identificado após 28 dias de imersão que é considerado um tempo longo para um tratamento complementar do processamento de um implante.

Com pré-tratamentos químico e térmico

As análises em MEV das amostras pré-tratadas com NaOH por 40 min, tratamento térmico a 600°C e imersas em mFCS mostraram a presença de precipitados (flocos) em todas as amostras para todos os tempos de tratamento (02, 07, 14 e 28 dias), ocorrendo o aumento da precipitação com o tempo de imersão (figuras IV.10, IV.11, IV.12, IV.13). Entretanto, indícios de nucleação e o crescimento dos cristais de fosfato de cálcio só foram visíveis nas fotomicrografias das amostras (como a 28) com 28 dias de imersão (figuras IV.13 c,d,e). O espectro do EDS com maiores picos de cálcio e fósforo também foi registrado para estas amostras (figura IV.13.f). Além disso, o pico de cálcio ultrapassou o do titânio caracterizando assim um revestimento mais uniforme e espesso. O espectro de EDS com 02 dias de imersão em mFCS (como a 22) apresentou pequeno pico de cálcio e ausência de fósforo (figura IV.10d). Somente no espectro de infravermelho com 14 dias (figura IV.32) foi possível identificar picos de hidroxiapatita, carboxiapatita e PO_4^{-3} , pois mesmo o espectro de 28 dias (figura IV.35c) apresentou picos de difícil identificação devido aos ruídos no espectro.

Análises comparativas em MEV entre as amostras (como a 20) sem pré-tratamentos e imersas em mFCS (28 dias de imersão) com as amostras (como a 28) pré-tratadas em NaOH 40 minutos/600°C e mesmo tempo de imersão em mFCS, mostraram que os resultados são semelhantes quanto à formação do filme (visíveis nas fotomicrografias - figuras IV.9 e IV.13) e quanto aos picos mais elevados de cálcio e fósforo nos espectros de EDS. Entretanto, comparando-se os espectros do infravermelho, foi possível identificar hidroxiapatita com 14 dias em mFCS no grupo de 40 minutos em NaOH (figura IV.33). Portanto, os pré-tratamentos parecem ter ativado suficientemente as amostras para que apresentassem resultados superiores (HAp) quando comparados com as amostras apenas imersas em solução biomimética.

As análises das amostras (como as 30 e 36) pré-tratadas com NaOH 60 min, tratamento térmico a 600°C e imersas em mFCS por 02 e 28 dias apresentaram precipitados (figuras IV.14b e IV.17.b). Todas as micrografias das amostras revelaram alteração morfológica na superfície, mas a presença de fosfato de cálcio só foi visível com 07 dias de imersão (como a 32), na forma de cristais de fosfato de cálcio dispersos pela superfície, não caracterizando assim um filme (figura IV.15 c,d,e). Os espectros do EDS com 02 dias de imersão mostraram picos de cálcio, elementos químicos

contaminantes (Pd e N) e ausência de fósforo (figura IV.14e). Os espectros do EDS para tempos de imersão de 07 (como a 32) e 14 (como a 34) dias em mFCS (figuras IV.15f e IV.16d) possuem picos de cálcio e fósforo similares, mas o espectro das amostras com 14 dias apresentou elementos químicos contaminantes (Al, Si, Tc, Pd). O espectro de EDS para a amostra com 28 dias revelou picos mais elevados de cálcio, fósforo e ausência de contaminação (figura IV.17f). A identificação em infravermelho do composto PO_4^{3-} e hidroxiapatita não cristalina só foi possível nas amostras (como a 36) com 28 dias (figura IV.34). Os elementos químicos contaminantes podem ter interferido na formação do revestimento biomimético. Comparando este grupo de amostras com as mencionadas anteriormente, verifica-se que a amostra na condição de pré-tratamento com NaOH/ 60min/600°C obteve resultados superiores devido à formação de cristais de fosfato de cálcio dispersos, como é o caso das amostras com 07 dias de imersão (análise por MEV) embora os ruídos do espectro do infravermelho não tenham permitido a caracterização.

