



**COPPE/UFRJ**

ESTUDO DE REVESTIMENTO DE FOSFATO DE CÁLCIO EM SUBSTRATOS DE  
TITÂNIO DENSO E POROSO

Marisol Navarro da Rocha

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Metalúrgica e de Materiais, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Metalúrgica e de Materiais.

Orientador: Luiz Carlos Pereira

Marize Varella de Oliveira

Rio de Janeiro

Julho de 2010

ESTUDO DE REVESTIMENTO DE FOSFATO DE CÁLCIO EM SUBSTRATOS DE  
TITÂNIO DENSO E POROSO

Marisol Navarro da Rocha

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO  
LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA  
(COPPE) 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.

Examinada por:

---

Prof. Luiz Carlos Pereira, D.Sc.

---

Dra. Marize Varella de Oliveira, D.Sc.

---

Profa. Mônica Calixto de Andrade, D.Sc.

---

Profa. Glória Dulce de Almeida Soares, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

JULHO DE 2010

Rocha, Marisol Navarro da

Estudo de Revestimento de Fosfato de Cálcio em Substratos de Titânio Denso e Poroso/ Marisol Navarro da Rocha. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2010.

XXV, 144 p.: il.; 29,7 cm.

Orientador: Luiz Carlos Pereira

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, 2010.

Referencias Bibliográficas: p. 130-144.

1. Titânio. 2. Bioatividade. 3. Revestimento. I. Pereira, Luiz Carlos. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais. III. Título.

“Não é o que você faz.  
É a maneira como você faz.  
É isso que gera resultado.”  
*(Sir Oliver e James Young)*

“I believe the barrier to the more widespread successful use of medical devices, the high ridge obscuring the vision of our utopia, is our poor understanding of **biocompatibility**...

...What I see as the crucial component of getting down, however, is the ability to use the **understanding** of biocompatibility in order to **achieve** biocompatibility.”

*(Williams DF. The Biomaterials horizon.  
J Mater Sci-Mater Med (1994) 5: 303-307)*

Dedico este trabalho aos meus pais, José Navarro e Ana Maria,  
pela constante demonstração de carinho, paciência, amor,  
compreensão e apoio incondicional durante toda minha vida.  
Por todo o esforço e sacrifício que fizeram para minha formação e por tudo que sou.  
A integridade, princípios e caráter de vocês me fazem a cada dia um ser humano  
melhor.  
*Minha eterna gratidão e admiração.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus por iluminar meus caminhos, orientar e abençoar a minha vida, e por me conceder a oportunidade tornando-me capaz de realizar este e todos os meus sonhos.

Aos meus avós paternos e maternos, em especial à minha querida avó Bernarda (in memoriam) que, pela convivência e presença constante em minha vida, tornou-me um ser humano intenso e emotivo. Lamento sua partida durante o decorrer do meu Mestrado e por ainda não ter tido a oportunidade de viver o luto de sua ausência. *Saudades.*

Aos meus irmãos, Ana Soledad, Carmen, José Luiz, Daniel, e sobrinhos, Mariana e Bernardo, por simplesmente fazerem parte em minha vida. Em especial ao Daniel, que além de irmão é parceiro de profissão e foi presença constante e fundamental nesta fase da minha trajetória ... sem ele, muita coisa seria difícil. *Obrigada por tudo!*

Ao professor e orientador, Luiz Carlos Pereira, pela sinceridade, presteza e atenção dispensada durante todo o curso, e por ter acreditado nesta pesquisa *Meu mais profundo respeito.*

À minha co-orientadora, Marize varella de Oliveira, por ter me recebido no Instituto Nacional de Tecnologia (INT) e tornar possível este trabalho. Por todo apoio e auxílio que recebi, principalmente pelos esclarecimentos e ensinamentos, por me apresentar uma área que desconhecia, pela paciência em me fazer entender tudo que fugia à minha formação, e pelas parcerias que tornaram possível a realização da pesquisa. *Fica expresso meu desejo de continuarmos a trabalhar juntas.*

À Mônica Calixto de Andrade, pela ajuda e contribuição com seu conhecimento na área de química e seus aconselhamentos por me terem ajudado a consolidar diversos aspectos práticos relativos a procedimentos experimentais.

Desejo ainda agradecer àqueles que me auxiliaram no decorrer deste trabalho experimental e que, de um modo ou de outro, deram contribuições úteis para o progresso do estudo apresentado nesta dissertação:

#### Na UFRJ,

- Aos colegas de turma, pelo maravilhoso convívio, apoio e união nos períodos de sufoco e pela constante troca de conhecimentos, desejo que a vida permita que nossos caminhos voltem a cruzar de alguma forma. Em especial à Viviane Vianna, pela amizade conquistada e exemplo de determinação.
- Ao técnico do Laboratório de Processamento Termodinâmico - Biomateriais (TERMIC), Laércio Rosignoli Guzela, pela ajuda constante e sempre urgente.
- Ao técnico do Laboratório de Microscopia do PEMM/ UFRJ, Manoel Jorge Rodrigues Marin, pelo apoio na obtenção das imagens MEV e análises de EDS.
- Profa. Renata Antoun Simão, por tão bem me receber e à equipe do Laboratório de Caracterização de Superfícies (AFM), pelas análises RAMAN e AFM.
- Prof. Célio Albano da Costa Neto, por me abrir as portas do Laboratório de Análises Químicas e Processamentos Cerâmico e me permitir o uso da máquina de corte, com o auxílio dos técnicos Leonardo e Cláudio.
- Aos funcionários técnico-administrativos do PEMM, em particular Francisco de Assis L. de Souza Jr., pelos auxílios e esclarecimentos na solução de problemas burocráticos.

#### No INT,

- Aos colegas do grupo de pesquisa, Andrezza Castro e Leandro Morani – bolsistas, peças fundamentais para o desenvolvimento dos experimentos. Em especial ao Alexandre Antunes Ribeiro, sempre prestativo auxiliando-me em diversas tarefas, fazendo-se disponível e disposto a contribuir. Obrigada de coração!
- Ibrahim Abud, Cássio Barbosa, Denise Freitas, Djanira Rezende Costa, por ceder o uso de equipamentos e do espaço físico.
- Ao Fábio Moyses Silva Dantas, pelos esclarecimentos e ensinamentos.
- Antônio José do Nascimento Dias, pelas análises DRX.
- Fabio Henrique Silva, pelas compactações das amostras de Titânio.
- Márcia Oliveira e Sheila Carvalho, pelas imagens MEV e análises EDS.
- Helga Stefania M. Bodstein, pela análise Confocal.
- Ao secretário Edmilson, figura ímpar, e a todos os demais pelo convívio no Instituto.

### No CTA

- Ao Carlos Alberto Alves Cairo, por disponibilizar o uso do equipamento do Laboratório do Centro Técnico Aeroespacial (CTA) como parte do preparo das amostras para este estudo. Ao Vavá que nos recebeu em nossa ida ao Departamento.

### No CBPF

- Aos parceiros desta pesquisa, Alexandre Rossi e Alexandre Mello.
- Cleonice Martins pela atenção e esclarecimentos.
- Valeria Conde, sempre simpática e prestativa, obrigada pela tentativa de tentar analisar melhor o filme fino usando um DRX em baixo ângulo.
- Silvia Rachel de A. Santos, pelas análises em FTIR.

### No INMETRO

- Suzana B. Peripolli, pelas lindas análises FIB

Aos meus professores da Graduação, alicerces da minha formação, que me apresentaram ao fabuloso universo da ciência e despertaram em mim o gosto pela pesquisa e amor incondicional à minha profissão, em especial àqueles que sempre depositaram credibilidade em mim enquanto aluna.

À minha querida e para sempre amiga Luciane Monte Alto, motivadora permanente que sempre valorizou e acreditou neste caminho acadêmico incentivando mais esta etapa que exigiu de mim o espírito de perseverança. Seus ensinamentos e conselhos são sempre imprescindíveis. Obrigada por ter feito parte da minha formação, na Graduação, como Mestre, por ser meu exemplo contribuindo de forma ímpar na minha profissão e por fazer parte da minha vida como Amiga.

Ao PEMM/COPPE/UFRJ, pelos conceitos em Engenharia que contribuíram para o meu aperfeiçoamento, e ao INT, parceiro neste projeto, pelo fornecimento de todo material, equipamentos e espaço físico utilizados neste trabalho, e por ter tornado possível a execução da pesquisa.

Às minhas amigas-irmãs, Aline Raybolt, Ana Paula Cunha, Andréa Lombardi, Claudia Couri, Cristiana Almeida, Leila Monte Alto, Luciana Simonato, Ludmila Azize, Maria Eugênia Zampieri, Rogéria Brêtas, Vivian Oliveira, Thais Valim, agradeço o privilégio que a vida me concedeu de tê-las como AMIGAS. Pela enorme paciência que tiveram com minha ausência, pela falta ou demora de retorno aos contatos, pelas nossas saídas antes constantes e nos últimos tempos impossíveis, pelo entendimento de que mesmo com o distanciamento grandes amizades podem ser mantidas... vocês me provaram isso. Cada qual, por motivos distintos, participou diretamente de momentos extremamente difíceis em minha vida ... Obrigada por poder confiar e contar com vocês!

À mais recente amiga, Vanessa Reis, que provou com suas atitudes que uma grande amizade pode se manifestar em tão pouco tempo de convivência. Obrigada pelas palavras de apoio, pelo ombro, pela parceria profissional e acima de tudo por poder confiar em você. Agradeço a Deus ter te conhecido.

À Luciana Abi-Ramia e Tatiana Poyares, pela paciência e compreensão nesse período conturbado. Obrigada!

Ao querido Gianluigi Bergamaschi, pessoa alegre, de um astral contagiante e por quem tenho muita estima. Agradeço a Deus pela oportunidade e privilégio de te conhecer!

Aos colegas de profissão e pacientes que souberam, com muita dificuldade, entender meu afastamento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pelo apoio financeiro indispensável com a bolsa de Mestrado.

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e à Rede Ibero-americana BioFab – CYTEC, que concederam apoio financeiro ao projeto para realizar a pesquisa.

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

## ESTUDO DE REVESTIMENTO DE FOSFATO DE CÁLCIO EM SUBSTRATOS DE TITÂNIO DENSO E POROSO

Marisol Navarro da Rocha

Julho/2010

Orientadores: Luiz Carlos Pereira

Marize Varella de Oliveira

Programa: Engenharia Metalúrgica e de Materiais

A experiência com biomateriais ainda requer estudos aprofundados da sua bioatividade e biocompatibilidade no organismo humano. Estudos mostram que os revestimentos de fosfato de cálcio sobre titânio melhora a osseointegração na interface osso-implante, devido à alta biocompatibilidade do mineral. Os implantes de titânio podem ser revestidos com fosfatos de cálcio por um método de precipitação biomimético. Este estudo apresenta um método biomimético com uma solução simplificada, contendo sais de cálcio e fósforo. A solução oferece a vantagem de ser de simples preparo com elevadas concentrações de íons cálcio e fósforo. Foram utilizadas amostras microporosas e porosas, processadas por metalurgia do pó, e amostras densas. As amostras foram pré-tratadas com uma solução de NaOH para a bioativação da superfície com posterior tratamento térmico. Em seguida, as amostras foram imersas na solução biomimética por 7, 14 e 21 dias. A caracterização química e estrutural dos substratos e revestimento foi realizada por confocal microscopia óptica (OMCS), microscopia eletrônica de varredura com energia dispersiva de raios X (MEV/EDS), microscopia eletrônica de varredura combinado com feixe de íon focalizado técnica (MEV/FIB), Microscopia de força atômica (AFM), Difração de Raios-x por Radiação luz Síncrotron (SDRX). A precipitação de fosfato de cálcio foi obtida em todas as amostras após imersão em solução biomimética, evidenciada por picos de Ca e P nos espectros EDS, MEV/FIB e SDRX. Estes resultados indicam o potencial da solução utilizada neste estudo para o revestimento de substratos de titânio.

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

## STUDY OF CALCIUM PHOSPHATE COATING ON TITANIUM SUBSTRATES DENSE AND POROUS

Marisol Navarro da Rocha

July/2010

Advisors: Luiz Carlos Pereira

Marize Varella de Oliveira

Department: Metallurgy and Materials Engineering

Biomaterials experience still requires detailed studies of its bioactivity and biocompatibility in the human body. Studies show that calcium phosphate coatings on titanium improves osseointegration at implant-bone interface due to the high biocompatibility of mineral. The titanium implants can be coated with calcium phosphate by a biomimetic precipitation method. This study presents a biomimetic method with a simplified solution containing salts of calcium and phosphorus. The solution has the advantage of being simple preparation with high concentrations of calcium and phosphorus ions. Microporous and porous samples, processed by powder metallurgy, and dense samples were used. The samples were pretreated with NaOH solution in order to bioactivation of the surface with subsequent thermal treatment. Then the samples were immersed in the biomimetic solution for 7, 14 and 21 days. The chemical and structural characterization of substrates and coating was performed by confocal optical microscopy (CSOM), scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray (SEM / EDS), scanning electron microscopy combined with focused ion beam technique (SEM / FIB ), atomic force microscopy (AFM), X-ray diffraction by synchrotron radiation light (SDRX). All samples presented calcium phosphate precipitation after immersion in biomimetic solution, evidenced by peaks Ca and P in the EDS spectra and SEM/FIB and SDRX. These results indicate the potential of the solution used in this study for the coating of titanium substrates.

# ÍNDICE GERAL

## CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO E OBJETIVO

Introdução .....	1
Objetivo .....	4

## CAPÍTULO 2: REVISÃO DA LITERATURA

2.1 – Biomateriais .....	5
2.2 – Biocompatibilidade .....	9
2.2.1 – Osseointegração .....	9
2.2.2 – Topografia dos Implantes .....	12
2.3 – Titânio como Biomaterial .....	16
2.3.1 – Estrutura e Propriedade do Titânio e suas Ligas .....	16
2.3.2 – Comportamento do Titânio Frente à Corrosão .....	20
2.4 – Implantes com Estrutura Porosa .....	22
2.5 – Revestimentos em Implantes Metálicos .....	25
2.5.1 - Revestimentos de Fosfatos de Cálcio em Titânio .....	25
2.5.2 - Processo Biomimético .....	27
2.5.3 - Pré-tratamentos Químicos e Térmicos .....	31
2.5.4 - Formação de Fosfatos de Cálcio em FCS .....	33

## CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – Substratos .....	34
3.2 – Matéria-prima para Substratos Microporoso e Poroso .....	34
3.2.1 - Caracterização da Matéria-prima .....	37
3.2.1.1 – Análise por Difração dos Raios-X (DRX) .....	37
3.2.1.2 – Análise Morfológica (MEV) .....	38
3.2.1.3 - Análise Térmica por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Análise da Degradação Térmica (TGA) .....	38
3.3 - Processamento dos Substratos Porosos por Metalurgia do Pó .....	39
3.3.1. Titânio Microporoso .....	40
3.3.2. Titânio Poroso .....	42
3.4 – Caracterização dos Substratos .....	44
3.5 – Limpeza dos Substratos .....	46

3.6 – Deposição do Revestimento .....	48
3.6.1 – Tratamentos Químico e Térmico .....	51
3.6.2 - Processo Biomimético .....	53
3.6.2.1. Preparação da Solução para Revestimento do Fosfato de Cálcio .....	53
3.6.2.2. Cálculo do Volume da Solução para Imersão das Amostras .....	55
3.7. Caracterização Química e Microestrutural dos Substratos e Amostras .....	55
3.7.1 - Microscópio Confocal de Varredura Óptica (OMCS) .....	56
3.7.2 - Microscopia de Força Atômica (AFM) .....	57
3.7.3 -Difração de Raios-x por Radiação Luz Síncrotron (SDRX) .....	58
3.7.4 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectrometria por Dispersão de Energia de Raios-X (EDS) .....	59
3.7.5 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com a Técnica de Feixe de Íons Focalizado (FIB) .....	60
3.7.6 -Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	60
3.7.7 – Espectroscopia RAMAN .....	61
<b>CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>63</b>
<b>CAPÍTULO 5: CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>125</b>
<b>CAPÍTULO 6: CONCLUSÃO .....</b>	<b>128</b>
<b>CAPÍTULO 7: SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>129</b>
<b>CAPÍTULO 8: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>130</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Esquema ilustrativo da formação do tecido ósseo na superfície do implante (adaptado de DA SILVA, 2006).

Figura 2.2 - Processo de evolução fisiológica da cicatrização óssea na região em contato com o implante de acordo com o tempo (adaptado de BRÅNEMARK, 2001).

Figura 2.3 - Exemplo de osseointegração completa em torno de um implante (adaptado de BROWNER *et al.*, 2003).

Figura 2.4 - Transformações alotrópicas do Ti- $\alpha$ , a temperatura ambiente possui estrutura HCP e acima de 882°C possui estrutura CCC (adaptado de DONACHIE, 1988).

Figura 2.5 - Imagem de substratos de Ti poroso sem tratamento: (a) com estrutura porosa observada à luz visível; (b) ao microscópio estereoscópio (adaptado de POSH, 2008).

Figura 2.6 - Titânio poroso: (a) Protótipo de implante dentário poroso (adaptado de NRC-IMI/Quebec); (b) Implante de liga de titânio com superfície porosa (adaptado de Faculty of Dentistry/Toronto University).

Figura 2.7 - Mudanças na superfície do titânio submetido à pré-tratamento químico em solução de NaOH, tratamento térmico 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 (adaptado de KOKUBO, 1998).

Figura 3.1 - matéria-prima: (a) pó de BA; (b) pó de Ti.

Figura 3.2 - Agitador de peneiras (*Bertel Indústria Metalúrgica LTDA*).

Figura 3.3 - Fluxograma de tomada de decisão no estudo da metodologia de preparo do substrato poroso.

Figura 3.4 - (a) Matriz uniaxial quadrada e punção; (b) Prensa hidráulica e matriz uniaxial no momento da compressão.

Figura 3.5 - Forno a vácuo (*Thermal Technology – modelo ASTRO*).

Figura 3.6 - (a) Punção quadrado e substrato obtido por compactação uniaxial; (b) Imagem do substrato TiM, visão superior; (c) Imagem do substrato TiM, visão lateral.

Figura 3.7 - (a) Molde de silicone com pós de Ti e BA preparado para compactação isostática; (b) prensa isostática utilizada para compactação dos pós.

Figura 3.8 - (a) Compactados TiP dispostos em navículas; (b) Forno para retirada do aditivo BA.

Figura 3.9 - Obtenção dos substratos porosos: (a) Imagem do substrato TiP, visão superior; (b) Imagem do substrato TiP, visão lateral.

Figura 3.10 - Substrato TiP embutido em resina para posterior polimento metalográfico.

Figura 3.11 - (a) Macrografia do substrato TiM; (b) Imagem em MEV; (c) Imagem da amostra no programa Image-Pro para obtenção da seção transversal.

Figura 3.12 - (a) Substrato Sinterizado; (b) Após corte transversal.

Figura 3.13 – Esquema Ti / *Alpha Case*.

Figura 3.14 - Fluxograma da metodologia da pesquisa.

Figura 3.15 - Substratos de Ti: (a) TiD, (b) TiM e (c) TiP.

Figura 3.16 - (a) Mini-autoclaves; substratos posicionados no interior das mini-autoclaves para tratamento químico com NaOH: (b) TiD, (c) TiM e (d) TiP.

Figura 3.17 – Forno, em aquecimento, para tratamento térmico das amostras.

Figura 3.18 - Substratos dispostos de lado em tubos de Falcon.

Figura 3.19 – Representação da geometria para o cálculo da área superficial das amostras: (a) quadrada (TiD e TiM); (b) cilíndrica (TiP).

Figura 3.20 - Esquema representativo da microscopia de força atômica: (a) por modo contato, (b) por modo de não-contato e (c) por modo contato intermitente.

Figura 4.1 - Substrato TiD: (a) Imagem macroscópica; (b) Micrografia seção transversal; (c) Micrografia da seção longitudinal, fases  $\alpha$  e  $\beta$ .

Figura 4.2 - Substrato TiM: (a) Imagem macroscópica; (b) Micrografia da seção longitudinal.

Figura 4.3 - Substrato TiP: (a) Imagem macroscópica; (b) Micrografia da seção longitudinal.

Figura 4.4 - Imagem em 3D do perfil primário da amostra TiD obtida por OMCS: (a) sem TQT (b) com TQT.

Figura 4.5 - Imagem em 3D do perfil primário da amostra TiM obtida por OMCS: (a) sem TQT (b) com TQT.

Figura 4.6 - Imagem em 3D do perfil primário da amostra TiP obtida por OMCS: (a) sem TQT (b) com TQT.

Figura 4.7 - Espectro do perfil de rugosidade da amostra TiD: (a) sem TQT (b) com TQT.

Figura 4.8 - Espectro do perfil de rugosidade da amostra TiM: (a) sem TQT (b) com TQT.

Figura 4.9 - espectro do perfil de rugosidade da amostra TiP: (a) sem TQT (b) com TQT.

Figura 4.10 - Imagens AFM do substrato TiD.

Figura 4.11 - Imagens AFM da amostra TiD-21.

Figura 4.12 - Imagens AFM do substrato TiM.

Figura 4.13 - Imagens AFM da amostra TiM-21.

Figura 4.14 - Difractogramas de raios-X da amostra TiD: (a) TiD-7, (b) TiD-14, (c) TiD-21.

Figura 4.15 - Difractogramas de raios-X ampliado da amostra TiD: (a) TiD-7, (b) TiD-14, (c) TiD-21.

Figura 4.16 - Difractogramas de raios-X com maior ampliação da amostra TiD: (a) TiD-7 e (b) TiD-14.

Figura 4.17 - Difractogramas de raios-X da amostra TiM: (a) TiM-C e (b) TiM-7.

Figura 4.18 - Difractogramas de raios-X da amostra TiM, tratada e nucleada: (a) TiM-14, e (b) TiM-21.

Figura 4.19 - Difractogramas de raios-X ampliados da amostra TiP: (a) TiP-C e (b) TiP-7.

Figura 4.20 - Difrátogramas de raios-X ampliados da amostra TiP: (a) TiP-14 e (b) TiP-21.

Figura 4.21 - Difrátogramas de raios-X das amostras da amostra TiP: (a) TiP-14 e (b) TiP-21.

Figura 4.22 - Difrátogramas de raios-X ampliado da amostra de TiP: (a) TiP-14 e (b) TiP-21.

Figura 4.23 - Fotomicrografias em MEV do pó de Ti utilizado na sinterização dos substratos TiM e TiP em diferentes aumentos: (a) 100x, (b) 200x.

Figura 4.24 - Macrografias e respectivas fotomicrografias em MEV dos substratos: (a) e (b) TiD, (c) e (d) TiM, (e) e (f) TiP.

Figura 4.25 - Fotomicrografias do pó de Ti, em MEV: (a), (c) e (e) morfologia da superfície isenta de qualquer revestimento; (b), (d) e (f) após o pré-tratamento químico-térmico, com agulhas de titanato de sódio.

Figura 4.26 - Micrografia e espectro EDS da superfície do pó de Ti controle (sem tratamento).

Figura 4.27 - Micrografia e espectro EDS da superfície do pó de Ti após tratamento químico e térmico.

Figura 4.28 - Fotomicrografias em MEV do substrato TiD: (a) superfície sem revestimento, TiD-C; (b) após o pré-tratamento térmico-químico, TiD-TQT.

Figura 4.29 - Fotomicrografias em MEV do substrato TiM: (a) superfície sem revestimento, TiM-C; (b) após o pré-tratamento térmico-químico, TiM-TQT.

Figura 4.30 - Fotomicrografia s em MEV do substrato TiP: (a) superfície sem revestimento, TiP-C; (b) após o pré-tratamento térmico-químico, TiP-TQT.

Figura 4.31- Fotomicrografias em MEV do substrato TiD-C isento de tratamento: (a) 500x e (b) 5.000x.

Figura 4.31a - EDS do substrato TiD-C.

Figura 4.32 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiD-7: (a) 500x, (b) 5.000x, (c) 10.000x e (d) 50.000x.

Figura 4.32a - EDS da amostra TiD-7.

Figura 4.33 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiD-14: (a) 200x, (b) 1.000x, (c) 10.000x e (d) 50.000x.

Figura 4.33a - EDS da amostra TiD-14.

Figura 4.34 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiD-21: (a) 500x, (b) 5.000x e (c) 10.000x, (d) 50.000x.

Figura 4.34a - EDS da amostra TiD-21.

Figura 4.35 - Fotomicrografias em MEV da superfície do substrato TiM-C isenta de qualquer tratamento: (a) 200x e (b) 5.000x.

Figura 4.35a - EDS do substrato TiM-C.

Figura 4.36 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiM-7: (a) 500x, (b) 5.000x, (c) 10.000x e (d) 50.000x.

Figura 4.36a - EDS da amostra TiM-7.

Figura 4.37- Fotomicrografias em MEV da amostra TiM-14: (a) 200x e (b) 1.000x, (c) 5.000x, (d) 50.000x.

Figura 4.37a - EDS da amostra TiM-14.

Figura 4.38 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiM-21 com diferentes aumentos: (a) 200x, (b) 1.000x (c) 5.000x e (d) 20.000x.

Figura 4.38a - EDS da amostra TiM-21.

Figura 4.39 - Fotomicrografias em MEV do substrato TiP-C, da superfície isenta de tratamento: (a) 200x e (b) 1.000x.

Figura 4.39a - EDS do substrato TiP-C.

Figura 4.40 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiP-7: (a) 200x, (b) 1.000x, (c) 5.000x e (d) 20.000x.

Fig. 4.40a – EDS da amostra TiP-7.

Figura 4.41 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiP-14: (a) 200x, (b) 1.000x, (c) 5.000x e (d) 50.000x.

Figura 4.41a - EDS da amostra TiP-14.

Figura 4.42 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiP-21: (a) 200x, (b) 1.000x, (c) 5.000x e (d) 50.000x.

Figura 4.42a - EDS da amostra TiP-21.

Figura 4.43 - Micrografia MEV do preparo da superfície por FIB: (a) (b) superfície da amostra TiM-21; (b) superfície com inclinação de 52°; (c) deposição de camada linear de platina (Pt); (d) superfície desgastada; (e) visualização das camadas distintas (Pt, CaP e Ti); (f) espectro EDS com picos de Ca e P no revestimento.

Figura 4.44 - Micrografia MEV do preparo da superfície por FIB: (a) (b) superfície da amostra TiM-21; (b) superfície com inclinação de 52°; (c) deposição de camada linear de platina (Pt); (d) superfície desgastada; (e) visualização das camadas distintas (Pt, CaP e Ti); (f) espectro EDS com picos de Ca e P no revestimento.

Figura 4.45 - Micrografia da amostra TiM-21 com revestimento de CaP, espectro EDS e mapas atômicos.

Figura 4.46 - Micrografia da amostra TiP-21 com revestimento de CaP, espectro EDS e mapas atômicos.

Figura 4.47 - Espectros FTIR-ATR dos revestimentos: (a) amostra TiD-21, (b) amostra TiM-21; (c) amostra TiP-21.

Figura 4.48- Espectroscopia Raman da amostra TiD-21.

Figura 4.49 - Espectroscopia Raman da amostra TiM-21.

Figura 4.50 - Espectroscopia Raman da amostra TiP-21.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Principais classes de biomateriais e suas aplicações clínicas (adaptado de KAWACHI *et al.*, 2000).

Tabela 2.2 - Propriedades físicas do titânio no seu estado não ligado (adaptado de LIU *et al.*, 2004).

Tabela 2.3 - Concentrações máximas (% em peso) permitidas de impurezas em Ti c.p. para utilização como biomaterial (Norma ASTM F 67-06).

Tabela 2.4 - Propriedades mecânicas dos diferentes graus de Ti c.c. (Normas NBR ISO 5832-2, ASTM F67-06).

Tabela 3.1 - Classificação dos substratos e suas características.

Tabela 3.2 - Faixa granulométrica dos pós de Ti e BA e a % em peso utilizado.

Tabela 3.3 - Análises para caracterização do pó de Ti e BA.

Tabela 3.4 – Distribuição dos grupos experimentais.

Tabela 3.5 - Concentração (C) iônica da solução SS.

Tabela 3.6 - Reagentes utilizados para o preparo de 1l da solução SS.

Tabela 4.1- Valores dos parâmetros do perfil de rugosidade.

Tabela 4.2 – Parâmetros de rugosidade obtidos por AFM.

## LISTA DE SÍMBOLOS

Ti	Titânio
Ti-cp	Titânio comercialmente puro
Hap	Hidroxiapatita
FCS	Flúido Corpóreo Simulado
mFCS	Flúido Corpóreo Simulado modificado
CCC	Cúbico de Corpo Centrado
HC	Hexagonal Compacto
CaP	Fosfato de Cálcio
Ca(OH) <sub>2</sub>	Hidróxido de Cálcio
NaOH	Hidróxido de sódio
TiD	Titânio Denso
TiM	Titânio Microporoso
TiP	Titânio Poroso
C	Controle
BA	Bicarbonato de Amônio
DRX	Difração de raio-X
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
TGA	Análise Termogravimétrica
%	Porcentagem
°C	Graus Celcius
Pt	Platina
TiO <sub>2</sub>	Óxido de Titânio
TiN	Nitreto de Titânio
TiH <sub>2</sub>	Hidreto de Titânio
TQT	Tratamento Químico-Térmico
NaOH	Hidróxido de Sódio
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
FIB	Feixe de Íons Focalizado
EDS	Espectroscopia por Dispersão de Energia de Raios-X

MO	Microscopia Óptica
SDRX	Difração de Raios-X por Radiação Luz Sincontron
AFM	Microscopia de Força Atômica
OMCS	Microscopia Confocal de Varredura Óptica
RAMAN	Espectroscopia Raman
ATR	Reflectância Total Atenuada
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	Cloreto de Cálcio Dihidratado
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	Fosfato de Sódio Dihidratado
SS	Solução Simplificada
Ga <sup>+</sup>	Gálio
Na <sup>+</sup>	Sódio
Ca <sup>2+</sup>	Cálcio
Cl <sup>-</sup>	Cloro
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Fosfato
O	Oxigênio
P	Fósforo
Sa	Área Total da Superfície da Amostra
Vs	Volume da Solução
RMS	Rugosidade Média Quadrática
STEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão por Varredura
EBSD	Difração de Elétrons Retroespalhados
µm	Mícron
nm	Nanômetro
Θ	Ângulo de Bragg
cm <sup>-1</sup>	Comprimento de Onda
SimSe	Simulador de soluções eletrolíticas
Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	Fórmula da Hidroxiapatita
Ca <sub>8</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	Fosfato Octacálcio
C	grupo controle
INT	Instituto Nacional de Tecnologia
CBPF	Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia
CTA	Centro Técnico Aeroespacial

O desenvolvimento de materiais para reparo de tecidos ou substituição de órgãos ou tecidos perdidos vem sendo favorecido pelo avanço das pesquisas no campo de biomateriais, contribuindo de maneira significativa para a melhoria da qualidade e expectativa de vida da população.

A área de biomateriais caracteriza-se por apresentar novos temas e exigir uma abordagem multidisciplinar, e assim se constitui numa área de investigação onde a colaboração entre as áreas de biologia, bioquímica, química, medicina, farmácia e as engenharias se revelam fundamentais.

Na atualidade, existe um número significativo de biomateriais metálicos, cerâmicos, poliméricos e compósitos, como opções para utilização nos diversos campos da Odontologia e Medicina. A experiência com biomateriais representa um grande avanço na implantodontia, mas ainda requer estudos aprofundados da sua bioatividade e biocompatibilidade no organismo humano.

O rápido desenvolvimento tecnológico permitiu grandes avanços nessa área, aumentando a eficácia dos implantes dentários, representando um importante papel na reconstrução funcional /estética do paciente. Desta forma, o constante avanço da implantodontia tem dado incentivo à pesquisa de biomateriais para esse fim, bem como das reações que ocorrem na interface tecido-implante.

O Titânio comercialmente puro (Ti c.p.) e suas ligas são os biomateriais mais utilizados para a confecção de implantes odontológicos devido as suas excelentes e reconhecidas características de biocompatibilidade, baixo módulo de elasticidade, alta resistência mecânica e à corrosão quando comparado com outros biomateriais metálicos. (HELSEN JA, 1998, NINOMI M., 2002, LIU X et al, 2004; OH *et al.*, 2003; AZIZ-KERRZO, M. et al., 2001, M. Al-MAYOUF, A. A. 2004).

O principal problema na produção de peças de titânio (Ti) é o alto custo da matéria prima e do seu processamento. O advento de processos alternativos para a fabricação de

produtos de titânio, como a metalurgia do pó, possibilitou a redução do custo de fabricação, através da produção de componentes com formato próximo ao do produto final. Dentre outras características, a metalurgia do pó permite a obtenção de propriedades específicas como a porosidade controlada.

Vale destacar que os implantes porosos de titânio, fabricados via metalurgia do pó, apresentam vantagens como o refinamento da microestrutura, obtida pelo controle do tamanho das partículas do pó, baixa temperatura de processamento e, mínima perda de material. Além disso, o titânio poroso permite o crescimento do osso para dentro dos poros, promovendo melhor fixação do implante, além de possuir módulo de elasticidade mais baixo, quando comparado com o titânio denso (não poroso), e módulo de elasticidade mais próximo do osso do que o titânio denso.

Diversas técnicas de modificação da superfície de implantes cirúrgicos foram desenvolvidas no sentido de otimizar a adesão do tecido ósseo e conseqüentemente a fixação do implante ao osso. Dentre essas, destacam-se os processos de deposição de revestimentos em implantes que aliam características superficiais específicas do revestimento com propriedades estruturais do substrato.

Para aumentar as características de biocompatibilidade e bioatividade do titânio, tem sido recomendado o uso de revestimento de hidroxiapatita (Hap) (HABIBOVIC et al., 2005) que acelera o período de fixação óssea e aumenta a longevidade do implante cirúrgico. Técnicas de revestimento de hidroxiapatita podem ser aplicadas, a exemplo dos processos biomiméticos (ANDRADE et al., 2002), com o uso de soluções que simulam o fluido corpóreo ou cultura de células. Inicialmente proposto por KOKUBO et al (1998), o fluido corpóreo simulado (FCS) é o mais usado entre as soluções, pois mimetiza a porção inorgânica do plasma sanguíneo humano.

Este estudo visa obter melhores resultados das características de biocompatibilidade do substrato de titânio puro microporoso e poroso, fabricado via metalurgia do pó, e do substrato denso por meio de revestimento da superfície com fosfatos de cálcio.

A metodologia estudada envolveu as etapas de processamento de titânio poroso, tratamento químico-térmico da superfície e imersão em uma solução concentrada em íons cálcio e fósforo.

Esta pesquisa pretende contribuir para aumentar o conhecimento neste campo por meio do processamento e caracterização de superfícies com revestimento biocerâmico em substratos de titânio. O sucesso deste sistema poderá resultar na transferência de tecnologia para o setor industrial.

## OBJETIVO

---

A proposta deste projeto foi desenvolver uma metodologia para obtenção de revestimento biocerâmico da superfície de substratos de titânio denso e porosos, fabricado via metalurgia do pó, a fim de otimizar suas características de biocompatibilidade .

Especificamente o objetivo do estudo foi:

- Produzir amostras de titânio poroso com porosidade controlada por meio de técnicas de metalurgia do pó.
- Estudar a deposição do revestimento de um filme fino de fosfatos de cálcio na superfície de substratos de titânio denso e porosos.
- Caracterização dos revestimentos de fosfatos de cálcio.
- Comparar a deposição dos revestimentos em substratos de titânio com graus de rugosidade e porosidade distintos.

### 2.1. Biomateriais

Biomateriais são materiais usados em contato com tecidos vivos no intuito de restaurar ou substituir tecidos ou órgãos danificados, e podem ser considerados como "materiais implantáveis que desempenham suas funções em contato com tecidos vivos, que promovem uma resposta específica e previsível do hospedeiro em determinadas aplicações" (SYKARAS *et al.*, 2000, VALLET-REGÍ, 2010).

Segundo a agência norte-americana que regula drogas e alimentos (Food and Drugs Administration – FDA), um biomaterial para ser considerado biocompatível deve ser isento de produzir qualquer resposta biológica adversa local ou sistêmica, ou seja, o material deve ser não-tóxico, não-carcinogênico, não-antigênico e não-mutagênico. Em aplicações sangüíneas, deve também ser não-trombogênicos. Não deve interferir na cicatrização dos tecidos lesados durante o ato cirúrgico e os tecidos do hospedeiro devem tolerar bem as propriedades biomecânicas dos materiais. Além disso, deve ser fabricável, esterilizável e estável durante a implantação e, quando necessário, para a aplicação.

O termo biomaterial foi definido na Conferência do Instituto Nacional de Desenvolvimento de Consenso em Saúde em 1982, como:

“Qualquer substância (outra que não fármaco) ou combinação de substâncias, sintética ou natural em origem, que possa ser usada por um período de tempo completa ou parcialmente como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo” (WILLIAMS, 1999).

No entanto, diante de um novo paradigma, o termo biomaterial tem sido recentemente definido como: "Um biomaterial é uma substância que foi projetada para assumir uma forma que, isoladamente ou como parte de um sistema complexo, é usada para direcionar, pelo controle das interações com os componentes dos sistemas vivos, o rumo

de qualquer procedimento terapêutico ou de diagnóstico, em medicina humana ou veterinária" (WILLIAMS, 2009).

A principal diferença entre biomateriais e outras classes de materiais é a sua capacidade de permanecer em um ambiente biológico sem danificar o ambiente e sem ser danificado por este. Assim, biomateriais são apenas associados ao domínio dos cuidados de saúde e deve ter uma interface com os tecidos ou componentes teciduais. (DOROZHKIN, 2010).

O desempenho dos biomateriais é controlado por dois grupos de características: aquelas que determinam a compatibilidade do material quando inserido no corpo humano devendo ser capaz de apresentar um desempenho satisfatório manifestado pela resposta apropriada do tecido em uma dada aplicação, e aquelas que controlam a habilidade de um implante executar uma função específica de forma apropriada para o qual foi desenvolvido, ou seja, propriedades físicas e mecânicas que permitem que um biomaterial desempenhe a função planejada. Estas características são denominadas por biocompatibilidade e biofuncionalidade, respectivamente (GIANNOUDIS, 2005) e são consideradas pré-requisitos para qualquer material ser implantado no corpo humano. O conceito de biofuncionalidade é relativamente recente, mas biocompatibilidade é um termo que vem sendo usado há muitos anos e cujo significado tem evoluído paralelamente ao conceito de biomaterial. Um biomaterial além de biocompatível precisa ser biofuncional.

Assim, a biocompatibilidade pode ser definida como o estado de mútua existência entre o biomaterial e o ambiente fisiológico, de tal forma que ambos não produzam efeitos indesejáveis na outra parte.

Os biomateriais empregados podem ser classificados quanto à resposta biológica e composição química.

De acordo com o comportamento biológico no tecido do hospedeiro, os principais tipos são: biotolerante, bioinerte e bioativo. (SYKARAS *et al.*, 2000).

**Biotolerantes** – Os materiais ditos biotolerantes são aqueles que não são rejeitados, mas quando implantados são envolvidos por uma camada de tecido fibroso.

Exemplos: Ouro, Ligas Co-Cr, Aço Inoxidável, Zircônio, Nióbio, Tântalo, Polietileno, Poliamida, Politilmetacrilato, Politetrafluoretileno, Poliuretano.

**Bioinertes** – Os materiais bioinertes são aqueles que permitem um contato íntimo com o osso, conduzindo a osteogênese (formação óssea).

Exemplos: Titânio, Ligas de titânio, Óxido de Alumínio, Óxido de Zircônio, Carbono, Nitreto de Silício.

**Bioativos** – São aqueles materiais que permitem a formação de um novo osso e a troca de íons com o tecido, conduzindo as ligações químicas na interface osso-implante, sem que ocorra o encapsulamento fibroso.

Exemplos: Hidroxiapatita, Tricalcio fosfato, Tetracalcio fosfato, Pirofosfato de cálcio, Fluorapatita, Brushita, Carbono vítreo, Carbono-Silício, Biovidro.

A resposta típica do tecido ósseo com relação aos materiais bioinertes e biotoleráveis é o encapsulamento do implante por uma camada de tecido fibroso, sendo a espessura dessa camada inversamente proporcional à inércia do material. Por outro lado, os materiais bioativos criam ligações químicas fortes com os tecidos ósseos, mas não resistem a altas tensões mecânicas. Neste sentido, pesquisadores tentam combinar a resistência mecânica dos metais como, por exemplo, o titânio e as propriedades biológicas da hidroxiapatita (Hap) através do uso de revestimento. A Hap é considerada uma cerâmica bioativa porque possui a capacidade de ligar-se diretamente ao tecido ósseo sem nenhuma interface com camada de tecidos moles (ROUABI *et al.*, 2006).

Quanto à composição química, os biomateriais podem ser classificados em polímeros, cerâmicos, metálicos ou materiais compósitos (GROSSKINSKY, 2006). A grande diversidade de biomateriais (tabela 2.1) resulta em uma ampla gama de aplicações clínicas que requer do profissional uma criteriosa seleção para uma adequada indicação de uso.

Os materiais bioinertes e bioativos podem ser osteocondutivos, o que significa que podem permitir o crescimento do osso na sua superfície (SYKARAS *et al.*, 2000).

Do ponto de vista clínico, um biomaterial sintético ideal deve ser bioativo e apresentar resistência similar ao tecido cortical ou trabecular que está sendo substituído (GIANNOUDIS, 2005). Além disto, deve possuir características de superfície favoráveis para o depósito de tecido ósseo, ao que chamamos de osteocondutividade (SYKARAS, 2000, FUJIBAYASHI, 2004).

Quando um material bioativo é implantado no organismo, sucessivas reações biofísicas e bioquímicas são desencadeadas na interface implante-tecido resultando na formação de uma ligação, denominada fixação bioativa. O tecido cresce sobre o material desenvolvendo uma união direta, firme e forte com o tecido ósseo verificando-se uma continuidade entre ambos. O mecanismo de ligação, a força e a espessura da zona de ligação variam de material para material. No caso dos implantes ósseos, um material bioativo induz a formação de uma camada de apatita carbonatada biologicamente ativa sobre sua superfície, criando um ambiente compatível com o crescimento ósseo (FÉRNANDES, 1999, FERRAZ, 1999).

Tabela 2.1 - Principais classes de biomateriais e suas aplicações clínicas (adaptado de KAWACHI *et al.*, 2000).

Biomaterial	Vantagens	Desvantagens	Aplicações
<b>Polímeros</b> Polietileno PTFE Poliéster Poliuretano PMMA Silicona	Elasticidade, fácil fabricação, baixa densidade	Baixa resistência mecânica, degradação dependente do tempo	Suturas, artérias, veias; maxilofacial (nariz, orelha, maxilar, mandíbula, dente); cimento, tendão artificial; oftalmologia.
<b>Metais e ligas</b> Aço inoxidável Liga de titânio Liga de cobalto-cromo	Alta força de tensão, alta resistência a desgaste, energia de deformação alta	Baixa biocompatibilidade, corrosão em meio fisiológico, perda das propriedades mecânicas com tecidos conectivos moles, alta densidade	Fixação ortopédica (parafusos, pinos, placas, fios, hastes); implantes dentários
<b>Cerâmicas e vidros</b> Alumina Zircônia Carbono Fosfatos de cálcio Porcelana Vidros bioativos	Boa biocompatibilidade, resistência à corrosão, inércia, alta resistência à compressão	Baixa força de tensão, baixa resistência mecânica, baixa elasticidade, alta densidade	Ossos, juntas, dentes, válvulas, tendões, vasos sanguíneos e traquéias artificiais
<b>Compósitos</b> Fibra de carbono-resina termofixa Fibra de carbono-termoplástico Carbono-carbono Fosfato de cálcio-colágeno	Boa biocompatibilidade, inércia, resistência à corrosão, alta força de tensão	Material de fabricação incompatível	Válvula cardíaca artificial (carbono ou grafite pirolítico), implantes de juntas de joelho (fibra de carbono reforçada com polietileno de alta densidade)

Em estudo *in vitro*, KOKUBO (2006) demonstrou que esta propriedade é atribuída a materiais que têm a habilidade de formar na sua superfície carbonato-hidroxiapatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4\text{CO}_3)_3(\text{OH})$ ), principal componente presente na fase mineral ou inorgânica do osso. Dentre os materiais bioativos estão os fosfatos de cálcio que tem despertado grande interesse e motivo de diversas pesquisas na área. A Hap -  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  - apresenta alta bioatividade, biocompatibilidade e uma grande integração ao tecido ósseo vivo e representa uma fase cristalina dentre os fosfato de cálcio de grande interesse nos estudos de biomineralização por ser o constituinte principal dos tecidos duros (ossos e dentes) (ABE *et al.*, 1990, ALVES, 2010).