KIM *et al.* (2000) estudaram os pré-tratamentos e imersão em FCS (Kokubo) de amostras de titânio liso com revestimento de titânio macroporoso por spray térmico. As amostras foram tratadas com 5M NaOH a 60°C por 24 h, tratamento térmico a 600°C por 1h e posteriormente imersas em FCS. As análises por raios X indicaram que após 3 dias em solução, ocorriam picos de HAp cristalina e que aumentaram após 7 dias de imersão. Assim, o período de indução da formação de fosfato de cálcio foi de 3 dias, mas após 7 dias o filme era uniforme. Este resultado é semelhante aquele encontrado nesta pesquisa, uma vez que a presença de fosfato de cálcio foi identificado em amostras mantidas por 07 ou mais dias em solução biomimética. Entretanto, neste trabalho, a fotomicrografia apresentou cristais de fosfato de cálcio dispersos (figura IV.15) e não um filme uniforme como o citado por KIM *et al.* (2000). Importante ressaltar que KIM *et al.* (2000) trataram as amostras com solução alcalina cinco vezes mais concentradas e por um período muito mais longo (24 horas) que as estudadas neste trabalho. Portanto, a formação mais uniforme encontrada pelo autor pode ser resultado de uma bioativação mais intensa da superfície da amostra, levando a uma melhor nucleação e crescimento dos cristais de fosfato de cálcio.

A avaliação das fotomicrografias das amostras pré-tratadas com NaOH 60min, tratamento térmico a 400°C e posterior imersão em mFCS durante 02, 14 e 28 dias (figuras IV.18d, IV.20c, IV.21b) apresentaram precipitados em forma de flocos, mas

com 07 dias (figura IV.19) estavam ausentes. As fotomicrografias das amostras (como a 42) imersas 02 dias em mFCS apresentaram alteração na textura como uma rede sobre toda a superfície (figuras IV.18 c,d). Já nas amostras (como as 44, 46 e 48) imersas por 07, 14 e 28 dias, verificou-se a presença de um revestimento uniforme de fosfato de cálcio que aumentou proporcionalmente ao período de imersão (figuras IV.19d, IV.20d, IV.21d). Os espectros dos EDS das amostras com 02, 07, 14 e 28 dias de imersão em mFCS mostraram picos de cálcio e fósforo crescentes com o aumento do tempo de imersão (figuras IV.18e, IV.19f, IV.20e, IV.21f).

As fotomicrografias das amostras com pré-tratamentos em NaOH 60min, térmico a 200°C revelaram alteração da textura das amostras, sendo que as amostras (como a 52) imersas 02 dias (figura IV.22d,e) apresentaram uma estrutura em forma de rede por todo o substrato (similar as amostras tratadas a 400°C). As amostras (como as 54, 56 e 58) imersas por 07, 14 e 28 dias possuíam o revestimento de fosfato de cálcio uniforme. Duas amostras (54 e 55) submetidas ao mesmo pré-tratamento e imersas 07 dias em mFCS apresentaram o revestimento biomimético, porém em uma delas (como a 55) o revestimento foi mais espesso e apresentou trincas (figura IV.24c). O espectro do EDS desta amostra (como a 55) revelou picos de cálcio e fósforo semelhantes ao da amostra (como a 56) com 14 dias (figura IV.24f, IV.26e). Portanto, foi estudada mais uma amostra (como a 61) para esta condição (pré-tratamentos e 07 dias em mFCS) totalizando 03 amostras, com o objetivo de verificar a presença de revestimento de fosfato de cálcio espesso e com trincas como o encontrado na amostra 55. Entretanto, na amostra 61 (figura IV.25 c,d) não foi possível formar um revestimento similar ao encontrado na 55, mas apenas o revestimento menos espesso e sem trinca similar a amostra 54 (figura IV.23 c,d,e).

Identificação dos compostos de fosfato de cálcio

As análises em XPS das amostras após exposição em mFCS mostraram que a concentração de Na diminuiu e surgiram as concentrações de Ca e P. A concentração relativa de Na inicial era quase 40 % e não foram observadas mudanças evidentes na concentração do Na com o aumento da exposição em mFCS entre as amostras (44 e 48) NaOH/60min, 400°C e 07 ou 28 dias (tabelas IV.3 e IV.4). Este resultado está de acordo com aqueles mostrados por KRUPA *et al.*(2005), onde se observou que após 7 dias, não

há mudança na concentração de Na em superfícies de Ti + Na₂O expostos à solução biomimética.

Segundo LU *et al.* (2000) e WANG *et al.* (2001), a relação Ca/P para a HAp é 1,67, valor obtido da relação estequiométrica entre o Ca e P na fórmula da HAp (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂). Quando a relação Ca/P é inferior a 1,67, há a formação de outros fosfatos de cálcio. Quando é superior a 1,67, há HAp carbonatada, pois segundo LU *et al.* (2000) ocorre a troca do grupo PO₄³⁻ pelo grupo CO₃²⁻ na HAp.

A análise em XPS da amostra 44 (NaOH/60min, 400 °C e 07 dias em mFCS) apresentou uma provável formação de fosfatos diferentes da hidroxiapatita, como por exemplo Ca₈H₂(PO₄)₆ e FOC (figura IV.36 e tabela IV.3). A relação Ca/P da amostra 44 foi 1,42 (formação de outros fosfatos de cálcio). Para uma melhor interpretação dos resultados desta amostra serão necessários ajustes teóricos.

As energias de ligação e a relação Ca/P da amostra 48 (NaOH/60min, 400 °C e 28 dias em mFCS) indicam a formação de hidroxiapatita, mas ocorreu a formação de outras apatitas em menor quantidade (figura IV.37 e tabela IV.4). As energias de ligação do picos Ca(2p) e P(2p) podem ser confrontados com os valores da literatura, sendo que ALLEN *et al.* (1996) e WANG *et al.* (2001) obtiveram valores da ordem de 347,4 eV para o pico do Ca(2p) e 133,0 eV para o pico do P(2p). A relação Ca/P da amostra 48 foi 1,69 (formação de HAp).

Os valores das energias de ligação da amostra 54 (NaOH/60min, 200°C e 07 dias) estão de acordo com os valores encontrados para a hidroxiapatita (tabela IV.6). A relação Ca/P da amostra 54 foi 1,78, sugerindo a falta de P na estequiometria da hidroxiapatita e é provável a formação de hidroxiapatita carbonatada e hidroxiapatita.

As amostras 58 (NaOH/60min, 200°C e 28 dias) apresentaram valores das energias de ligação não característicos da hidroxiapatita (tabela IV.7). A energia de ligação do O sugere formação de grupos OH⁻ e a energia de ligação do Ca está em acordo com a energia de ligação de fosfatos. O Na possui energia de ligação próxima da energia de ligação encontrada na amostra 60 (NaOH/60min a 200°C), o que confirma a presença dos grupos OH⁻ (tabela IV.5). O P apresenta energia de ligação de 132,2 eV que é 1,1 eV menor que a energia de ligação encontrada na amostra 54 (NaOH/60min a 200°C por 07 dias), a qual é típica da HAp. ALLEN *et al.* (1996) observaram a diminuição de 0,4 eV na energia de ligação do P e o aumento da energia de ligação do O sugerindo a formação de Ca₈(HPO₄)₂(PO₄)₄.5H₂O (fosfato octacálcio). Para estes

resultados é recomendado um ajuste teórico dos picos do Ca, O e P. A relação Ca/P da amostra 58 foi 1.73. A partir dos resultados encontrados para energia de ligação e a relação Ca/P é possível afirmar que ocorre a formação majoritária de OCP (precursor da HAp).

Verificou-se que nas amostras (44 e 54) submetidas ao mesmo pré-tratamento químico (NaOH por 60 min) e período de imersão em mFCS de 07 dias, mas com a redução da temperatura de pré-tratamento térmico de 400 °C para 200 °C obteve-se maiores concentrações de O(1s), Ca(2s), Ca(2p), P(2s), P(2p). Sendo assim foi possível melhorar a deposição do filme de fosfato de cálcio com a redução da temperatura do tratamento térmico. Dessa forma evita-se um aumento do tamanho de grão do substrato de titânio e a conseqüente alteração das propriedades mecânicas do material.

LIN *et al.* (2005) estudaram filamentos de titânio poroso com tratamento químico de 1,3,5 ou 10M NaOH a 60°C por 24 horas, térmico a 200, 300 ou 400°C por 1 hora e imersos em FCS a 37° C e 80°C. Afirmaram que a intensidade de HAp aumenta em função da concentração do NaOH. Quando tratada a 300°C, a hidroxiapatita em forma de placas preencheu os poros da amostra. A 400°C mais poros foram preenchidos e a HAp era esférica. A 200°C, a HAp cresceu ao longo do eixo e cristalizou como agulhas. Com três dias de imersão em FCS a HAp teve a proporção Ca/P 4,28 e com 15 dias Ca/P 1,69 , similar ao osso. Os filamentos forneceram maior área superficial para a deposição de fosfato de cálcio e a deposição foi possível com 15 dias a uma temperatura de 400°C. Os resultados do presente trabalho mostraram a redução do tempo pela metade para a formação de um filme de fosfato de cálcio uniforme quando comparado ao artigo do LIN *et al.* (2005) , já que com apenas 07 dias em solução biomimética estava visível em MEV. A relação Ca/P encontrada nesta pesquisa foi inferior a 1,69 (outros fosfatos de cálcio) e a relatada no artigo foi superior a 1,69 (HAp carbonatada). Para a identificação desses fosfatos de cálcio será preciso adequar à metodologia utilizada em XPS para substratos lisos em porosos.