Segundo (SYKARAS *et al.*, 2000), a osteocondutividade é um processo pelo qual o material se comporta como um arcabouço onde se dá o crescimento ósseo, sem atuar na neoformação óssea. A osteoindução é um mecanismo que estimula ou promove a formação óssea no local onde é implantado. O titânio bioativo é osteocondutor, mas não osteoindutor (WEI *et al.*, 2002, FUJIBAYASHI *et al.*, 2004).

O mecanismo de osteoindução dos biomateriais não é completamente compreendido, uma vez que não se sabe ao certo se é o biomaterial ou, possivelmente, a interação entre o biomaterial e as proteínas corpóreas o responsável 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).

## **2.2. Biocompatibilidade**

### **2.2.1. Osseointegração**

Em 1969, enquanto estudava a cicatrização em coelhos, Per-Ingvar Bränemark instalou um microscópio com um pequeno suporte de titânio no interior de um dos ossos do animal. Para sua surpresa, quando foi retirar o equipamento percebeu que o titânio havia

se fixado ao osso. Nascia assim a revolucionária técnica que permite a implantação de peças de titânio no corpo humano como base para próteses dentárias e ortopédicas.

O termo “osseointegração” foi definido como sendo uma conexão direta, estrutural e funcional do osso estruturado vivo com a superfície de um implante submetido a uma carga funcional (BRÄNEMARK, 1986). A osseointegração permite uma eficiente transferência de tensões do implante ao osso e implica na ausência de movimento relativo na interface osso/implante, sendo definida nos dias de hoje como uma ligação química e físico-química entre o implante e o osso (GIAVARESI, 2003).

A adesão osso/implante, também conhecida como ”anquilose funcional” (ALBREKTSSON, 1993) pode ser comparada com uma regeneração direta, onde o tecido ósseo é depositado diretamente sobre o tecido de granulação formado na região da fratura, sem a formação de um tecido fibroso ou fibrocartilaginoso intermediário (SCHENK *et al.*, 1998). (Fig.2.1)

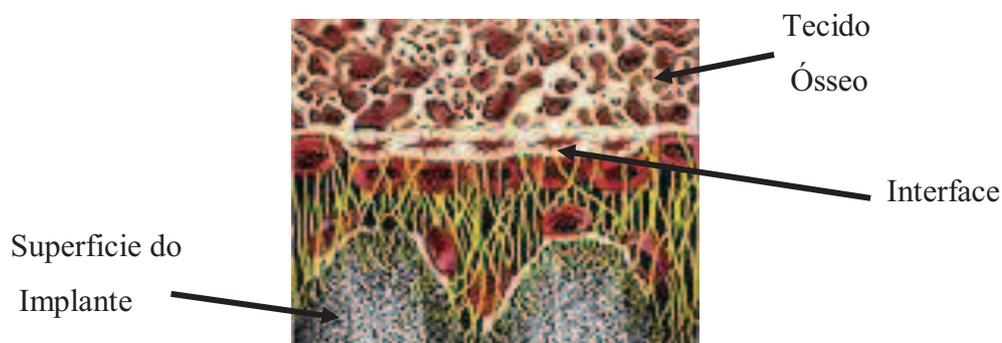


Fig. 2.1 - Esquema ilustrativo da formação do tecido ósseo na superfície do implante (adaptado de DA SILVA, 2006).

As propriedades mecânicas do sistema osso/implante dependem fortemente do fenômeno de interação na interface. Em particular, a rugosidade e a porosidade da superfície do implante apresentam influência significativa no crescimento ósseo (BRACERAS, 2005).

FUJIBAYASHI *et al.* (2004) relataram que os biomateriais podem ser osteoindutores na presença adicional de agentes como as proteínas ósseas morfogenéticas e fatores de crescimento. Estas são características que evidenciam a biocompatibilidade dos biomateriais, pois aumentam a capacidade de adesão e espalhamento das células na sua superfície, com conseqüente melhora na interação do tecido com o material do implante (ANSELME, 2000).

Feita a inserção do implante no leito ósseo, ocorrerão uma série de reações químicas e eventos bioquímicos em paralelo ao processo de reparo do tecido ósseo. A osseointegração requer a formação de um novo osso em volta do implante em que as primeiras fases estão diretamente relacionadas com a adesão e o espalhamento das células. A adesão depende de eventos que ocorrem em curto prazo, como as ligações físico-químicas entre as células e o material (forças iônicas, forças de *Van der Wals*) e, além disto, depende de eventos de longo prazo, envolvendo moléculas biológicas como células e proteínas, entre outras. A qualidade destes eventos irá influenciar a capacidade de proliferação das células em contato com o implante (ANSELME, 2000, JONES, 2001). A figura 2.2 ilustra o processo de cicatrização do tecido ósseo na interface com o implante.

Três estruturas precisam ser consideradas no desenvolvimento da osseointegração: a superfície óssea preexistente, o tecido ósseo neoformado na interface implante-osso e a superfície do implante (SCHENK *et al.*, 1998). A formação óssea ao redor do implante é um processo complexo e ainda pouco compreendido.

Vários fatores, como metabolismo do hospedeiro, características químicas e topográficas da superfície, são importantes na otimização da osseointegração (THELEN *et al.*, 2004). Neste sentido, muitas técnicas têm sido desenvolvidas durante os últimos 30 anos com o objetivo de melhorar a osseointegração de um ponto de vista físico ou químico (COELHO, 2009).

Apesar da extensa literatura sobre a avaliação da superfície do implante na área da osseointegração, a falta de parâmetros padronizados torna difícil avaliar a significância do efeito topográfico e modificações químicas no desempenho do implante (ALBREKTSSON, 2008, COELHO, 2009, WENNERBERG, 2009).

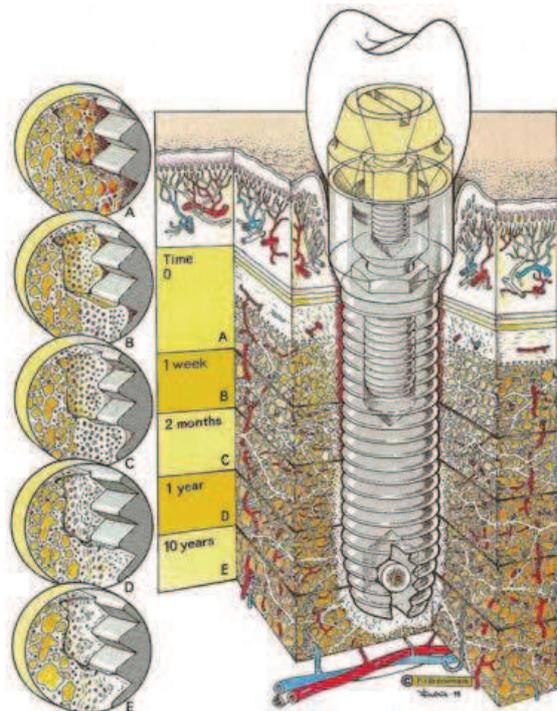


Fig. 2.2 - Processo de evolução fisiológica da cicatrização óssea na região em contato com o implante de acordo com o tempo (adaptado de BRÅNEMARK, 2001).

### 2.2.2. Superfície dos Implantes

Quanto à superfície do implante, sua composição química e microestrutura exercem um papel importante nas reações celulares na interface osso-implante, levando a uma união íntima ou até mesmo à estimulação do crescimento ósseo (DEPORTER, 1986, ELINGSEN, 2000).

No que se refere às configurações superficiais, relacionadas ao “design” e acabamento do implante, é sabido que algumas configurações tanto no caso de implantes ortopédicos quanto dentários (ex. implantes com e sem rosca), podem favorecer a adesão/contato celular. O acabamento superficial do implante também influencia significativamente a adesão celular. No caso de implantes com superfície rugosa, o osso geralmente cresce na direção das pequenas reentrâncias, promovendo uma forte ligação entre o implante e o osso (CHO, 2003). Esse tipo de superfície, além de promover o crescimento do osso dentro das reentrâncias, também permite que as tensões sejam transferidas do implante para o osso (OLIVEIRA, 2002, SEPULVEDA, 2002

BARRABÉS, 2008). Testes “in vivo” (em animais ou seres humanos) mostram que o aumento da rugosidade superficial aumenta a força de adesão, quando comparadas com superfícies menos rugosas (DEPORTER, 2001, DEPORTER, 2002, FROSCHE, 2002).

Os métodos mecânicos para a modificação da superfície dos implantes, como polimento, usinagem, pulverização, jateamento, entre outros, têm como objetivo obter diferentes topografias e rugosidades superficiais, remover a contaminação e melhorar a fixação do material e a resposta osteogênica (LIU X *et al.*, 2004).

As propriedades da superfície influenciam na interação do implante com o sistema biológico, na medida em que a formação do osso é ajustada pelas seguintes características da superfície: composição, energia superficial, microtopografia e rugosidade (NIKLAUS, 2001).

As características da superfície são parâmetros relevantes para avaliar a biocompatibilidade do implante. Nesse sentido vem ocorrendo um avanço nas pesquisas para caracterização superficial de implantes.

No nível celular é sabido que as células e proteínas respondem à microtopografia da superfície influenciando o formato, orientação, adesão e proliferação das células. A fase inicial da interação celular com o material envolve a adesão e o espalhamento das células. O termo adesão está relacionado com eventos que ocorrem em curto prazo, como as ligações físico-químicas entre as células e o material que envolve forças iônicas, forças de *Van der Waals* e eventos que ocorrem a longo prazo, envolvendo moléculas biológicas (como células e proteínas). A qualidade dessa primeira fase irá influenciar a capacidade da célula de proliferar em contato com o implante (NIKLAUS, 2001, ANSELME, 2000).

A figura 2.3 mostra um exemplo de osseointegração completa. O primeiro tecido a entrar em contato com o implante é o sangue, cujo volume envolvendo o implante vai variar em função da geometria do implante e do sítio cirúrgico. O coágulo sofre uma série de eventos biológicos que termina na formação de tecido ósseo ao redor do implante. O implante entra em contato com percentagens variáveis de osso cortical, osso trabecular e medula óssea. Algumas áreas estarão comprimindo o tecido ósseo enquanto

outras estarão em contato com sangue e uma variedade de células. Essa característica aponta para o fato de haver, na verdade, várias interfaces com o implante (MASSUDA *et al.*, 1997).

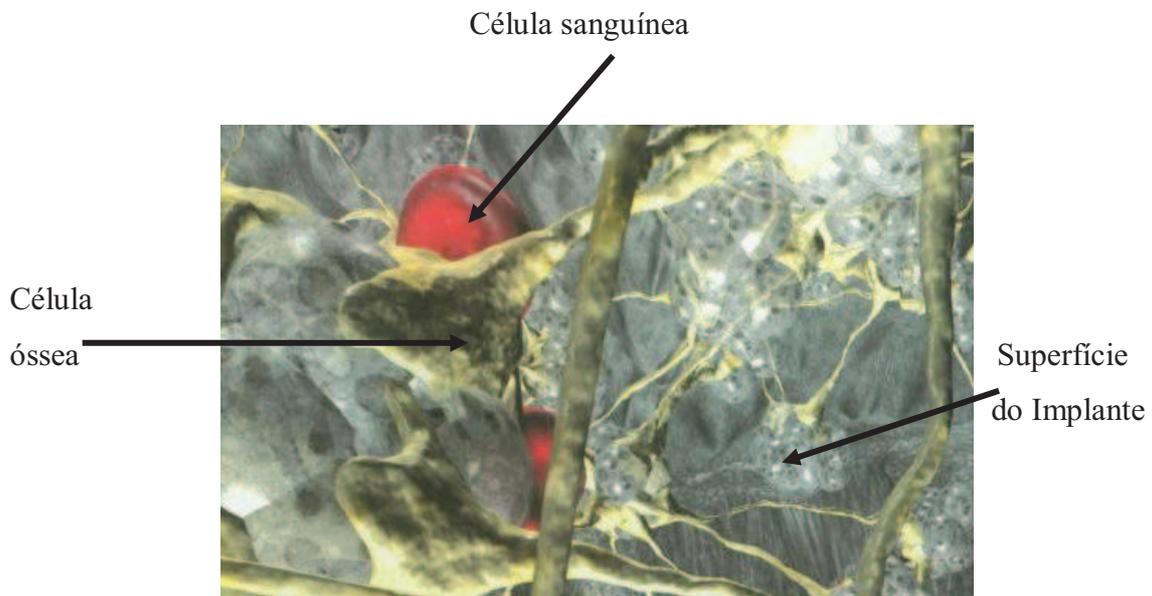


Fig. 2.3 - Exemplo de osseointegração completa em torno de um implante (adaptado BROWNER *et al.*, 2003).

Tanto as características morfológicas da superfície do implante quanto sua composição química influenciará diretamente na adesão do implante. Isso ocorre porque superfícies lisas, curvas ou rugosas geram diferentes áreas de contato com biomoléculas e células produzindo perturbações e tipos de ligações distintas, que por sua vez irão afetar sua função. As diversas técnicas para aumento da rugosidade superficial também podem alterar a composição química da superfície, alterando a estabilidade química e a reatividade da superfície, produzindo diferentes tipos de ligação com as biomoléculas (CHEHROUDI, 1995, NIKLAUS, 2001).

O aumento da rugosidade também pode ser obtido por meio do ataque ácido (KUJALA *et al.*, 2003) ou o tratamento com *plasma spray* (KARABUDA *et al.*, 1999, LUMBIKANONDA *et al.*, 2001). As melhores propriedades, no caso de implantes com superfície rugosa, estão relacionadas com o crescimento ósseo na direção das pequenas reentrâncias, promovendo uma forte ligação e boa resistência da interface osso-implante (JONES, 2001).

Por outro lado, o desenvolvimento de uma microestrutura composta por uma rede tridimensional de poros em toda a sua espessura, vem sendo interesse de uma série de pesquisas (KUJALA *et al.*, 2003, OLIVEIRA *et al.*, 2003). Os poros e suas interconexões tridimensionais proporcionam uma via de acesso para crescimento ósseo, conhecido como *bone ingrowth* (DEPORTER *et al.*, 2001, DEPORTER *et al.* 2002) melhorando o embricamento mecânico, a interdigitação do tecido ósseo com o implante e evitando a sua mobilidade (OLIVEIRA *et al.*, 2002, SEPULVEDA *et al.*, 2002, BARRABÉS *et al.*, 2008). O tempo para a fixação mecânica do implante neste caso é reduzido, assim como o período de imobilização da área reabilitada (KIM *et al.*, 2000, LIANG *et al.*, 2003, RIGO *et al.*, 2004, MACHADO, 2008).

Em estudo realizado em 2005, HABIBOVIC *et al.* constataram que a presença de macroporos parece ser pré-requisito para a osteoindução pelos biomateriais uma vez que macroporos interconectados são importantes para um suprimento eficiente de fluidos corpóreos com nutrientes por todo o implante.

BRÈME *et al.* (1989) e WACK *et al.* (1989), observaram que um método para reduzir a força de cisalhamento e o módulo de elasticidade dos materiais metálicos seria torná-los porosos. Assim, os danos aos tecidos adjacentes ao implante são minimizados promovendo a interligação osso-implante, aumentando a fixação óssea e prolongando sua duração.

A metalurgia do pó é uma das técnicas utilizadas para a produção de implantes porosos e, de acordo com GERMAN (1994), esta técnica apresenta as seguintes vantagens: alta produtividade, fácil automação, baixo custo, bom controle da composição química do material, fabricação de peças com alta pureza, utilização de 100% das matérias primas, homogeneidade estrutural e das propriedades, produção de peças com formas complexas e definitivas sem a necessidade de usinagem posterior, obtenção de porosidade controlada e melhor acabamento superficial das peças (BRAM *et al.*, 2000, LAPTEV *et al.*, 2004 e 2005, OLIVEIRA *et al.*, 2002, OLIVEIRA, 2003).

O processamento dos implantes via metalurgia do pó, realizado em baixas temperaturas, possibilita a redução do número de etapas complementares, o refinamento da

microestrutura e, como conseqüência, a otimização simultânea das propriedades de ductilidade, resistência mecânica e resistência à corrosão.

Diversos estudos mostraram um aumento na fixação do osso ao implante de superfície rugosa ou porosa, em comparação com amostras de superfície lisa (DEPORTER *et al.*, 2001, DEPORTER *et al.*, 2002, FROSCHE *et al.*, 2002).

Os biomateriais com interconectividade promovem uma rápida reconstrução óssea. Os arcabouços com arquitetura tri-dimensional permitem um crescimento ósseo acelerado, devido à rápida penetração das células, nervos e vasos sanguíneos em direção ao interior do material, o que resulta na manutenção da sua função biológica (YUNOKI *et al.*, 2006).

### **2.3. Titânio como Biomaterial**

#### **2.3.1. Estrutura e Propriedade do Titânio e suas Ligas**

O elemento químico titânio (Ti), descoberto na Inglaterra em 1790 pelo reverendo William Justin Gregor, teve seu nome escolhido em 1795, pelo químico alemão Martin Heinrich Klaproth, em homenagem aos Titãs (filhos de Urano e Gaia da Mitologia Grega), os quais são mitologicamente conhecidos como sendo os primeiros filhos da Terra (LIU *et al.*, 2004).

Trata-se de um metal de transição leve do grupo IV e período 4, segundo a tabela periódica dos elementos químicos proposta por Dimitri Mendeleev. Por ser um elemento de transição, o Ti apresenta na sua estrutura eletrônica a camada *d* incompleta, o que lhe possibilita formar soluções sólidas com a maioria dos elementos substitucionais (LIU *et al.*, 2004)

O titânio metálico, do ponto de vista microestrutural, é um elemento alotrópico, ou seja, apresenta-se em duas formas cristalográficas. À temperatura ambiente, o titânio puro não ligado apresenta uma microestrutura cristalográfica hexagonal compacta (HC), também chamado de fase alfa ( $\alpha$ ). Acima de 882,5°C, o Ti modifica sua estrutura

crystalina para cúbica de corpo centrado (CCC) ou fase beta ( $\beta$ ), além da mistura das duas fases ( $\alpha + \beta$ ) (LIU *et al.*, 2004, COLPARET, 2008).

Dessa forma, a fase  $\alpha$  é estável abaixo de 882,5°C, enquanto que acima desta temperatura a fase  $\beta$  é a mais estável. Acima da transição  $\alpha \rightarrow \beta$ , o titânio torna-se mais propenso à oxidação, enquanto na região de  $\beta$ , o crescimento dos grãos causa redução da resistência mecânica. O titânio utilizado em implantes dentários é do tipo  $\alpha$ . A figura 2.4 esquematiza as transformações alotrópicas do titânio puro (DONACHIE, 1988).

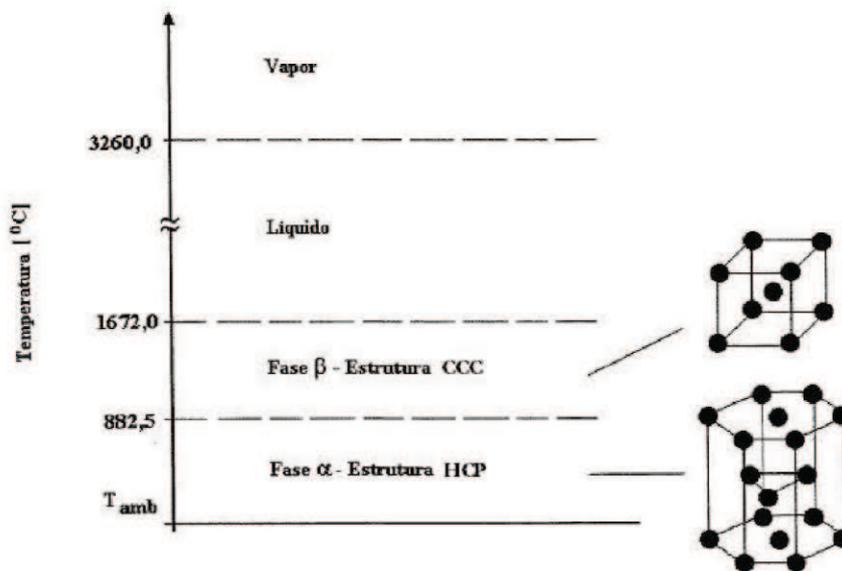


Fig 2.4 - Transformações alotrópicas do Ti-puro, a temperatura ambiente possui estrutura HCP e acima de 882°C possui estrutura CCC (adaptado de DONACHIE, 1988).

O desempenho do Titânio e suas ligas, em aplicações médicas e odontológicas como biomaterial, tem sido avaliado por vários pesquisadores e seu uso para fins de utilização em implantes cirúrgicos é bastante difundido devido às suas notáveis e interessantes propriedades tais como: módulo de elasticidade relativamente baixo, boa resistência à fadiga, boa resistência mecânica, usinabilidade, conformabilidade, elevada resistência à corrosão (na maioria dos meios, incluindo o corpo humano) e biocompatibilidade (LIU *et al.*, 2004, GUÉHENNEC *et al.*, 2006).

As propriedades da superfície de um material são de fundamental relevância para a tendência de a mesma adsorver átomos ou moléculas estranhas. Diferentes superfícies têm diferentes propriedades de adsorção, que estão intimamente relacionadas com aspectos químicos de biocompatibilidade (MEACHIM, 1993). Na tabela 2.2 encontram-se resumidas algumas propriedades físicas do titânio.

O titânio e ligas à base de titânio possuem módulos de elasticidade baixos, da ordem de 55 a 110 GPa quando comparadas com o aço inoxidável (193GPa), porém superior ao módulo de elasticidade do osso que se encontra entre 10 e 40 GPa (LIU *et al.*, 2004). A opção pelo uso de materiais com baixo módulo de elasticidade favorece a redistribuição de carga entre osso e implante. Este fato faz com que os implantes de titânio apresentem vantagens em relação aos metais concorrentes utilizados para a mesma função (RACK, 2006).

Tabela 2.2 - Propriedades físicas do titânio no seu estado não ligado (adaptado de LIU *et al.*, 2004).

PROPRIEDADES	VALORES
Número Atômico	22
Peso Atômico (g/mol)	47,90
Estrutura Cristalina	
Alfa (hexagonal compacta)	
$c$ (Å)	$4,6832 \pm 0,0004$
$a$ (Å)	$2,9504 \pm 0,0004$
Beta (cúbica de corpo centrado)	
$a$ (Å)	$3,28 \pm 0,003$
Densidade ( $\text{g/cm}^3$ )	4,54
Coefficiente de expansão térmica a 20 °C ( $\text{K}^{-1}$ )	$8,4 \times 10^{-6}$
Condutividade térmica ( $\text{W/(mK)}$ )	19,2
Temperatura de fusão (°C)	1668
Temperatura de ebulição (estimada) (°C)	3260
Temperatura de transição de fase (°C)	882,5
Resistividade elétrica	
Elevado grau de pureza ( $\mu\Omega \text{ cm}$ )	42
Pureza comercial ( $\mu\Omega \text{ cm}$ )	55
Módulo de elasticidade, $\alpha$ , (GPa)	105
Tensão de escoamento, $\alpha$ , (MPa)	692
Tensão máxima (tensão de ruptura) , $\alpha$ , (MPa)	785

A produção comercial do titânio é rigidamente controlada pela Sociedade Americana para Análise e Padronização de Materiais (ASTM), que estabelece normas específicas para os graus de contaminação do titânio e para suas ligas, utilizados na fabricação de implantes. A tabela 2.3 apresenta os limites de teor dos elementos nitrogênio, carbono, hidrogênio, ferro, oxigênio e titânio, admitidos para os diferentes graus de classificação do Ti comercialmente puro, Ti c.p. (ASTM F 67-06).

Tabela 2.3 - Concentrações máximas (% em peso) permitidas de impurezas em Ti c.p. para utilização como biomaterial (Norma ASTM F 67-06).

Ti c.p.	Elemento (% máximo de impureza)					
	N	C	H	Fe	O	Ti
Grau 1	0,03	0,08	0,015	0,20	0,18	Balanço
Grau 2	0,03	0,08	0,015	0,30	0,25	Balanço
Grau 3	0,05	0,08	0,015	0,30	0,35	Balanço
Grau 4	0,05	0,08	0,015	0,50	0,40	Balanço

As propriedades mecânicas de resistência à tração, limite de escoamento e alongamento dos quatro tipos de Ti c.p. (NBR ISO 5832-2, ASTM F67-06) classificados na tabela acima, estão descritas na tabela 2.4.

Tabela 2.4 - Propriedades mecânicas dos diferentes graus de Ti c.c. (Normas NBR ISO 5832-2, ASTM F67-06).

GRAU	RESISTÊNCIA À TRAÇÃO <sup>1</sup> mín. (MPa)	LIMITE DE ESCOAMENTO mín. (MPa)	ALONGAMENTO <sup>2</sup> mín. (%)	REDUÇÃO DE ÁREA mín. (%)
1	240	170	20	31
2	345	275	20	41
3	450	380	18	41
4	550	483	18	51

<sup>1</sup> Requisitos de tração, escoamento e dobramento de chapas devem se aplicadas para materiais obtidos longitudinal e transversalmente à direção de laminação.

<sup>2</sup> Comprimento de calibração =  $5,65 \sqrt{S_0}$  ou 50 mm, onde  $S_0$  é a área da seção transversal, em milímetros quadrados.

Inicialmente, a seleção do titânio como elemento metálico para inserção no corpo humano foi impulsionada pela capacidade do material em resistir à corrosão, pois o contato com o sangue e outros fluidos corporais proporcionaria um rápido processo corrosivo em metais ou materiais não adequados. Além dessa característica, o titânio comercialmente puro e as ligas de titânio são frequentemente utilizados em implantes dentários devido à sua excelente resistência mecânica, estabilidade química e biocompatibilidade (LI, 2002).

Biocompatibilidade é a exigência primária para biomateriais e depende de diversas questões, que em última instância afeta o desempenho do dispositivo de implante (SINGH, 2007). A característica de biocompatibilidade associada ao titânio deve-se a uma fina camada de óxido formada espontaneamente após a exposição da superfície ao ar, sob temperaturas ambientes e em contato com fluidos, conhecido como passivação.

Essa reatividade é favorável para dispositivos que serão implantados dentro de um organismo biológico, pois na ausência de movimento interfacial ou condições ambientais adversas, essa condição de passivação minimiza o fenômeno de biocorrosão (CADOSCH, 2010; ZAVERI, 2010), devido à estabilidade química e à estrutura da camada de óxido de titânio formado, a qual é da ordem de alguns nanômetros de espessura (LIU, 2004). A camada de óxido é considerada protetora devido à sua alta resistência a corrosão. A taxa de corrosão diminui com o aumento da espessura da camada.

### **2.3.2. Comportamento do Titânio Frente à Corrosão**

Corrosão é a deterioração de um material como resultado de reações químicas e eletroquímicas com ambiente no qual está inserido (PAITAL, 2009).

A biocorrosão tem sido considerada como um problema para a durabilidade dos implantes em corpos humanos em função da liberação de íons metálicos que podem provocar efeitos fisiológicos adversos tais como toxicidade, carcinogenicidade e alergia ao metal (SAEGEANT, 2006, SINGH, 2007).

Uma alta resistência à corrosão é requerida para os implantes intracorpóreos porque o corpo humano é um ambiente composto de uma solução salina oxigenada que contém proteínas.

O progresso no desenvolvimento de próteses de titânio foi acelerado pela constatação de que outros materiais metálicos, como aços inoxidáveis, apresentavam problemas de corrosão, reabsorção óssea e inflamação.

O titânio é um dos materiais de engenharia mais resistentes à corrosão (WILLIAMS, 1981), devido à sua capacidade de auto-passivação. Essa característica ocorre em função da grande afinidade do titânio com o oxigênio, uma camada de óxido de titânio é formada de forma instantânea (9-10 segundos) e espontânea quando o metal é exposto ao ar e esta camada alcança a espessura de 2nm a 10nm (EINSENBARTH, 2002, LIU, 2004). A resistência à corrosão é devido à presença do filme fino de óxido passivo em sua superfície. Entretanto, em condições anóxicas e ausência de uma fonte de oxigênio, estes metais podem estar sujeitos à corrosão, pois o filme protetor poderá não se regenerar em caso de rompimento (SMITH, 1996).

As propriedades físico-químicas do filme passivo formado controlam o comportamento de corrosão do material, a interação do material com os tecidos e, assim, o grau de biocompatibilidade do material (SHAHRYARI, 2008).

O Ti c.p. geralmente é mais resistente à corrosão do que as ligas de titânio, sendo o material de escolha para meios como fluidos do corpo humano. Porém, em determinadas condições de uso, o Ti c.p. e suas ligas podem estar sujeitos à corrosão localizada devido à presença de sais, como cloretos, presentes nos fluidos do corpo humano (SMITH, 1996).

Como vimos, a propriedade de oxidação da superfície dos implantes de titânio é responsável pelo seu alto grau de biocompatibilidade, interação química e adequada ligação com a matriz extracelular, fatores importantes na dinâmica do processo de osseointegração (SUL *et al.*, 2002). Isso ocorre porque o óxido de titânio está em equilíbrio dinâmico com o tecido ósseo e a ligação desse metal com o tecido é do tipo bioreativa, e não bioativa. Logo, a interface Ti-osso produz uma ligação química,

situando o titânio entre os materiais bioinertes e os bioreativos. Essa bioreatividade faz com que, em contato com soro sanguíneo, o óxido de titânio sofra uma série de reações. Uma oxidação adicional ocorre, envolvendo a difusão de átomos do metal para a interface óxido/biolíquido (KAWAHARA, 1995).

O óxido de titânio é altamente polar, o que causa a adsorção de moléculas de água e de moléculas solúveis em água. A adsorção dessas moléculas causa a criação de um campo elétrico formado por uma diferença de potencial ao longo da espessura do óxido. Esse campo elétrico estimula a oxidação do titânio e à medida que a espessura da camada de óxido aumenta, a diferença de potencial diminui, reduzindo também a força motriz para a sua dissolução. Outros eventos envolvem a difusão de íons minerais ou átomos (Ca, P) do biolíquido para o óxido. Ocorre ainda adsorção e desorção de moléculas, sendo que o grau de desorção é dependente da geometria, rugosidade, e do tipo de molécula envolvida (BROWNE, 1994).

É conhecido que a resposta biológica e o sucesso do implante dependem das propriedades químicas e físicas da superfície. Entretanto, apesar das propriedades mecânicas superiores do titânio e suas ligas e da excelente resistência à corrosão e biocompatibilidade conferidas pelo filme de óxido, estes materiais são bioinertes frente ao tecido ósseo. Assim, torna-se necessária a utilização de métodos de modificação de superfície para melhorar a atividade biológica destes materiais no sentido de torná-los bioativos e favorecer a formação óssea (PAITAL, 2009).

#### **2.4. Implantes com Estrutura Porosa**

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 área reabilitada (KIM *et al.*, 2000; LIANG *et al.*, 2003, RIGO *et al.*, 2004, TAKEOMOTO *et al.* 2005). A morfologia da superfície afeta

a força de ancoragem óssea dos implantes, já que superfícies porosas apresentam uma boa ancoragem mecânica, evitando o uso de parafusos de implantes ou a perda de próteses ortopédicas cimentadas (WILKE *et al.*, 1990).

Segundo HAHN (1985) e MIURA (1985), o comportamento de um implante com revestimento poroso está relacionado com a fração volumétrica e ao 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 40-90%, com tamanho desses poros na faixa de 50-500  $\mu\text{m}$  e a microporosidade na faixa de 1-50  $\mu\text{m}$ .

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. 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, onde o titânio age como um escudo impedindo a transferência de tensões do osso ao implante (“*stress-shielding*”), 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, 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. Nos implantes porosos, o tecido ósseo jovem penetra no arcabouço e promove excelente adesão e função biológica (SHABALOVSKAYA, 2002).

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

osteoidução 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).

HABIBOVIC *et al.* (2005) verificaram que a presença de macroporos parece ser pré-requisito para a osteoidução pelos biomateriais. Macroporos interconectados são importantes para um suprimento eficiente de fluidos corpóreos com nutrientes por todo o implante. Além disso, LI *et al.* (2006), 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 química e mecânica. As figuras 2.5 e 2.6 mostram respectivamente imagens de amostras de titânio poroso de pesquisa da UNESP/FOSJC (POSH, 2008).

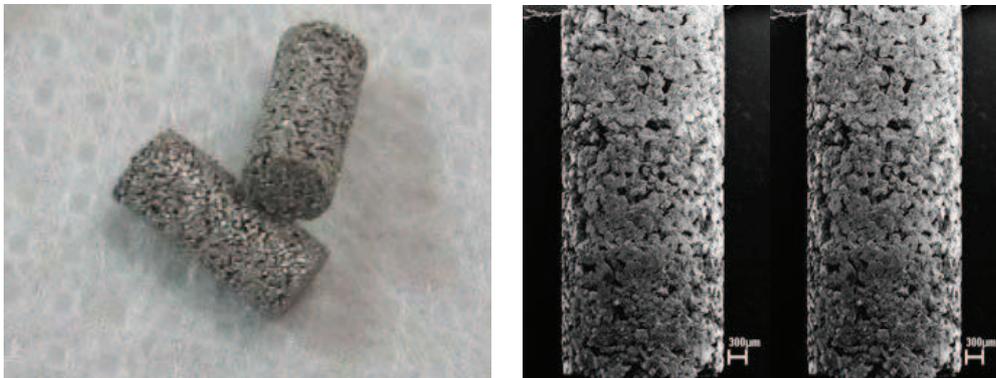


Fig. 2.5 - Imagem de substratos de Ti poroso sem tratamento: (a) com estrutura porosa observada à luz visível; (b) ao microscópio estereoscópio (adaptado de POSH, 2008).



Fig. 2.6 - Titânio poroso: (a) Protótipo de implante dentário poroso (adaptado de NRC-IMI/Quebec); (b) Implante de liga de titânio com superfície porosa (adaptado de Faculty of Dentistry/Toronto University).

## 2.5. Revestimento em Implantes metálicos

A fim de combinar a resistência mecânica dos materiais bioinertes ou biotoleráveis com a bioatividade dos materiais bioativos existe a possibilidade de revestir o material bioinerte ou biotolerável, de boa resistência mecânica, com uma camada bioativa através da deposição de um material bioativo (DHERT, 1992). Neste caso, novamente a principal dificuldade consiste em obter uma boa união da camada bioativa com o substrato.

### 2.5.1. Revestimentos de Fosfatos de Cálcio em Titânio

Com o objetivo de evitar a formação de um tecido fibroso ao redor do implante novas técnicas, para revestimento da superfície, vem sendo desenvolvidas (LIANG *et al.*, 2003, RIBEIRO, 2009). Diversos tipos de cerâmicas, à base de fosfato de cálcio, utilizadas nos últimos 30 anos na Odontologia e Medicina, vêm demonstrando uma união direta ao osso sem a formação de qualquer tecido fibroso. Esta propriedade é dada pela capacidade destes materiais em formar na superfície uma camada de apatita

semelhante ao principal componente presente na fase mineral do osso (KOKUBO, 1991, KOKUBO, 2005).

Uma das mais importantes aplicações da Hap é como revestimento de implantes metálicos, tais como o Ti c.p. e suas ligas. Dentro deste contexto, metais revestidos com fosfatos de cálcio tornaram-se de grande interesse para aplicação em implantes cirúrgicos (DU, 2006). O objetivo do revestimento de fosfato de cálcio nos implantes de titânio é aumentar a bioatividade do metal e a adesão química entre o fosfato de cálcio e substrato de titânio resultando na manutenção do revestimento e adequada fixação do implante. Após a implantação, o material apresenta uma energia de superfície reduzida, onde o osteoblasto pode proliferar e diferenciar para produzir neoformação óssea e colágeno na camada de fosfato de cálcio (FORSEGREN, 2007). O osso circunjacente pode entrar em contato direto com a superfície do implante sem a intervenção do tecido fibroso (KOKUBO, 1999).

Diversas modificações foram propostas e vários pré-tratamentos foram usados desde a primeira composição de FCS criada por Kokubo (KOKUBO *et al.*, 1996) com a finalidade de acelerar o revestimento com Hap sobre implantes de titânio e otimizar o processo para melhorar a bioatividade (FORSEGREN, 2007).

O experimento de STOCH *et al.* (2006) demonstrou que o pré-tratamento de imersão em solução gel de óxido de cálcio e sílica, seguido do tratamento térmico, a 400°C por 30 minutos, ativam a superfície de implantes de titânio para a nucleação e o crescimento de carbonato apatita. A concentração do FCS influenciou na quantidade de fosfato precipitado sobre o titânio e a apatita formada após a imersão no FCS por 20 dias foi biologicamente semelhante à natural, um importante passo para a união direta do implante com o osso. A técnica de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) usada no estudo permitiu verificar a composição molecular e a estrutura dos precipitados de fosfato produzido durante o tratamento do metal.

As técnicas de revestimento do tipo spray-térmico são as mais usadas comercialmente, porém 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

crystalinidade do revestimento (YANG *et al.*,1997). KIM *et al.*(2000) e NISHIGUCHI *et al.*(1999 e 2001) relatam que nesta técnica, no caso de titânio e ligas de titânio porosos, 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 *in vivo*, que 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 osteólise e, conseqüentemente, 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, KOKUBO *et al.* ( 1991 ) pesquisaram e propuseram um método de revestimento para a produção de Hap pela imersão em fluido corpóreo simulado, FCS, conhecido como processo biomimético (YANG *et al.*,1997).

### **2.5.2. Processo Biomimético**

O método biomimético, introduzido por ABE *et al.* em 1990, é uma das técnicas mais promissoras para a produção de fosfato de cálcio sob condições ambientais que imita a mineralização óssea (HABIBOVIC *et al.*, 2002). O processo de deposição biomimética se baseia na precipitação heterogênea sobre substratos de titânio ativados. Consiste na imersão dos implantes metálicos em uma solução (FCS – Fluido corpóreo simulado) com temperatura e pH fisiológicos e composição química semelhante ao plasma sanguíneo. Uma fina camada de fosfato de cálcio pode ser depositada em substratos pré-tratados ou não após imersão em FCS (KOKUBO *et al.*, 1996; NISHIGUCHI *et al.*, 1999; KIM *et al.*, 2000; SCHARNWEBER *et al.*, 2002; CHOSA *et al.*, 2004). Em alguns casos realiza-se tratamentos prévios dos substratos com solução aquosa de NaOH (TANAHASHI *et al.*, 1994) ou HCl (TANAHASHI *et al.*, 1995) para diminuição do período de indução para a nucleação da Hap.

Este tratamento visa obter uma camada de apatita na superfície dos implantes de titânio aumentando a sua osseointegrabilidade e trazendo benefícios para a osseointegração (YAN, 1997).

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; com diferentes fases de fosfato de cálcio, além da possibilidade de incorporação de fatores estimulantes de crescimento ósseo (OHTSUKI C, 2007).

Segundo ANDRADE *et al.* (2000) e KOKUBO *et al.* (2005) métodos biomiméticos de revestimento de hidroxiapatita sobre o titânio baseiam-se na nucleação e crescimento do fosfato de cálcio em FCS a 37° C. Associa-se também os pré-tratamentos químico e térmico da amostra metálica para aumentar significativamente a adesão química da apatita nucleada e crescida na superfície do titânio.

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).

BARRÈRE (1999) descreve que o método biomimético em implantes de Ti6Al4V levou à deposição de uma camada de apatita semelhante ao osso de 15 µm de espessura. De maneira semelhante, RESENDE *et al.* (2008) obtiveram a deposição de uma fina camada de fosfato de cálcio com espessura aproximada de 15µm com apenas 7 dias em FCS, o que pode ser observado em FIB/SEM. ANDRADE (1999) mostrou que através deste método é possível obter revestimentos homogêneos e sem trincas, constituídos de uma mistura de hidroxiapatita e de apatita carbonatada. Uma grande limitação do processo biomimético é o tempo necessário para a obtenção do revestimento que é muito longo, podendo chegar a 21 dias.

Segundo VERCIK (2003), a utilização direta de uma solução de FCS mais concentrada tem uma grande influência na quantidade e na composição dos fosfatos precipitados. FILGUEIRAS (2000) e ANDRADE (2002) avaliam em estudo a precipitação heterogênea fosfatos de cálcio sobre a superfície do titânio usando uma solução simplificada e mais concentrada e constataam a viabilidade desta em acelerar o processo biomimético em substituição às soluções que simulam o fluido do corpo.

BAKER *et al.* (2006) avaliaram o crescimento, caracterização e biocompatibilidade da camada de apatita formada em biomateriais metálicos produzida por meio de imersão em solução química por tempo reduzido. Inicialmente as amostras foram imersas em uma solução de  $\text{Ca(OH)}_2$  para alimentar e favorecer as trocas iônicas durante as imersões. Posteriormente à imersão nessa solução, foi produzido um revestimento de fosfato de cálcio com espessura de 20 - 30  $\mu\text{m}$  e cristais de 1 a 2  $\mu\text{m}$  de diâmetro em 3 dias. Este estudo sugere que a imersão em uma solução química é um método industrial viável e que um simples pré-tratamento pode produzir revestimento de fosfato de cálcio favorecendo as interações biológicas e conduzindo a osseointegração.

O estudo de FORSGREN *et al.* (2007) avaliou a bioatividade do rutilo e o depósito de Hap em amostras de titânio após tratamento térmico e processo biomimético. As amostras de titânio foram submetidas à temperatura de  $800^{\circ}\text{C}$  para a produção de  $\text{TiO}_2$  (rutilo) e depois imersas numa solução salina rica em fosfato por 7 dias. Os autores verificaram que houve o depósito de Hap por meio da difração de raios X. Foi realizado também um teste da força de adesão substrato-revestimento sendo a pressão crítica encontrada de  $2,4 \pm 0,1$  GPa.

O depósito de apatita hidrocarbonatada em substrato de  $\text{Ti6Al4V}$  por meio de eletroforese foi avaliado por GUO *et al.* (2008). Eles utilizaram uma solução rica em fosfato. Um teste *in vitro* revelou aumento da bioatividade após 9 dias de imersão em FCS.

RIGO *et al.* (2004) analisaram o revestimento de apatita sobre implantes de titânio submetidos à solução biomimética com a adição de silicato de sódio. Os implantes foram inseridos em tíbias de coelhos por 8 semanas. Para avaliar a reparação óssea utilizaram uma seqüência de marcadores ósseos (tetraciclina, alizarina e calceína).

Verificaram por meio de microscopia óptica e de fluorescência que os implantes foram integrados principalmente por tecido ósseo, porém um pouco de tecido fibroso foi observado em algumas regiões.

VASUDEV *et al.*(2004) analisaram a evolução *in vivo* de implantes com revestimento de apatita produzido pelo processo biomimético. A caracterização do revestimento foi realizada por meio do MEV, difração de raios X e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). O estudo comparou a reparação óssea de implantes com e sem tratamento, inseridos em fêmur de cães. Os autores avaliaram o crescimento ósseo linear, a área de crescimento e a porcentagem de aposição por meio dos dados histomorfométricos das imagens obtidas pelo MEV e pela análise radiográfica. O experimento demonstrou que sob condições controladas, a apatita do revestimento dos implantes parece ser absorvida em 8 semanas após a implantação, mas estimula a osseointegração e reduz a formação de tecido fibroso.