Mesmo utilizando a solução biomimética modificada que é de mais fácil manipulação (menor quantidade de flocos na solução durante o preparo) que a convencional idealizada por Kokubo, a grande maioria das amostras apresentou estes precipitados. De uma forma geral, as amostras mostraram o crescimento do revestimento de fosfato de cálcio de acordo com o tempo de imersão em mFCS independente dos pré-tratamentos. As análises em infravermelho não foram realizadas

nas amostras a 200 e 400°C, pois nos espectros do primeiro grupo analisado (600°C) foi difícil à interpretação dos dados obtidos devido à porosidade das amostras.

As amostras pré-tratadas com NaOH, temperaturas de 200 ou 400°C e imersas em mFCS apresentaram um revestimento de fosfato de cálcio mais uniforme, espesso e em menor período (07 dias) em mFCS que o grupo a 600°C com NaOH/40 min ou 60 min (28 dias). Esta temperatura de pré-tratamento térmico (200°C), além de permitir a formação do fosfato de cálcio, evita o aumento do tamanho de grão do titânio. Um aumento significativo do tamanho de grão (devido ao aumento da temperatura de tratamento térmico) modificará as propriedades mecânicas do componente, o que poderá inviabilizar o seu uso em aplicações biomédicas.

Segundo KIM *et al.* (1997), em amostras de titânio tratadas com NaOH, temperatura de tratamento térmico 600°C e imersão em FCS, o titanato de sódio amorfo (com pequenas quantidades de titanato de sódio cristalino e rutilo) se densifica e elimina os poros desta camada. Com o teste da fita, verificou-se a estabilidade do titanato de sódio que permaneceu após o teste em amostras a 600°C. Portanto, a densificação e estabilidade do titanato de sódio levaram a utilização desta temperatura de 600°C amplamente encontrada na literatura. Entretanto, esta temperatura pode servir para a formação de um melhor titanato de sódio, mas pode alterar o tamanho de grão do material. De acordo com os resultados encontrados neste trabalho, sugere-se o uso da temperatura de pré-tratamento térmico de 200°C, pois parece estabilizar o titanato de sódio sem alterar o tamanho de grão e ainda permite uma deposição uniforme de hidroxiapatita carbonatada em apenas 07 dias em mFCS.

VI - CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos neste trabalho possibilitou uma série de conclusões sobre o processamento do titânio poroso puro com revestimento biomimético após pré-tratamentos e/ou imersão em solução em mFCS.

1. As análises em MEV das amostras submetidas à pré-tratamentos alcalino e térmicos revelaram a formação do titanato de sódio em forma de agulhas.

2. A nucleação dos cristais de fosfato de cálcio em áreas específicas e de maneira não uniforme em algumas amostras estudadas pode ser explicada pela ocorrência de precipitados na forma de flocos concentrados em determinadas regiões das amostras imersas em mFCS.

3. As amostras imersas em mFCS sem tratamento químico e térmico anterior revelaram revestimento de hidroxiapatita somente após 28 dias.

4. A avaliação das fotomicrografias das amostras pré-tratadas com NaOH, tratamento térmico a 200 ou 400°C e imersas 02 dias em mFCS apresentaram alteração morfológica como uma rede na superfície do titânio e revestimento uniforme de fosfato de cálcio após 07 dias.

5. Embora a análise em EDS não seja apropriada para a caracterização de revestimentos de fosfato de cálcio, pois a identificação desta técnica usa a escala micrométrica e os fosfatos são em escala nanométrica, foi possível identificar nas análises, espectros com elementos do revestimento de fosfatos de cálcio e do titânio.

6. A análise em XPS foi considerada adequada para a caracterização do revestimento de fosfato de cálcio sobre as amostras de titânio poroso.

7. A análise em XPS das amostras tratadas com NaOH e tratamento térmico a 400°C e 07 dias em mFCS mostra a formação de fosfatos diferentes da hidroxiapatita e a presença de fosfato octacálcio.

8. Observou-se nos espectros de XPS que as amostras de titânio porosas com NaOH, tratamento térmico a 200°C e imersas 07 dias em mFCS apresentaram revestimento com hidroxiapatita, hidroxiapatita carbonatada e fosfato octacálcio. Este tempo é considerado pequeno, segundo a literatura, quando comparado com o tempo para a formação de revestimento de fosfato de cálcio em titânio liso ou poroso. As atuais pesquisas (como LIN *et al.*, 2005) revelam a formação de um revestimento uniforme de hidroxiapatita somente após pré-tratamentos concentrados de NaOH, térmico e 15 dias em soluções biomiméticas. Entretanto, neste trabalho houve a deposição da HAp após tratamento com NaOH não concentrada e após apenas 07 dias em solução biomimética. Portanto, obteve-se um revestimento mais uniforme de HAp em menor tempo de imersão em mFCS, revelando o grande potencial do titânio poroso com revestimento de fosfato de cálcio.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A continuidade da pesquisa já está sendo realizada em uma tese de doutorado na Faculdade de Odontologia da UNESP (São José dos Campos, SP) com a colaboração da COPPE/PEMM, INT e CTA. O objetivo desta tese de doutorado é avaliar o material desenvolvido nesta dissertação a partir de ensaios *in vivo* em coelhos. Algumas sugestões que surgiram durante a realização deste trabalho estão abaixo.