CHIESA *et al.* (2007) desenvolveram um tratamento biomimético para melhora da osseointegração de implantes de titânio. Os implantes foram inseridos na cabeça do côndilo do fêmur de 12 carneiros. Os testes *in vitro* confirmaram o potencial biomimético e a análise histomorfométrica indicou uma rápida e boa qualidade de osseointegração.

A composição das soluções mais usadas de FCS difere do plasma sanguíneo humano em alta concentração de íons  $\text{Cl}^-$  e baixa de íons  $\text{HCO}_3^-$ . A tabela 2.5 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, utilizada em pesquisa anterior do grupo em teses do PEMM e UNESP/FOSJC (ANDRADE, 1999, MEDEIROS, 2006, MACHADO, 2008). Observa-se a similaridade e o potencial biomimético das soluções FCS e mFCS.

O controle da composição e crescimento do filme de apatita por meio de alterações na composição do FCS, a incorporação de proteínas sem alteração de suas funções e sem a necessidade do tratamento térmico, são outras vantagens desta técnica promissora (OHTSUKI *et al.*, 2007).

Diversas modificações foram propostas e vários pré-tratamentos foram usados desde a primeira composição de FCS criada por KOKUBO (1996), a fim de acelerar o revestimento com Hap sobre implantes de titânio e otimizar o processo para melhorar a bioatividade (FORSGREN, 2007). Alguns estudos têm focado no desenvolvimento de revestimentos bioativos especialmente com Hap, proporcionando assim uma osseointegração mais rápida do osso adjacente ao implante e união química ao novo osso formado (KOKUBO, 1996, NISHIGUCHI, 1999, ANDRADE, 2000, KIM, 2000, WEN, 2001, SCHARNWEBER, 2002, ANDRADE, 2002, CHOSA, 2004, ZAFFE, 2005).

Tabela 2.5 - Concentrações dos íons do plasma sanguíneo humano, FCS e mFCS.

Meio	Íons							
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>+2</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>
Plasma Sanguíneo		3,60		2,10	95,00		0,65	
	142,00	a	1,00	a	a	27,00	a	1,00
		5,50		2,60	107,00		1,45	
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

### 2.5.3. Pré-tratamentos Químicos e Térmicos

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*, a exemplo da hidroxiapatita (Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>).

NISHIGUCHI *et al.* (1999 e 2001) e TAKEMOTO *et al.* (2005) mostraram que implantes de titânio com tratamento alcalino e térmico apresentam ligação direta ao osso com melhor força de adesão e maior ligação óssea. KOKUBO (1998) mostrou que

quando o óxido de titânio é formado, o produto final ( $\text{HTiO}_3^-$ ) da reação do óxido de titânio e solução aquosa reage com a solução de hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ) durante o pré-tratamento e incorpora os íons sódio formando uma camada de titanato de sódio ( $\text{Na}_2\text{TiO}_3$ ). Segundo HA *et al.* (1997), a reação de formação do titanato de sódio é a seguinte:



A figura 2.7 apresenta as mudanças na superfície do titânio quando submetido a tratamento com  $\text{NaOH}$ , com posterior tratamento térmico e imersão em FCS (KOKUBO, 1998).

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 imersos na solução de tratamento químico. Portanto, representam uma técnica superior ao spray-térmico para deposição de Hap no qual o mesmo tende a ser aplicado nas áreas mais superficiais, resultando em um tratamento não uniforme. Em implantes de superfície porosa, 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  $1\mu\text{m}$  da superfície.

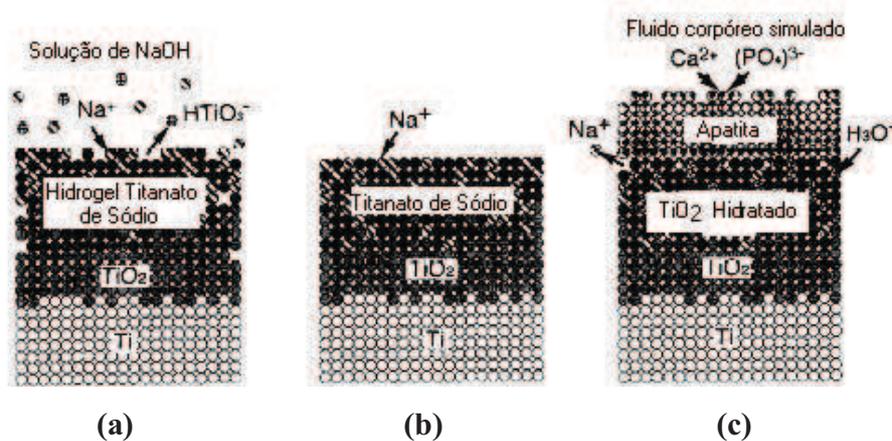


Fig. 2.7 - Mudanças na superfície do titânio submetido à pré-tratamento químico em solução de  $\text{NaOH}$ , tratamento térmico e imersão em FCS: (a) formação da camada hidrogel do titanato de sódio por meio de tratamento com  $\text{NaOH}$ ; (b) representação da formação da camada de titanato de sódio amorfo e/ou cristalino através do tratamento térmico; (c) formação da camada de Hap em FCS (adaptado de KOKUBO, 1998).

#### 2.5.4. Formação de Fosfatos de Cálcio em FCS

A superfície do titânio não é suficientemente bioativa para induzir o crescimento de tecido ósseo e a boa fixação óssea leva normalmente vários meses. Por isso, modificações na superfície melhoram o controle das interações osso-implante e diminuem o tempo para se obter a estabilidade (ONG *et al.*, 1998). A bioatividade do titânio pode ser incrementada por meio de tratamentos químicos e térmicos específicos capazes de favorecer *in vitro* a deposição de fosfatos de cálcio, como a hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$ ), na sua superfície e esta por sua vez poderá se ligar diretamente ao osso quando implantado (WEN *et al.*, 2001, WEI *et al.*, 2002, FUJIBAYASHI *et al.*, 2004, OHTSUKI *et al.*, 2007).

Em metais submetidos ao pré-tratamento alcalino com NaOH, o favorecimento na deposição de fosfatos de cálcio é atribuída ao titanato de sódio amorfo formado sobre o metal durante o tratamento químico e posterior tratamento térmico (YANG *et al.*, 2004). Poros superficiais em escala submicrométrica e superfície revestida com óxido de titânio carregado negativamente são favoráveis à nucleação da Hap (LIANG *et al.*, 2003).

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. Para FUJIBAYASHI *et al.* (2004), 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).

Neste capítulo estão descritos os procedimentos experimentais utilizados na elaboração desta pesquisa. O estudo da deposição do revestimento de fosfato de cálcio foi desenvolvido em três etapas: a primeira etapa consiste no processamento de pós de titânio puro para a obtenção de substratos porosos; em uma segunda etapa são apresentados os procedimentos de tratamento da superfície do Ti e o processo biomimético; e, por último, são descritos os procedimentos adotados na caracterização química e microestrutural das amostras.

### 3.1. Substratos

Para o estudo foram utilizados três tipos de substratos de Ti, conforme tabela 3.1. Os substratos de Ti denso foram adquiridos da empresa *TiBrasil Titânio Ltda*, os substratos de Ti microporoso, com microporos fechados, e os substratos de Ti poroso, com microporos fechados e macroporos interconectados, foram produzidos via metalurgia do pó neste estudo, com base em resultados de pesquisas anteriores do grupo (SILVA, 2001, MEDEIROS, 2006, OLIVEIRA, 2008).

Tabela 3.1 - Classificação dos substratos e suas características.

Substrato	Nomenclatura	Seção	Dimensões (mm)
Chapa Ti Denso	TiD	quadrada	4 x 15 x 15
Ti Microporoso	TiM	quadrada	6 x 15 x 15
Ti Poroso	TiP	cilíndrica	7 x 8

### 3.2. Matéria-prima para os Substratos Microporoso e Poroso

Para a produção dos substratos de TiM e TiP, foi utilizado pó de titânio puro grau 2 (Fig. 3.1a), importado da empresa *Micron Metals, Inc./EUA*, fabricado pelo processo HDH (hidrogenação/dehidrogenação). O pó de bicarbonato de amônia (Fig. 3.1b), BA ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), da empresa *Vetec*, foi utilizado como aditivo orgânico a fim de conferir

maior porosidade aos substratos. Os pós de Ti foram submetidos à análise química no LABAI/INT em pesquisa anterior, cujo resultado mostrou que a sua composição química está de acordo com a norma ASTM B265-09.

O tamanho médio das partículas dos pós de titânio foi estabelecido com base em dados de pesquisa anterior do grupo. Foram definidas as faixas granulométricas para o pó Ti e pó BA, separadas por peneiramento no agitador de peneiras (*Bertel Indústria Metalúrgica LTDA*) (Fig. 3.2). Os pós de Ti e BA foram misturados em frações volumétricas específicas de forma a conferir a porosidade desejada da ordem de 60 a 80%, conforme apresentados na tabela 3.2.



Fig. 3.1 - matéria-prima: (a) pó de BA; (b) pó de Ti.



Fig. 3.2 - Agitador de peneiras (*Bertel Indústria Metalúrgica LTDA*).

Tabela 3.2 - Faixa granulométrica dos pós de Ti e BA e a % em peso utilizado.

Reagentes	Fabricante	Faixa granulométrica		% em peso
		$\mu\text{m}$	ASTM/Mesh	
TiM	Mícron Metals	< 210	< 70	100
TiP	Mícron Metals	125-149	120-100	70
BA	Vetec	355-425	45-40	30

Para o preparo dos substratos microporosos e porosos foi realizado um estudo prévio para definição de uma adequada metodologia, conforme fluxograma da figura 3.3.

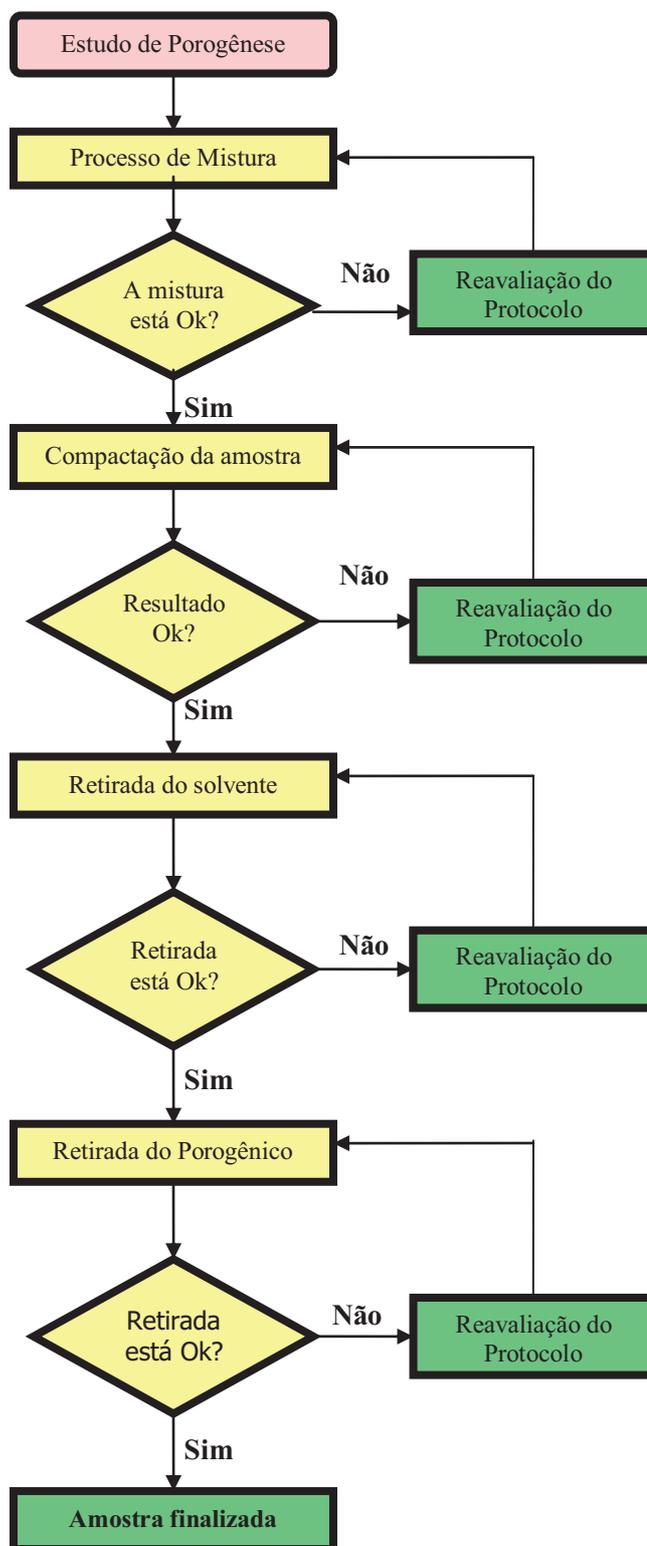


Fig. 3.3 - Fluxograma de tomada de decisão no estudo da metodologia de preparo do substrato poroso.

### 3.2.1. Caracterização da Matéria-prima

Os pós de Ti e BA foram analisados por difração de raios-X (DRX) e por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O pó de BA e o compactado Ti/BA foram também analisados por calorimetria diferencial de varredura (DSC) e degradação térmica (TGA) (Tabela 3.3).

Tabela 3.3 - Análises para caracterização do pó de Ti e BA.

ANÁLISE →	DRX	MEV	DSC/TGA
PÓS ↓	LATEP-INT	PEMM-UFRJ	LAMAP-INT
Ti	X	X	-
BA	X	X	X
Ti/BA compactado	X		X

#### 3.2.1.1. Análise por Difração de Raios-x (DRX)

O pó de titânio puro e o pó de bicarbonato de amônia foram analisados quanto ao grau de cristalinidade e tamanho médio de cristais em um difratômetro de raios-X da marca *Panalytical modelo X'Pert Pro* com tubo cerâmico e filamento de cobre, do Laboratório de Tecnologia de Pós - LATEP/INT, Rio de Janeiro/RJ.

O equipamento de DRX operou com radiação monocromática Cu K $\alpha$  ( $\lambda=1,54 \text{ \AA}$ ) e potência de 40 mA e 40 mK. A varredura  $\theta$ -  $2\theta$  foi executada no intervalo de  $5^\circ$  a  $90^\circ$ , o passo e a velocidade foi de  $0,02\theta/\text{seg}$  e  $1\text{seg}/\text{passo}$ , respectivamente. Para a identificação das fases cristalinas presentes nos espectros de DRX, foram utilizadas as fichas de padrões contidas no JPDS – International Center for Diffraction Data (2000).

### **3.2.1.2. Análise Morfológica (MEV)**

A morfologia do pó de titânio puro e do pó de bicarbonato de amônia foi analisada qualitativamente por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em equipamento *Jeol JSM 6460LV*, acoplado a um sistema de análise de espectrometria por dispersão de energia - EDS, no equipamento *Noran System Six Model 200*, do Laboratório de Microscopia Eletrônica - PEMM/UFRJ, Rio de Janeiro/RJ. Para a obtenção das imagens, foi aplicada uma voltagem de 15kV.

### **3.2.1.3. Análise Térmica por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Análise da Degradação Térmica (TGA)**

As análises térmicas permitem avaliar propriedades de uma substância em função do tempo ou da temperatura. Neste último caso, é feito o aquecimento a uma taxa fixa de variação de temperatura.

Termogravimetria (TGA) é uma técnica na qual a mudança da massa de uma substância é medida em função da temperatura enquanto esta é submetida a uma programação controlada. A DSC é a técnica de análise térmica, na qual se mede o fluxo de calor que ocorre entre a atmosfera e a amostra de referência durante o processo de aquecimento/resfriamento.

O estudo do comportamento térmico do BA objetivou determinar a temperatura de fusão (DSC) e temperatura de degradação (TGA) a fim de estabelecermos parâmetros de temperatura na etapa de retirada do formador de poros.

Para as análises por DSC e TGA do BA foi utilizado o Analisador Térmico simultâneo *SDT-Q600 TA Instruments*, do Laboratório de Catálise - LACAT/INT. O analisador simultâneo realiza, ao mesmo tempo, calorimetria exploratória diferencial (DSC) e análise termogravimétrica (TGA).

Os eventos endotérmicos ou exotérmicos não necessariamente são acompanhados por mudanças na curva de perda de massa, como no caso do material sofrer fusão ou

cristalização ou outras transições físicas. Nas curvas DSC os eventos exotérmicos são registrados como picos no sentido negativo da ordenada (para baixo) e os picos endotérmicos, no sentido positivo (para cima). As curvas TGA (perda de massa, %) e sua derivada DTG (derivada da perda de massa %/°C) são semelhantes às curvas obtidas em analisadores termogravimétricos convencionais. A análise TGA acompanha a variação de massa com a temperatura ou tempo e a análise DTG é a sua derivada primeira.

O pó de BA e o compactado de pós Ti/BA foram analisados para avaliar possíveis reações entre Ti e BA e para tal foi utilizado um porta-amostra padrão de platina (Pt) e os ensaios foram realizados através da análise térmica simultânea de TGA/DSC, onde cerca de 10 mg de amostra foi aquecida da temperatura ambiente até 1000°C, com razão de aquecimento de 20°C/min (norma ASTM D-3418-82), sob fluxo de ar sintético e nitrogênio, 100ml/min. Como a retirada do BA foi realizada em estufa, sem controle de atmosfera, optou-se por analisar termicamente o material também em ar sintético.

### **3.3. Processamento dos Substratos Porosos por Metalurgia do Pó**

Após caracterização dos pós Ti e BA, o método de preparação dos substratos porosos foi estudado e otimizado.

Por meio da técnica de metalurgia do pó foram confeccionados substratos em Ti puro grau 2 em seção quadrada e seção cilíndrica, com porosidade controlada. As etapas de processamento destes substratos foram realizadas no LATEP/INT.

Após o preparo, os compactados TiM e TiP foram cuidadosamente armazenados e levados ao CTA, na Divisão de Materiais do Instituto de Aeronáutica e Espaço - IAE/AMR, São José dos Campos – SP, para o processo de sinterização. Os parâmetros estabelecidos e utilizados neste estudo foram estudados em pesquisa anterior e permitem a completa consolidação do material.

### 3.3.1. Titânio Microporoso

Os substratos TiM utilizados neste estudo foram obtidos por compactação uniaxial do pó de Ti. Para a mistura e compactação dos pós não foi utilizado aditivo orgânico para formação de poros, conferindo ao substrato uma característica microporosa. As etapas de processamento estão descritas detalhadamente a seguir.

#### Etapas de processamento:

- 1) O pó de Ti foi separado pela técnica de peneiramento e obtida granulometria menor que 50 mesh (210  $\mu\text{m}$ );
- 2) Em seguida, o pó foi inserido em uma matriz de aço quadrada de 15,6mm (Fig. 3.4a), com lubrificação de ácido oléico nas paredes da matriz;
- 3) A matriz foi levada a uma prensa hidráulica com capacidade nominal de 100 toneladas na qual foi realizada a compactação dos pós por prensagem uniaxial, com carga de 384 MPa (Fig. 3.4b);
- 4) Após a compactação, os compactados foram removidos da matriz;
- 5) Sinterização dos substratos TiM: esta etapa consiste na consolidação física dos pós para obtenção dos substratos compactados e foi realizada em forno a alto vácuo, *marca Thermal Technology, Inc. - modelo Astro* (Fig. 3.5), sob temperatura de 1200°C por 1h, velocidade de aquecimento de 10°C/min, vácuo de  $10^{-6}$  a  $10^{-7}$  torr e resfriamento lento no forno.

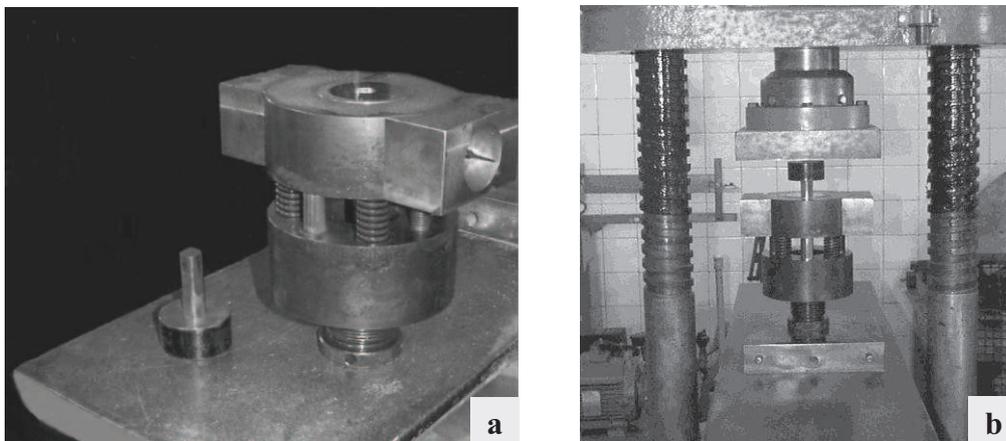


Fig. 3.4 - (a) Matriz uniaxial quadrada e punção; (b) Prensa hidráulica e matriz uniaxial no momento da compressão.



Fig. 3.5 - Forno a vácuo (*Thermal Technology – modelo ASTRO*).

A estrutura microporosa foi obtida a partir da consolidação das partículas durante o processamento. A figura 3.6 ilustra os substratos sinterizados.



Fig. 3.6 - (a) Punção quadrado e substrato obtido por compactação uniaxial; (b) Imagem do substrato TiM, visão superior; (c) Imagem do substrato TiM, visão lateral.

### 3.3.2. Titânio Poroso

Os substratos de titânio poroso foram processados por técnica que consiste basicamente em misturar o agente formador de poros ao pó metálico, compactar a mistura e fazer o tratamento térmico de sinterização.

Os substratos TiP foram produzidos para esta pesquisa pelo método da mistura de pós de Ti com o aditivo orgânico (BA) resultando em um compactado de maior porosidade.

#### Etapas de processamento:

- 1) Mistura manual dos pós: uma proporção de 70% do titânio puro grau 2 com granulometria na faixa de 125-149  $\mu\text{m}$  foi misturada com 30% de aditivo orgânico, Bicarbonato de Amônio (BA), na faixa de 355-425  $\mu\text{m}$ , e à mistura foi adicionado álcool isopropílico como umectante para melhor agregação das partículas;
- 2) Preenchimento de moldes de silicone: os componentes foram misturados e inseridos em moldes flexíveis de silicone cilíndrico, medindo 3cm altura x 1cm de diâmetro, com auxílio de um funil e selados com rolha de silicone (Fig. 3.7a).
- 3) Os moldes foram inseridos em borrachas de látex para segurança em caso de ruptura posteriormente, levados à prensa de compactação isostática a frio (*Asea Brown Boveri, modelo IP 4-22-60 ABB*), do LATEP/INT, e submetidos à compactação em prensa isostática a frio a uma carga de 350MPa (Fig. 3.7b);
- 4) Após a compactação, os compactados foram removidos dos moldes, dispostos em navículas (Fig. 3.8a) e levados ao forno da marca JUNG® (Fig. 3.8b), no LATEP/INT, a 170°C por 2h, com taxa de aquecimento lento de 0,5°C/min., para decomposição e retirada do aditivo orgânico (BA), obtendo-se assim espaços entre os pós de titânio tornando a amostra porosa;
- 5) Sinterização da amostras Ti poroso: esta etapa foi conduzida nos mesmos parâmetros e equipamento (Fig. 3.5) utilizados para o substrato TiM. As figuras 3.9a e 3.9b ilustram o substrato obtido após a sinterização do compactado.

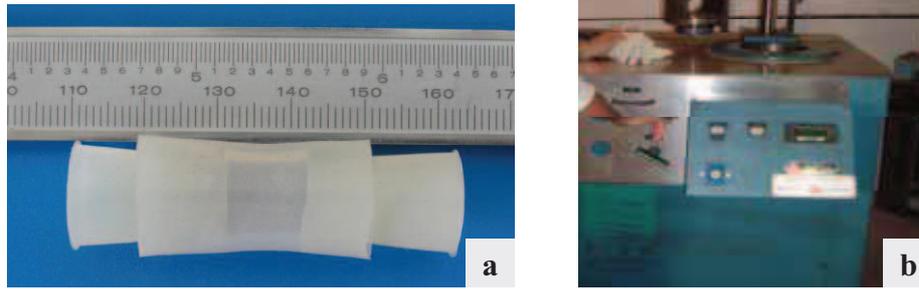


Fig. 3.7 - (a) Molde de silicone com pós de Ti e BA preparado para compactação isostática; (b) prensa isostática utilizada para compactação dos pós.

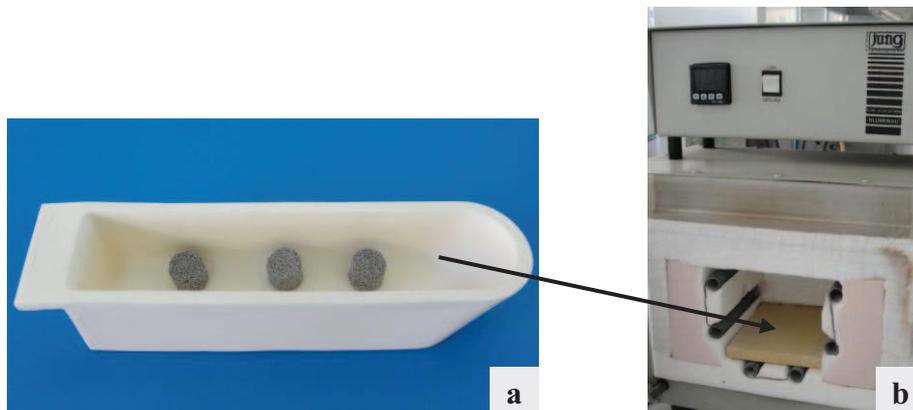


Fig. 3.8 - (a) Compactados TiP dispostos em navículas; (b) Forno para retirada do aditivo BA.

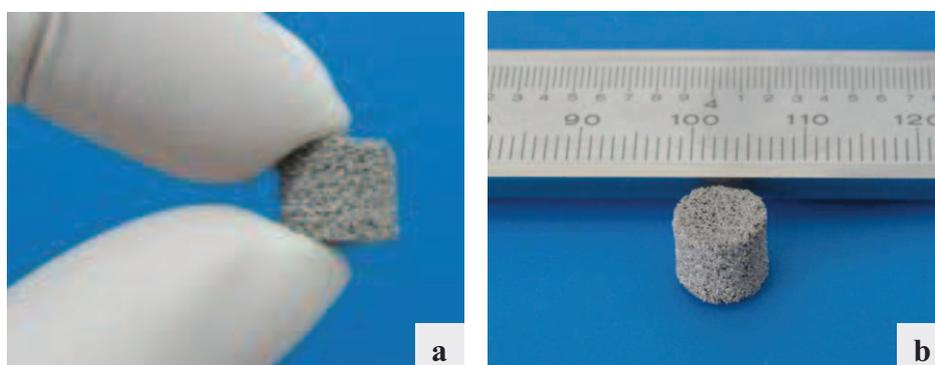


Fig. 3.9 - Obtenção dos substratos porosos: (a) Imagem do substrato TiP, visão superior; (b) Imagem do substrato TiP, visão lateral.

### **3.4. Caracterização dos Substratos**

A porosidade, tamanho dos poros, forma dos poros e homogeneidade dos poros, são parâmetros que influenciam fortemente a resistência mecânica e a funcionalidade biológica.

Após a sinterização, a quantificação dos parâmetros de porosidade foi avaliada pelo método geométrico, técnica não-destrutiva, e processamento de imagens metalográficas. As avaliações, qualitativa da morfologia dos poros, topografia da superfície e rugosidade superficial, foram realizadas por microscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura, laser confocal e microscopia de força atômica, respectivamente.

#### **3.4.1. Determinação da Densidade dos Sólidos**

Os substratos microporosos (TiM) e porosos (TiP) foram medidos utilizando-se um paquímetro digital (Mitutoyo) para a obtenção dos valores de diâmetro e comprimento final médio e para tal foram mensurados em três pontos.

#### **3.4.2. Análise Metalográfica**

Esta etapa foi realizada no PEMM/UFRJ e a análise quantitativa de fases foi realizada com auxílio do programa de análise de imagens IMAGE-PRO PLUS versão 4 (Media Cybernetics).

Inicialmente, os substratos foram embutidos em resina poliéster orto cristal T 208, como no exemplo da figura 3.10, utilizando uma base de silicone como molde e posteriormente preparados de acordo com os métodos usuais de polimento para Ti (COLPAERT, 2008). No caso do substrato TiD, foi realizado um ataque químico para determinar o tamanho de grão.

Após o preparo metalográfico, com base na norma ASTM E407-07, foi realizada análise em microscópio ótico (MO), Olympus - modelo BX60M, para a caracterização

microestrutural. Foram obtidas 16 micrografias de cada substrato com aumento de 100x para o substrato TiD e de 50x para os substratos TiM e TiP. As imagens metalográficas foram digitalizadas e a medida dos tamanhos de grão e da fração volumétrica de poros, foram determinadas utilizando o programa *Image Pro Plus 4.0* (Media Cybernetics Corporation). Analisou-se a fração volumétrica dos poros, para os substratos TiM e TiP e tamanho dos grãos para o substrato TiD.

A densidade dos substratos TiM foi avaliada pelo método geométrico, o cálculo foi realizado a partir da determinação da massa (g) do substrato em balança analítica dividida pela área da seção transversal obtida através do programa Image-Pro (Fig. 3.11).



Fig. 3.10 - Substrato TiP embutido em resina para posterior polimento metalográfico.

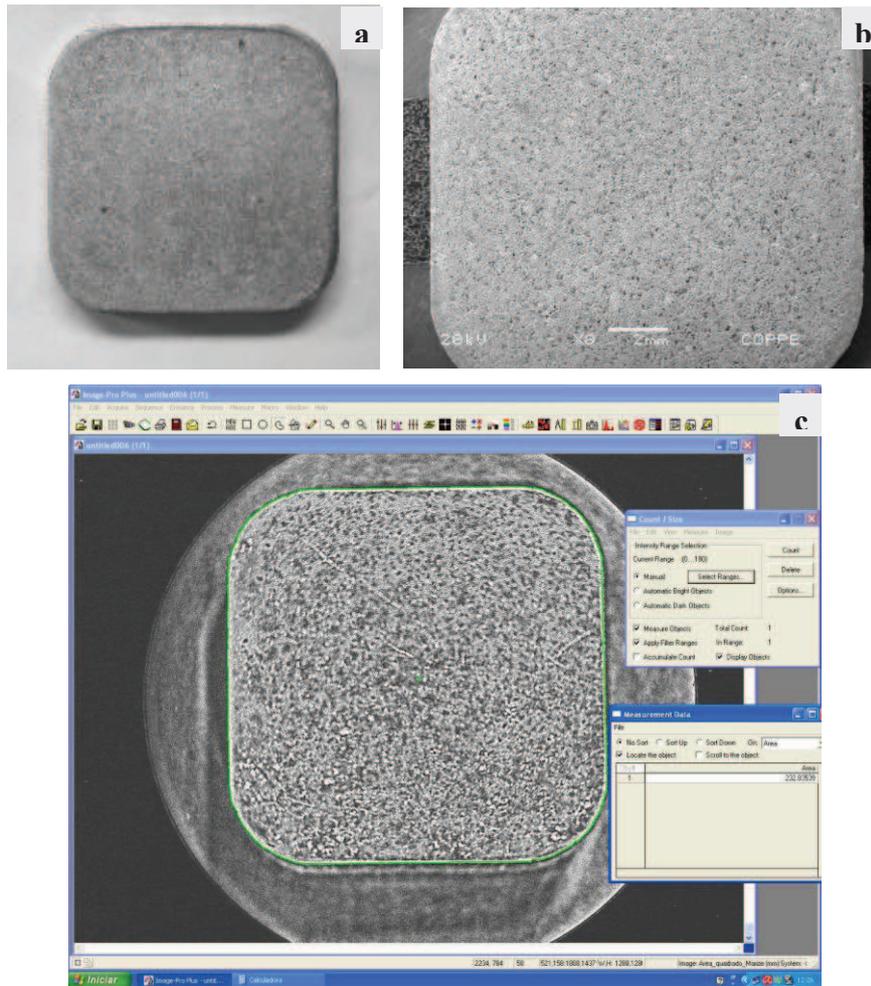


Fig. 3.11 - (a) Macrografia do substrato TiM; (b) Imagem em MEV; (c) Imagem da amostra no programa Image-Pro para obtenção da seção transversal.

### 3.5. Limpeza dos Substratos

Previamente ao procedimento de limpeza, os substratos TiP foram seccionados no sentido transversal (Fig. 3.12) com o objetivo de reduzir sua espessura no intuito de duplicar as amostras além de favorecer a colocação em equipamentos para análise. Os substratos foram seccionados em máquina de corte ISOMET do Laboratório LAMED/INT, com um disco de carbetto de silício (Strues).

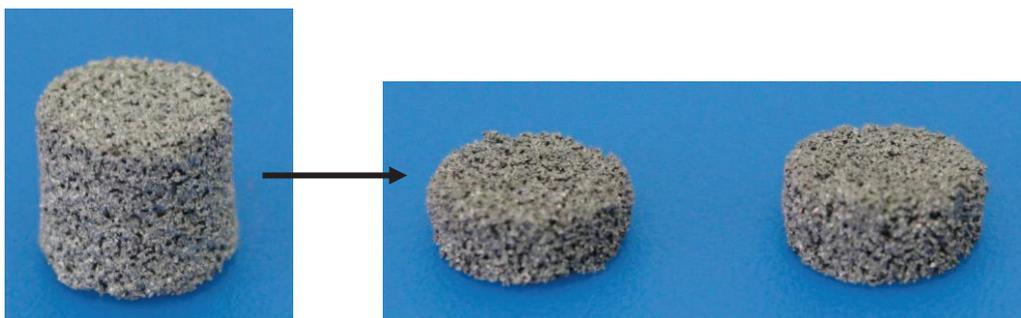


Fig. 3.12 - (a) Substrato Sinterizado; (b) Após corte transversal.

Todos os substratos foram submetidos ao procedimento de limpeza para eliminação das impurezas orgânicas na superfície como desengordurante, conforme descrito na seqüência a seguir:

#### Substrato TiD

- 1°) Banho em detergente por 10 minutos em ultrassom;
- 2°) Banho em acetona por 10 minutos em ultrassom;
- 3°) Banho em etanol 70% por 10 minutos em ultrassom;
- 4°) Banho em água destilada por 10 minutos em ultrassom;
- 4°) Secagem em estufa a 60°C por 1 hora

#### Substratos TiM e TiP

- 1°) Banho em acetona por 10 minutos em ultrassom;
- 2°) Banho em água destilada por 10 minutos em ultrassom;
- 3°) Secagem em estufa a 60°C por 1 hora

Os substratos, produzidos via metalurgia do pó, TiM e TiP, não estão sujeitos aos lubrificantes para processamento termo-mecânico, como os substratos densos, portanto, o procedimento de limpeza é simples. Os substratos TiD, de uma forma geral, possuem em sua superfície uma camada de elementos contaminantes e para sua remoção torna-se necessário um procedimento de decapagem ácida (GENTIL, 1996).

Após o procedimento de limpeza, os substratos de TiD foram submetidos ao procedimento de decapagem ácida. O procedimento descrito a seguir foi definido conforme estabelecido nas Normas ASTM 86-04, ASTM 67-06, ASTM 600-91e ABNT

NBR 14233. Nestas normas, a importância da garantia de uma boa limpeza da superfície do Ti está associada à remoção de todas as impurezas superficiais para dar condições à formação de uma camada de óxidos de titânio com espessura e composição adequada.

### ***Procedimento de Decapagem Ácida do Ti Denso***

O titânio é altamente reativo e possui a capacidade de absorver gases comuns incluindo oxigênio, hidrogênio e nitrogênio, os quais tendem a fragilizar o material. Nos processos de conformação, tais como na laminação a quente, forma-se uma camada na superfície do material (óxidos, nitretos, hidretos) denominada *Alpha Case* (Fig. 3.13) que age como uma proteção parcial contra a absorção adicional de gás. Alguns processos de conformação realizam 2 ou 3 tratamentos termo-mecânicos sobre a superfície do metal. Cada tratamento adicional torna a camada superficial mais resistente e dificulta a decapagem dos compostos. A atmosfera do forno é mantida oxidante para minimizar a chance de reação com o hidrogênio, deste modo promovem a absorção de oxigênio e a formação da *alfa case*. Esta camada varia em espessura de **0,05 a 0,07 mm** na condição de tratamento térmico e de **0,15 a 0,20 mm** na condição de laminação a quente. Esta superfície é frágil e usualmente removida por decapagem ácida ou eletrolítica (DONACHIE Jr, 1988).

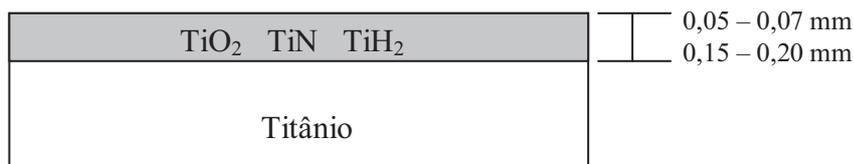


Fig. 3.13 – Esquema Ti / *Alpha Case*.

### **3.6. Deposição do Revestimento**

Esta fase experimental foi desenvolvida no LATEP/INT e a metodologia da pesquisa estabelecida encontra-se descrita na figura 3.14, em forma de fluxograma. Esta etapa do estudo teve por finalidade otimizar as variáveis do processo biomimético de deposição de fosfato de cálcio na superfície do Ti.

Os substratos de Ti após serem submetidos aos tratamentos de superfície passam a ser classificados como amostras, para melhor compreensão das etapas.

Foram realizados testes preliminares utilizando substratos de TiM sem pré-tratamento químico-térmico (TQT) e submetidos ao processo biomimético em solução saturada com íons fosfato e cálcio (SS) por 7, 14 ou 21 dias, no intuito de se avaliar sua efetividade na deposição de fosfatos de cálcio. Tendo em vista que a caracterização realizada mostrou depósitos descontínuos, optou-se por realizar pré-tratamento químico-térmico em todas as amostras submetidas ao processo biomimético.

Cada um dos substratos (TiD, TiM e TiP) apresentou oito (08) condições de superfície descritas como: grupo controle (C); substratos pré-tratados (TQT); substratos com pré-tratamento químico-térmico (TQT) e submetidos ao processo biomimético com solução saturada (SS) por 7, 14 ou 21 dias, totalizando 33 amostras. A tabela 3.4 apresenta a distribuição esquemática das amostras com os respectivos tratamentos ao qual foram submetidos.

Tabela 3.4 – Distribuição dos grupos experimentais.

<b>Substratos</b>	<b>Nomenclatura das amostras</b>	<b>Tempo de Imersão em SS</b>
<b>Ti D</b>	<b>TiD-C</b>	-
	<b>TiD-TQT</b>	-
	<b>TiD-7</b>	<b>7 dias</b>
	<b>TiD-14</b>	<b>14 dias</b>
	<b>TiD-21</b>	<b>21 dias</b>
<b>Ti M</b>	<b>TiM-C</b>	-
	<b>TiM-TQT</b>	-
	<b>TiM-7</b>	<b>7 dias</b>
	<b>TiM-14</b>	<b>14 dias</b>
	<b>TiM-21</b>	<b>21 dias</b>
<b>Ti P</b>	<b>TiP-C</b>	-
	<b>TiP-TQT</b>	-
	<b>TiP-7</b>	<b>7 dias</b>
	<b>TiP-14</b>	<b>14 dias</b>
	<b>TiP-21</b>	<b>21 dias</b>

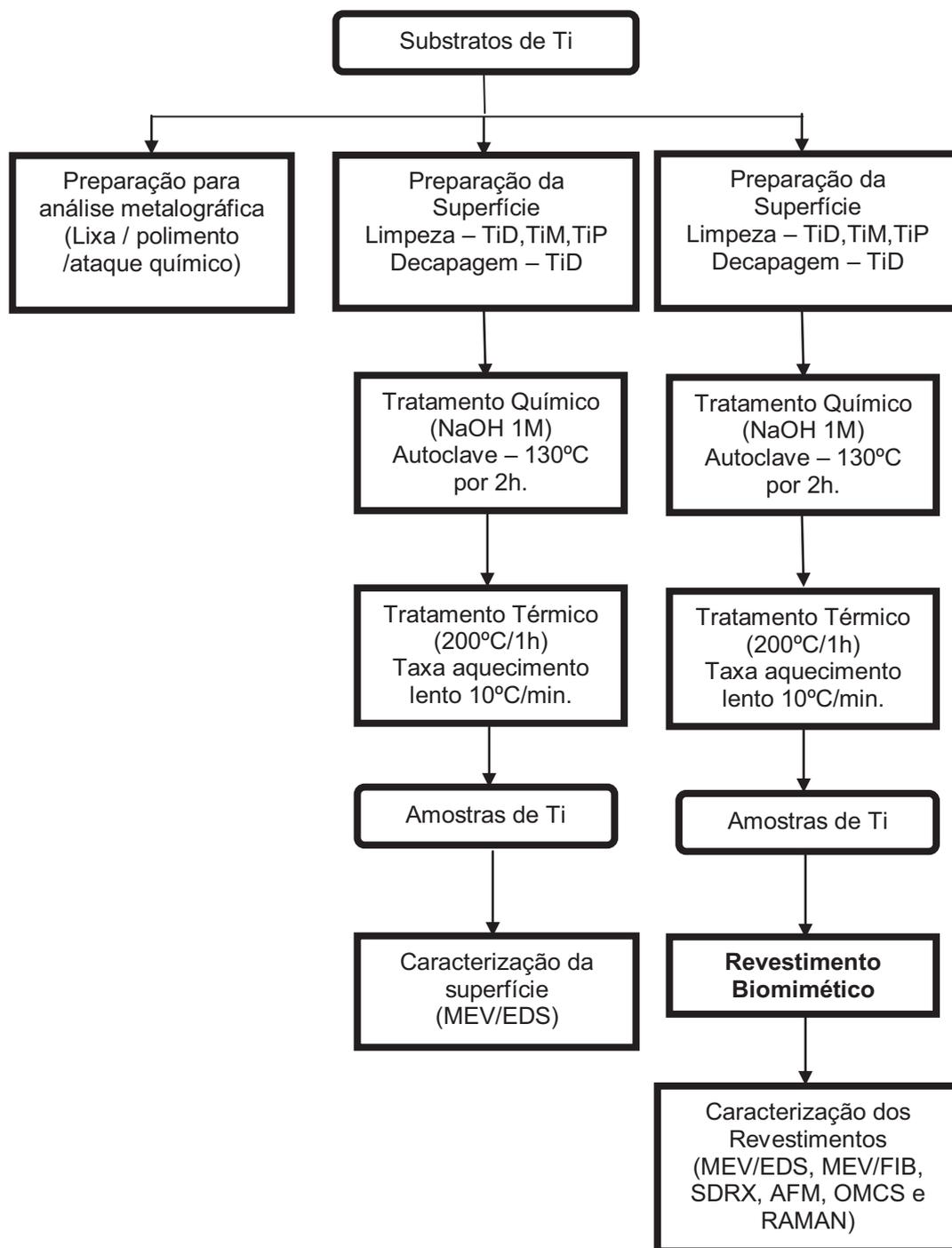


Fig. 3.14 - Fluxograma da metodologia da pesquisa.

### 3.6.1. Tratamentos Químico e Térmico

Os substratos TiD, TiM e TiP (Fig. 3.15) limpos em ultra-som foram colocados em mini-autoclaves (Fig. 3.16) com solução de NaOH 1M e levadas ao forno sob temperatura de 130°C por 2 horas, para o tratamento químico das amostras. Subseqüentemente ao tratamento químico foi realizado tratamento térmico a 200°C durante 1 hora em forno tipo mufla, modelo EDG 3P-S (Fig. 3.17), com taxa de aquecimento (10°C/min).

O tratamento químico com NaOH tem o objetivo de ativar a superfície do titânio, promovendo a formação do composto titanato de sódio, visando melhorar a biocompatibilidade do titânio.

O tratamento térmico tem a finalidade de desidratar e estabilizar a camada de titanato de sódio formada sobre o titânio (KOKUBO, 1998). Após o pré-tratamento térmico as amostras foram deixadas no interior do forno, para o lento resfriamento das mesmas. Os parâmetros do pré-tratamento foram determinados em pesquisa anterior (MEDEIROS, 2006).

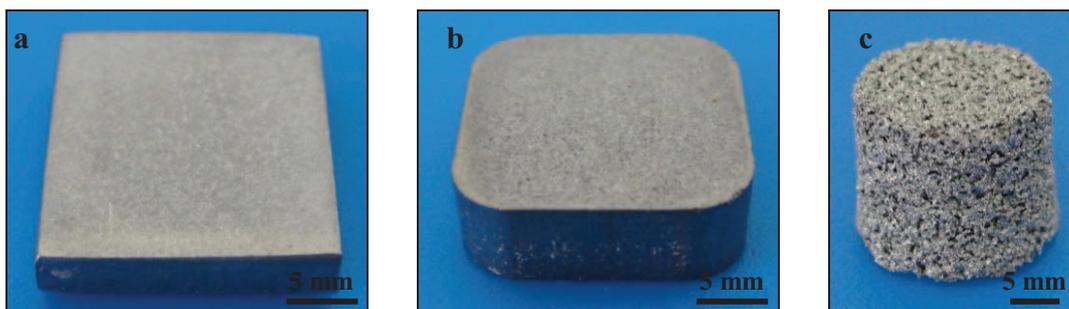


Fig. 3.15 - Substratos de Ti: (a) TiD, (b) TiM e (c) TiP.



Fig. 3.16 - (a) Mini-autoclaves; substratos posicionados no interior das mini-autoclaves para tratamento químico com NaOH: (b) TiD, (c) TiM e (d) TiP.



Fig. 3.17 – Forno, em aquecimento, para tratamento térmico das amostras.

### 3.6.2. Processo Biomimético

#### 3.6.2.1. Preparo da Solução para Revestimento do Fosfato de Cálcio

A solução proposta neste estudo por ANDRADE *et. al.* (2002), intitulada como Solução Simplificada (SS), é uma mistura de sais e foi preparada a partir dos reagentes químicos  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Merck) e  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Merck) com concentração iônica conforme tabela 3.5. A quantidade de cada reagente utilizado para 1 litro de solução SS encontra-se na tabela 3.6.

O material utilizado para o preparo da mistura (SS), foi lavado com solução de  $\text{HNO}_3$  a 25% para a retirada de gordura que possivelmente atrapalhariam a deposição de fosfato de cálcio e enxaguado com água destilada. Posteriormente, o material foi lavado com álcool 70% e seco sobre a bancada na temperatura ambiente.

O programa computacional SimSe (Simulador de Soluções Eletrolíticas), desenvolvido por PLATT e colaboradores (2006), foi usado para confirmar a possibilidade termodinâmica de formação de fosfato de cálcio estável a partir do uso de concentração iônica simplificada de cálcio e fósforo para o preparo da solução.

Tabela 3.5 - Concentração (C) iônica da solução SS.

Ions	$\text{Na}^+$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Cl}^-$	$\text{HPO}_4^{2-}$
C(mM)	2.0	2.5	5.0	1.0

Tabela 3.6 - Reagentes utilizados para o preparo de 1 litro da solução SS.

Reagentes	Quantidade (g/l)
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,37
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,36

A dissolução dos reagentes foi feita em béquer sob agitação moderada. Os sais foram diluídos em água milliQ em quantidade suficiente para solubilizar cada sal em separado, e em seguida a mistura foi homogeneizada e completada até o volume de 100ml.

O pH da solução SS a 37°C foi ajustado para 7, pH próximo ao fisiológico, estabelecido por meio do indicador de pH e o volume ajustado, em balão volumétrico, para 1L com água destilada. Ao realizar a mistura dos sais, ocorreu o turvamento da solução.

Cada amostra foi acondicionada em um frasco plástico (tipo Falcon) com auxílio de uma pinça e a solução de SS vertida em volume compatível a geometria de cada amostra, de forma que todas permaneceram submersas durante o experimento. As amostras foram colocadas em posição tal para que não houvesse favorecimento na precipitação dos sais sobre a superfície (Fig. 3.18). O período de permanência na solução SS foi de 7, 14 e 21 dias em estufa, marca Quimis, a 37°C. A solução foi preparada e renovada a cada 02 dias, fazendo-se o controle do volume necessário à imersão total das amostras e do pH da solução. Após a retirada das amostras da solução, estas foram lavadas com água destilada, secas em temperatura ambiente e colocadas em dessecador com controle de umidade e temperatura, até o momento das análises para caracterização da superfície.



Fig. 3.18 - Substratos dispostos de lado em tubos de Falcon.

### 3.6.2.2. Cálculo do Volume da Solução para Imersão das Amostras

O volume da solução SS adequado para imergir as placas foi determinado mediante a seguinte relação expressa pela Equação 1 (ISO FDIS 23317, 2005), de acordo com a geometria de cada grupo de amostras (Fig. 3.19). De acordo com a norma, para amostra porosa o volume da solução deve ser superior ao calculado.

$$V_s = \frac{S_a}{10} \quad (\text{Eq.1})$$

Onde,

$V_s$  = volume FCS (mm<sup>3</sup>)

$S_a$  = área total da superfície da amostra (mm<sup>2</sup>)

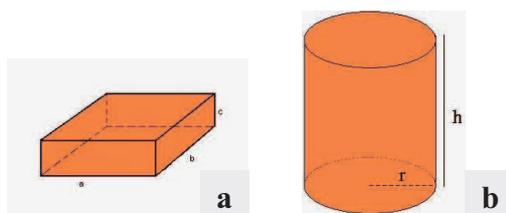


Fig. 3.19 – Representação da geometria para o cálculo da área superficial das amostras: (a) quadrada (TiD e TiM); (b) cilíndrica (TiP).

### 3.7. Caracterização Química e Microestrutural dos Substratos e Amostras

A caracterização dos substratos de Ti foi realizada antes e depois de cada modificação de superfície, a fim de avaliar alterações na morfologia da superfície. Os substratos não modificados foram utilizados como controle, sendo avaliados em cada técnica juntamente como material modificado.

Os substratos foram analisados conforme as técnicas apresentadas a seguir, com vistas a avaliar a composição química, determinação das fases, microestrutura do titânio poroso e do filme de fosfato de cálcio, bem como a uniformidade da deposição do revestimento de fosfato de cálcio.

Por fim, foi realizada a comparação dos resultados das amostras dos diferentes grupos a fim de avaliar a influência do tipo de substrato, dos pré-tratamentos e dos tempos de imersão em solução SS na deposição do fosfato de cálcio.

### **3.7.1. Microscópio Confocal de Varredura Óptica (OMCS)**

O microscópio confocal é um microscópio que emprega uma técnica óptica de imagem para incrementar o contraste e/ou reconstruir imagens tridimensionais utilizando um "pinhole" espacial (colimador de orifício delimitante) para eliminar a luz desfocada. O equipamento é utilizado para aumentar o contraste da imagem microscópica e construir imagens tridimensionais.

A microscopia confocal oferece diversas vantagens sobre microscopia óptica convencional, incluindo a profundidade de campo, correção de brilho e foco e capacidade de coletar uma seqüência de seções ópticas.

Através da construção de uma imagem óptica de uma superfície, o OMCS tem a capacidade de criar mapas topográficos. O mapa topográfico é uma imagem digital, em que cada pixel é atribuído um valor que representa o nível z. Cada pixel pode ser pensado como as coordenadas x-y-z numa superfície 3D. A área de superfície real da amostra pode ser estimada pela construção geométrica da superfície representada por um mapa topográfico. Uma vez que a área de superfície é computada, rugosidade e ondulação da superfície podem ser mensuradas (LANGE *et al.*, 1993).

Para determinar a rugosidade e ondulação de um perfil 2D, é aplicada a filtragem em Transformada Fourier (FTIR) para separar os componentes do perfil de rugosidade. Ao filtrar uma medida do perfil (dados primários, P perfil), um perfil de rugosidade filtrada (R-profile) e uma ondulação filtrada perfil (perfil W) pode ser obtido (CALVIMONTES *et al.*, 2009). Os parâmetros do perfil e rugosidade foram avaliados em dois pontos diferentes de cada tipo de substrato.

Neste trabalho, a topografia das superfícies das amostras de Ti controle (TiD, TiM, TiP) foi avaliada por microscopia confocal de varredura óptica (OMCS), da marca *Alicona Infinite Focus®*, a fim de determinar parâmetros de rugosidade e mapas topográficos.

### 3.7.2. Microscopia de Força Atômica (AFM)

A Microscopia de Força Atômica, ou AFM é uma microscopia de varredura por sonda que foi desenvolvida com o objetivo de estudar a superfície de materiais não-condutores (HADDAD, *et al.*, 2007). O princípio de funcionamento do AFM é baseado na varredura da superfície da amostra por uma ponteira (agulha) de formato piramidal (50nm) ou cônica (10nm), integrada em uma haste flexível (cantilever) de aproximadamente 100-200  $\mu\text{m}$  de comprimento.

A sonda de um AFM exerce sobre a amostra uma força da ordem das forças interatômicas. O cantilever sofre efeito de deflexão por forças de repulsão produzidas a partir da interação entre a agulha e a superfície da amostra, com a sonda podendo afastar-se ou aproximar-se da mesma. As diferenças de deflexão são medidas por um sensor óptico e refletem a topografia da região da amostra que está sendo varrida, transformando os valores em imagens topográficas da superfície bi e tridimensionais.

A técnica de AFM pode ser operada em três modos diferentes: contato, quando a agulha é mantida em contato suave para não danificar a superfície que está sendo analisada (Fig. 3.20a), não-contato, quando a agulha se mantém a alguns poucos nanômetros da superfície da amostra (Fig. 3.20b) e contato intermitente, quando a agulha toca a amostra periodicamente (Fig. 3.20c).

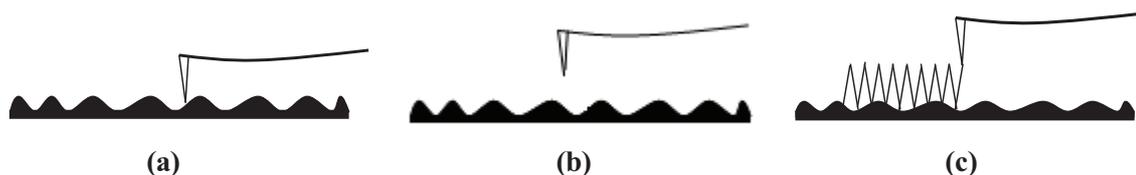


Fig. 3.20 - Esquema representativo da microscopia de força atômica: (a) por modo contato, (b) por modo de não-contato e (c) por modo contato intermitente.

As medidas de AFM realizadas foram feitas em um equipamento AFM, marca *JKP instruments AG*, com o objetivo de determinar a morfologia e rugosidade superficial dos substratos de Ti controle (TiD e TiM) e amostras com revestimento biomimético (TiD-21 e TiM-21). Os substratos TiP não foram analisados uma vez que a ponteira do equipamento não é adequada para amostras com poros de grande tamanho. O modo de operação utilizado foi o não-contato, utilizando agulhas de nitreto de silício – SiN<sub>4</sub> (*MikroMasch™ NSC16*) montadas em uma haste com constante de mola igual a 40 N/m e frequência de ressonância de 170 kHz. As mostras foram fixadas em um suporte de vidro com fita dupla face e as imagens de AFM foram obtidas no ar. A determinação da rugosidade média quadrática (RMS) foi feita com base em imagens de topografia de 10µm x 10µm.

### **3.7.3. Difração de Raios-x por Radiação Luz Síncrotron (SDRX)**

Para a identificação dos elementos constituintes na superfície, as amostras de Ti com e sem revestimento de fosfato de cálcio foram analisadas por difração de raios-X por radiação de luz Síncrotron.

Luz Síncrotron é a intensa radiação eletromagnética produzida por elétrons de alta energia num acelerador de partículas que abrange uma ampla faixa do espectro eletromagnético: Raios-X, Luz Ultravioleta e Infravermelha, além da Luz visível, que sensibiliza o olho humano, são emitidas pela fonte.

Os espectros de SDRX das amostras selecionadas foram obtidos no Laboratório Nacional de Luz Sincontron (LNLS), em Campinas-SP. A identificação das fases cristalinas presentes nos espectros de SDRX foi possível por comparação com espectros das fichas de padrões contidas no JPDS – International Center for Diffraction Data.

As medidas de SDRX em e baixo ângulo (refletividade) foram realizadas em atmosfera e temperatura ambiente com feixe de alta intensidade e energia e fótons de 10 keV, com resolução em Energias de 0.01°.

### **3.7.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectrometria por Dispersão de Energia de Raios X (EDS).**

No microscópio eletrônico de varredura (MEV) a área da amostra a ser analisada é iluminada e varrida por um fino feixe de elétrons.

Quando incide sobre a amostra, esse feixe de elétrons produz uma série de sinais. Os sinais emitidos da interação do feixe de elétrons com a amostra encontram-se sob a forma de elétrons (secundários, retroespalhados, absorvidos, difratados, etc.) e de fótons (fotoluminescentes e raios-x). Os sinais capturados por detectores apropriados, ampliados e processados num sistema analisador específico, serão utilizados para examinar diferentes características da amostra, como: topografia de superfície, cristalografia, composição e etc.

Ao MEV pode ser acoplado o sistema de EDS (Energy Dispersive System), o qual possibilita a determinação da composição qualitativa e semi-quantitativa das amostras, a partir da emissão de raios X característicos.

Neste estudo, a morfologia superficial das amostras de Ti, com e sem revestimento de filme de fosfato de cálcio, foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em um microscópio eletrônico de varredura de alto vácuo da marca *JOEL*, modelo *JSM-6460LV*, pertencente ao Laboratório de Microscopia do Programa de Engenharia de Metalurgia e Materiais, PEMM/UFRJ, Rio de Janeiro-RJ e em microscópio eletrônico de varredura da marca *FEI*, modelo *Inspect S*, com filamento de tungstênio, do Laboratório CENANO/INT. As amostras foram colocadas em suportes apropriados para MEV; as placas de Ti cp que receberam revestimento de fosfato de cálcio foram recobertas por uma fina camada de ouro obtida por pulverização a vácuo (20mA por 20 minutos) em atmosfera de argônio, a fim de tornarem-se condutoras. O microscópio operou com tensão fixada em 15 kV, corrente em 20mA, para a análise micro-estrutural.

A micro-análise química elementar da superfície dos substratos foi realizada por espectrometria por dispersão de energia de raios X (energy dispersive X-Ray spectrometer- EDS), acoplado ao MEV, possibilitando a determinação da composição qualitativa e semi-quantitativa das amostras.

### **3.7.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com a Técnica de Feixe de Íons Focalizado (FIB)**

O microscópio *Nova Nanolab 600* do INMETRO combina um feixe de íons focalizado (FIB) e a alta resolução do microscópio eletrônico de varredura de emissão de campo. O microscópio é também equipado com um sistema de deposição de Pt, *enhanced etching C*, e um micromanipulador de amostras. O FIB usa um feixe de íons de Ga altamente focalizado para varrer a superfície da amostra. Através da utilização de altas correntes, o feixe de íons causa *sputtering* através da amostra, onde seções (*cross-sections*) abaixo da superfície da amostra podem ser preparadas. Ao varrer a superfície da amostra com correntes mais baixas, elétrons secundários (ou íons secundários) podem ser detectados e imagens de varredura podem ser formadas. O feixe de íons pode ser usado amplamente na investigação de materiais, tais como semicondutores, células solares, filmes finos, onde a informação estrutural abaixo da superfície é de extrema importância. O FIB pode realizar *milling* de seções muito finas (~ 100 nm) permitindo a preparação de amostras para a microscopia eletrônica de transmissão (TEM). O *Nova NanoLab 600* é equipado com detectores de STEM (microscopia eletrônica de transmissão por varredura), EBSD (difração de elétrons retroespalhados) e EDS (dispersão em energia). A reconstrução tridimensional da microestrutura também é automatizada via software para a preparação de amostras de TEM. As imagens foram adquiridas com varredura feita com 30 microsegundos.

### **3.7.6. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)**

A espectroscopia no infravermelho baseia-se no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula (chamados, nesse caso, de níveis vibracionais). Tais frequências dependem da forma da superfície de energia potencial da molécula, da geometria molecular, das massas dos átomos e, eventualmente, do acoplamento vibrônico (SILVERSTEIN *et al.*, 1991).

Com essa técnica é possível identificar a composição molecular dos revestimentos obtidos após imersão na solução estudada.

O filme de Hap depositado em substratos de Ti foi também caracterizado por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), em modo de refletância total atenuada (ATR). Os espectros de FTIR foram coletados na faixa de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  usando o um espectrômetro FTIR Shimatzu, modelo *Irpstige-21* acoplado a um microscópio AIM 8800, do Laboratório LABIOMAT do CBPF.

Para análise das bandas foram utilizados dados da literatura (MITCHEL *et al.*, 1996, LI *et al.*, 2002, LEÓN, 2009), relativos a hidroxiapatita (Hap) e ao octacálcio fosfato (OCP).

### **3.7.7. Espectroscopia RAMAN**

A espectroscopia Raman é uma técnica fotônica de alta resolução que proporciona, em poucos segundos, informação química e estrutural de quase qualquer material, composto orgânico ou inorgânico permitindo assim sua identificação.

É uma análise rápida e não-destrutiva, sem a necessidade de contato, muito sensível a qualquer alteração na composição química e resolução espacial do material, podendo ser usada na caracterização da camada de hidroxiapatita formada pelo processo biomimético (GUO *et al.*, 2008).

O princípio da espectroscopia Raman se dá pela transição de uma molécula do seu estado fundamental para um estado vibracional, acompanhada pela absorção de um fóton incidente simultaneamente a uma emissão de um fóton espalhado.

A espectroscopia Raman utiliza um aparelho onde a luz Raman espalhada pode ser coletada por um espectrômetro, no qual a intensidade é mostrada em função de sua mudança de frequência, chamada de deslocamento Raman e medida em comprimento de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ), unidade conveniente para relacionar a mudança de frequência da luz espalhada em relação à frequência de luz incidente (STOCH *et al.*, 2006).

Visto que cada amostra possui seu conjunto vibracional molecular, o espectro Raman consistirá de uma série de picos, cada um deslocado pela sua frequência vibracional característica da ligação química da molécula presente na amostra, fornecendo assim a

sua identificação. Desta forma, a camada de apatita formada após a imersão em FCS pode ser identificada pelo espectro Raman com um pico característico a  $960\text{ cm}^{-1}$  que é devido à ligação fosfato  $\text{PO}_4^{-3}$  da molécula de hidroxiapatita (GU *et al.*, 2005).

### 4.1. Análise Metalográfica

Com base em micrografias correspondentes à análise metalográfica dos substratos, obteve-se o tamanho de grão do substrato TiD e análise quantitativa de poros dos substratos TiP por meio do programa IMAGE-PRO PLUS. Para os substratos TiM, a porosidade foi determinada pelo método geométrico.

#### *Titânio Denso*

O substrato TiD apresenta uma microestrutura característica predominantemente da fase  $\alpha$  a qual possui estrutura cristalina HC, com precipitação da fase  $\beta$ . Isso ocorre porque o tratamento termo-mecânico do material com resfriamento rápido precipita a fase  $\beta$ , com estrutura cristalina CCC. (LIU *et al.*, 2004, COLPAERT, 2008). Na figura 4.1a encontra-se a imagem macroscópica do substrato TiD. A figura 4.1b mostra a micrografia da seção transversal com contornos de grão da fase  $\beta$  não muito bem definidos e a figura 4.1c mostra a seção longitudinal com contornos de grão da fase  $\beta$  com melhor definição. Nas figuras 4.1b e 4.1c observa-se a fase  $\beta$ , em pontos escuros.

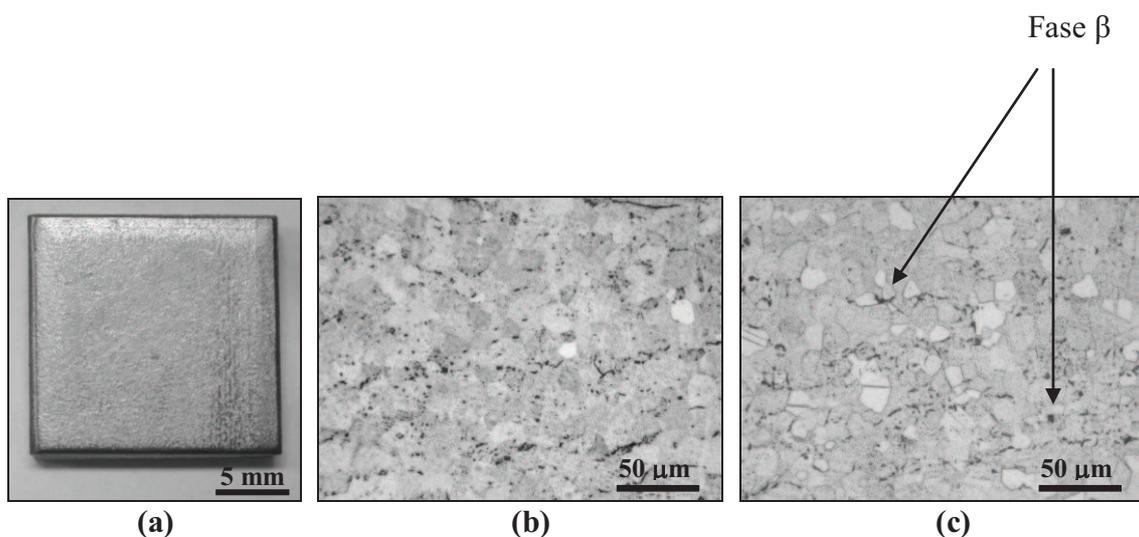


Fig. 4.1 - Substrato TiD: (a) Imagem macroscópica; (b) Micrografia seção transversal; (c) Micrografia da seção longitudinal, fases  $\alpha$  e  $\beta$ .

### *Titânio Microporoso*

A microestrutura do substrato TiM é constituída de microporos, em sua maioria fechados com formatos irregulares e dispersos. Esta microestrutura pode ser observada na figura 4.2b, enquanto que a macroscopia do substrato TiM encontra-se representada na figura 4.2a.

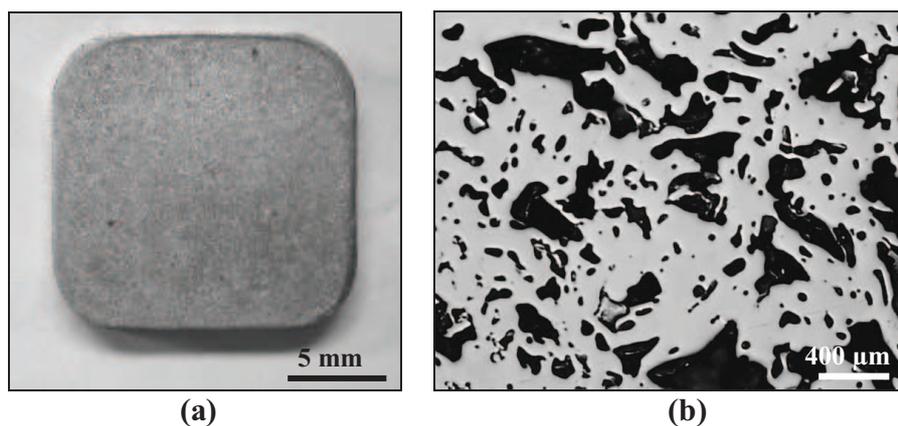


Fig. 4.2 - Substrato TiM: (a) Imagem macroscópica; (b) Micrografia da seção longitudinal.

### *Titânio Poroso*

A análise metalográfica do substrato TiP (Fig. 4.3b) revelou a presença de poros de diferentes formatos e tamanhos variados, sendo observada também a presença de microporos fechados e macroporos interconectos. Os microporos presentes são poros residuais do processo de sinterização e apresentam-se pequenos e isolados, enquanto que os macroporos resultam do processo de eliminação do aditivo BA e encontram-se dispostos apresentando morfologia aberta e interligada. Esta morfologia interconecta dos poros favorece o crescimento de tecido ósseo para o interior dos mesmos e a fixação do osso na superfície do titânio.

A morfologia dos poros, observada no substrato TiP desse trabalho, não mantém uma relação direta com o tamanho e geometria do material gerador de poros (BA). Ao analisar as micrografias, observa-se que os poros não apresentam o mesmo formato do

material gerador de poros, apresentando-se de forma irregular. Na figura 4.3a encontra-se a imagem macroscópica do substrato TiP.

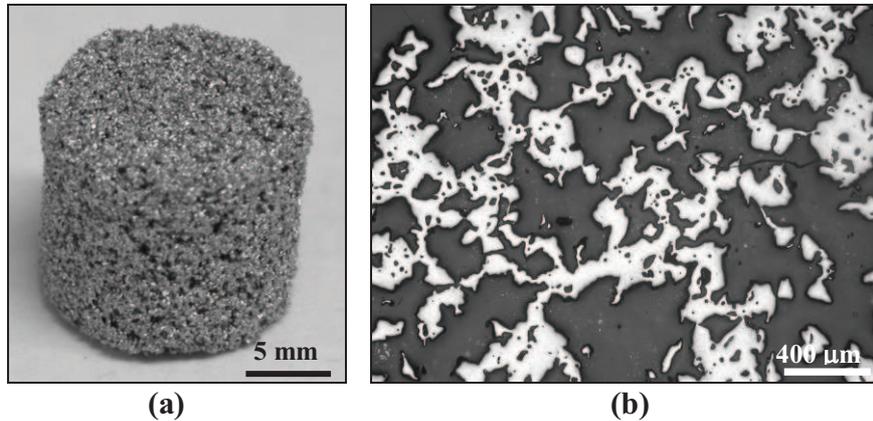


Fig. 4.3 - Substrato TiP: (a) Imagem macroscópica; (b) Micrografia da seção longitudinal.

#### 4.2. Análise do Tamanho de Grão

O tamanho de grão médio do substrato TiD foi medido a partir da identificação dos pontos de interseção, no programa Image Pro-plus, obtendo-se uma média de  $10,09 \mu\text{m}$ .

#### 4.3. Análise Quantitativa da Porosidade

Na análise da porosidade a fração volumétrica encontrada para o TiM, obtida pelo método geométrico, resultou em porosidade da ordem de  $19,56 \pm 6,06 \%$ . Para o substrato TiP, as medidas de porosidade por análise de imagem (Image Pro-plus) e método geométrico resultaram em  $61,38 \pm 0,04 \%$  e  $57,45 \pm 4,67\%$ , respectivamente.

Nos substratos TiP, o nível de porosidade encontra-se na faixa ideal para aplicação em implantes cirúrgicos (40-90%), conforme dados encontrados na literatura (JONES, 2001).

## 4.4. Análise Topográfica do Titânio

### 4.4.1. Microscopia Confocal de Varredura Óptica (OMCS)

Nas figuras 4.4, 4.5 e 4.6 mostram os mapas topográficos em 3D obtidos por OMCS do perfil primário (imagem original) das amostras de TiD, TiM e TiP, comparando a superfície controle submetidas ao tratamento químico-térmico. Nas figuras 4.4a, 4.5a e 4.6a é apresentada a morfologia da superfície das amostras controle e as figuras 4.4b, 4.5b e 4.6b mostram a morfologia das amostras submetidas ao tratamento químico e posterior tratamento térmico. A amostra controle TiD apresenta uma superfície rugosa ausente de poros, a amostra TiM apresenta microporos fechados e dispersos, e a amostra TiP apresenta uma superfície com alta porosidade. A partir da comparação das morfologias da superfície das amostras pode-se constatar os maiores níveis de rugosidade correspondente às amostras tratadas química e termicamente. O perfil da rugosidade foi analisado a partir da quantificação dos parâmetros obtidos e os resultados encontram-se descritos na tabela 4.1. Observa-se que a amostra TiD foi a que apresentou maior diferença nos valores de Ra médio após o tratamento termo-químico. Os parâmetros Ra, Rz e Rt medidos para cada uma das amostras, com e sem TQT, apresentaram diferenças significantes entre si, indicando que o tratamento de superfície resultou em maiores valores de rugosidade superficial.

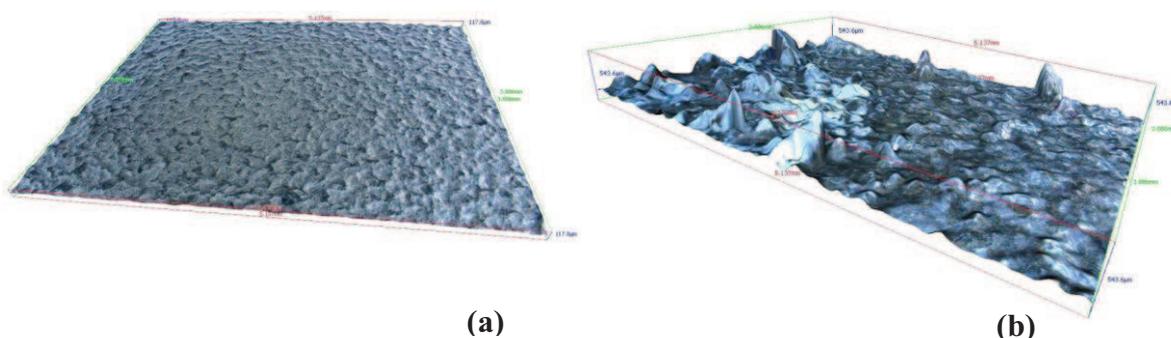


Fig. 4.4 - Imagem em 3D do perfil primário da amostra TiD obtida por OMCS: (a) sem TQT (b) com TQT.

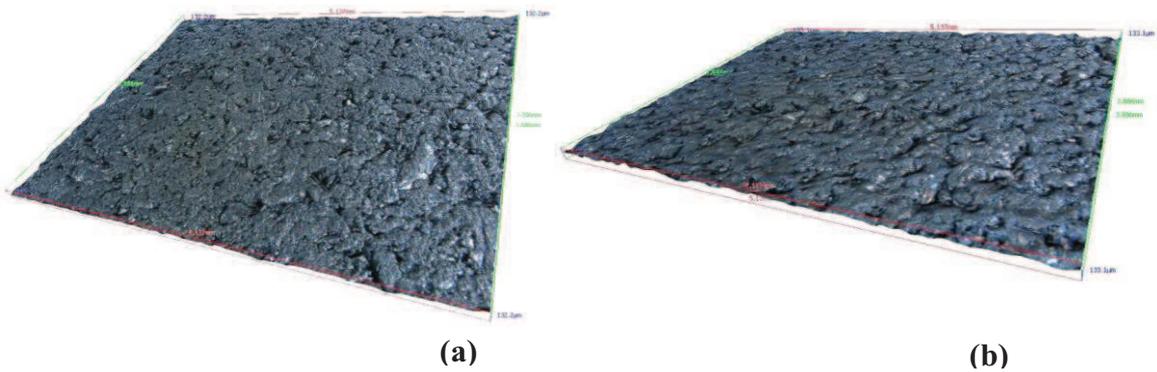


Fig. 4.5 - Imagem em 3D do perfil primário da amostra TiM obtida por OMCS: (a) sem TQT (b) com TQT.

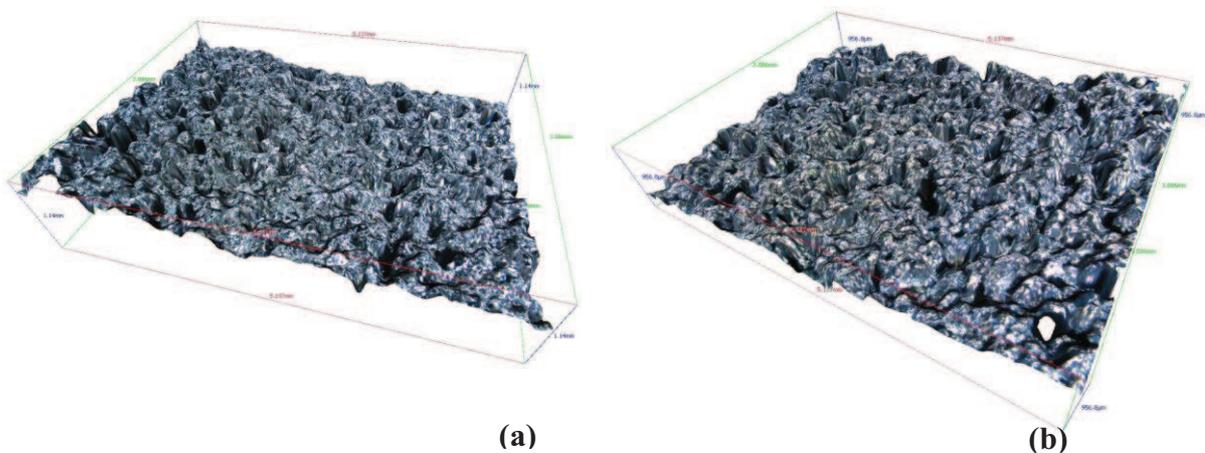


Fig. 4.6 - Imagem em 3D do perfil primário da amostra TiP obtida por OMCS: (a) sem TQT (b) com TQT.

Tabela 4.1- Valores dos parâmetros do perfil de rugosidade.

Parâmetros	TiD		TiM		TiP	
	Sem TQT	Com TQT	Sem TQT	Com TQT	Sem TQT	Com TQT
Ra (µm)	2,80	20,79	6,445	6,86	73,20	86,22
Rt (µ m)	19,28	242,10	59,33	70,88	666,30	714,00
Rz (µm)	17,01	179,40	40,46	57,29	519,10	529,30
Desvio padrão (µm)	3,51	30,43	8,37	9,46	99,74	107,90

**Ra** – Rugosidade média do perfil rugosidade

**Rt** – Altura máxima pico-vale do perfil rugosidade. Rt é a distância vertical entre o ponto mais baixo e mais alto de todo o perfil

**Rz** – Altura média pico-vale do perfil rugosidade

Após a execução do programa, os diagramas e os espectros foram gerados com os dados referentes à rugosidade dos pontos analisados na superfície. Os parâmetros usados para determinar os valores estatísticos são adicionalmente agrupados em classes e exibidos como um histograma (Fig. 4.7, 4.8 e 4.9).

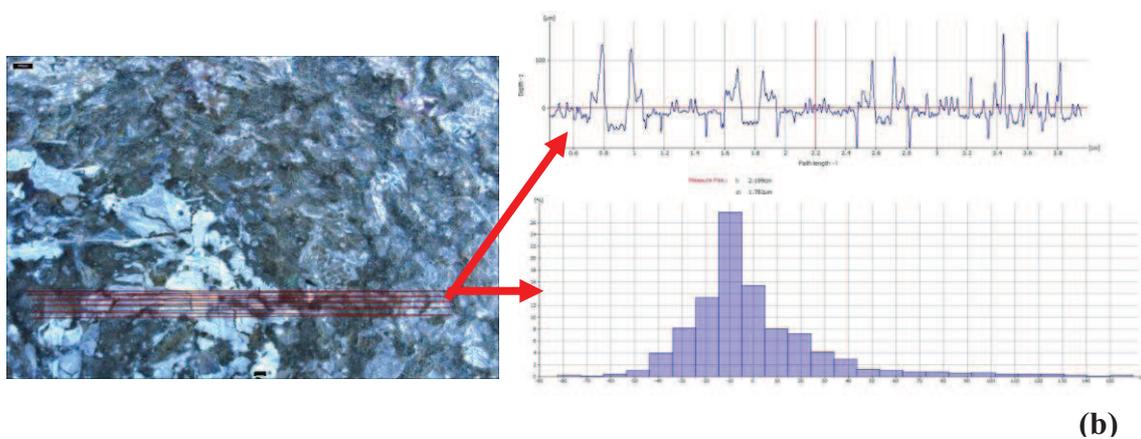
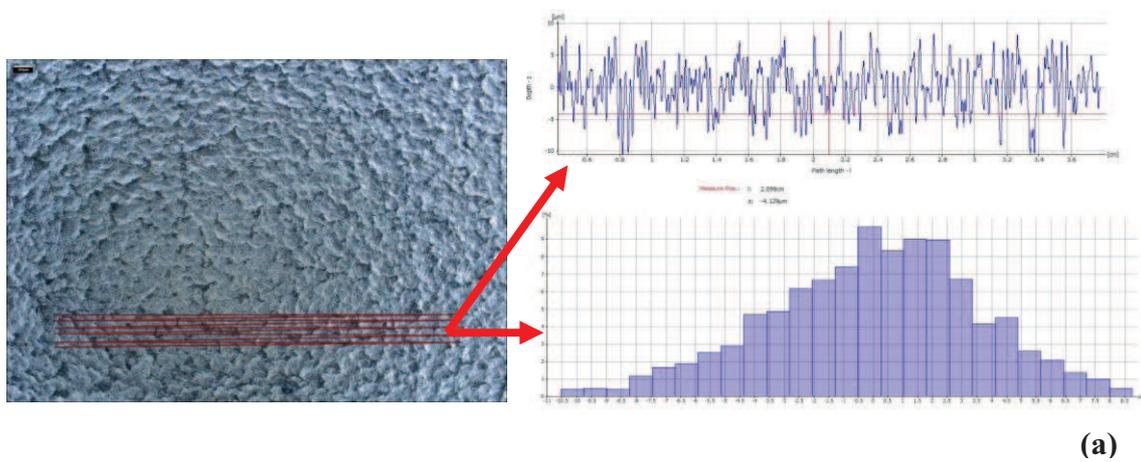
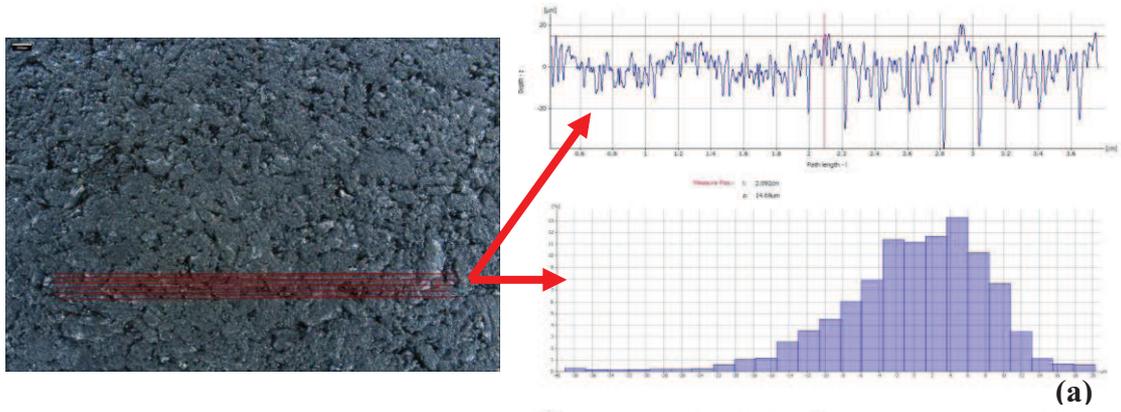
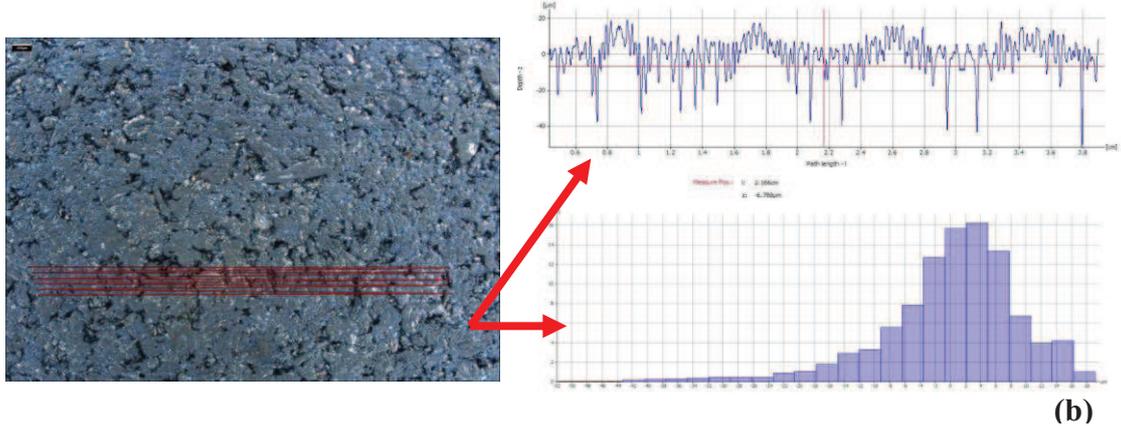


Fig. 4.7 - Espectro do perfil de rugosidade da amostra TiD: (a) sem TQT (b) com TQT.

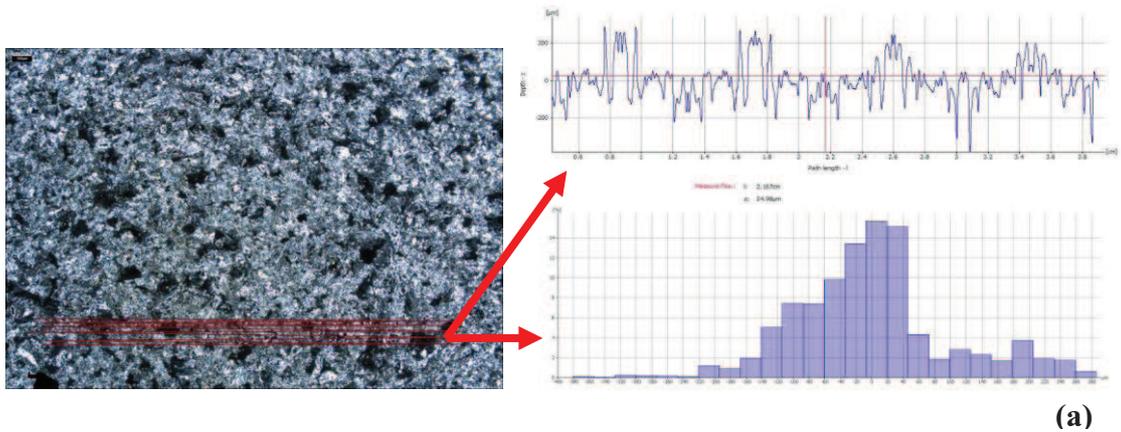


(a)

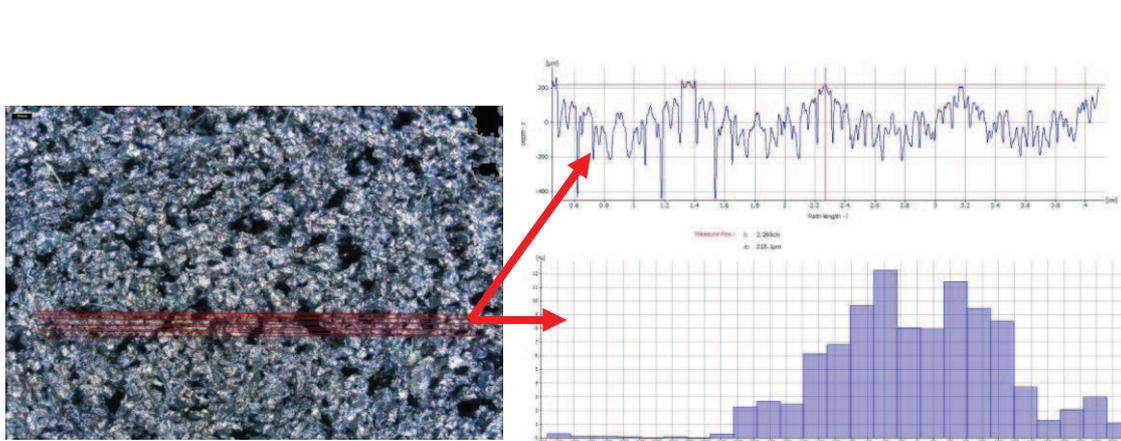


(b)

Fig. 4.8 - Espectro do perfil de rugosidade da amostra TiM: (a) sem TQT (b) com TQT.