- Aumentar a concentração da solução de pré-tratamento químico (NaOH) e avaliar o seu potencial de bioativação da superfície do titânio poroso.
- Analisar as amostras submetidas a pré-tratamentos químico concentrado e térmico a 600°C, 400°C e 200°C.
- Comparar o revestimento de fosfato de cálcio em Ti liso e poroso após pré-tratamentos alcalino, térmico (200°C) e a imersão em mFCS.
- Avaliar a utilização de solução ácida como pré-tratamento químico e a bioativação do titânio poroso.
- Utilizar a técnica de micro sonda - Auger para caracterização das agulhas formadas após os pré-tratamentos.
- Aumentar a concentração da solução biomimética modificada (mFCS), observando a formação do revestimento de fosfato de cálcio sobre o titânio poroso.
- Fazer a imersão na solução biomimética concentrada com menor intervalo de tempo (a partir de algumas horas).
- Utilizar a solução biomimética modificada sem a troca da solução.
- Avaliar amostras imersas em solução biomimética concentrada e sem pré-tratamentos.
- Com o objetivo de complementar a caracterização do revestimento biomimético, efetuar o corte da amostra para a análise da espessura do revestimento biomimético em microscópio eletrônico de varredura.
- Realizar ensaio de adesão do revestimento biomimético obtido e verificar as propriedades mecânicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, G.C., CILIBERTO E., FRAGALA, I., SPOTO, G., 1996, “Surface and Bulk Study of Calcium Phosphate Bioceramics Obtained by Metal Organic Chemical Vapor Deposition”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, v.116, pp. 457-460.

ANDRADE, M.C., 1999, *Nucleação e Crescimento de Hidroxiapatita em Titânio*, Tese de D.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

ANDRADE, M.C., FILGUEIRAS, M.R., OGASAWARA, T., 2002, “Hydrothermal Nucleation of Hydroxyapatite on Titanium Surface”, *Journal of the European Ceramic Society*, v.22, pp.505-510.

ATTAIA, Y.A., FUERSTENAU, D.W., 1988, “The Equilibrium Composition of Hydroxyapatite and Fluorapatite-water Interfaces”, *Colloids and Surfaces*, v.34, pp. 271-285.

BARRÈRE, F., VAN BLITTERSWIJK, C.A., DE GROOT, K., LAYROLLE, P., REY, C., 2003, “Calcium Phosphate Interactions with Titanium Oxide and Alumina Substrates: an XPS Study”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v.14, pp. 419-425.

BARRÈRE, F., SNEL, M.M.E., VAN BLITTERSWIJK, C.A., DE GROOT, K., LAYROLLE, P., 2004, “Nano-scale Study of Nucleation and Growth of Calcium Phosphate Coating on Titanium Implants”, *Biomaterials*, v.25, pp. 2901-2910.

BIASOTTO, M., RICCERI, R., SCUOR, N., SCHMID, C., SANDRUCCI, M.A., DI LENARDA, R., MATTEAZZI, P., 2003, “Porous Titanium Obtained by a New Powder Metallurgy Technique: Preliminary Results of Human Osteoblast Adhesion on Surface Polished Substrates”, *Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics*, v.1, pp. 172-177.

BIGI, A., BOANINI, E., BRACCI, B., FACCHINI, A., PANZAVOLTA, S., SEGATTI, F., STURBA, L., 2005, “Nanocrystalline Hydroxyapatite Coatings on Titanium: a New Fast Biomimetic Method”, *Biomaterials*, v.26, pp. 4085-4089.

BRAM, M., STILLER, C., PETER, H.B., 2000, “High Porosity Titanium, Stainless Steel and Superalloy Parts”, *Advanced Engineering Materials*, v.2, n.4, pp. 196-199.