(a)



(b)

Fig. 4.9 - espectro do perfil de rugosidade da amostra TiP: (a) sem TQT (b) com TQT.

#### 4.4.2. Microscopia de Força Atômica - AFM

A tabela 4.2 e as Figuras 4.10 a 4.13 apresentam, respectivamente, os valores de rugosidade e imagens 3D e 2D (tamanho 10x10 $\mu\text{m}$ ) dos substratos (TiD, TiM) e amostras com 21 dias de tratamento SS (TiD-21, TiM-21) analisados por microscopia de força atômica (AFM) no modo não contato.

Analisando a imagem AFM TiD-21 (Fig. 4.11) nota-se que a superfície, após o revestimento, apresenta um menor grau de rugosidade, que está de acordo com os valores apresentados na Tabela 4.2. Tal fato pode estar relacionado ao preenchimento dos vales pelo material depositado. Já na amostra TiM-21 (Fig. 4.13), observa-se uma superfície mais irregular de aspecto globular, com relação a amostra TiM (Fig. 4.12). Nesse caso os valores de rugosidade sofrem um aumento considerável após o revestimento (tabela 4.2).

Tabela 4.2 – Parâmetros de rugosidade obtidos por AFM.

Parâmetros	TiD	TiD-21	TiM	TiM-21
Ra (nm)	133,40	87,70	15,76	200,20
Rt (nm)	1,031	1,09	207,00	2,40

**Ra** – Rugosidade média

**Rt** – Rugosidade total

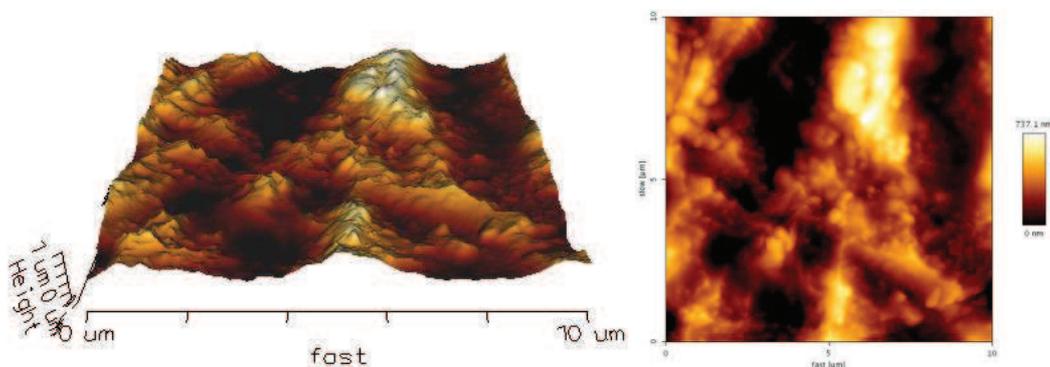


Fig. 4.10 - Imagens AFM do substrato TiD.

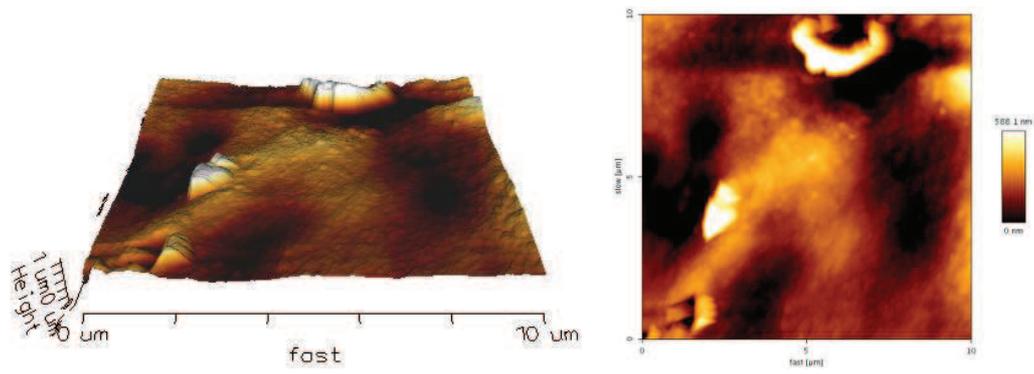


Fig. 4.11 - Imagens AFM da amostra TiD-21.

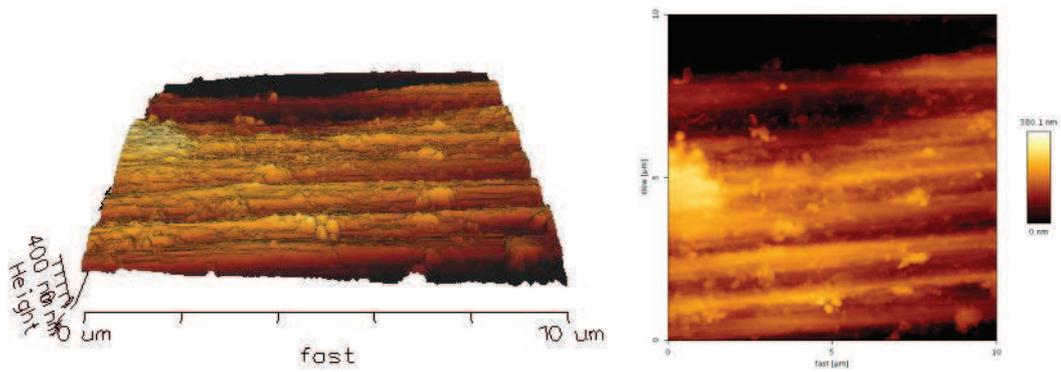


Fig. 4.12 - Imagens AFM do substrato TiM.

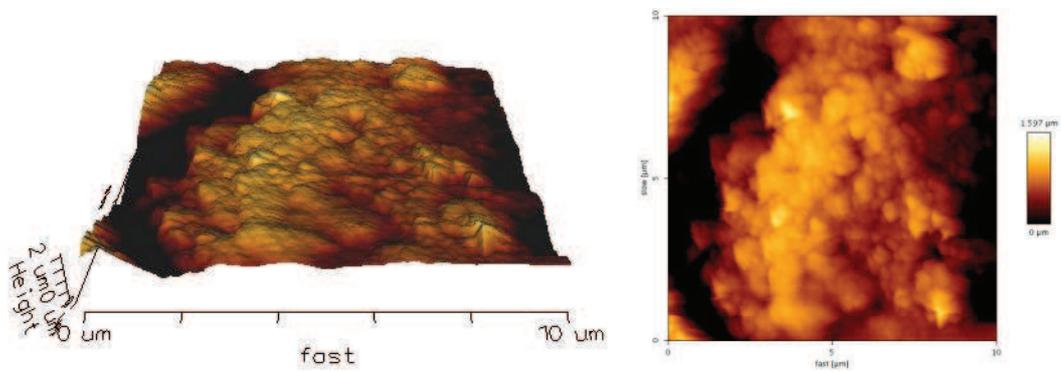


Fig. 4.13 - Imagens AFM da amostra TiM-21.

#### 4.5. Difração de Raios-x por Radiação Luz Síncrotron (SDRX)

Os resultados da caracterização estrutural dos filmes de fosfato de cálcio e do seu processo de cristalização foram obtidos das análises de medidas de Difração por Radiação de Luz Síncrotron (SDRX) na linha XRD2 do LNLS, em Campinas. Não foi possível, entretanto, obter os difratogramas de raios X dos filmes depositados nas amostras desta pesquisa em equipamento convencional em função da espessura muito fina dos mesmos.

A escolha da energia do feixe e a alta taxa de fótons de raios X da linha XRD2 propiciaram uma melhor definição dos picos de difração dos fosfatos de cálcio e da linha de base dos difratogramas.

A figura 4.14 mostra os difratogramas de raios-X das amostras de titânio denso, TiD-7, TiD-14 e TiD-21. Os espectros são típicos de titânio  $\alpha$ , nas proporções de intensidade da carta padrão e que com 14 dias pode-se observar outra fase presente na superfície. Esta camada de revestimento é melhor visualizada quando se amplia a escala (Fig. 4.15 e 4.16), onde pode-se observar pequenos picos de outra fase com somente sete dias de exposição em solução com íons cálcio e fósforo. Nas figuras 4.15b e 4.16b (amostra TiD-14) observa-se que para essas amostras os difratogramas apresentam picos intensos de outra fase, o que possibilita considerar a existência de fosfato de cálcio, particularmente de hidroxiapatita que é o fosfato de cálcio mais estável termodinamicamente.

Os picos mais intensos da hidroxiapatita estão em  $2\theta$  igual a  $31,77^\circ$ ;  $32,20^\circ$  e  $32,90^\circ$  formando um trio de picos bem próximos, onde o primeiro apresenta-se com maior intensidade e dois seguintes com intensidades similares. Outro pico característico da hidroxiapatita é o em  $2\theta$  igual a  $25,88^\circ$ , mostrado na figura 4.14b (amostra TiD-14), embora os picos não estejam muito bem definidos, indicando a existência de hidroxiapatita não muito cristalina.

O pico próximo a  $2\theta$  igual a  $25,88^\circ$  apresenta menor intensidade, pode não ser detectado se o fosfato de cálcio não estiver bem cristalino ou se a espessura do revestimento for menor, como pode ser visto na figura 4.14c (amostra TiD-21). O maior tempo de

exposição em solução simplificada de íons cálcio e fósforo não possibilitou uma maior intensidade do revestimento de fosfato de cálcio, isto pode ser devido à detecção de parte amorfa do revestimento.

Nos revestimentos biomiméticos pode ocorrer a formação de fosfatos de cálcio amorfo inicialmente, e mesmo depois que se inicia a cristalização do mesmo. Assim, pode-se não detectar fosfato de cálcio na difração de raios-X por estar na parte do revestimento que está amorfo e com isso não ser possível uma boa definição dos picos. Diante deste fato observa-se na figura 4.15c um revestimento com 21 dias de exposição (amostra TiD-21), mas com pico menos definido que com quatorze dias, figura 4.15b (amostra TiD-14). Por este motivo a espessura do substrato pode influenciar nos resultados de difração de raios-X.

Como observado nas amostras de titânio denso, os difratogramas de raios-X das amostras microporosas (Fig. 4.17 e 4.18), apresentaram um aspecto similar ao titânio  $\alpha$ , com estrutura hexagonal. Tanto o substrato puro como aqueles tratados (química e termicamente) e nucleados com fosfatos de cálcio apresentaram os mesmos picos, variando somente a intensidade de algum deles.

As figuras 4.17 e 4.18 mostram que o pico em aproximadamente  $2\theta$  igual  $38,30$  sofreu alteração na sua intensidade com a nucleação de fosfato de cálcio. Este pico apresenta-se intenso no substrato usado para controle, diminuiu quando ocorreu nucleação para os períodos de imersão/tratamento de sete e quatorze dias. Por outro lado, a intensidade aumentou com vinte e um dias de imersão/tratamento. Esta variação na intensidade pode ser devido à microporosidade do titânio, já que no substrato com titânio denso isto não é observado.

Pela avaliação das figuras 4.17 e 4.18 os resultados da difração de raios-X parecem indicar que foi detectado mais o substrato, entretanto pode-se observar que na amostra TiM-21 (Fig. 4.18b), a intensidade dos picos principais do titânio foi invertida e o pico em torno de  $2\theta$  igual a  $82^\circ$  aumentou significativamente, indicando alguma mudança na superfície do substrato, isto é, formação de um pequeno revestimento.

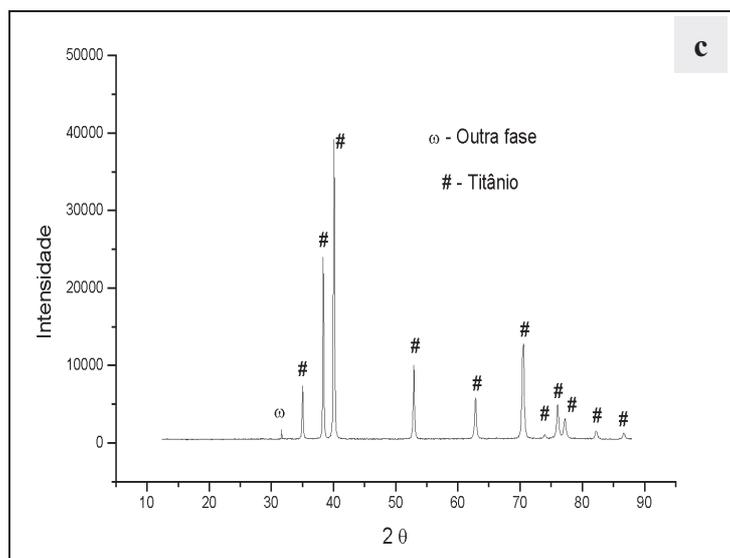
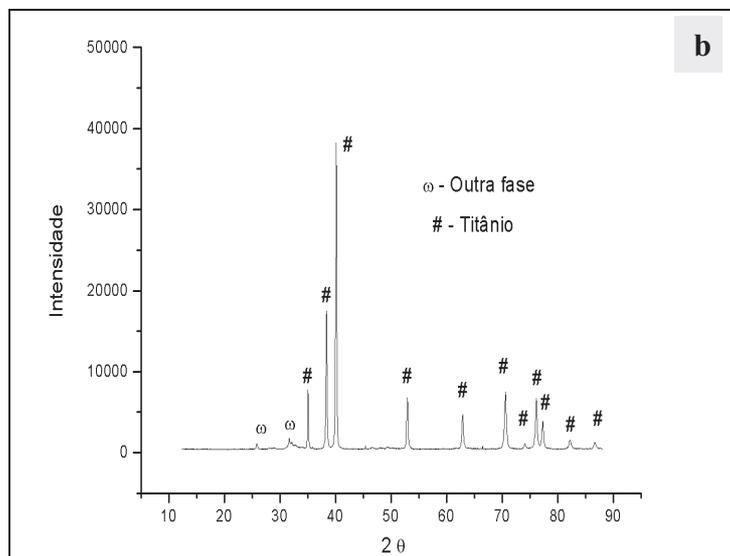
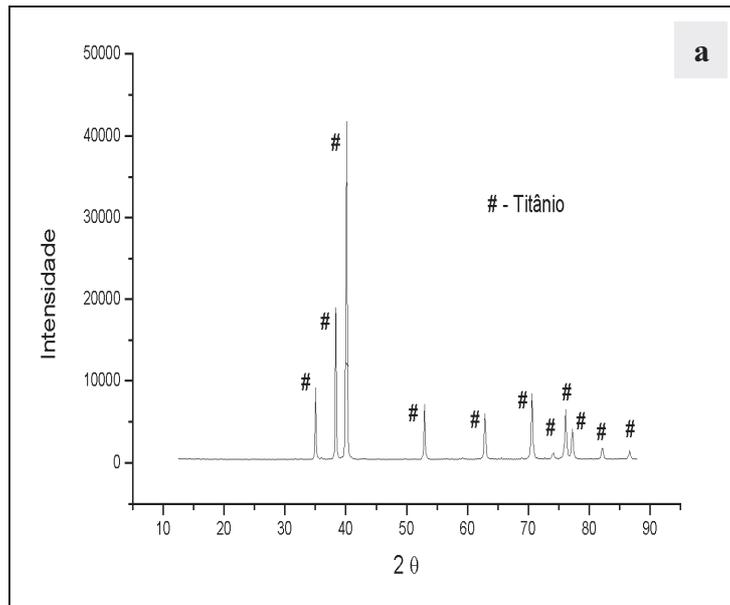


Fig. 4.14 - Difratoformas de raios-X da amostra TiD: (a) TiD-7, (b) TiD-14, (c) TiD-21.

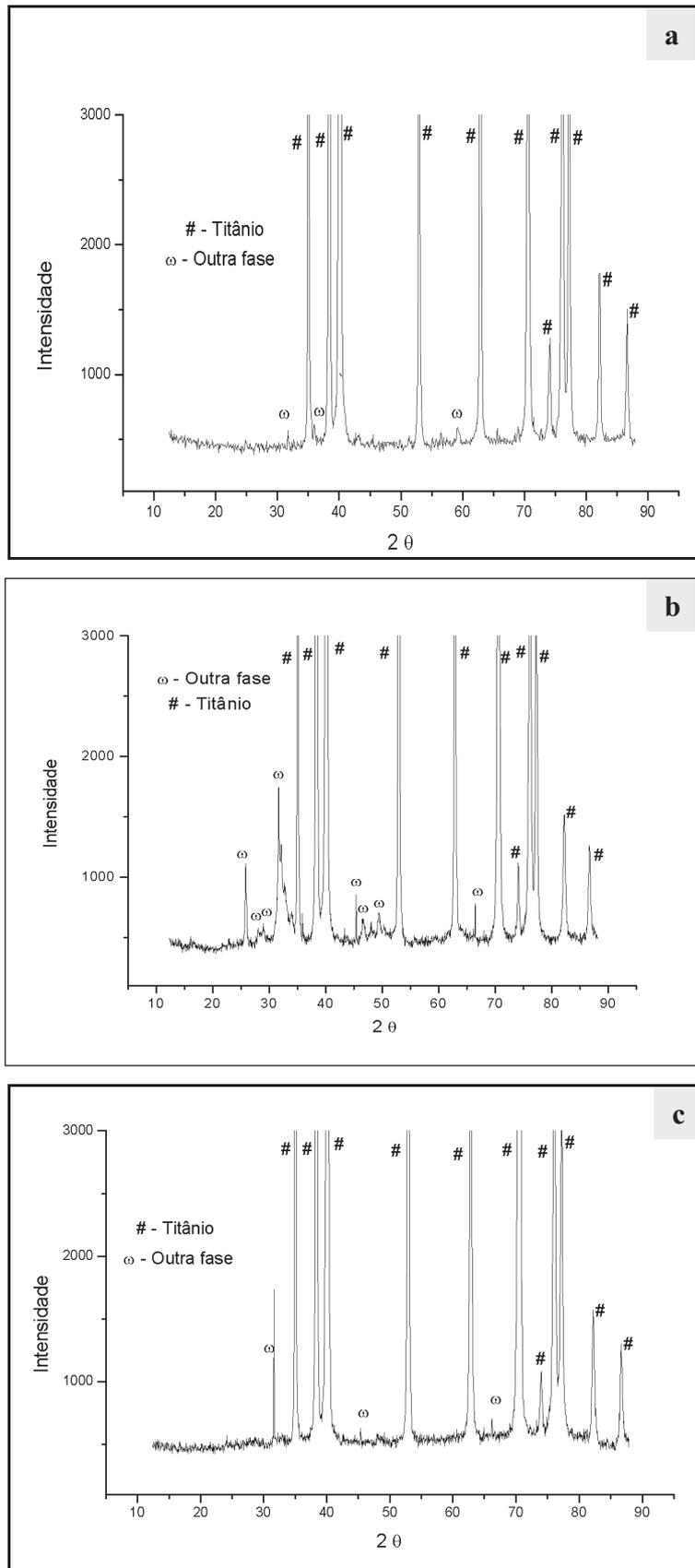


Fig. 4.15 - Difractogramas de raios-X ampliado da amostra TiD: (a) TiD-7, (b) TiD-14, (c) TiD-21.

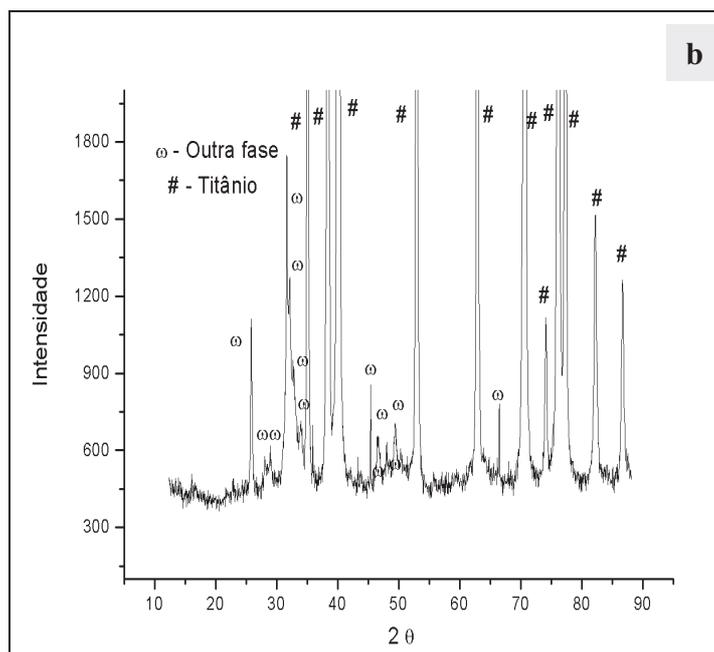
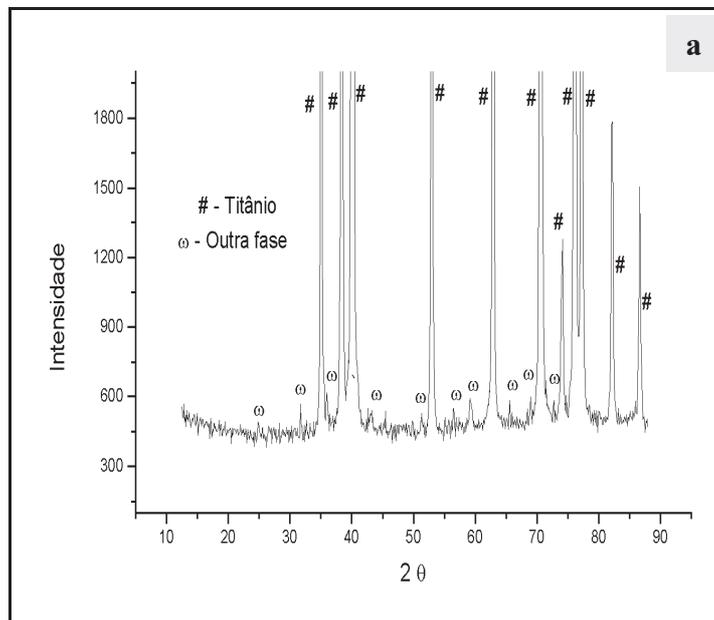


Fig. 4.16 - Difratogramas de raios-X com maior ampliação da amostra TiD: (a) TiD-7 e (b) TiD-14.

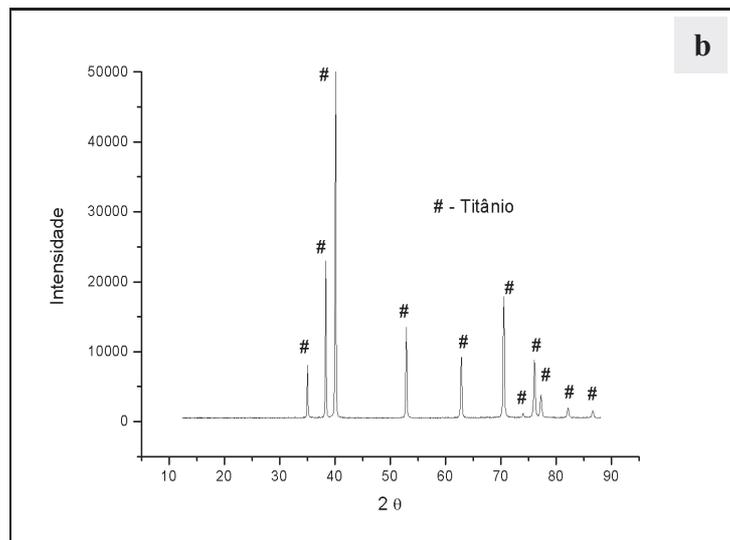
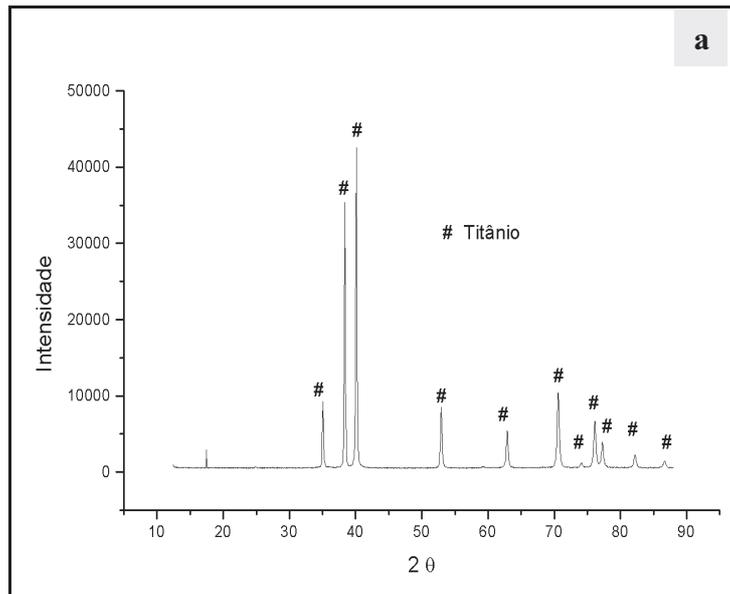


Fig. 4.17 - Difratomogramas de raios-X da amostra TiM: (a) TiM-C e (b) TiM-7.

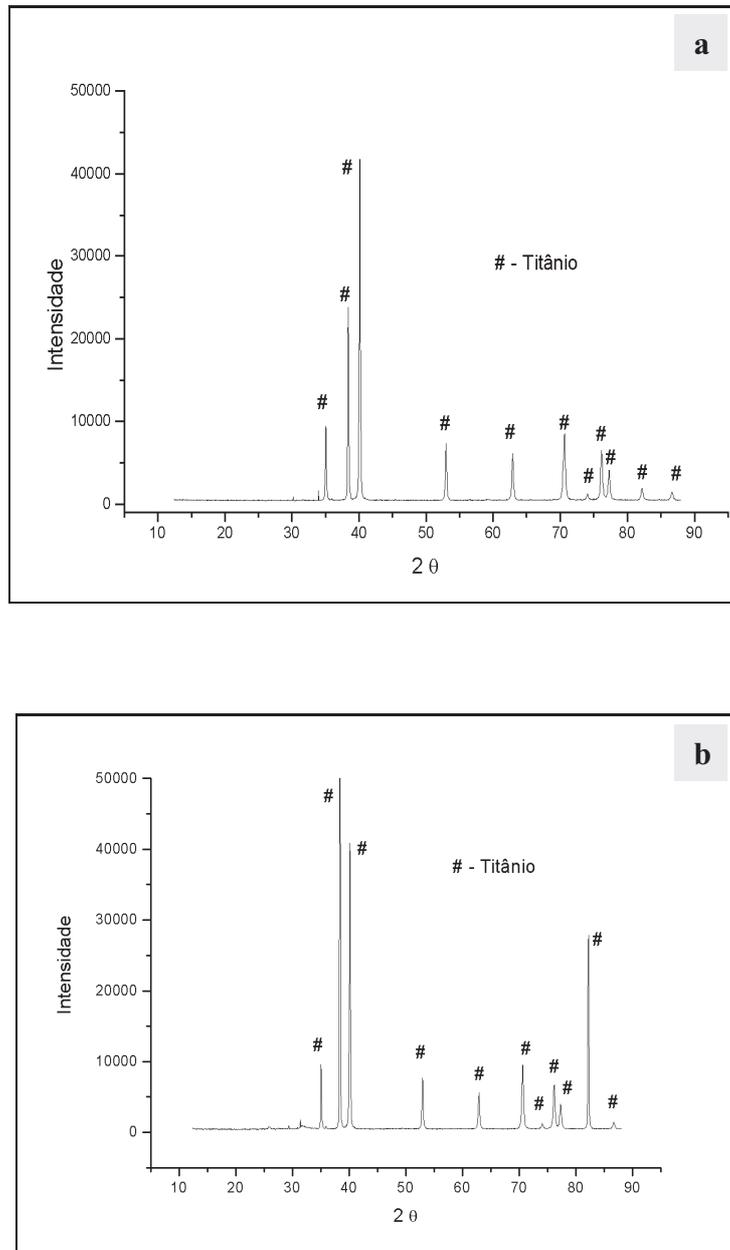


Fig. 4.18 - Difratoogramas de raios-X da amostra TiM, tratada e nucleada: (a) TiM-14, e (b) TiM-21.

Como as análises foram realizadas com maior energia, 10.000 keV, foi possível a ampliação dos difratogramas de raios-X para observar os picos bem menos intensos observados na figura 4.17. Assim, a figura 4.20 mostra que ocorreu a formação de outra fase sobre a superfície do titânio nas amostras TiP-14 e TiP-21. A figura 4.20b mostra que formou uma nova fase na amostra TiP-21, com formação de fosfato de cálcio característico de hidroxiapatita pouco cristalina (picos não muito bem definidos).

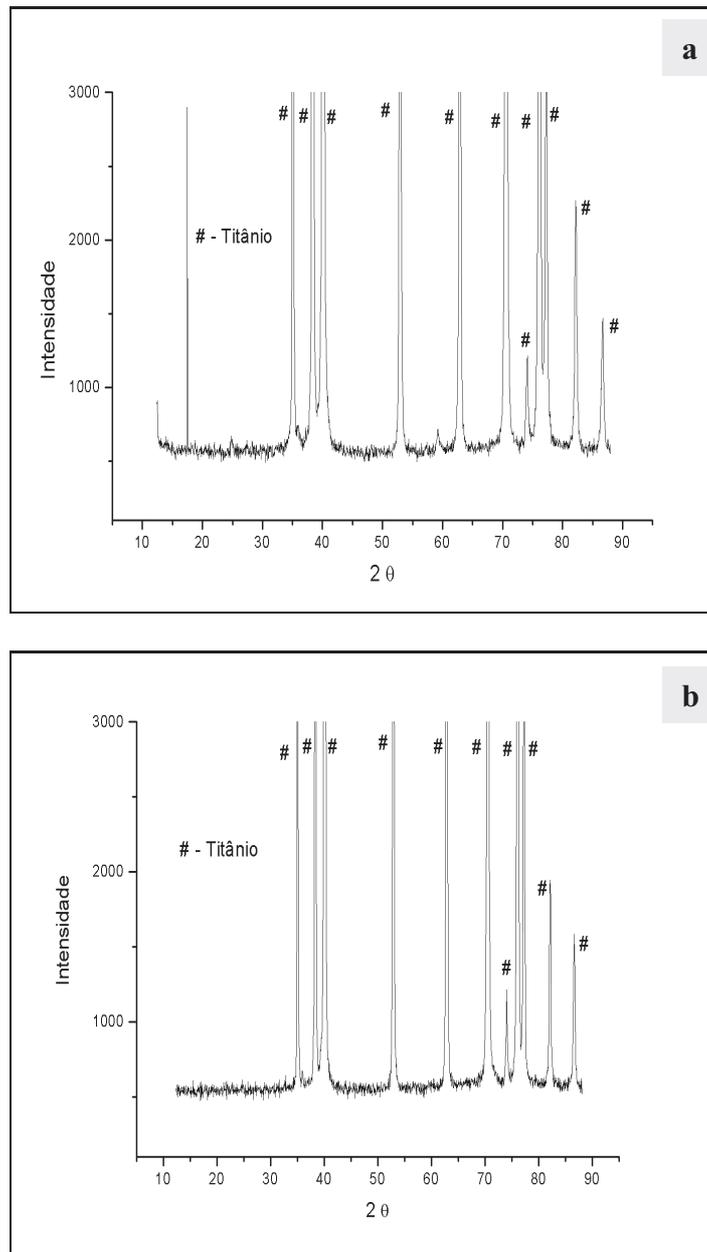


Fig. 4.19 - Difratoogramas de raios-X ampliados da amostra TiP: (a) TiP-C e (b) TiP-7.

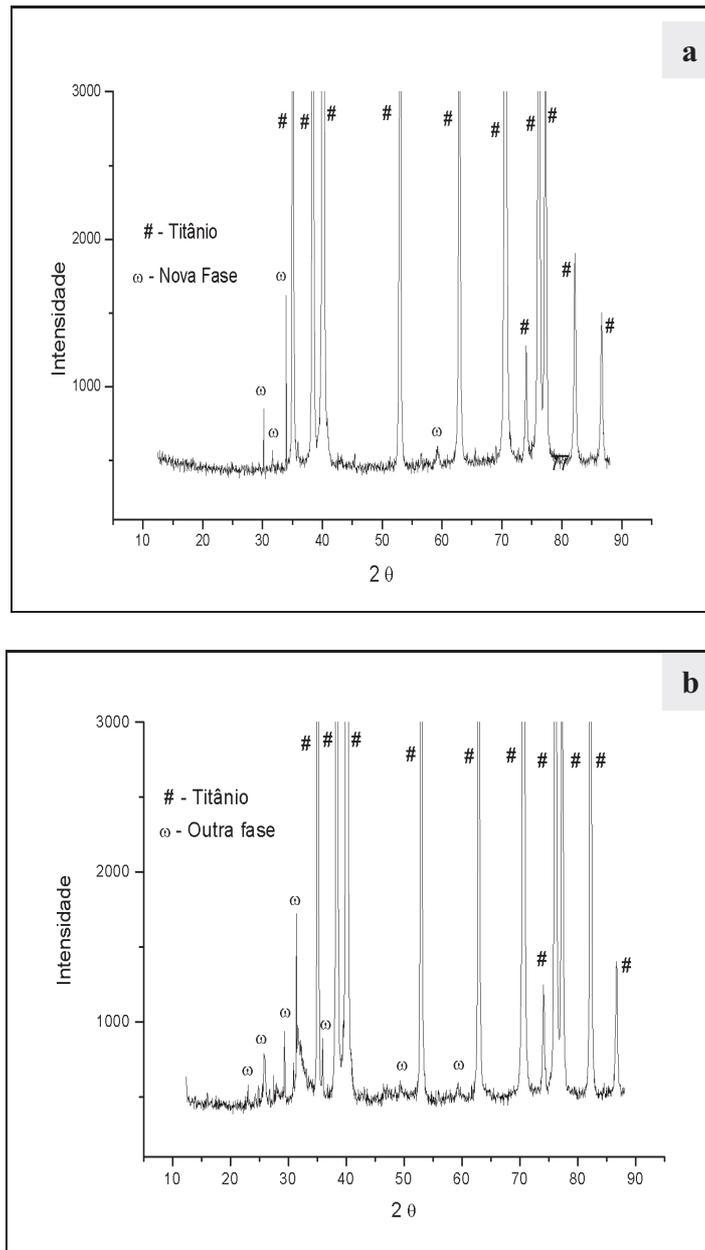


Fig. 4.20 - Difratomogramas de raios-X ampliados da amostra TiP: (a) TiP-14 e (b) TiP-21.

Os espectros dos difratogramas de raios-X das amostras TiP mostraram-se diferentes em relação à intensidade das amostras TiD e TiM. Nestas amostras, existem picos somente de titânio  $\alpha$ , entretanto a relação das intensidades dos picos é diferente. Pode-se observar na figura 4.21 uma mudança das intensidades quando se elevou de 14 para 21 dias de exposição em SS.

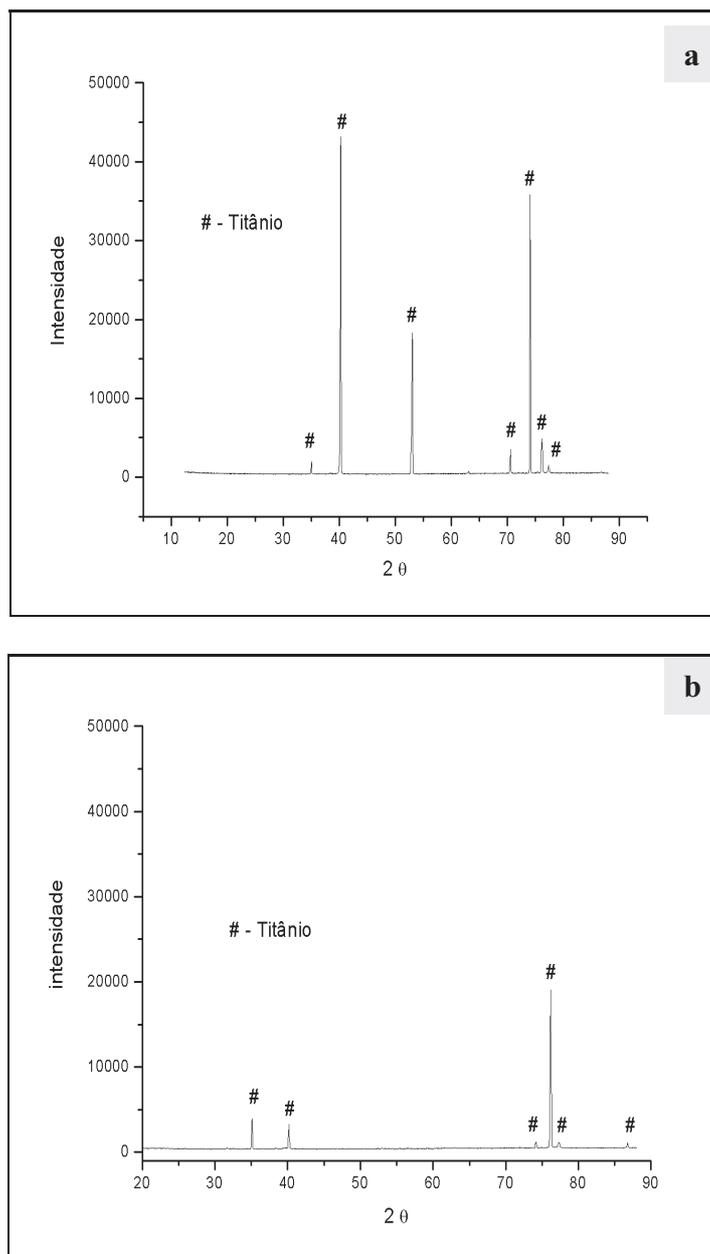


Fig. 4.21 - Difratomogramas de raios-X das amostras da amostra TiP: (a) TiP-14 e (b) TiP-21.

Outro ponto importante observado é a pequena formação de fosfato de cálcio na amostra TiP-21, mostrado na figura 4.22. Mesmo com 21 dias de exposição, o difratograma de raios-X mostrado na figura 4.22b apresentou poucos e pequenos picos que indicam a formação de uma camada de fosfatos de cálcio.

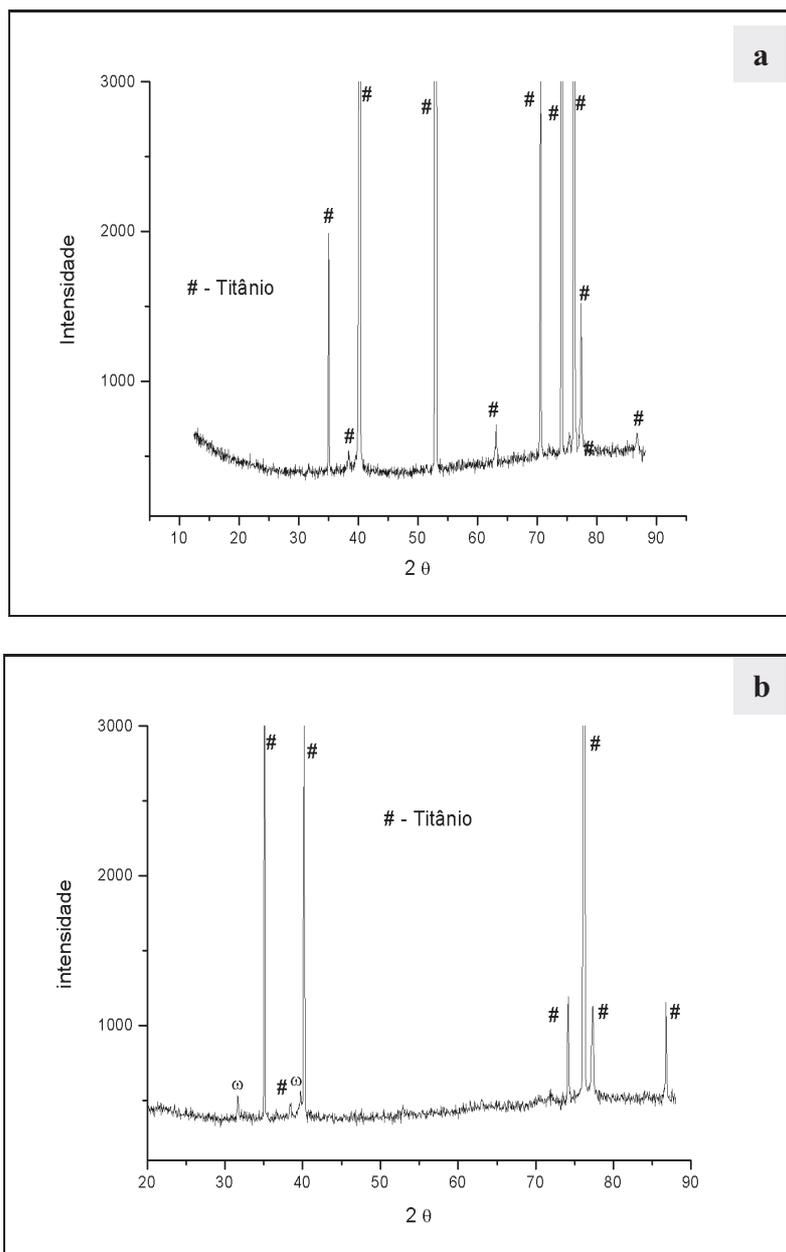


Fig. 4.22 - Difratomogramas de raios-X ampliado da amostra de TiP: (a) TiP-14 e (b) TiP-21.

#### 4.6. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e espectrometria por dispersão de energia de raios X (EDS).

Na micrografia do pó de Ti (Fig. 4.23) observa-se que os pós apresentam aspecto poroso característico das partículas metálicas obtidas pela redução de seus óxidos, como os finos de esponja de titânio e posterior processo HDH (hidrogenação/dehidrogenação).

A figura 4.24 (a, c, e) mostra a macrografia das amostras TiD, TiP e TiP com suas respectivas fotomicrografias obtidas pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) (b, d, f) para melhor visualização da diferença morfológica das superfícies.

Nas figuras 4.25, 4.28, 4.29 e 4.30, são apresentadas as imagens topográficas em MEV do pó de titânio e da superfície dos substratos TiD, TiM e TiP, respectivamente, controle (a) e tratados quimicamente seguido de tratamento térmico (b).

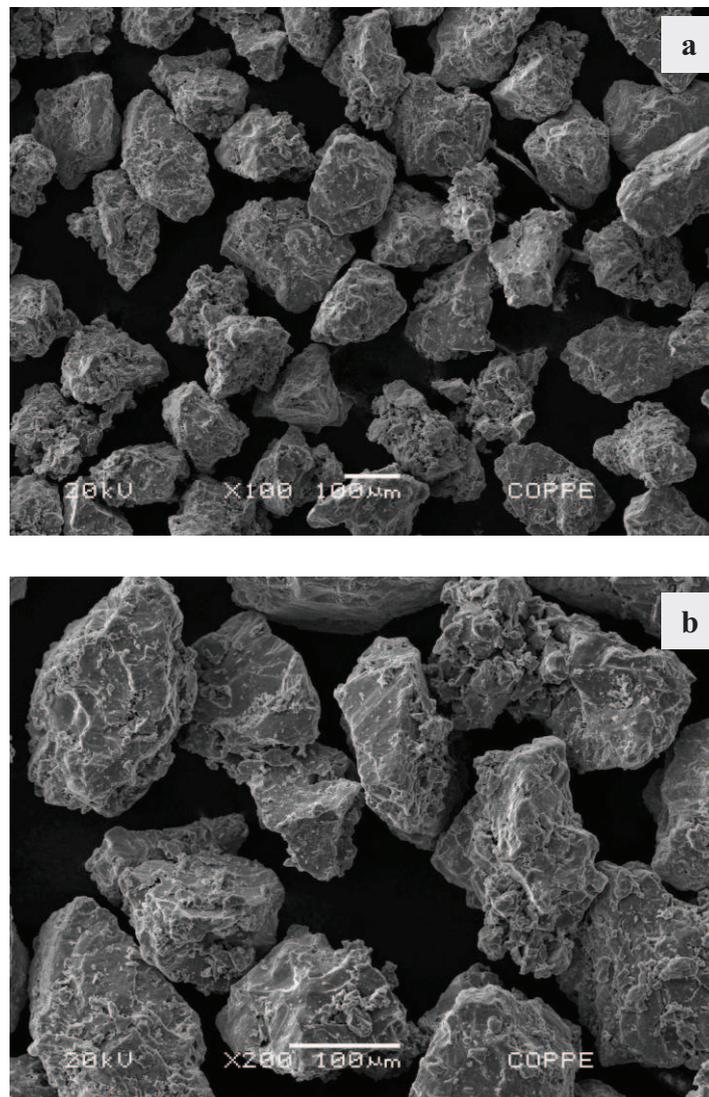


Fig. 4.23 - Fotomicrografias em MEV do pó de Ti utilizado na sinterização dos substratos TiM e TiP em diferentes aumentos: (a) 100x, (b) 200x.

Nas micrografias feitas por MEV observa-se que o pré-tratamento químico e térmico para a bioativação possibilitou uma deposição uniforme na superfície dos pós de Ti bem como a superfície dos substratos, anteriormente mais lisas. As figuras 4.25b, 4.25d e 4.25f, mostram a morfologia da superfície dos pós de Ti com deposição de um composto semelhante ao titanato de sódio, na forma de agulhas, e nas figuras 4.28b, 4.29b, 4.30b observa-se a morfologia das superfícies dos substratos com deposição similar. É nítida a modificação da superfície através da deposição de titanato de sódio sob a forma de agulhas proporcionando um aspecto aveludado (Fig. 4.28b, 4.29b, 4.30b), tornando a superfície mais rugosa.

Nas figuras 4.24 e 4.25 encontram-se os espectros de EDS da superfície do pó de Ti sem TQT e após TQT, respectivamente. Após o tratamento químico e térmico, observa-se nos espectros a presença de elementos essenciais (Na e O) para a formação do titanato de sódio.

Após a imersão das amostras TiD, TiM e TiP em SS, por 7, 14 e 21 dias, as superfícies ficaram revestidas por formações globulares, e em alguns casos lamelares (plate-like), de diversos tamanhos, inclusive no interior dos poros, o que pôde ser visualizado em imagens de MEV para as amostras TiD (Fig. 4.32, 4.33 e 4.34), TiM (Fig. 4.36, 4.37 e 4.38) e TiP (Fig. 4.40, 4.41 e 4.42). Para efeito de visualização e comparação do aspecto morfológico, pré e pós-solução SS dos diferentes superfícies, as micrografias dos substratos de Ti isentos de qualquer tratamento (controle) podem ser observadas nas figuras 4.31, 4.35 e 4.39.

A análise por meio de EDS mostrou, nas três diferentes amostras de implantes tratados com SS (TiD, TiM e TiP) que estas estruturas formadas são constituídas principalmente por cálcio (Ca) e fósforo (P), além da presença de titânio e oxigênio, como é demonstrado nas figuras 4.32a, 4.33a, 4.34a, 4.36a, 4.37a, 4.38a, 4.40a, 4.41a, 4.42a. Os espectros de EDS indicam que houve deposição do filme de CaP na superfície das amostras.

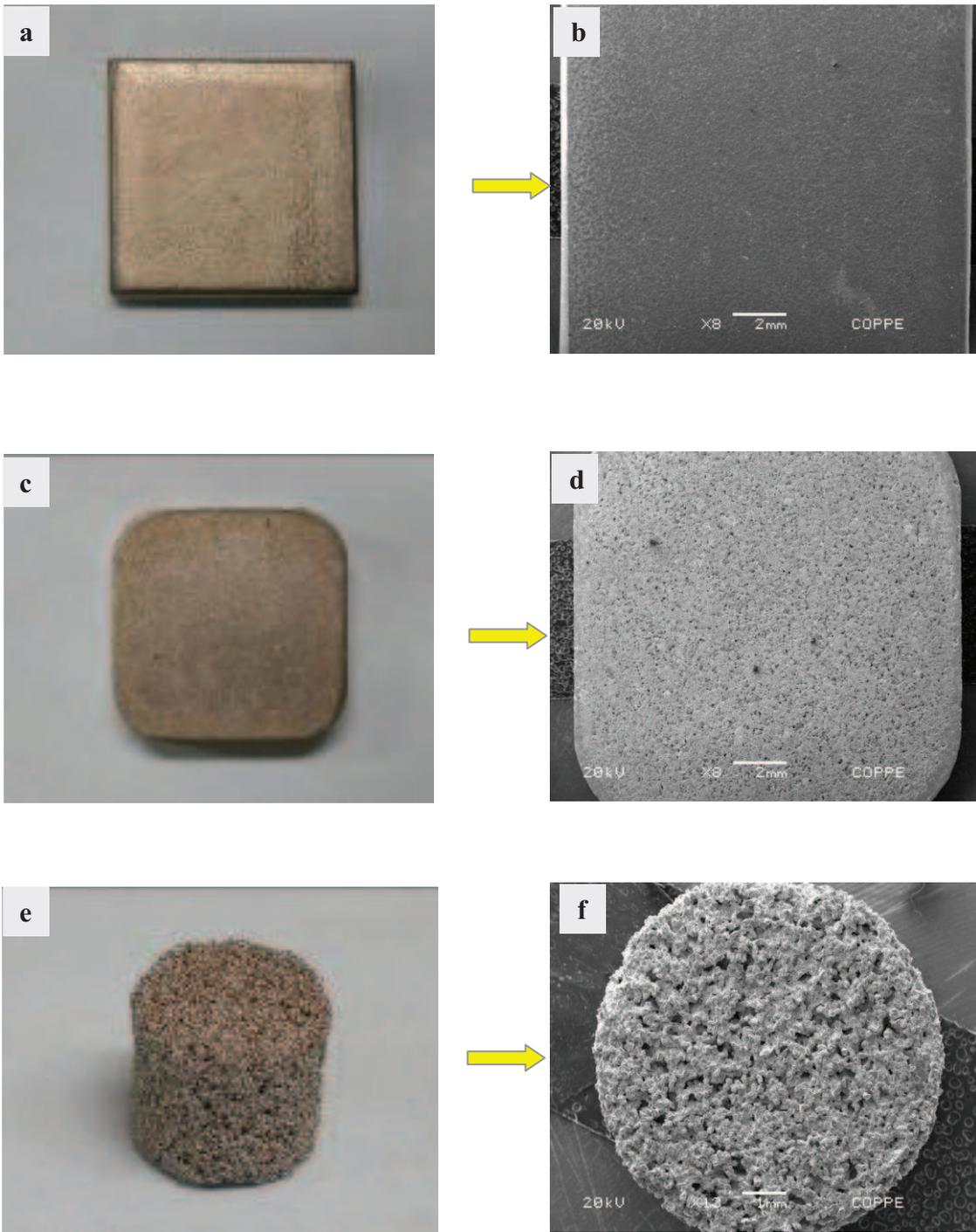


Fig. 4.24 - Macrografias e respectivas fotomicrografias em MEV dos substratos: (a) e (b) TiD, (c) e (d) TiM, (e) e (f) TiP.

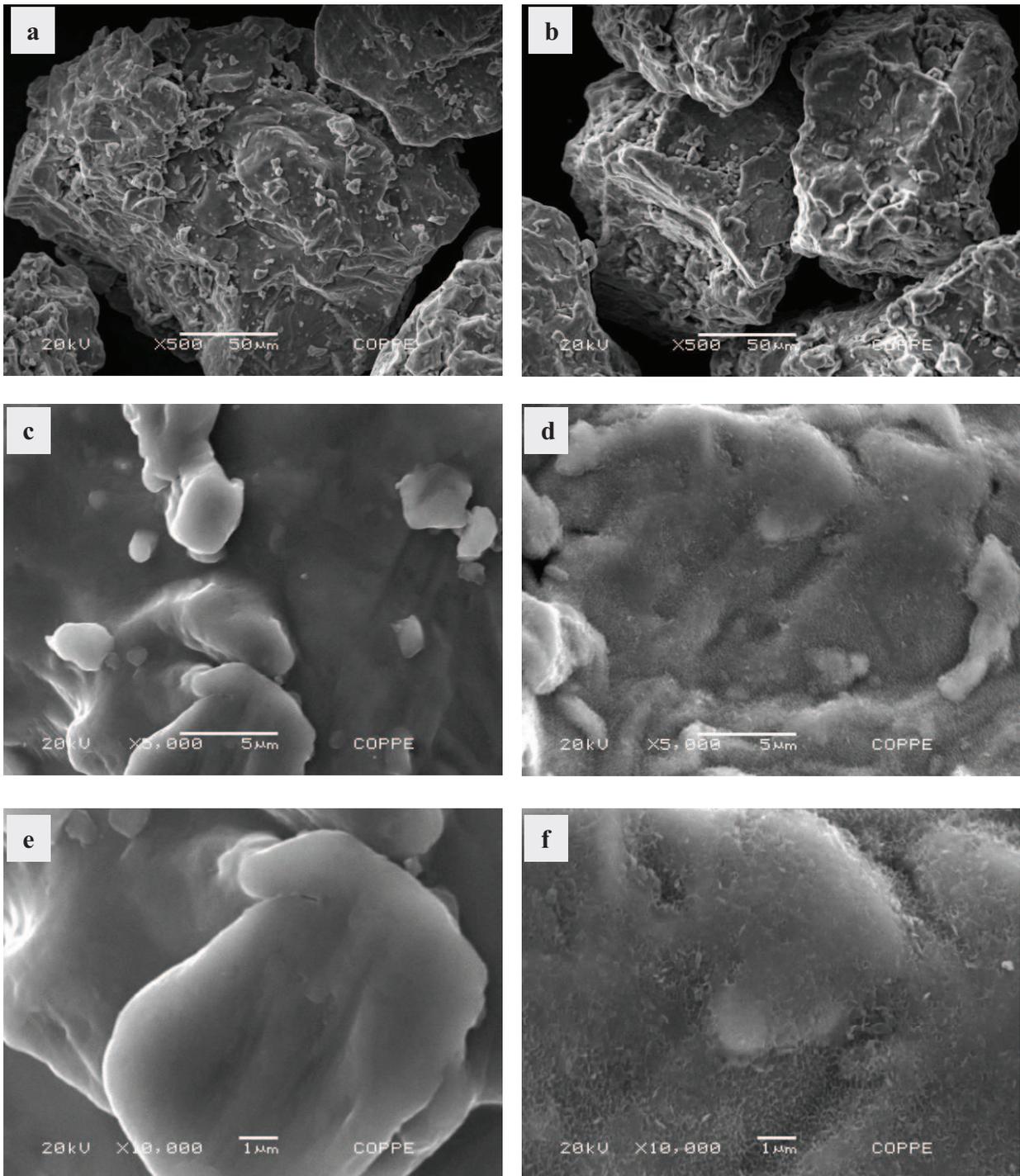


Fig. 4.25 - Fotomicrografias do pó de Ti, em MEV: (a), (c) e (e) morfologia da superfície isenta de qualquer revestimento; (b), (d) e (f) após o pré-tratamento químico-térmico, com agulhas de titanato de sódio.

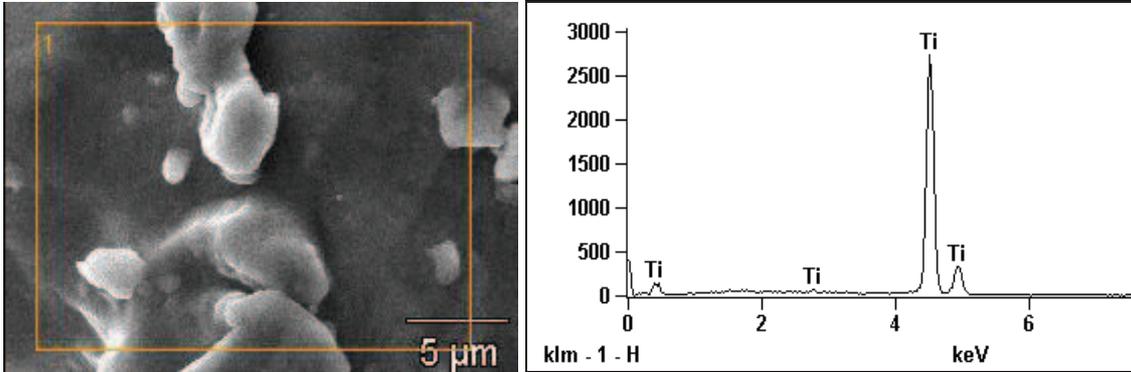


Fig. 4.26 - Micrografia e espectro EDS da superfície do pó de Ti controle (sem tratamento).

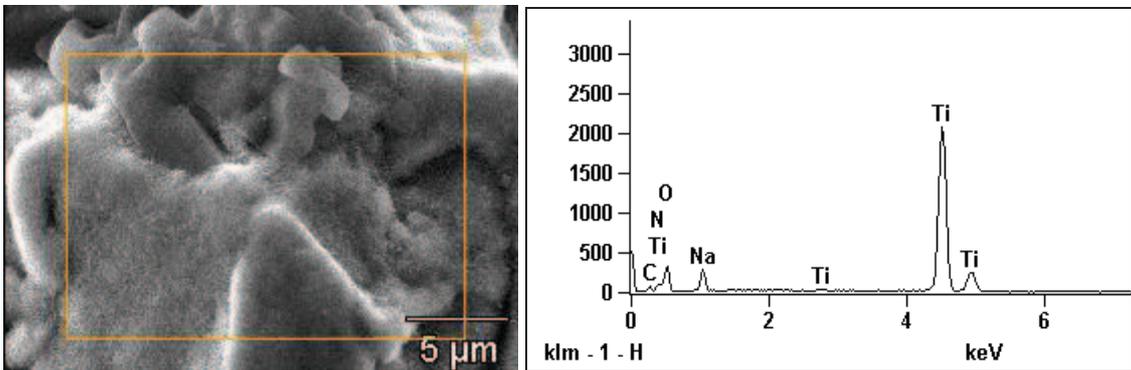


Fig. 4.27 - Micrografia e espectro EDS da superfície do pó de Ti após tratamento químico e térmico.

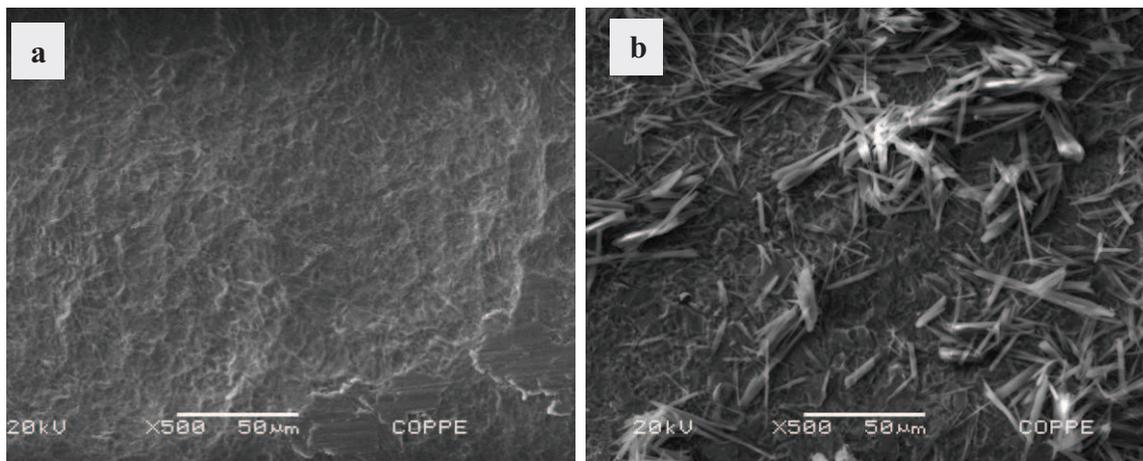


Fig. 4.28 - Fotomicrografias em MEV do substrato TiD: (a) superfície sem revestimento, TiD-C; (b) após o pré-tratamento térmico-químico, TiD-TQT.

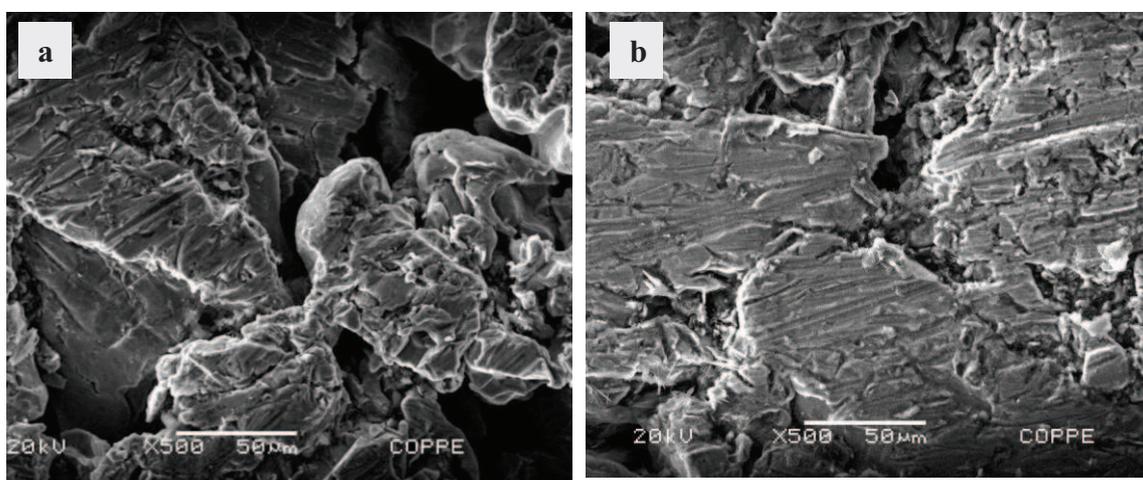


Fig. 4.29 - Fotomicrografias em MEV do substrato TiM: (a) superfície sem revestimento, TiM-C; (b) após o pré-tratamento térmico-químico, TiM-TQT.

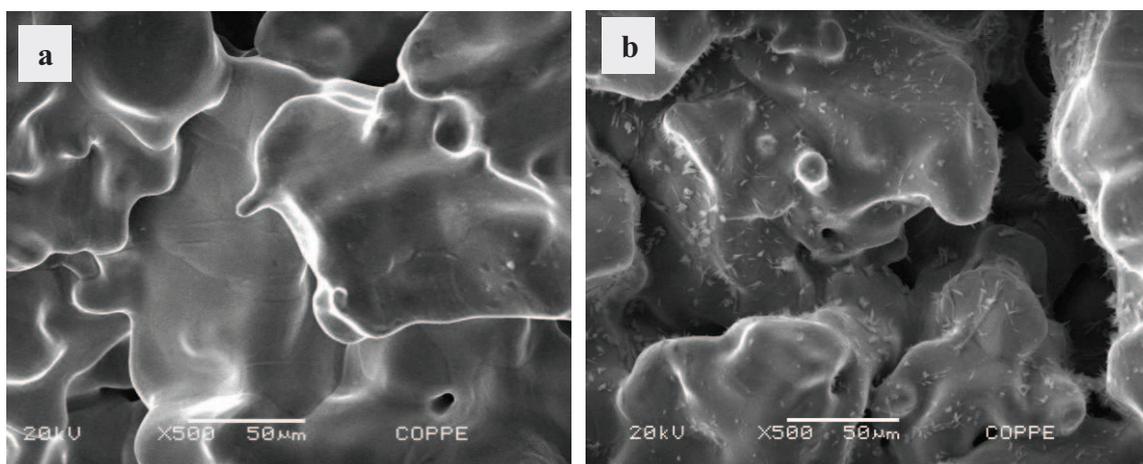


Fig. 4.30 - Fotomicrografias em MEV do substrato TiP: (a) superfície sem revestimento, TiP-C; (b) após o pré-tratamento térmico-químico, TiP-TQT.

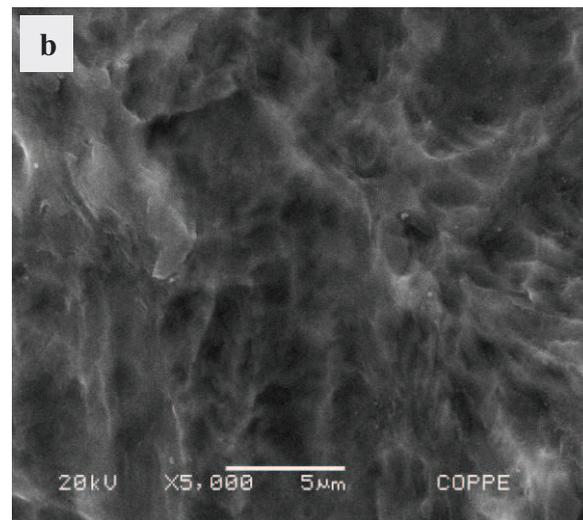
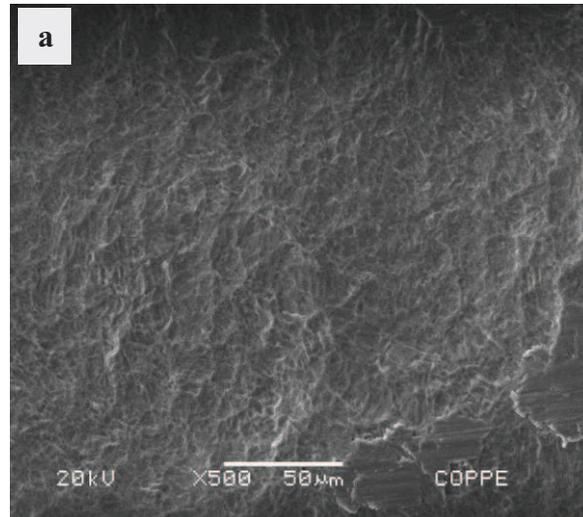


Fig. 4.31- Fotomicrografias em MEV do substrato TiD-C isento de tratamento: (a) 500x e (b) 5.000x.

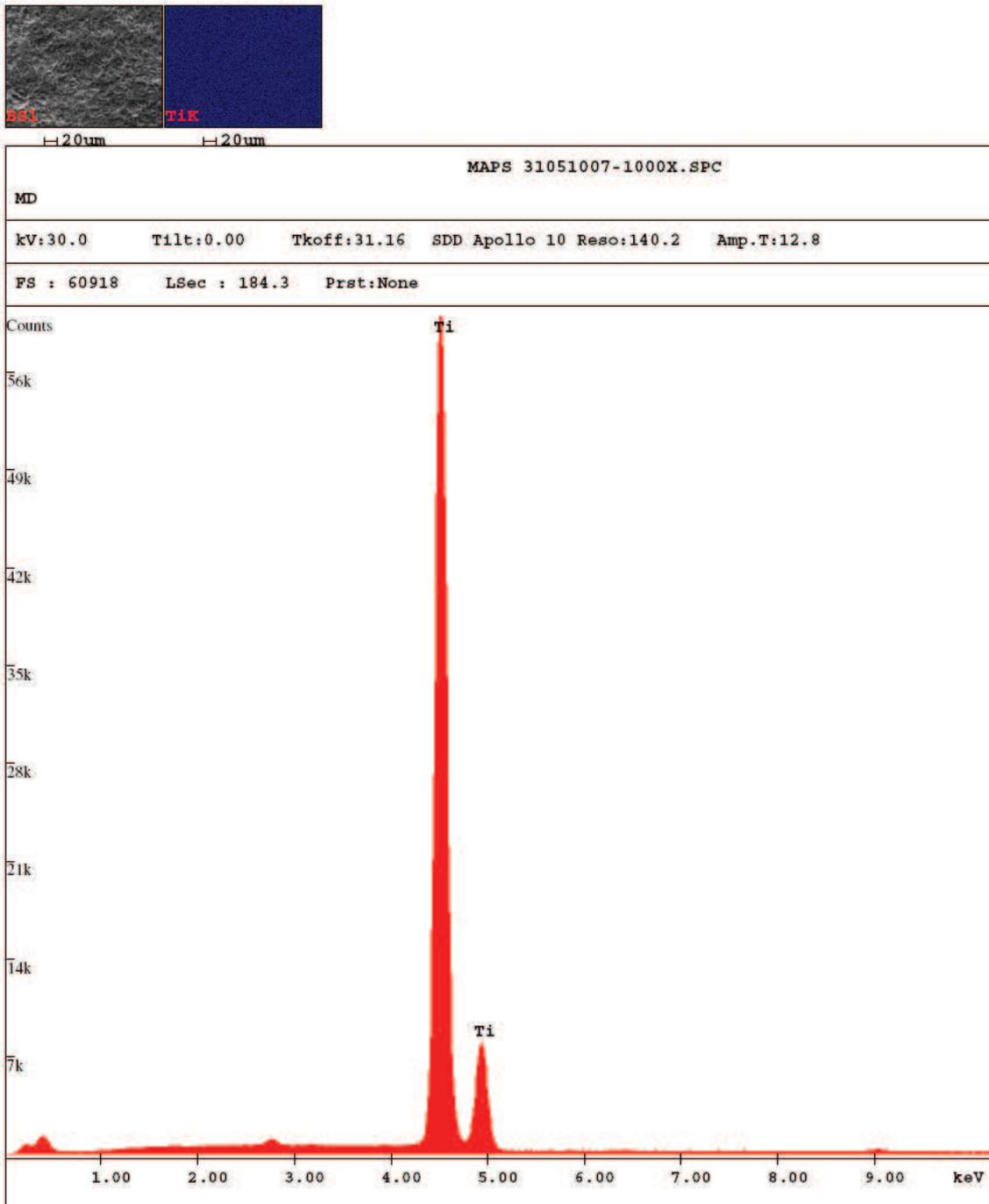


Fig. 4.31a - EDS do substrato TiD-C.

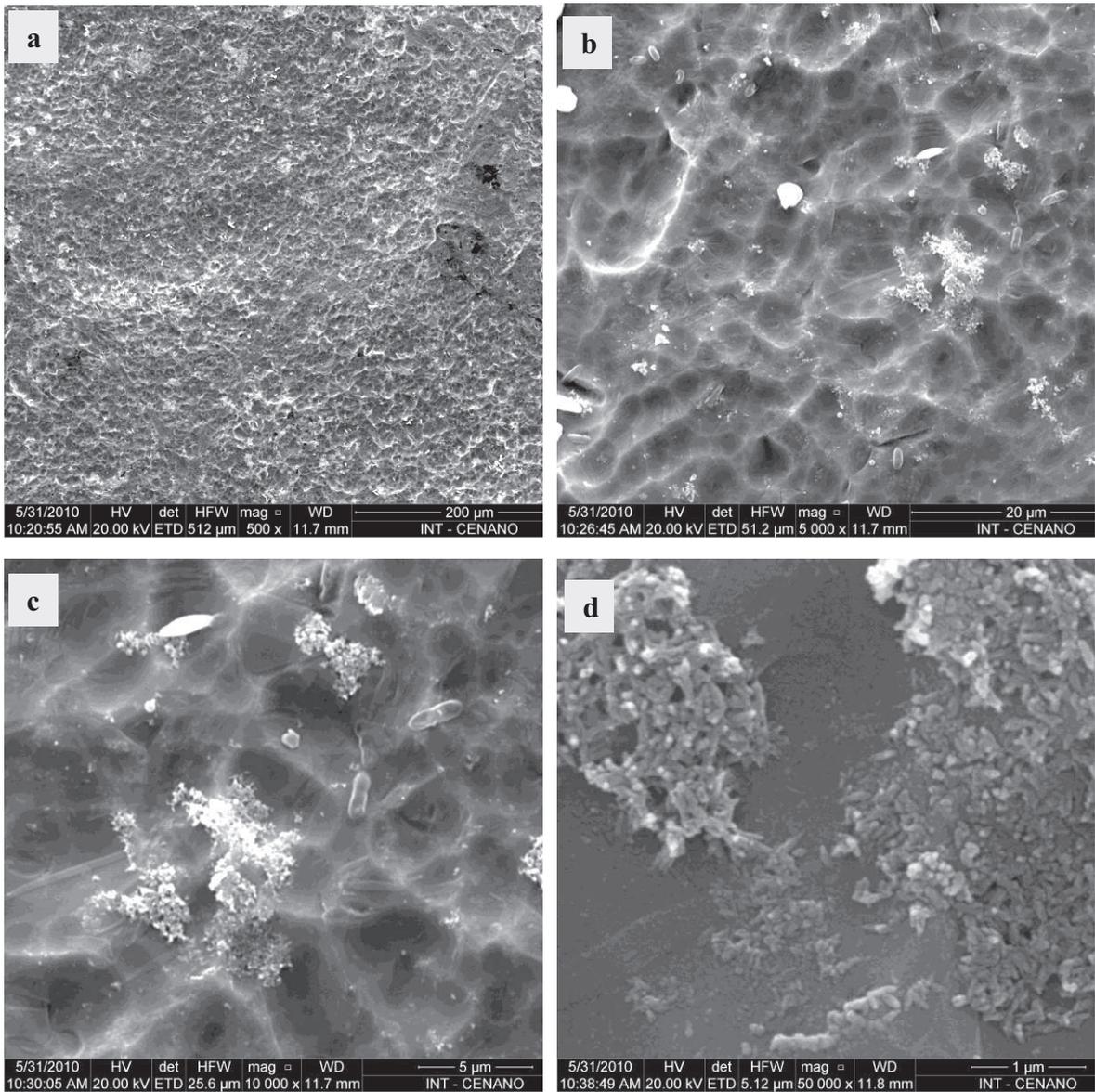


Fig. 4.32 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiD-7: (a) 500x, (b) 5.000x, (c) 10.000x e (d) 50.000x.

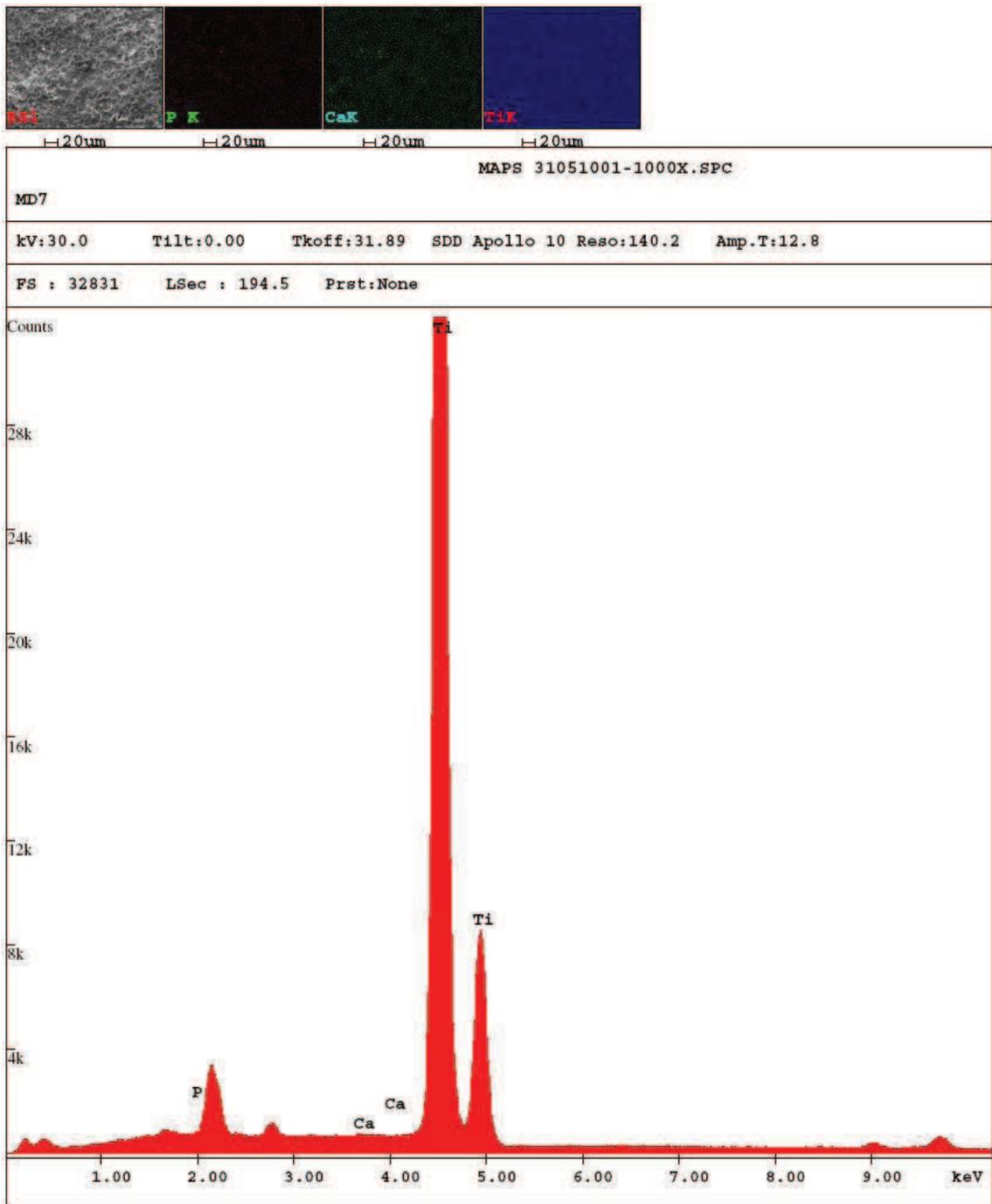


Fig. 4.32a - EDS da amostra TiD-7.

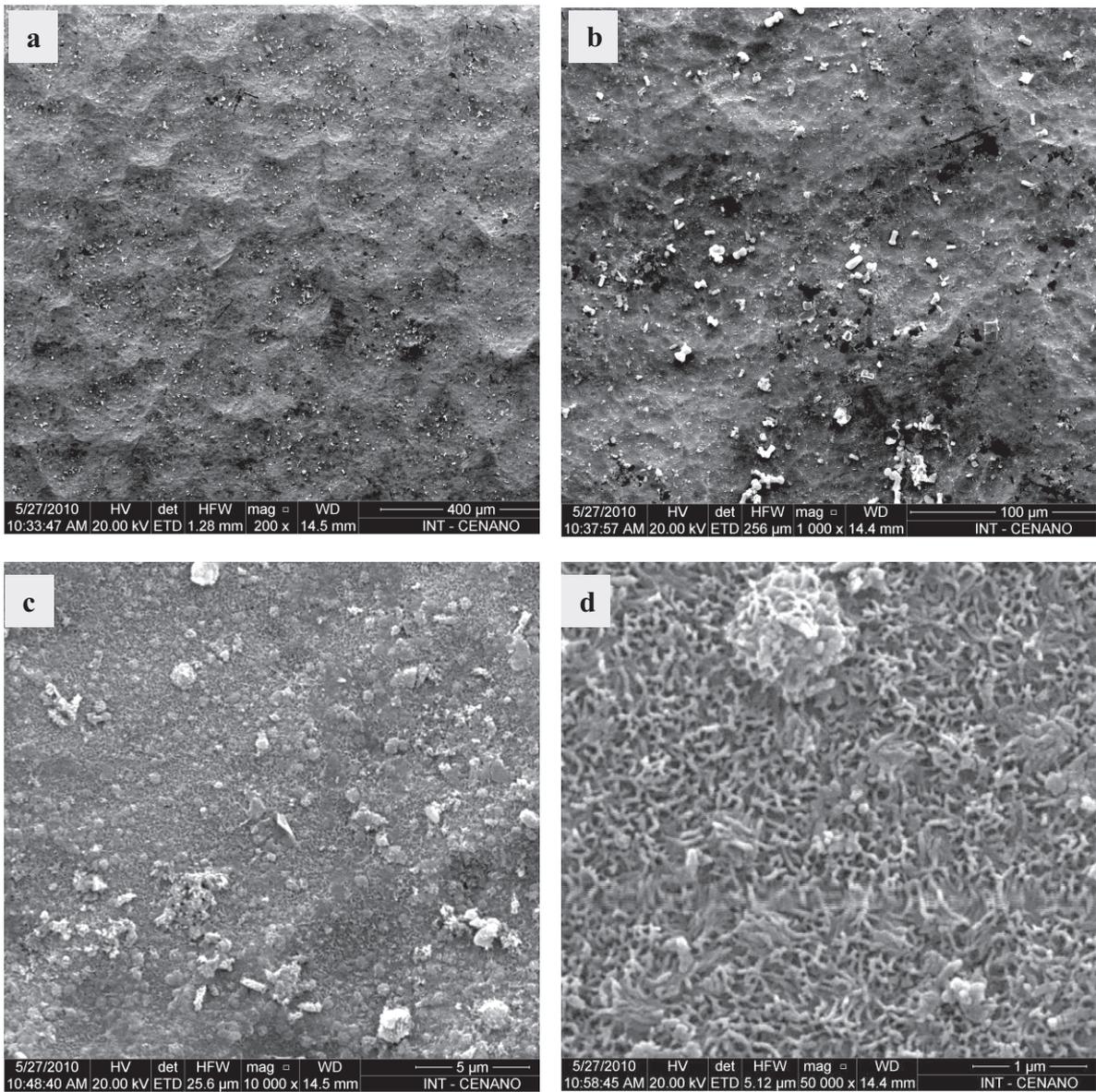


Fig. 4.33 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiD-14: (a) 200x, (b) 1.000x, (c) 10.000x e (d) 50.000x.

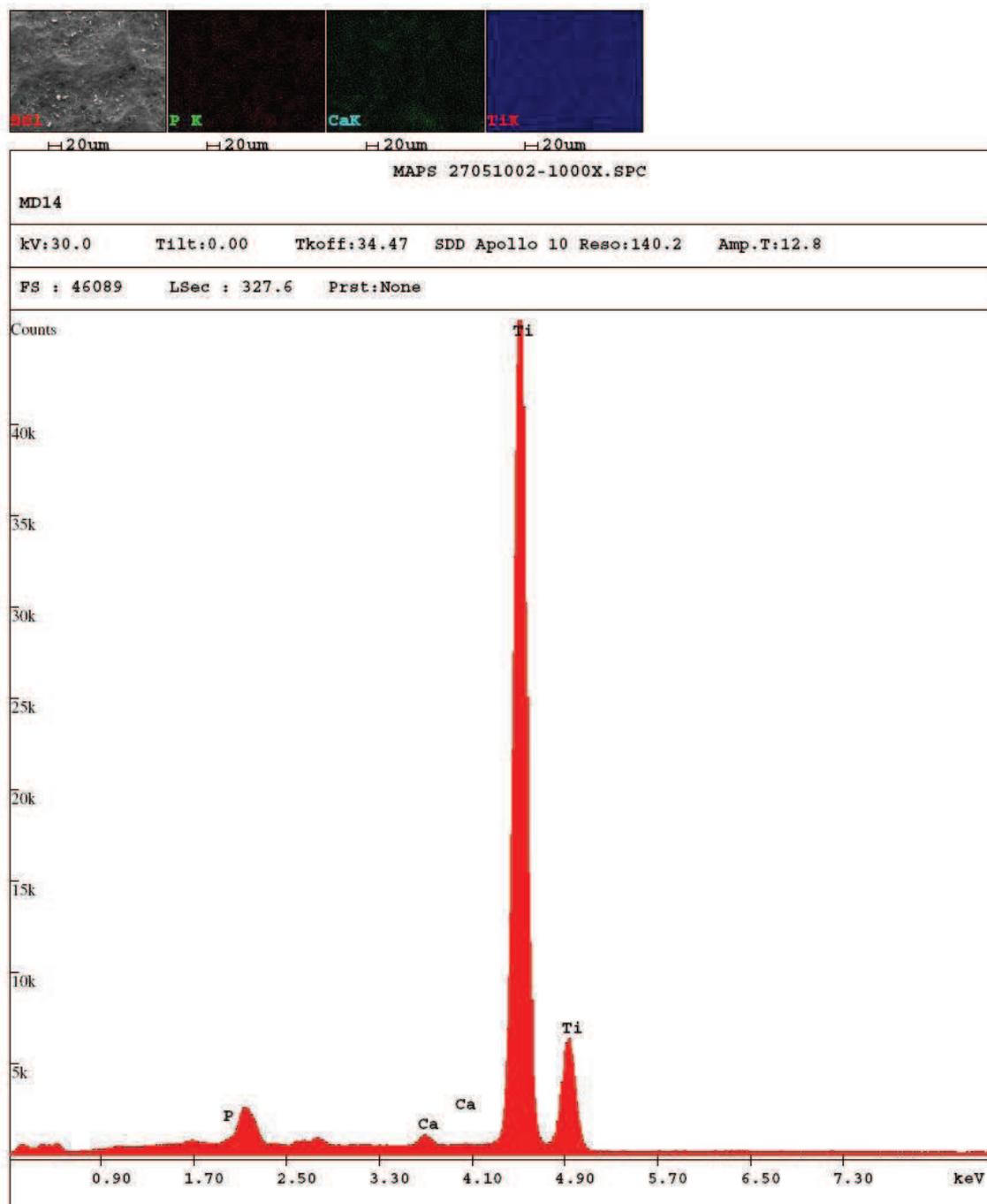


Fig. 4.33a - EDS da amostra TiD-14.

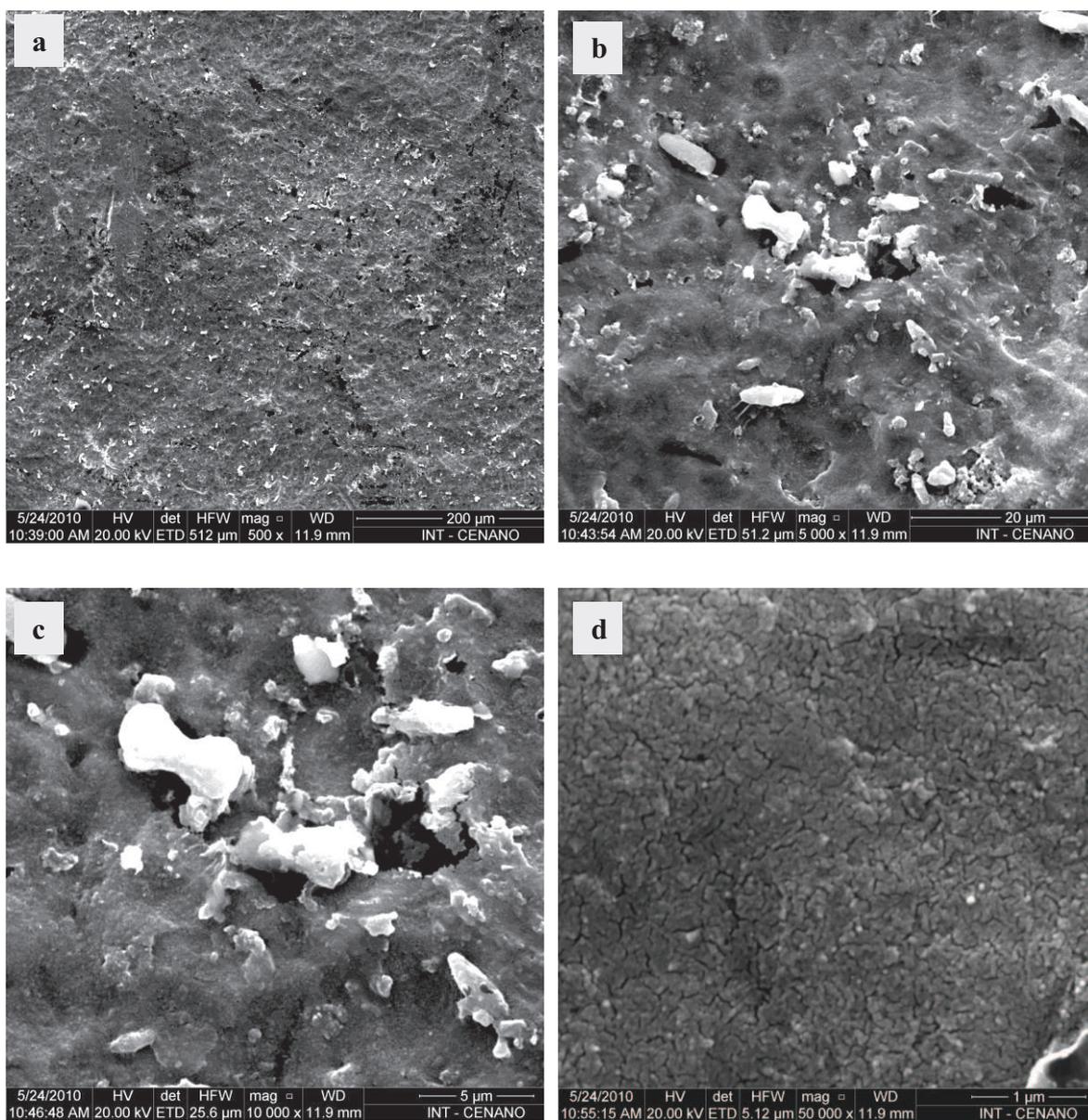


Fig. 4.34 - Fotomicrografia s em MEV da amostra TiD-21: (a) 500x, (b) 5.000x e (b) 10.000x, (d) 50.000x.