- BRÈME, H.J., WADEWITZ, V., FÜRbacher, B., 1989, "Production and Mechanical Properties of Porous Sintered Specimens of the Implant Alloy $Ti_5Al_2Fe_5$ ", *Advances in Biomaterials*, v.9, pp. 63-68.
- BRÈME, H.J., BIEHL, V., 1998, "Metallic Biomaterials", In: Black, J., Hastings, G., *Handbook of Biomaterial Properties*, chapter 2, Chapman & Hall.
- CALLISTER, W.D. Jr., 2002, "Estruturas e Propriedades das Cerâmicas", *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*, 5 ed., capítulo 13, Rio de Janeiro, Brasil, LTC.
- CLAPP, D., 1995, "Overview of Conventional Powder Metallurgy Processing", *Advanced Materials & Processes*, v.8, pp. 60-61.
- DE GROOT, K., KLEIN, C.P.A., WOLKE, J.G.C., 1990, "Chemistry of Calcium Phosphate Bioceramics", *CRC Handbook of Bioactive Ceramics*", pp. 3-16.
- DONACHIE, M., 1998, "Biomedical Alloys", *Advanced Materials & Process*, v.7, pp. 63-65.
- ELLIOTT, J.C., 1994, "Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates", ed. Elsevier, Holland.
- DOS REIS, L.M., 2005, *Estudo de Titânio Poroso Processado via Metalurgia do Pó para Implantes Cirúrgicos*, Monografia de Graduação COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- FROES, F.H., EYLON, D., 1985, "Powder Metallurgy of Titanium Alloys - A Review", *Powder Metallurgy Int.*, v.17, n° 5, pp. 163-238.
- FUJIBAYASHI, S., MASASHI, N., KIM, H.M., KOKUBO, T., NAKAMURA, T., 2004, "Osteoinduction of Porous Bioactive Titanium Metal", *Biomaterials*, v.25, pp. 443-450.
- FUJITA, T., OGAWA, A., OUCHI, C., 1996, "Microstructure and Properties of Titanium Alloy Produced in the Newly Developed Blended Elemental Powder Metallurgy Process", *Materials Science and Engineering*, v. A 213, pp.148-153.
- GERMAN, R.M., 1994, *Powder Metallurgy Science*, 2ed. MPIF.
- GERMAN, R.M., 1996, "Sintering Practice", In: John Wiley & Sons, *Sintering Theory and Practice*, chapter 10.
- GERMAN, R.M., 1999, "Pore Size and Shape", *Particle Packing Characteristics MPIF*, chapter 11.

- HA, S.W., ECKERT, K.L., WINTERMANTEL, E., 1997, "NaOH Treatment of Vacuum-plasma-sprayed Titanium on Carbon Fibre-reinforced Poly (Etheretherketone)", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v.8, pp. 881-886.
- HABIBOVIC, P., BARRÈRE, F., BLITTERSWIJK, C.A., DE GROOT, K., LAYROLLE, P., 2002, "Biomimetic Hydroxyapatite Coating on Metal Implants", *Journal of the American Ceramic Society*, v.85, pp. 517-522.
- HABIBOVIC, P., LI, J.P., DE GROOT, K., 2004, "Osteoinduction and Osteointegration of Novel Porous Ti6Al4V", In: *7th World Biomaterials Congress*, pp. 205, Sydney, Australia, May.
- HABIBOVIC, P., YUAN, H., VALK, C.M., MEIJER, G., BLITTERSWIJK, C.A., DE GROOT, K., 2005, "3D Microenvironment as Essential Element for Osteoinduction by Biomaterials", *Biomaterials*, v.26, pp. 3565-3575.
- HAHN, H., 1985, "Mechanical Properties and Structure of Ti6Al4V with Graded Porosity Coatings Applied by Plasma Spraying for Use in Orthopedic Implants", *Corrosion and Degradation of Implant Materials*, *2nd Symposium ASTM STP 859*, pp. 179-191.
- HANSON, A.D., RUNKLE, J.C., WIDMER, R., 1990, "Titanium Near Net Shapes from Elemental Powder Blends", *The International Journal of Powder Metallurgy*, v.26, n.2, pp. 157-164.
- HELSEN, J.A., BRÈME, H.J., LAFFARGUE, P., 1998, "Metals as Biomaterials". In: John Wiley & Sons, *Retrieval Analysis in Helsen J.A., Brème H.J.*, chapter 15, New York, USA.
- ILAN, D.I., LADD, A.L., 2003, "Bone Graft Substitutes", *Operative Techniques in Plastic and Reconstructive Surgery*, v.9, n.4, pp. 151-160.
- JACKSON, H.C., 1967, "Isostatic Pressing of Powdered Materials", *New Methods for the Consolidation of Metal Powders*, cap. 2.
- JONÁSOVÁ, L. MÜLLER, F.A., HELEBRANT, A., STRNAD, J., GREIL, P., 2002, "Hydroxyapatite Formation on Alkali-treated Titanium with Different Content of Na⁺ in the Surface Layer", *Biomaterials*, v.23, pp. 3095-3101.
- JONÁSOVÁ, L. MÜLLER, F.A., HELEBRANT, A., STRNAD, J., GREIL, P., 2004, "Biomimetic Apatite Formation on Chemically Treated Titanium", *Biomaterials*, v.25, pp. 1187-1194.