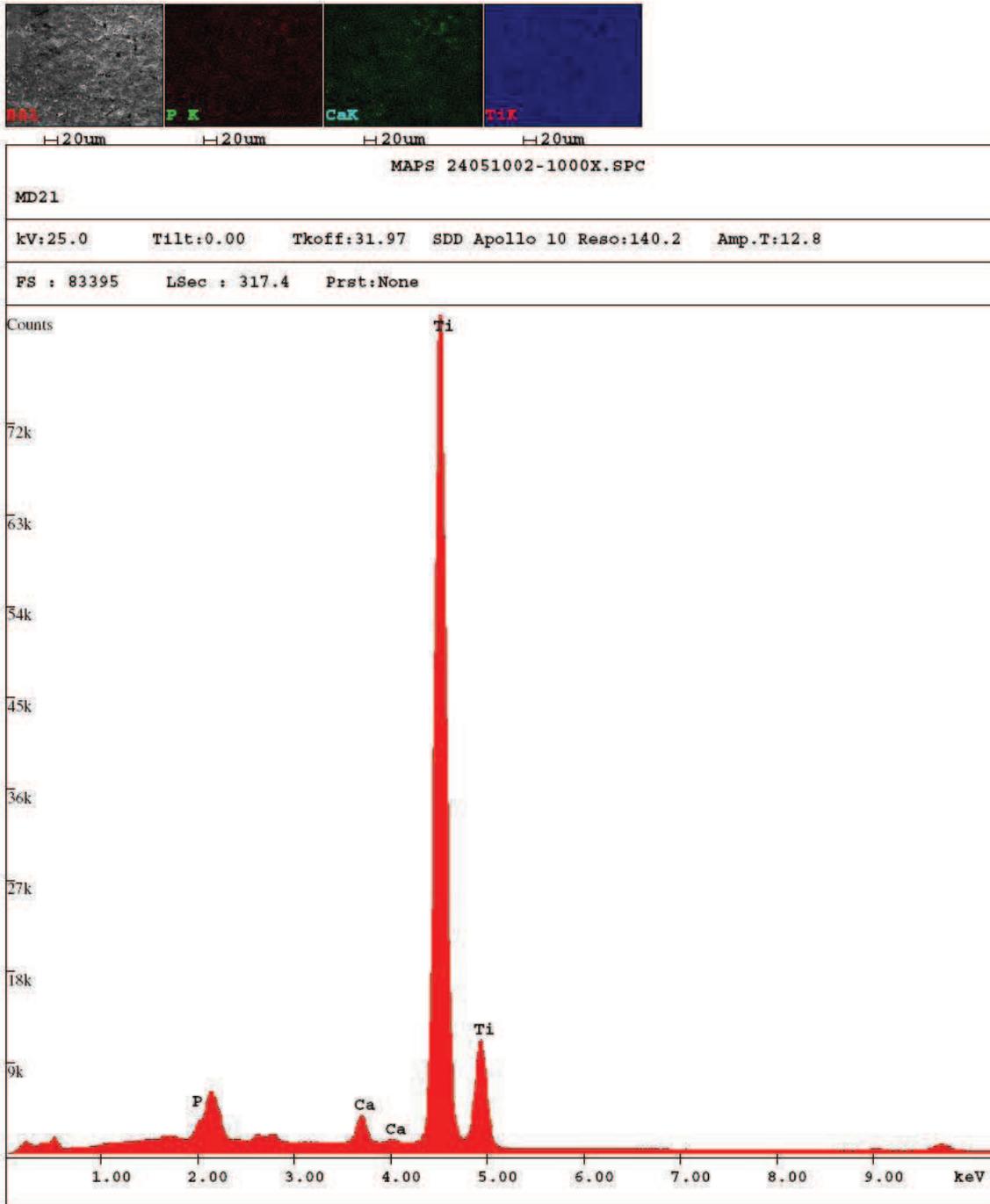


Fig. 4.34a - EDS da amostra TiD-21.

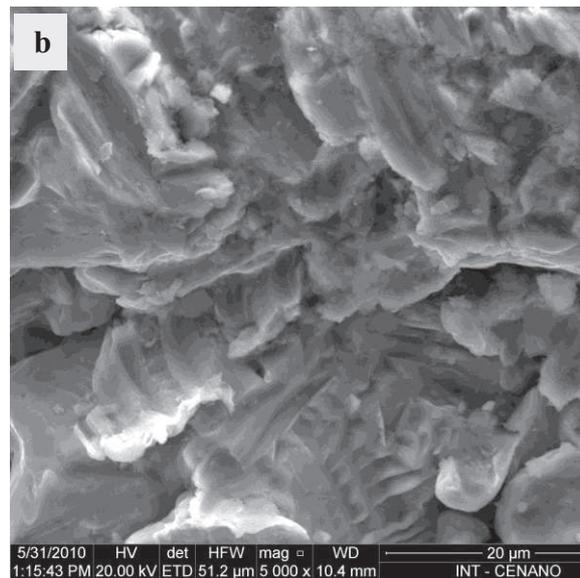
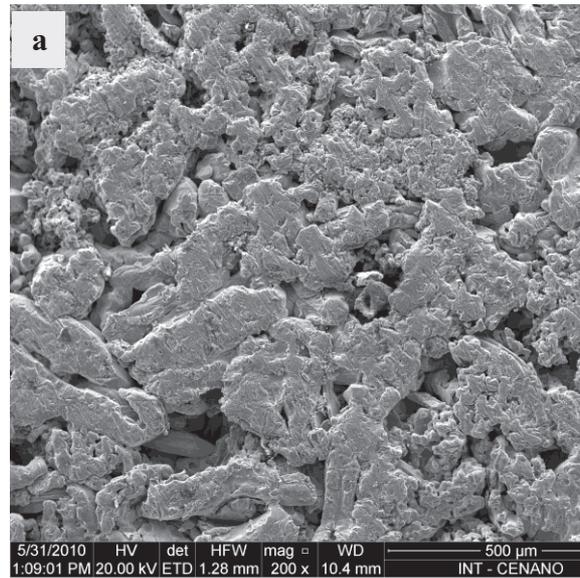


Fig. 4.35 - Fotomicrografias em MEV da superfície do substrato TiM-C isenta de qualquer tratamento: (a) 200x e (b) 5.000x.

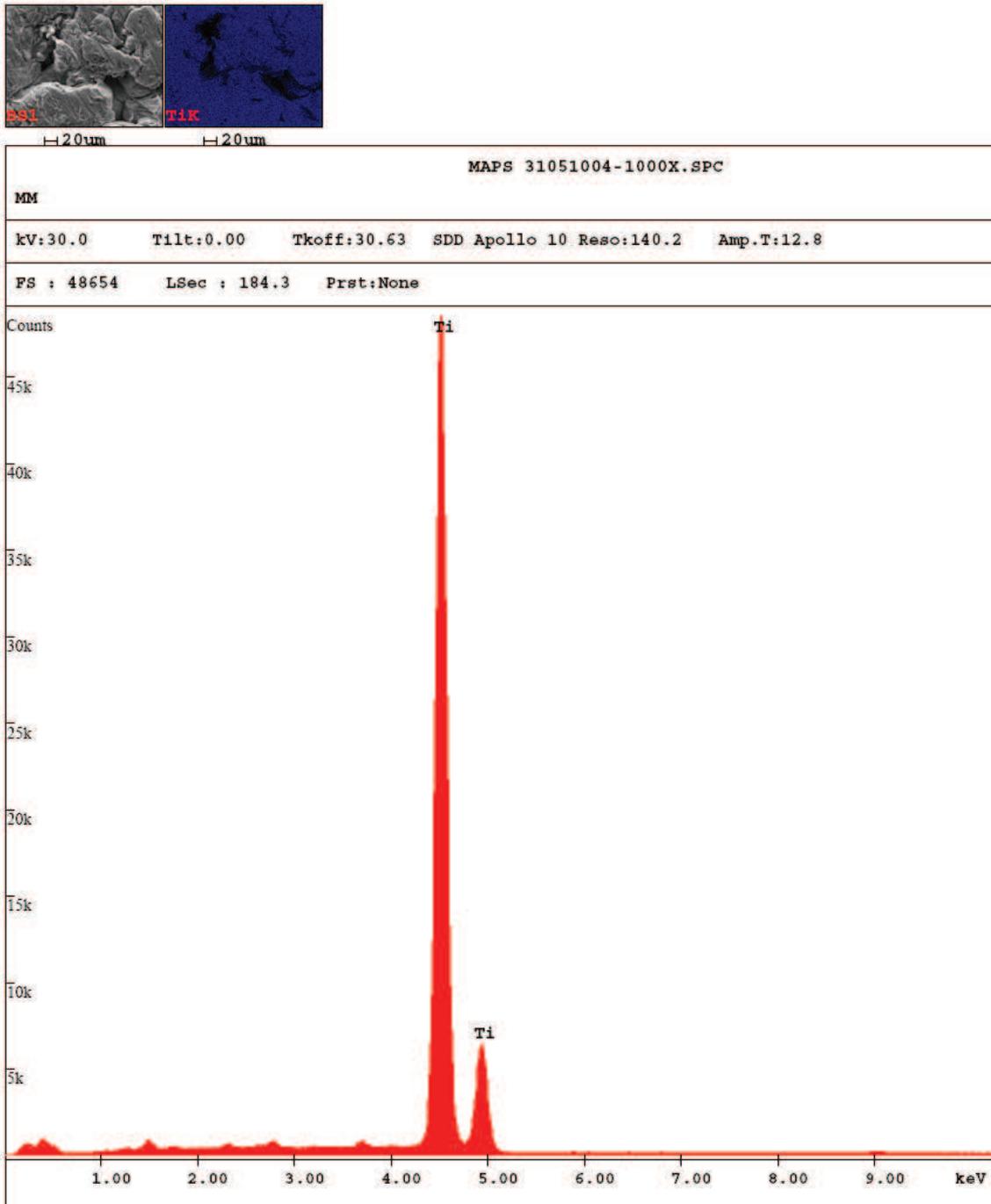


Fig. 4.35a - EDS do substrato TiM-C.

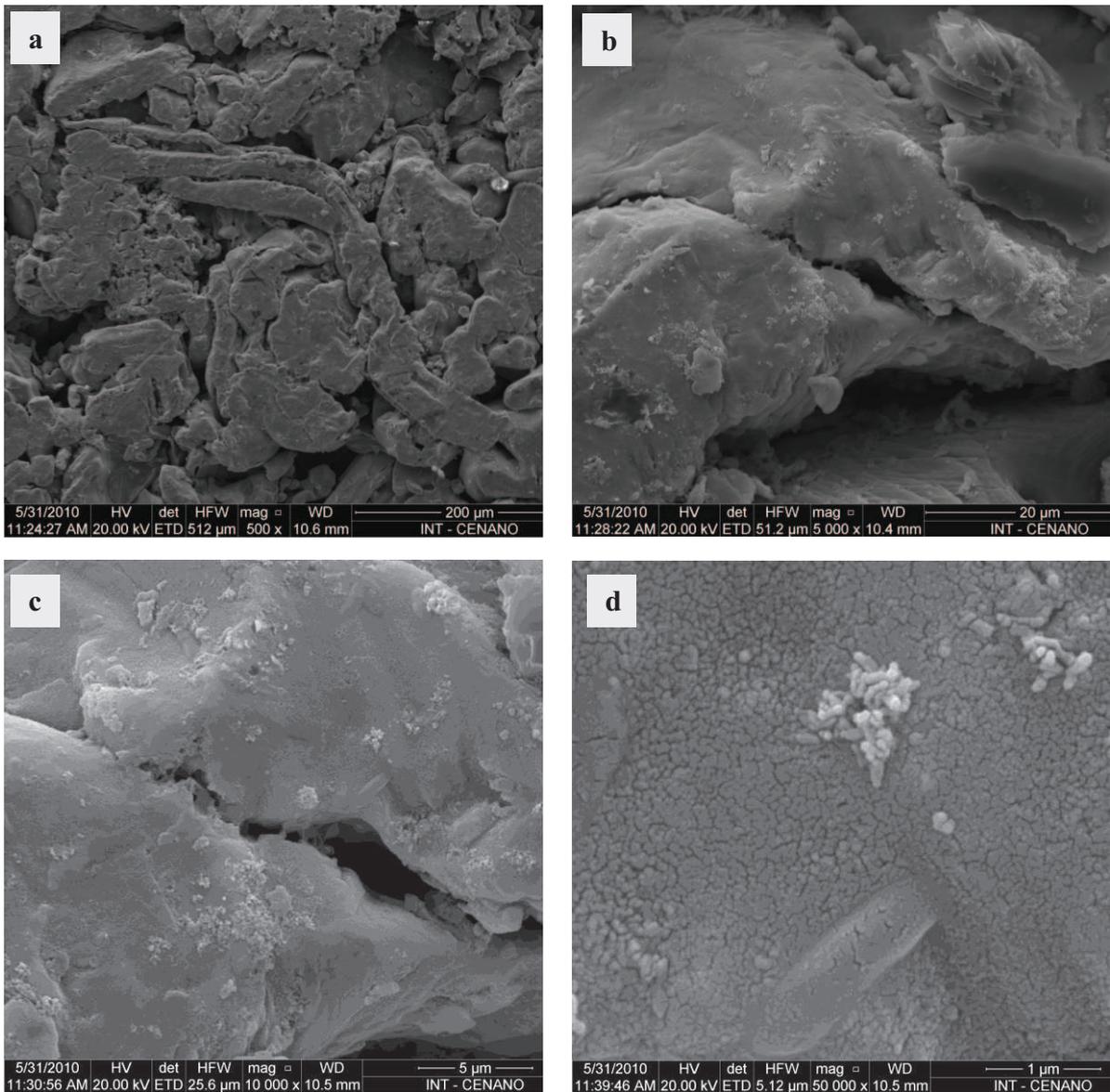


Fig. 4.36 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiM-7: (a) 500x, (b) 5.000x, (c) 10.000x e (d) 50.000x.

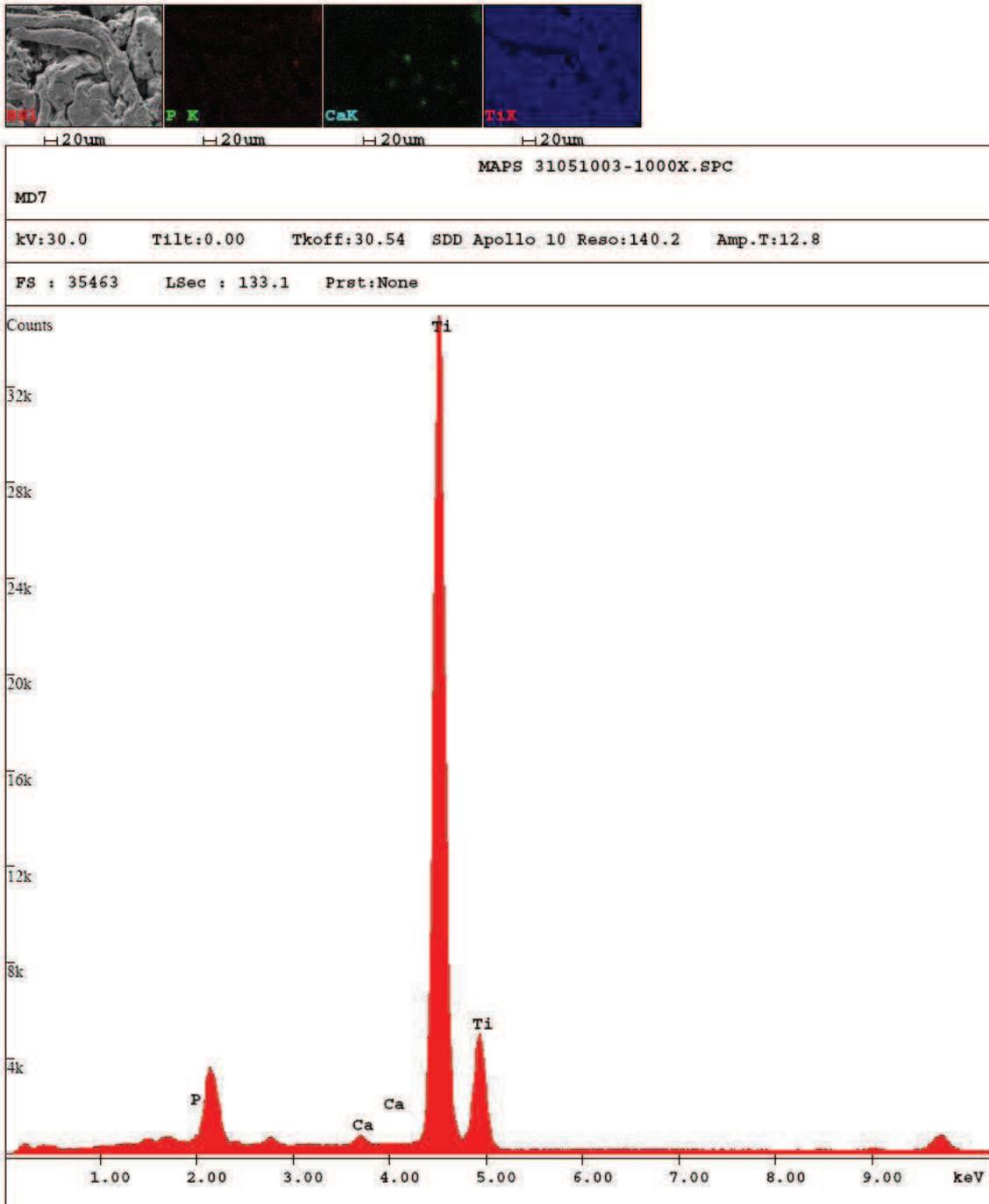


Fig. 4.36a - EDS da amostra TiM-7.

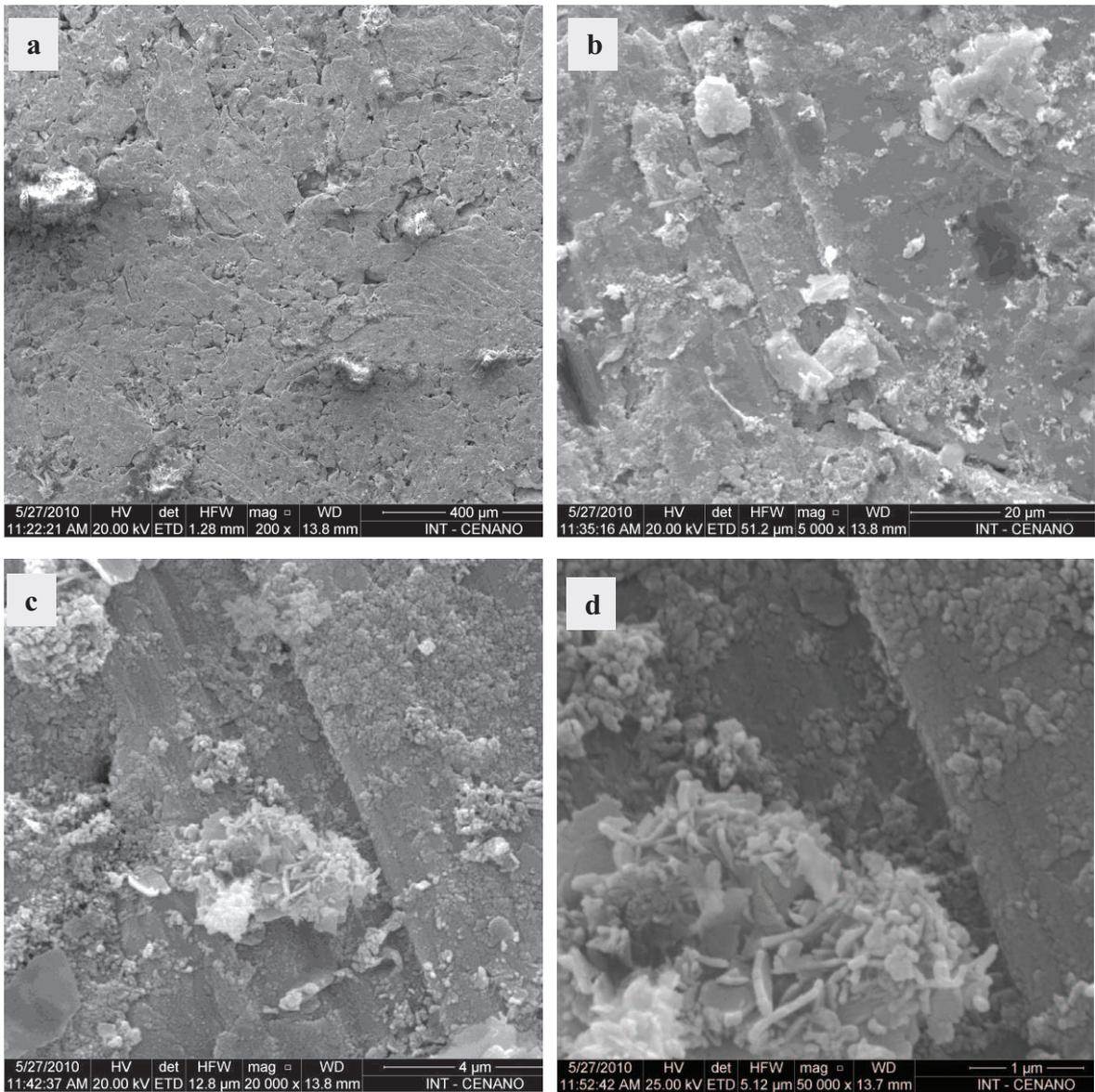


Fig. 4.37- Fotomicrografias em MEV da amostra TiM-14: (a) 200x e (b) 1.000x, (c) 5.000x, (d) 50.000x.

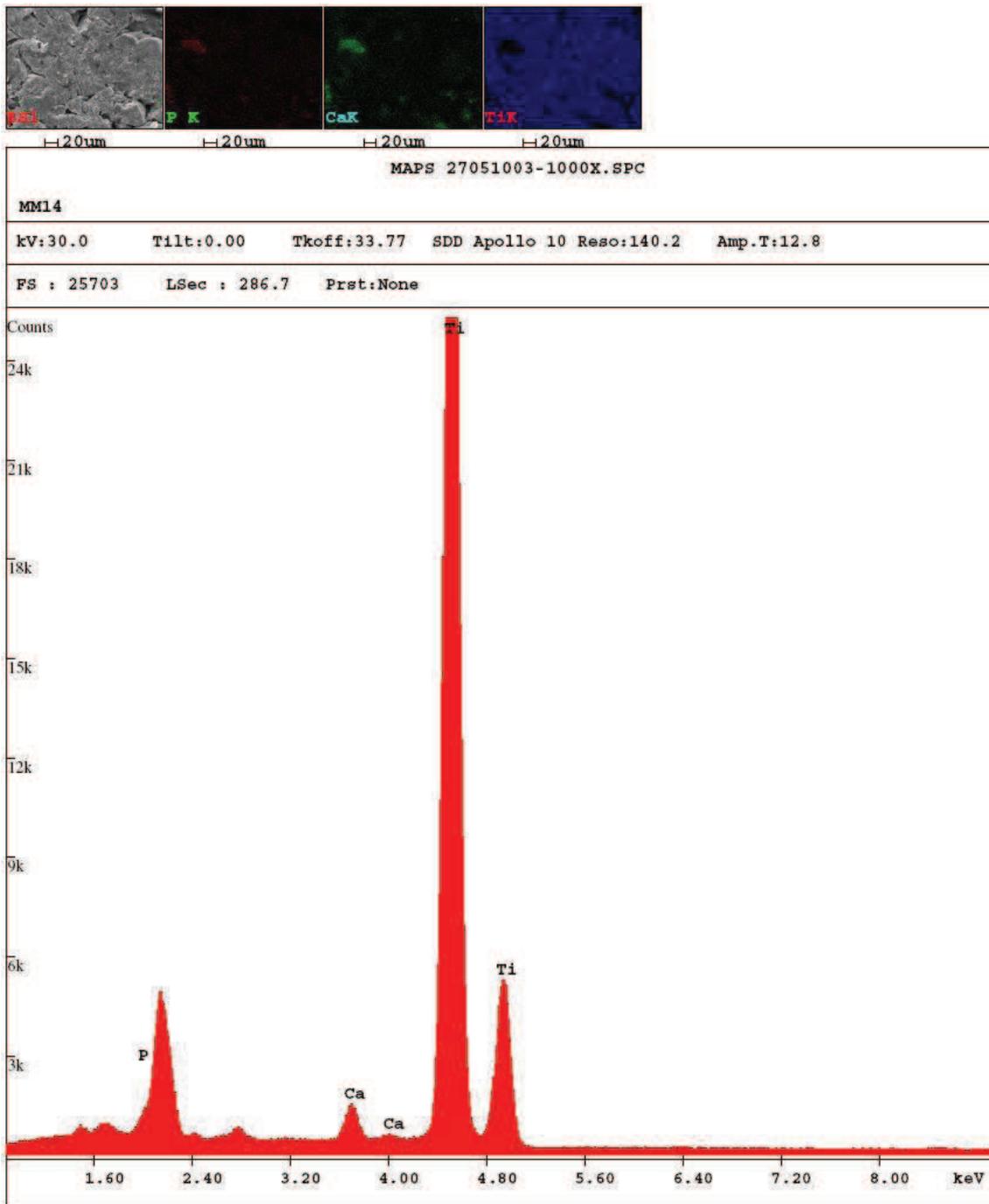


Fig. 4.37a - EDS da amostra TiM-14.

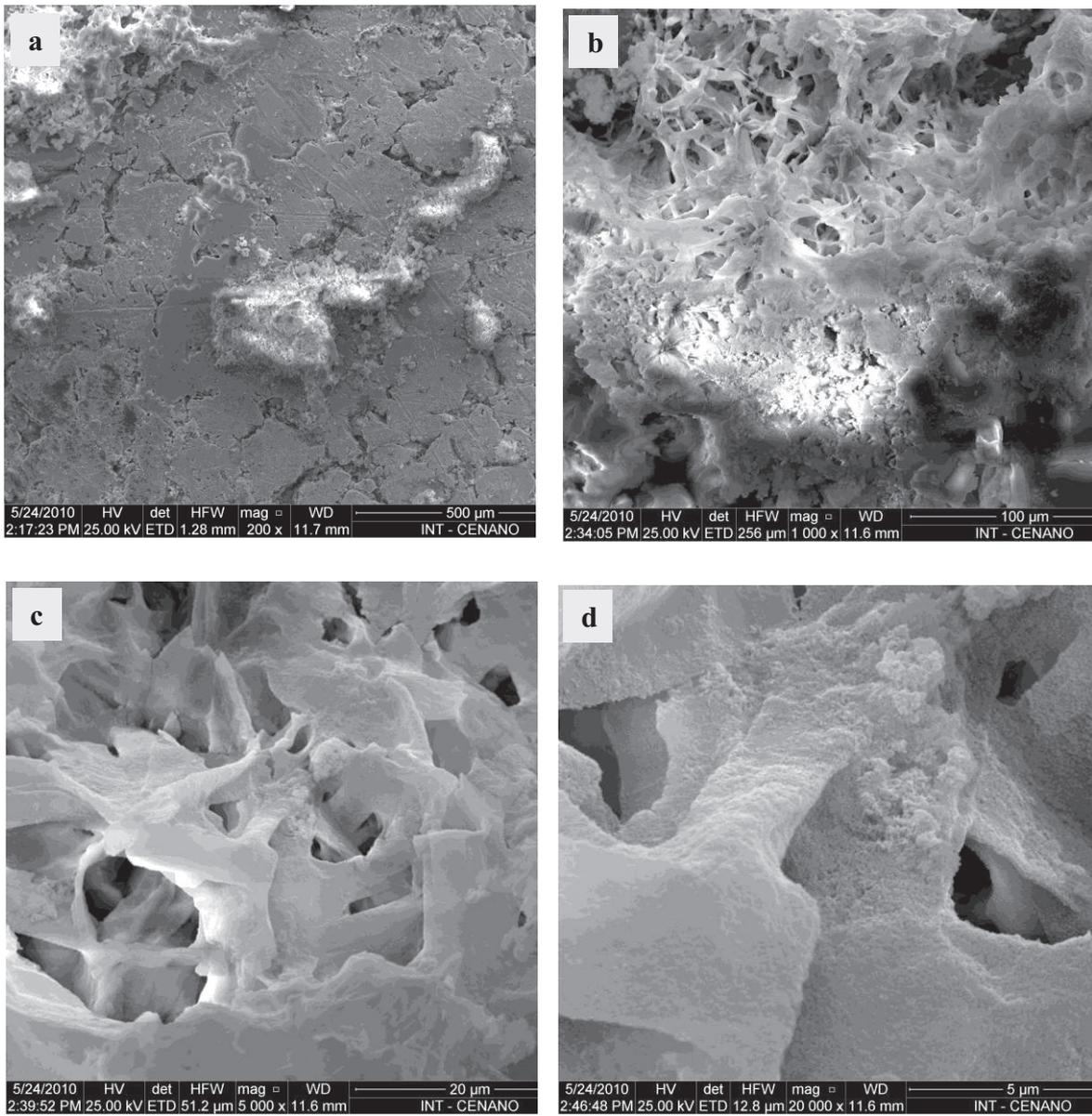


Fig. 4.38 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiM-21 com diferentes aumentos: (a) 200x, (b) 1.000x (c) 5.000x e (d) 20.000x.

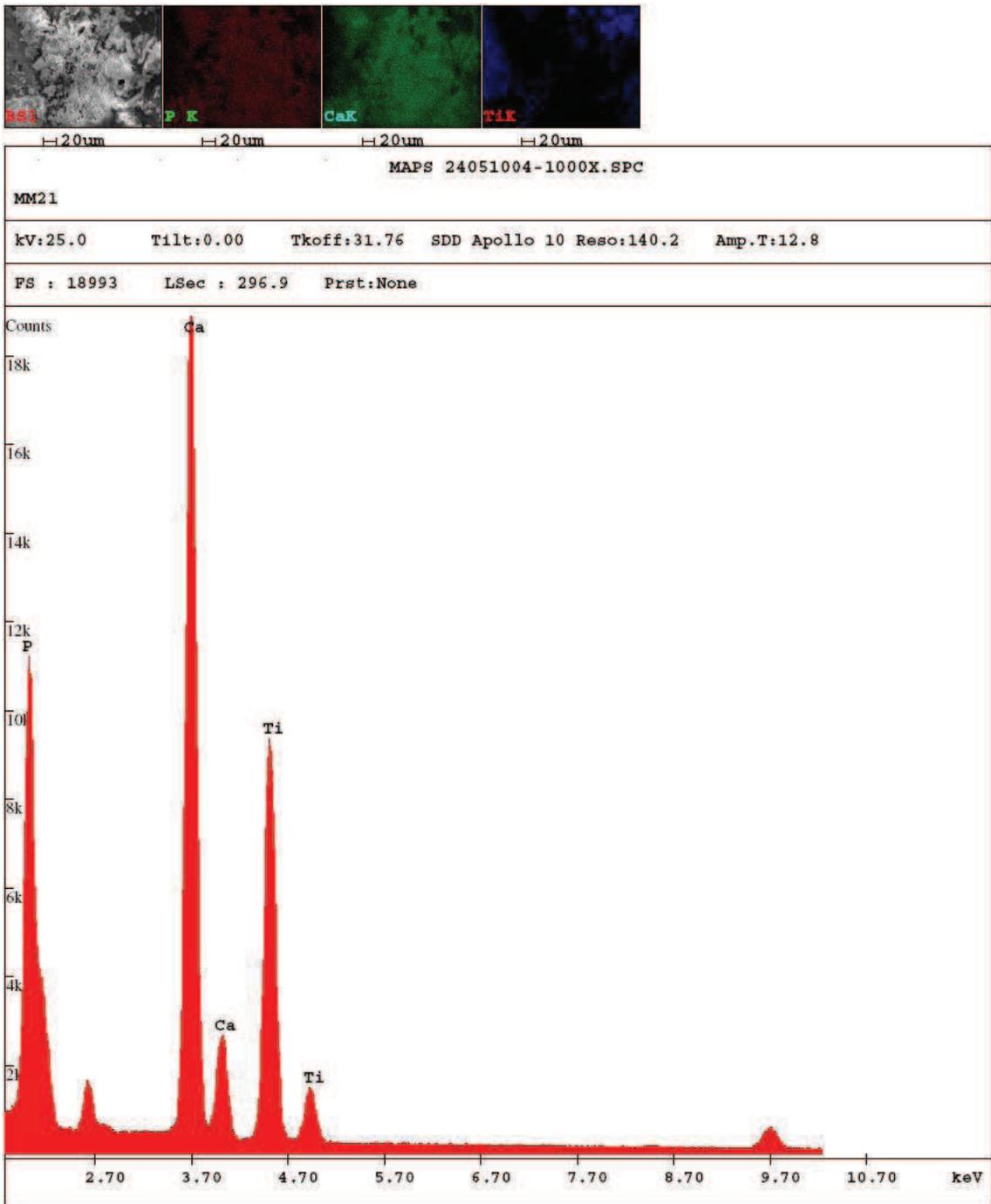


Fig. 4.38a - EDS da amostra TiM-21.

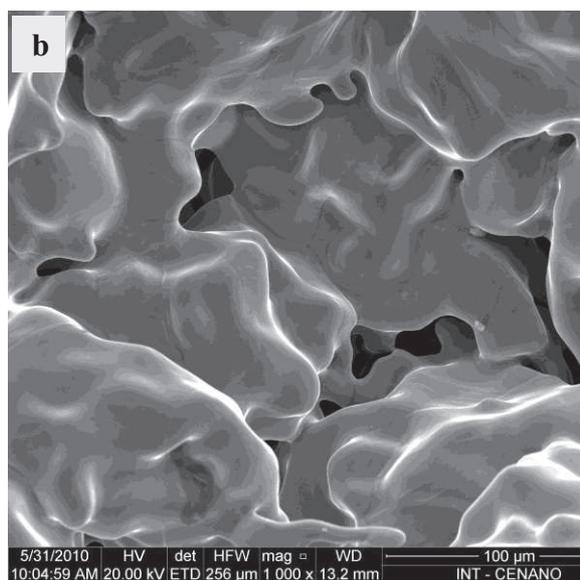
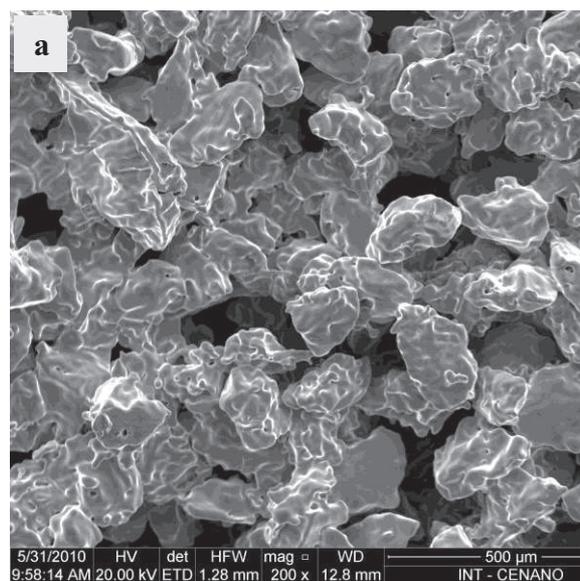


Fig. 4.39 - Fotomicrografias em MEV do substrato TiP-C, da superfície isenta de tratamento: (a) 200x e (b) 1.000x.

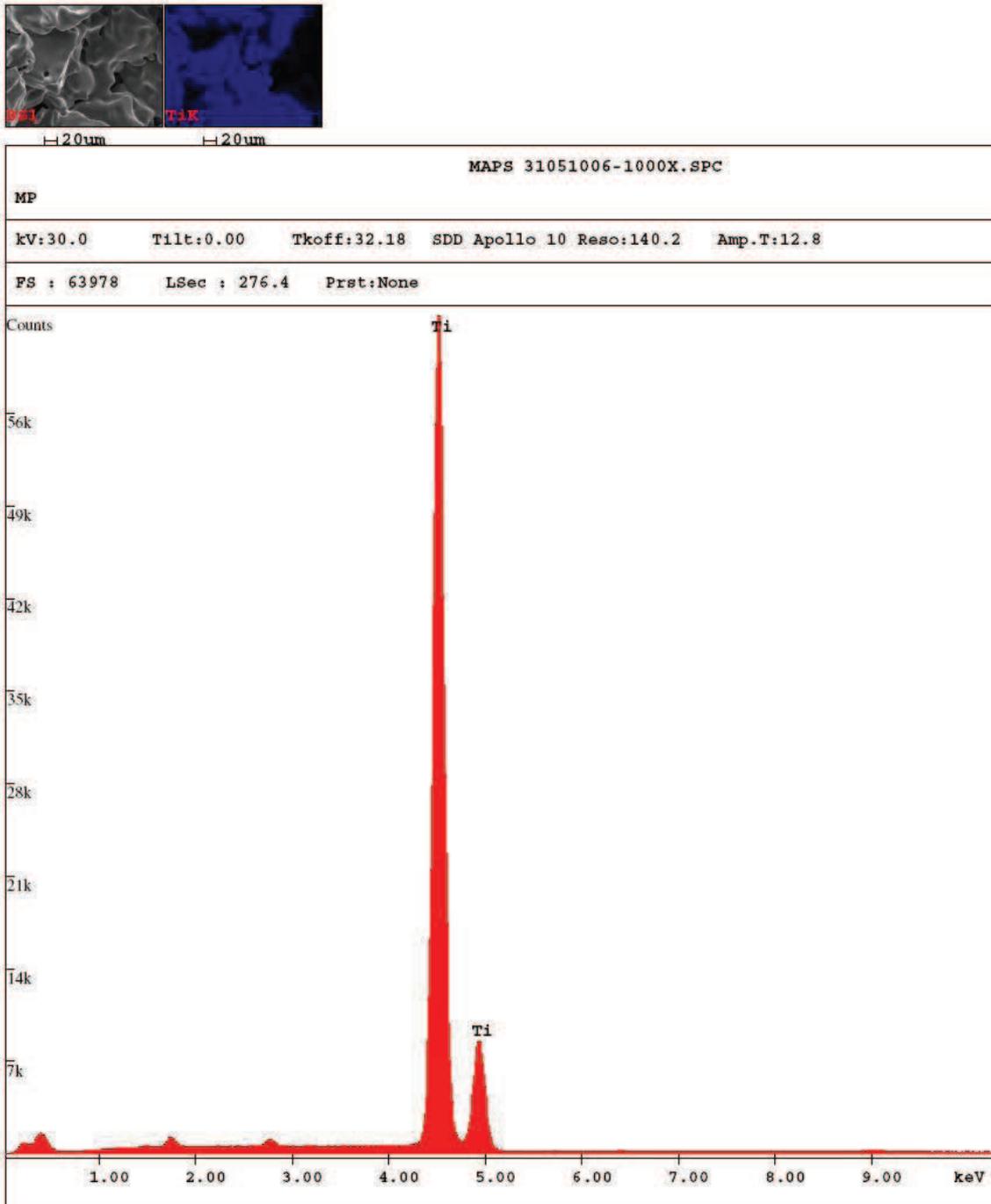


Fig. 4.39a - EDS do substrato TiP-C.

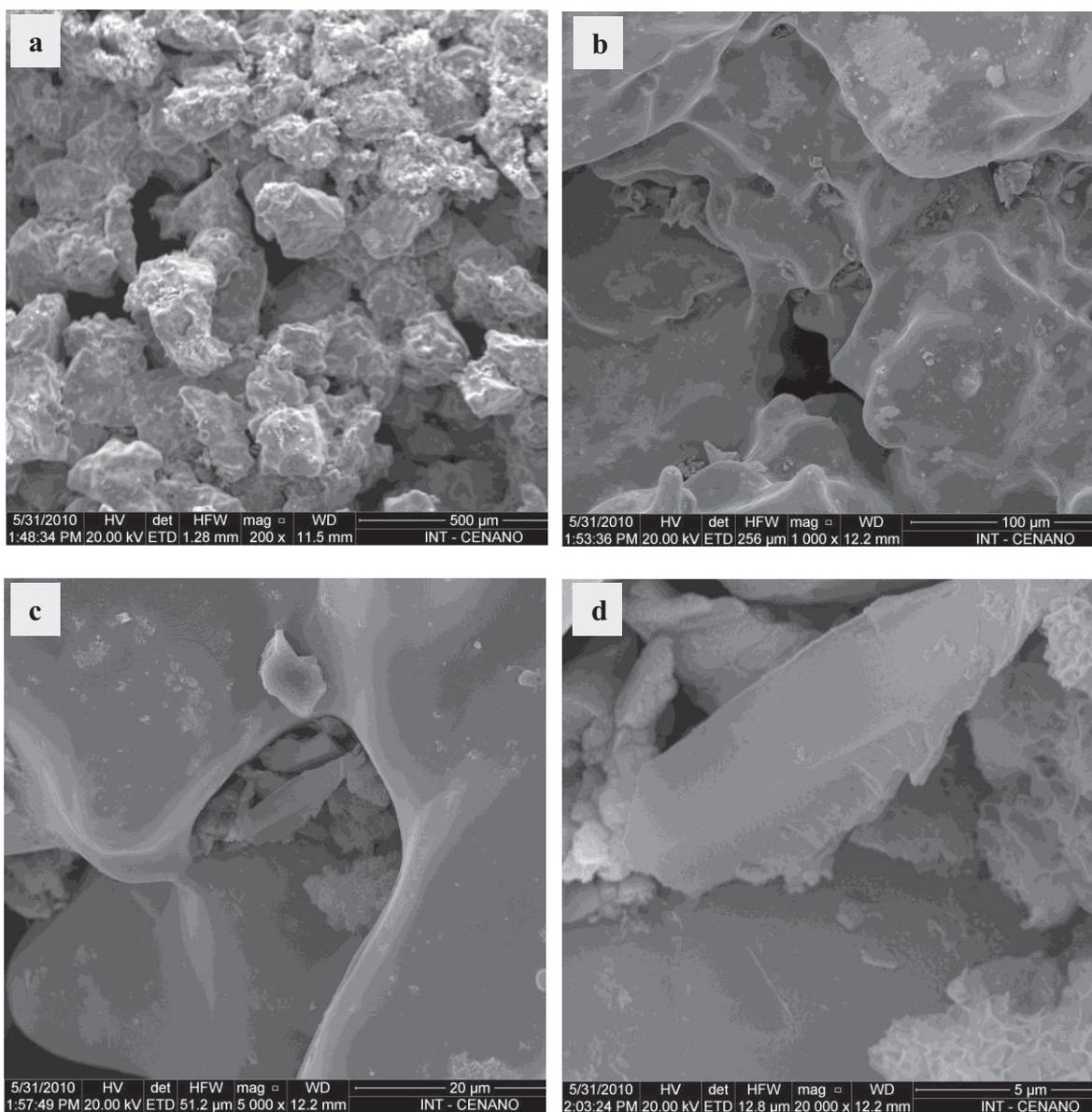


Fig. 4.40 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiP-7: (a) 200x, (b) 1.000x, (c) 5.000x e (d) 20.000x.