- JONES, F.H., 2001, "Teeth and Bones: Applications of Surface Science to Dental Materials and Related Biomaterials", *Surface Science Reports*, v.42, pp. 75-205.
- JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J., 1995, "Tecido Ósseo", *Histologia Básica*, ed. 8, Guanabara Koogan S.A., pp. 108-126.
- KIM, H.M., MIYAJI, F., KOKUBO, T., NAKAMURA, T., 1997, "Effect of Heat Treatment on Apatite-forming ability of Ti Metal Induced by Akali Treatment", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v.8, pp. 341-347.
- KIM, H.M., TAKADAMA, H., KOKUBO, T., SHIGERU, N., NAKAMURA, T., 2000, "Formation of a Bioactive Graded Surface Structure on Ti-15Mo-5Zr-3Al Alloy by Chemical Treatment", *Biomaterials* 21, pp. 353-358.
- KOKUBO, T., 1998, "Apatite Formation on Surfaces of Ceramics, Metals and Polymers in Body Environment", *Acta Metallurgica*, v.46, n.7, pp. 2519-2527.
- KRUPA, D., BASKIEWICZ, J., RAJCHEL, B., 2005, "Effect of Sodium-ion Implantation on the Corrosion Resistance and Bioactivity of Titanium", *Vacuum*, v.78, pp. 161 – 166.
- LIANG, F., ZHOU, L., WANG, K., 2003, "Apatite Formation on Porous Titanium by Alkali and Heat-treatment", *Surface and Coatings Technology*", v.165, pp. 133-139.
- LIN, J.H., CHANG, C.H., CHEN, Y.S., LIN, G.T., 2005, "Formation of Bone-like Apatite on Titanium Filament by a Simulated Body Fluid Inducing Process", *Surface & Coatings Technology*.
- LIU, Y., HUNZIKER, E.B., RANDALL, N.X., DE GROOT, K., LAYROLLE, P., 2003, "Proteins Incorporated into Biomimetically Prepared Calcium Phosphate Coatings Modulated their Mechanical Strength and Dissolution Rate", *Biomaterials*, v.24, pp. 65-70.
- LONG, M., RACK, H.J., 1998, "Titanium Alloys in Total Joint Replacement - A Materials Science Approach", *Biomaterials*, v.19, pp. 1621-1639.
- LYMAN, T., BOYER, H.E., UNTERWEISER, P.M., FOSTER, J.E., HONTAS, J.P., LAWTON, H., 1967, "Properties and Selection of Metals". In: American Society for Metals, Ohio, USA (ed.), *Metals Handbook*, 8ed., pp. 1147-1156.
- LU, H.B., CAMPBELL, C. T., GRAHAM, D.J., 2000, "Surface Characterization of Hidroxyapatite and Related Calcium Phosphate by XPS and TOF-SIMS", *Anal. Chem.*, v.72, pp. 2886-2894.

- MOXSON, V.S., SENKOV, O.N., FROES, F.H., 1998, "Production and Applications of Low Cost Titanium Powder Products", *The International Journal of Powder Metallurgy*, v.34, n.5, pp. 45-53.
- MIURA, I., 1985, "Artificial Bone Made of Porous Titanium", *New Materials Developed in Japan*, v.130, pp. 351-353.
- NAKAMURA, T., KAWANABE, K., FUJIBAYASHI, S., KOKUBO, T., 2004, "Osteoinductive Porous Titanium and its Clinical Application for THA", In: *7th World Biomaterials Congress*, pp. 449, Sydney, Australia, May.
- NG, B.S., ANNERGREN, I., SOUTAR, A.M., KHOR, K.A., JARFORS, A.E.W., 2005, "Characterization of a Duplex TiO₂/CaP Coating on Ti6Al4V for Hard Tissue Replacement", *Biomaterials*, v.26, pp. 1087-1095.
- NISHIGUCHI, S., TAKASHI, N., MASAHIKO, K., HYUN-MIN, K., MIYAJI, F., KOKUBO, T., 1999, "The Effect of Heat Treatment on Bone-bonding Ability of Alkali-treated Titanium", *Biomaterials*, v.20, pp. 491-500.
- NISHIGUCHI, S., KATO, H., FUJITA, H., OKA, M., KIM, H.M., KOKUBO, T., NAKAMURA, T., 2001, "Titanium Metals Form Direct Bonding to Bone after Alkali and Heat Treatments", *Biomaterials*, v. 22, pp. 2525-2533.
- OH, I.H., NOMURA, N., MASAHASHI, N., HANADA, S., 2003, "Mechanical Properties of Porous Titanium Compacts Prepared by Powder Sintering", *Scripta Materialia*, v.49, pp. 1197-1202.
- OLIVEIRA, M.V., 2003, *Desenvolvimento de Revestimento Poroso de Titânio para Implantes Cirúrgicos*. Tese de D.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- RIGO, E.C.S, BOSCHI, A.O., YOSHIMOTO, M., ALLEGRINI, S., KONIG, B., CARBONARI, M.J., 2004, "Evaluation in Vitro and in Vivo of Biomimetic Hydroxyapatite Coated on Titanium Dentals Implants", *Materials Science and Engineering C*, v.24, pp. 647-651.
- SAVITCH, V., ILYUSCHENKO, A., 1998, "Porous and Nonporous for Surgical Implants of Various Applications", *PM World Congress*, pp. 352-355, Granada-Spain.
- SEIBEL, M.J., ROBINS, S.P., BILEZIKIAN, J.P., 1999, "Mineralization, Structure, and Function of Bone". In: Academic Press (ed.), *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism*, chapter 11, California, USA.
- STIGTER, M., GROOT, K., LAYROLLE, P., 2002, "Incorporation of Tobramycin into Biomimetic Hydroxyapatite Coating on Titanium", *Biomaterials*, v.23, pp. 4143-4153.

- SUTHERLAND, D.S., FORSHAW, P.D., ALLEN, G.C., 1993, "Surface Analysis of Titanium Implants", *Biomaterials*, v.14, n.12, pp. 893-899.
- SYKARAS, N., IACOPINO, A.M., MARKER, V.A., 2000, "Implant Materials, Designs, and Surface Topographies: Their Effect on Osseointegration. A Literature Review", *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, v.15, n° 5, pp. 675-690.
- TAKADAMA, H., KIM, H.M., KOKUBO, T., NAKAMURA, T., 2001, "XPS Study of the Process of Apatite Formation on Bioactive Ti-6Al-4V Alloy in Simulated Body Fluid", *Science and Technology of Advanced Materials*, v.2, pp. 389-396.
- TAKEMOTO, M., FUJIBAYASHI, S., NEO, M., SUZUKI, J., KOKUBO, T., NAKAMURA, T., 2005, "Mechanical Properties and Osteoconductivity of Porous Bioactive Titanium", *Biomaterials*, v.26, pp. 6014-6023.
- UCHIDA, M., KIM, H.M., MIYAJI, F., KOKUBO, T., NAKAMURA, T., 2002, "Apatite Formation on Zirconium Metal Treated with Aqueous NaOH", *Biomaterials*, v.23, n.1, pp. 313-317.
- WACK, T., BIEHL, V., BRÈME, J., 1989, "Comparison of TiTa and TiNb Alloys for Application as Dental Implants", *The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, v.4, pp. 113-118.
- WANG, C.X., CHEN, Z.Q., GUAN, L. M., 2001, "Fabrication and Characterization of Grade Calcium Phosphate Coatings Produced by Ion Beam Sputtering/Mixing Deposition", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, v.179, pp.1425-1431.
- WEI, M., KIM, H.M. KOKUBO, T., EVANS, J.H., 2002, "Optimizing the Bioactivity of Alkaline Treated Titanium Alloy", *Materials Science and Engineering C*, v.20, pp. 125-134.
- WEI, M., UCHIDA, M., KIM, H.M., KOKUBO, T., NAKAMURA, T., 2002, "Apatite-forming Ability of CaO-containing Titania", *Biomaterials*, v.23, pp. 167-172.
- WILKE, H.J., CLAES, L., STEINEMANN, S., 1990, "The Influence of Various Titanium Surfaces on the Interface Shear Strength between Implants and Bone", *Clinical Implant Materials/Advances in Biomaterials*, v.9, pp. 309-314.
- WONG, A.T.C., CZERNUSKA, J.T., 1993, "Transformation Behavior of Calcium Phosphate, Theory and Modeling", *Colloids and Surfaces*, v.78, pp. 245-253.

YANG, W.Q., NAKAMURA, T., KAWANABE, K., NISHIGOCHI, S., OKA, M., KOKUBO, T., 1997, "Apatite Layer-coated Titanium for use as Bone Bonding Implants", *Biomaterials*, v.18, pp. 1185-1190.

YANG, B., UCHIDA, M., KIM, H.M., ZHANG, X., KOKUBO, T., 2004, "Preparation of Bioactive Titanium Metal via Anodic Oxidation Treatment", *Biomaterials*, v.25, pp. 1003-1010.

ZHU, P., MASUDA, Y., KOUMOTO, K., 2004, "The Effect of Surface Change on Hydroxyapatite Nucleation", *Biomaterials*, v.25, pp. 3915-3921.