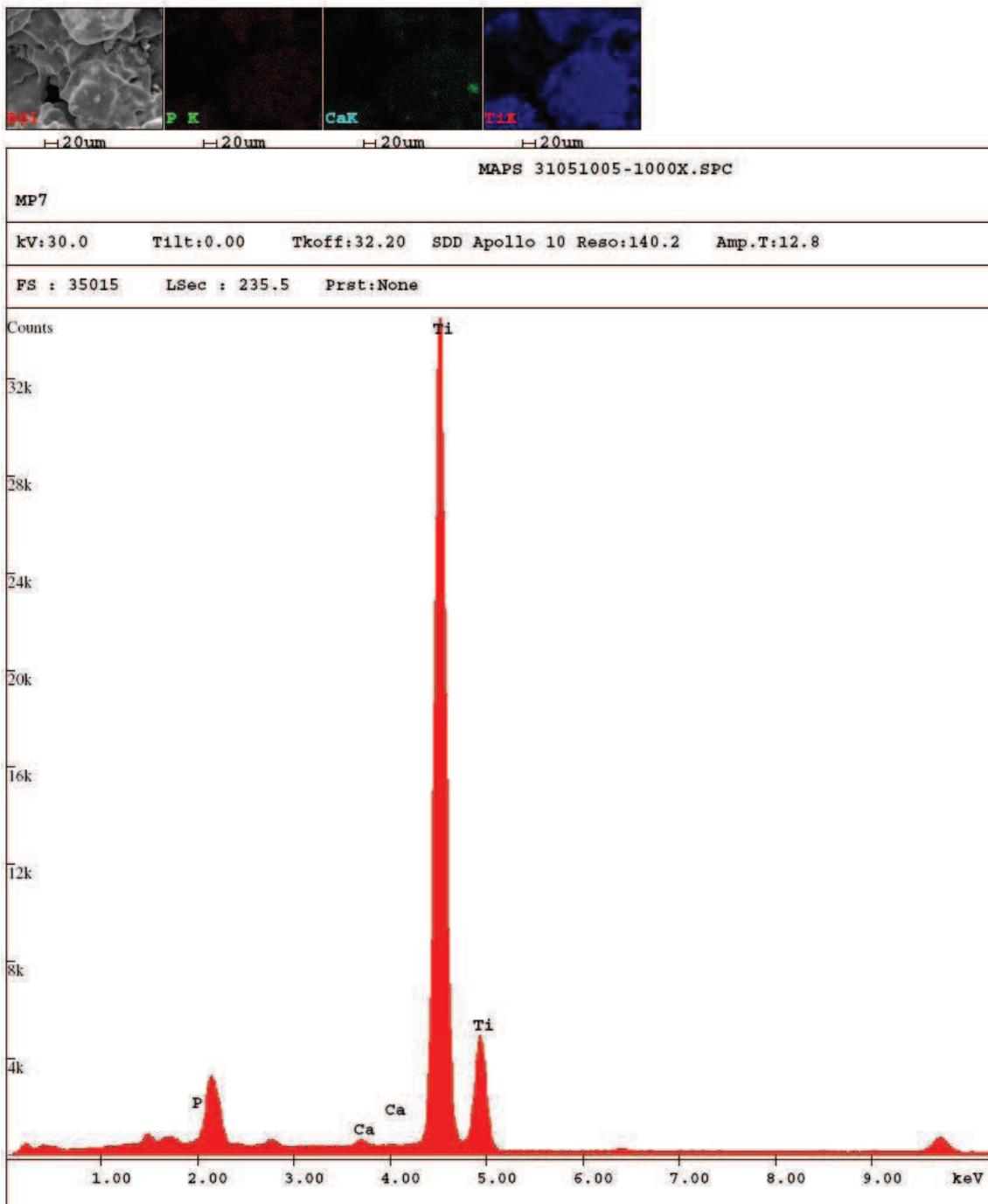


Fig. 4.40a – EDS da amostra TiP-7.

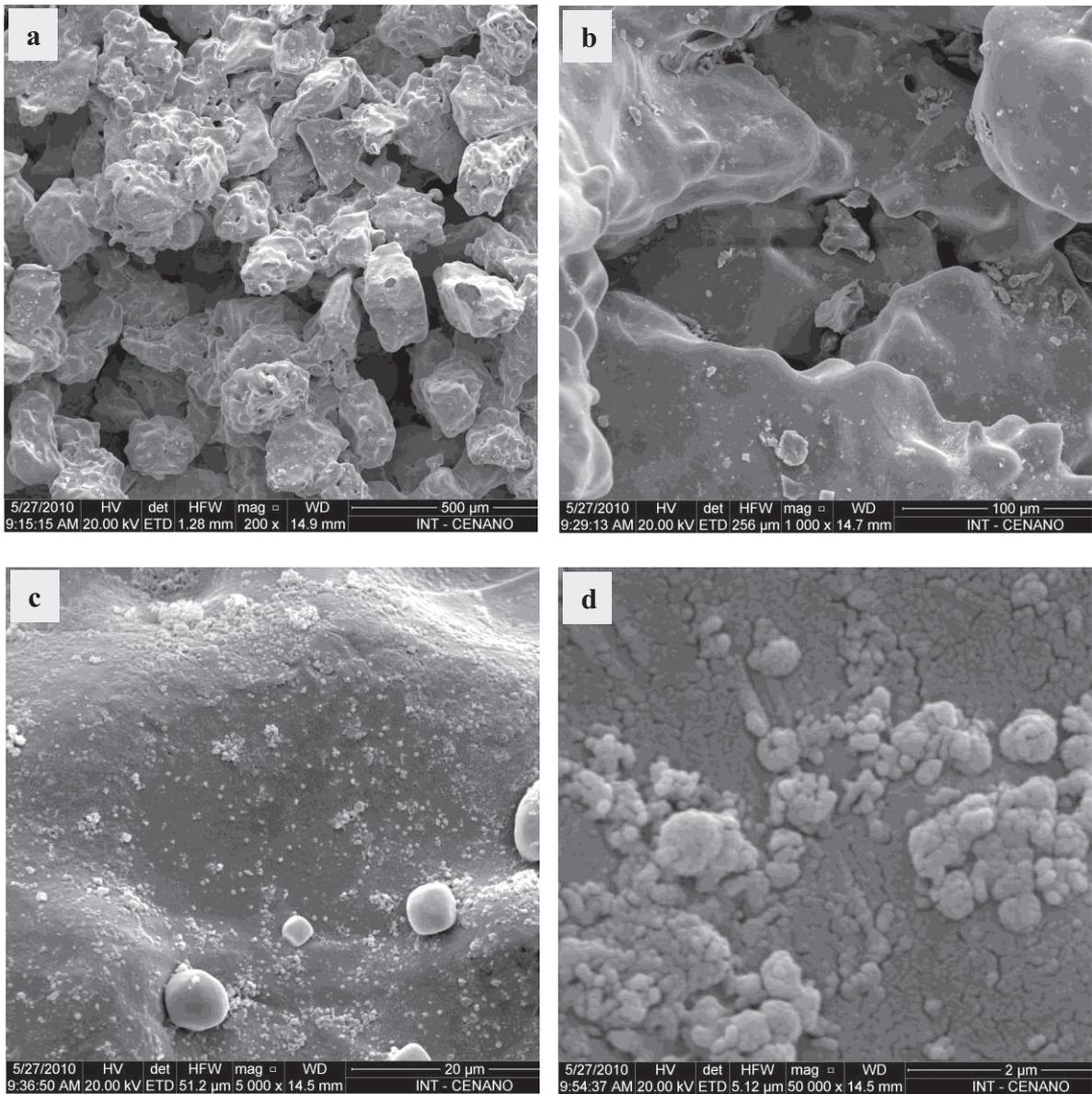


Fig. 4.41 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiP-14: (a) 200x, (b) 1.000x, (c) 5.000x e (d) 50.000x.

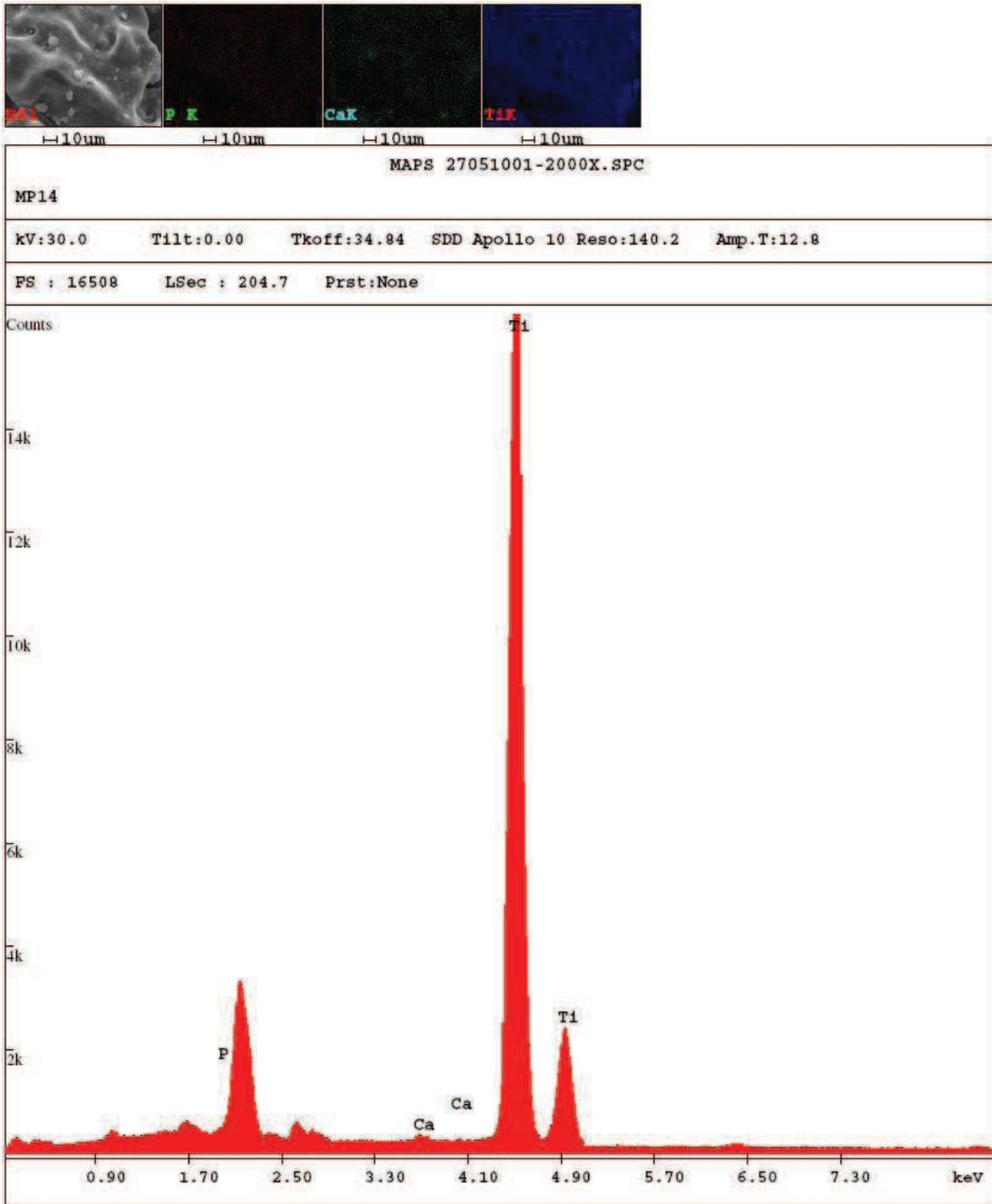


Fig. 4.41a - EDS da amostra TiP-14.

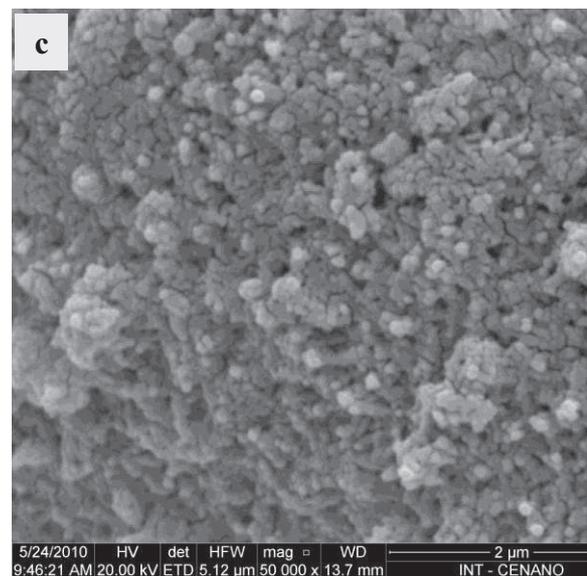
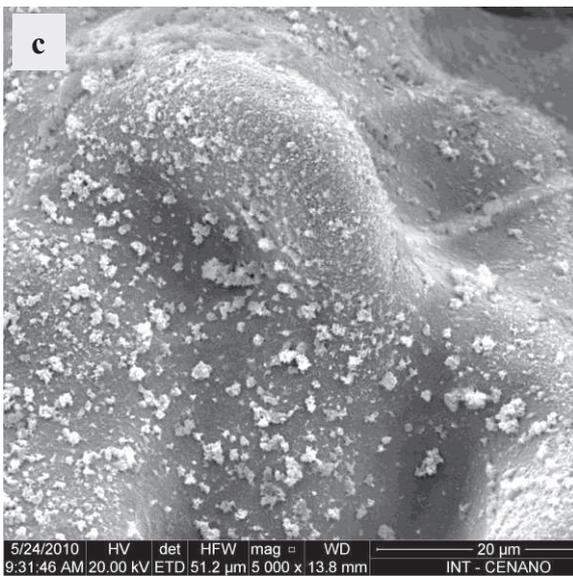
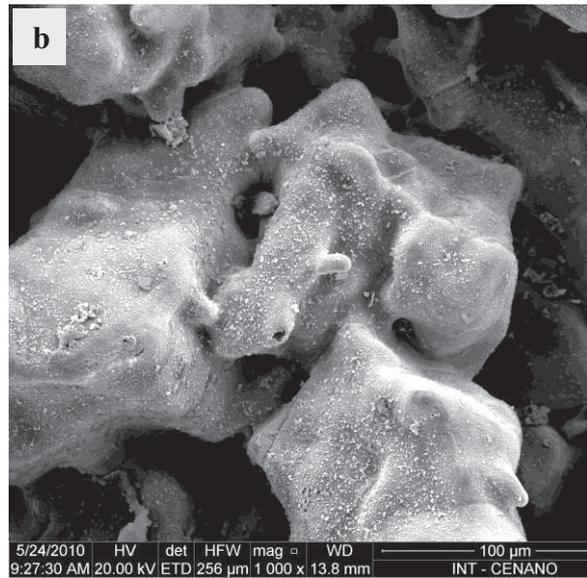
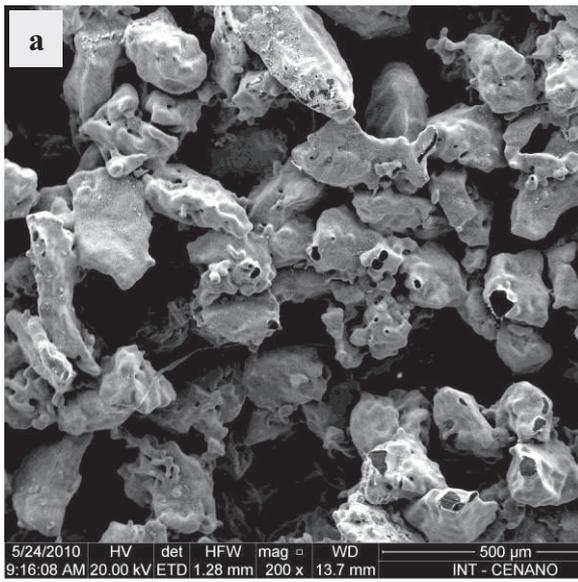


Fig. 4.42 - Fotomicrografias em MEV da amostra TiP-21: (a) 200x, (b) 1.000x, (c) 5.000x e (d) 50.000x.

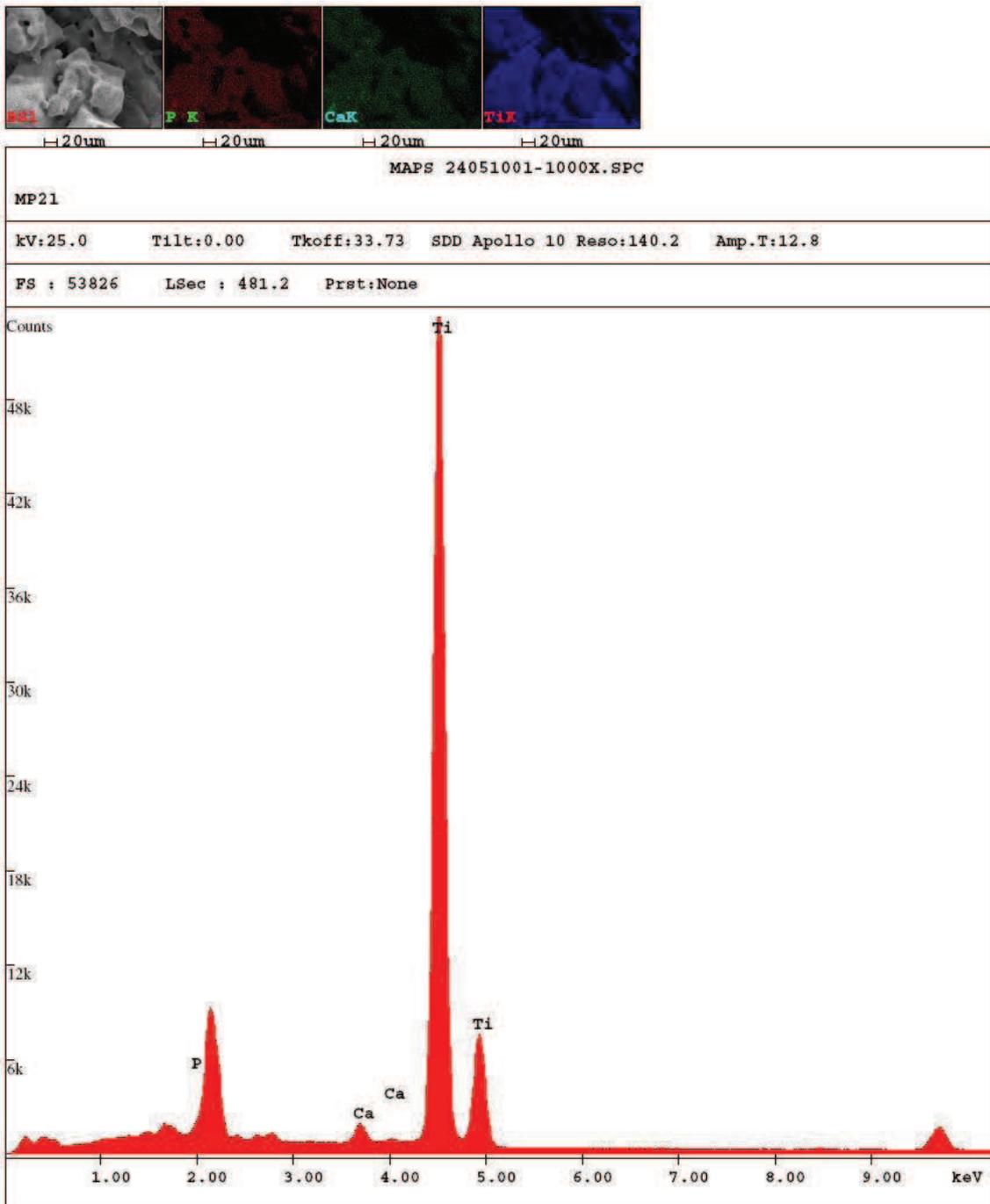


Fig. 4.42a - EDS da amostra TiP-21.

A partir das análises microestruturais obtidas pelo MEV, constatou-se que as amostras com 7, 14 e 21 dias de imersão em SS foi observada a presença de um filme homogêneo mais rugoso e de coloração mais clara do que os substratos controle na superfície dos substratos de titânio TiD, TiM e TiP. Verifica-se a formação de rosetas (Fig. 4.33d, 4.36d e 4.37d) representando o crescimento de filme de CaP em camadas, bem como estágios iniciais de nucleação heterogênea representados por núcleos sobre a superfície que quando aglomerados dão origem ao revestimento. Esse tipo de microestrutura foi também observado por RESENDE (2007). Nas micrografias apresentadas podem ser observadas precipitações de compostos com morfologias típicas de fosfatos de cálcio, em algumas imagens como glóbulos micrométricos e outras como lamínas/“plate-like”.

Os espectros do EDS apresentaram picos dos elementos Ca e P, indicando a possível formação de filme de fosfato de cálcio na superfície dos substratos. A intensidade dos picos é maior nas amostras imersas em SS por 21 dias para todos os substratos. Comparando as amostras com relação aos diferentes tipos de substratos, as amostras com substrato microporoso TiM-7, TiM-14 e TiM-21, apresentaram maior intensidade dos picos do que as amostras correspondentes com substratos denso, TiD-7, TiD-14, TiD-21 e poroso, TiP-7, TiP-14 e TiP-21. Contudo, é sabido que a alta porosidade do tipo interconecta, como a dos substratos TiP, podem dispersar os raios-x incidentes reduzindo os picos nos espectros.

Os mapas atômicos relativos aos elementos Ti, Ca e P foram consistentes com os espectros do EDS. Aqueles que apresentaram maior intensidade de Ca e P foram os mapas relativos às amostras TiM-21 (Fig. 4.38a) e TiP-21 (Fig.4.42a)

Verificou-se que, em um menor aumento, poderíamos concluir que o filme encontra-se ausente em algumas regiões, mas em micrografias com maior aumento (1000X e 5000X), percebe-se que toda a superfície encontra-se recoberta por um filme rugoso de coloração mais clara nessas regiões. Não foi verificada em todas as amostras imersas em SS a presença de trincas sobre a superfície, em concordância com os filmes obtidos por ANDRADE (2002) em seu estudo.

#### **4.7. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com a técnica de Feixe de Íons Focalizado (FIB)**

O revestimento de fosfato de cálcio (CaP) precipitado sobre a superfície do Ti foi analisado por um microscópio Nova NanoLab 600, que combina o feixe de íons focalizado (FIB) com a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV/EDS). As figuras 4.43 e 4.44 apresentam a seqüência de preparação de superfície por FIB, das amostras de titânio microporoso (TiM) e titânio poroso (TiP) com imersão por 21 dias em SS, respectivamente, para a subsequente observação em MEV.

As figuras 4.43a e 4.44a mostram as respectivas superfícies porosas do TiM e TiP, enquanto que as figuras 4.43b e 4.44b mostram as mesmas superfícies com inclinação de 52° em relação ao eixo do feixe de elétrons. Neste momento, a platina (Pt) é depositada de forma linear sobre a superfície da amostra (com espessura de 15µm x 2µm x 100µm) a fim de delimitar a região a ser avaliada e proteger a superfície durante o processo de preparo (desgaste), com o objetivo de preservar a camada de revestimento CaP a ser avaliada (Fig. 4.43c e 4.44c). A região onde o feixe de íons gálio (Ga<sup>+</sup>) desgasta o material em uma profundidade de 8,54µm é mostrada nas figuras 4.43d e 4.44d. Três camadas distintas podem ser distinguidas nas figuras 4.43e, 4.44e. Os espectros EDS mostram picos de Ca e P no revestimento (fig. 4.43f e 4.44f). A primeira camada abaixo, que aparece cinza escuro, é o substrato de Ti e a segunda camada de cor cinza claro representa o revestimento CaP depositado sobre a superfície do substrato. A camada de Pt está acima.

A análise por MEV da seção transversal/FIB, nas figuras 4.45 e 4.46, apresentou revestimento fino com  $217,70 \pm 19,87$ nm e  $54,30 \pm 11,88$  nm de espessura (valor médio de medidas realizadas na análise) e nanoporos no revestimento das amostras de TiM e TiP, respectivamente. Os espectros EDS/FIB relacionados ao revestimento fino também apresentam picos de Ca e P, sendo os picos P e Pt coincidentes. A interface dos revestimentos com os substratos TiM e TiP é coerente e sem defeitos em ambas amostras, mostrando uma superfície com deposição contínua do filme de fosfato de cálcio. Os resultados mostraram a deposição dos revestimentos com morfologia uniforme e homogênea com uma interface coerente sobre o substrato de Ti, indicando o potencial da solução para revestimento de CaP em substratos de Ti.

A partir da seção transversal, foi possível obter imagens da camada depositada e mapear a distribuição de cálcio, fósforo e titânio nesta superfície. Nas figuras 4.47 e 4.48 são apresentados o corte transversal com o revestimento na superfície das amostras TiM-21 e TiP-21, os respectivos espectros de EDS e os mapas da composição química ao longo da espessura do revestimento. A partir dos mapas é possível identificar o substrato Ti e os elementos Ca e P no revestimento.

A caracterização do revestimento por EDS indicou que o revestimento de apatita formada com o tratamento biomimético apresenta elementos que compõe os fosfatos de cálcio, corroborando com os resultados encontrados na análise MEV/EDS.

O MEV foi o principal método escolhido para a caracterização das amostras por ser considerado um método de visualização direta das características microestruturais da superfície, tendo-se a opção de se escolher o aumento mais adequado para cada imagem gerada.

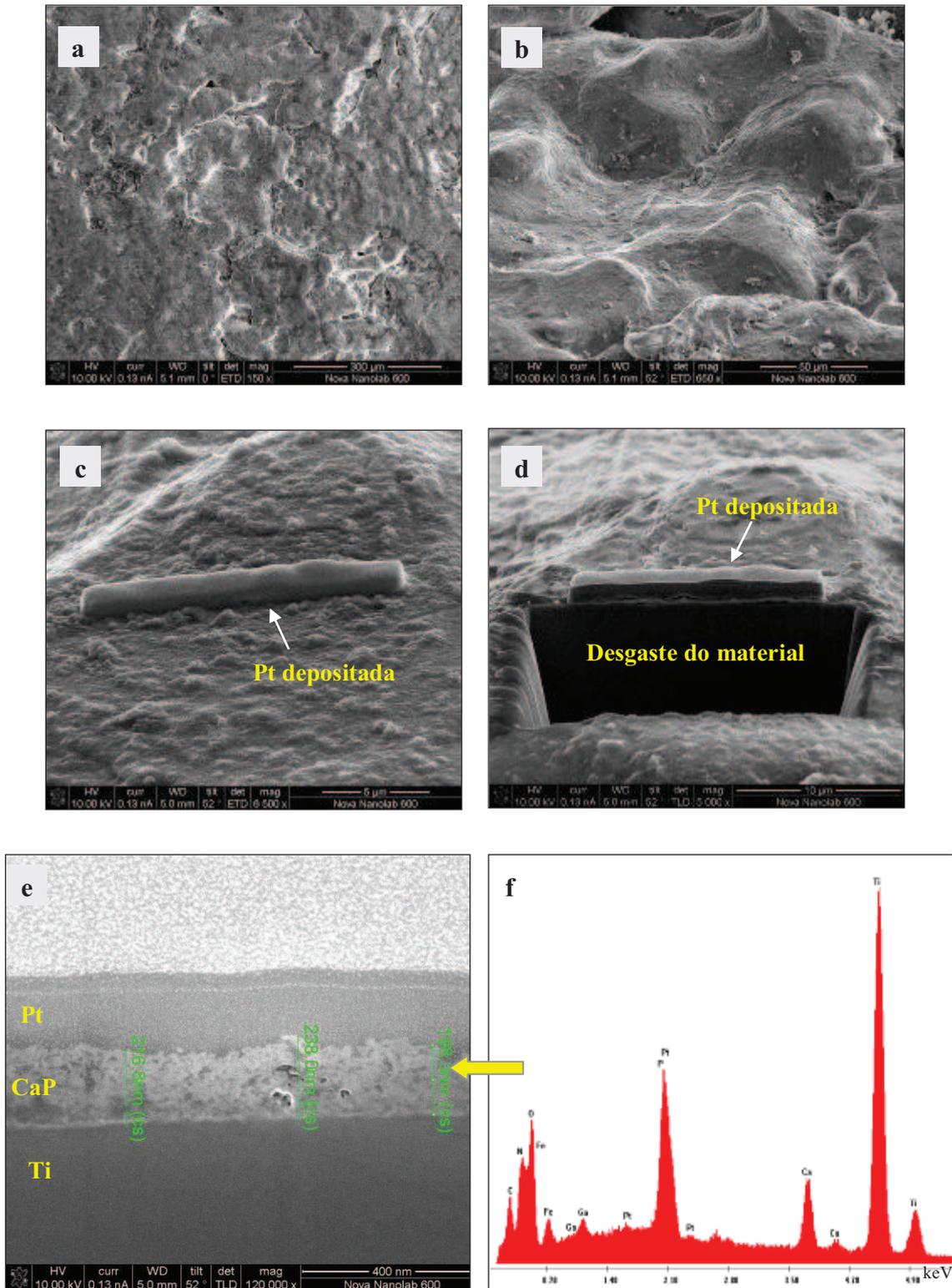


Fig. 4.43 - Micrografia MEV do preparo da superfície por FIB: (a) (b) superfície da amostra TiM-21; (b) superfície com inclinação de 52°; (c) deposição de camada linear de platina (Pt); (d) superfície desgastada; (e) visualização das camadas distintas (Pt, CaP e Ti); (f) espectro EDS com picos de Ca e P no revestimento.

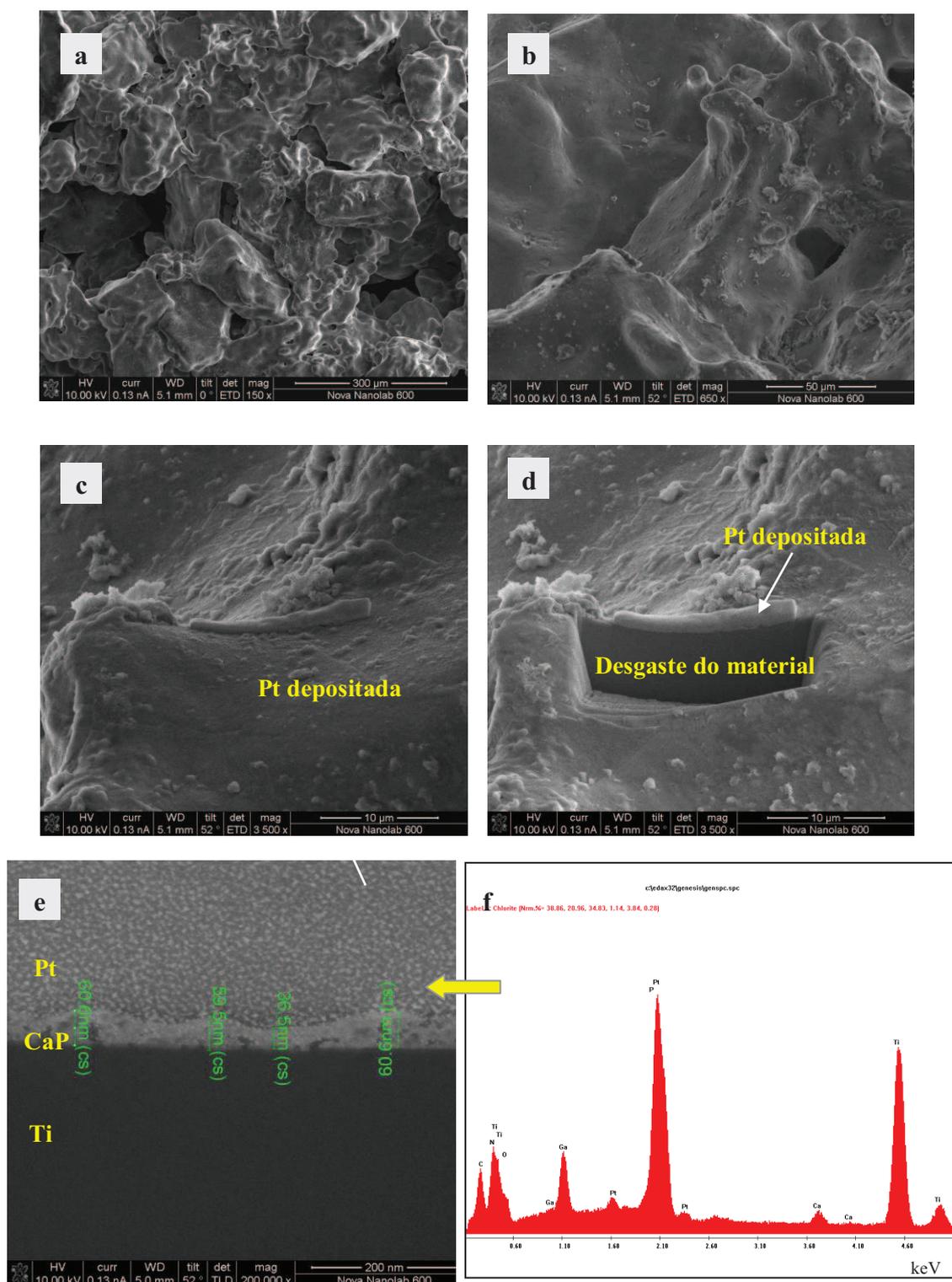


Fig. 4.44 - Micrografia MEV do preparo da superfície por FIB: (a) (b) superfície da amostra TiM-21; (b) superfície com inclinação de 52°; (c) deposição de camada linear de platina (Pt); (d) superfície desgastada; (e) visualização das camadas distintas (Pt, CaP e Ti); (f) espectro EDS com picos de Ca e P no revestimento.

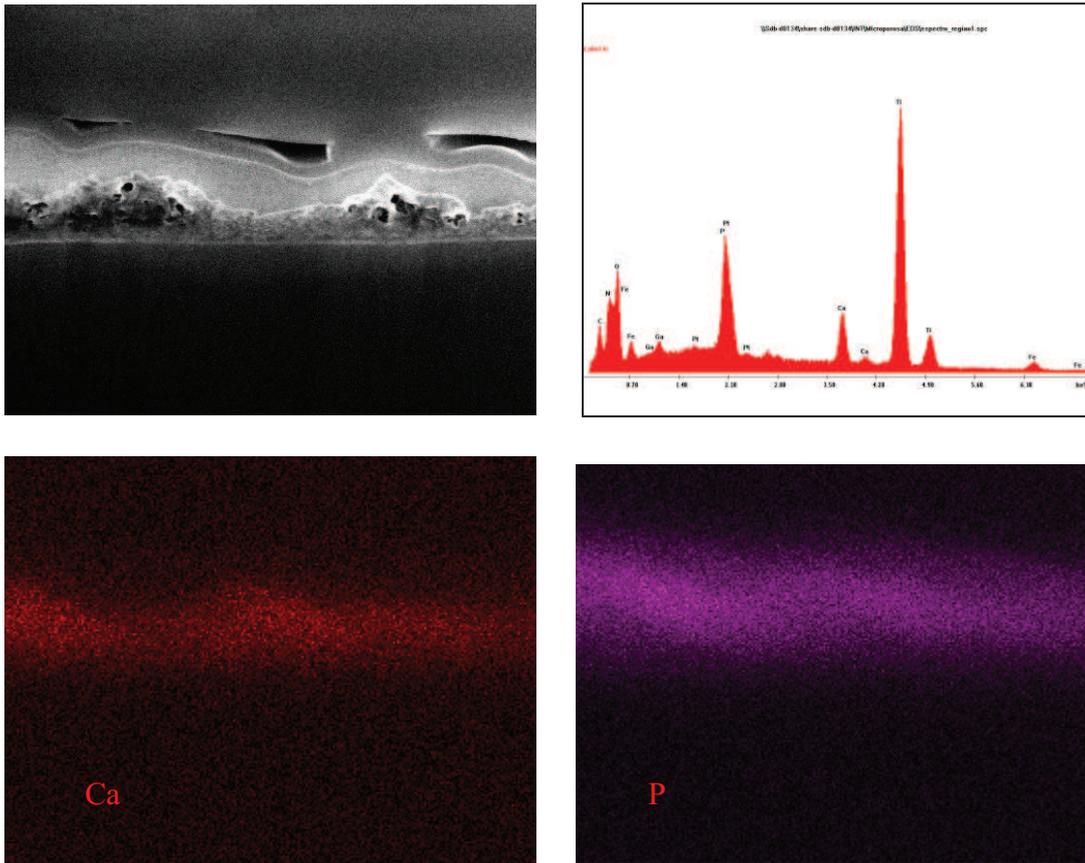


Fig. 4.45 - Micrografia da amostra TiM-21 com revestimento de CaP, espectro EDS e mapas atômicos.

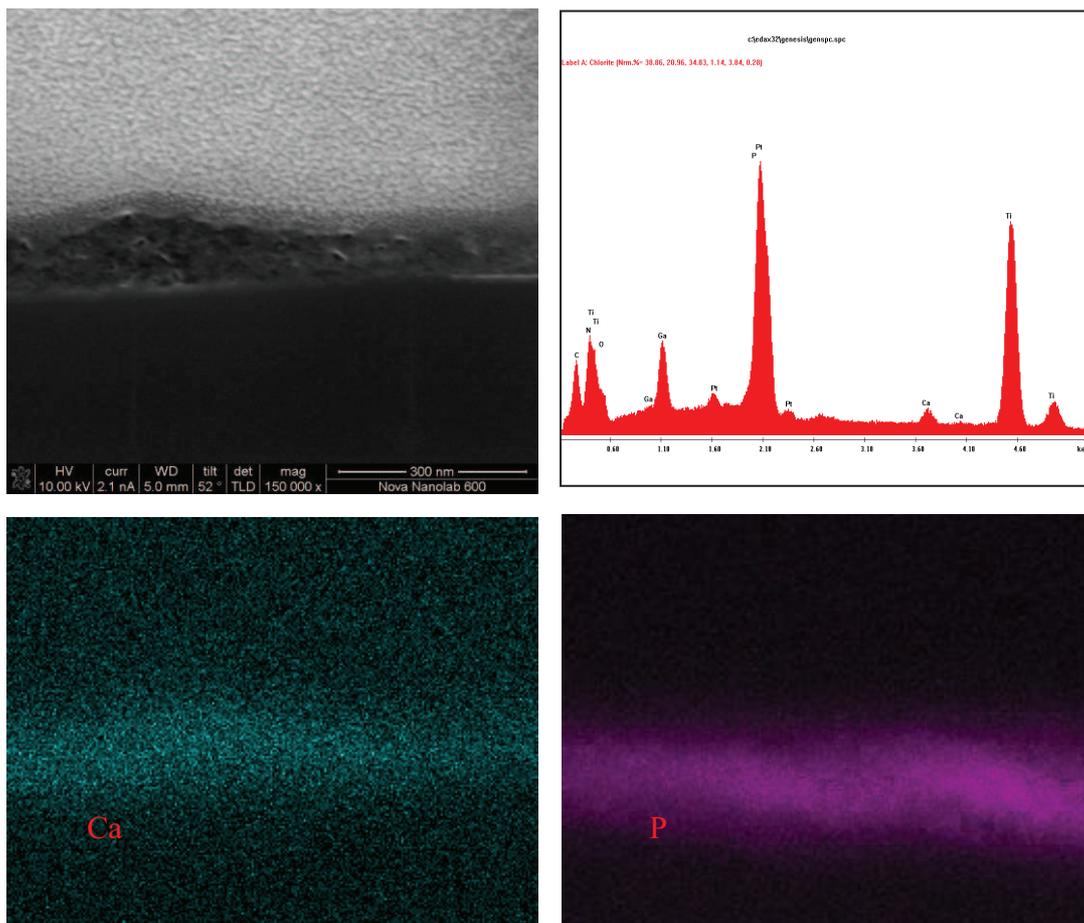


Fig. 4.46 - Micrografia da amostra TiP-21 com revestimento de CaP, espectro EDS e mapas atômicos.

#### 4.8. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Medidas de FTIR foram realizadas por refletância total atenuada (ATR) na superfície das amostras com filmes de fosfato de cálcio. Foram obtidos espectros de FTIR na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ . As medidas de FTIR realizadas nas amostras TiD-21, TiM-21 e TiP-21 imersas por 21 dias em SS, deram suporte às discussões e conclusões obtidas a partir das medidas anteriores de EDS e SDRX. Com relação às amostras TiD-7, TiD-14, TiM-7, TiM-14, TiP-7 e TiP-14, devido à fina camada depositada, a técnica de FTIR-ATR não foi capaz de detectar bandas de fosfato de cálcio, mas nas análises de MEV/EDS, tipos morfológicos de fosfato de cálcio foram observados.

A hidroxiapatita (Hap),  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})$ , é um tipo de ortofosfato de cálcio e o principal componente mineral do osso biológico. Este composto mostra absorção em um espectro FTIR devido às vibrações dos grupos fosfato e hidroxila. Em apatitas biológicas, alguns íons fosfato ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) são substituídos por íons carbonato ( $\text{CO}_3^{-2}$ ) e o espectro FTIR é sensível a estas substituições. O fosfato é caracterizado por bandas localizadas em 1081, 954, 631, 601 e 570  $\text{cm}^{-1}$ . A hidroxiapatita carbonatada apresenta vibrações C–O na região de alta energia entre 1410 e 1470  $\text{cm}^{-1}$  e na região de baixa energia entre 850 e 890  $\text{cm}^{-1}$ . A posição do pico do carbonato depende se o íon  $\text{CO}_3^{-2}$  substitui o  $\text{OH}^-$  ou  $\text{PO}_4^{-3}$  na estrutura da hidroxiapatita. A hidroxiapatita cristalina gera duas bandas  $\text{OH}^-$  características em aproximadamente 3562 e 630  $\text{cm}^{-1}$ . Pode ocorrer que estas bandas estejam ausentes no espectro FTIR. Alguns autores atribuem estas ausências devido às vibrações da hidroxila na superfície da apatita sofrem perturbações por pontes de hidrogênio das moléculas de água aos íons  $\text{OH}^-$  da superfície. Outro tipo de ortofostato de cálcio de relevância biológica é o fosfato octacálcio (OCP),  $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , cujas bandas de absorção referentes ao íon  $\text{HPO}_4^{-2}$  aparecem em 1105, 1070, 1031, 954, 603, 530  $\text{cm}^{-1}$  e as referentes ao íon  $\text{PO}_4^{-3}$  em 1038, 1022, 1025 e 920  $\text{cm}^{-1}$ . (STOCH, 1999, LAYROLLE, 2009)

A figura 4.47 mostra os espectros FTIR-ATR das amostras TiD-21, TiM-21 e TiP-21, as quais apresentaram espectros bastante similares. As bandas em 1418 e 895  $\text{cm}^{-1}$ , figura 4.47a, 1439  $\text{cm}^{-1}$ , figura 4.47b, 1408 e 893  $\text{cm}^{-1}$ , figura 4.47c, indicam vibrações  $\text{CO}_3^{-2}$  provenientes da estrutura de hidroxiapatita carbonatada. As amostras TiD-21 e

TiP-21, figuras 4.47a e 4.47c, mostraram absorção em  $1150\text{ cm}^{-1}$  enquanto que a amostra TiM-21 mostrou em  $1163\text{ cm}^{-1}$ , figura 4.47b, indicando vibrações  $\text{HPO}_4^{-2}$  relacionadas à estrutura OCP. Ainda com relação à estrutura OCP, nas figuras 4.47a, 4.47b e 4.47c são apresentadas bandas em  $1018$ ,  $1043$  e  $1016\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente, que indicam vibrações  $\text{PO}_4^{-3}$ . As figuras 4.47a e 4.47c mostram absorções em  $1080\text{ cm}^{-1}$  indicando vibrações  $\text{PO}_4^{-3}$  na estrutura da hidroxiapatita e banda em  $939\text{ cm}^{-1}$  indicando vibrações  $\text{PO}_4^{-3}$  ou  $\text{HPO}_4^{-2}$ , a qual pode estar relacionada às estruturas hidroxiapatita ou OCP, respectivamente. Os espectros de todas as amostras apresentaram absorção em  $3500\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$  como também em  $1601\text{ cm}^{-1}$ , figura 4.47a,  $1609\text{ cm}^{-1}$ , figura 4.47b,  $1595\text{ cm}^{-1}$ , figura 4.47c, que são referentes às moléculas de água. Tais resultados apresentaram boa concordância com a literatura, mostrando deposição de fosfato de cálcio sobre a superfície dos diferentes substratos.

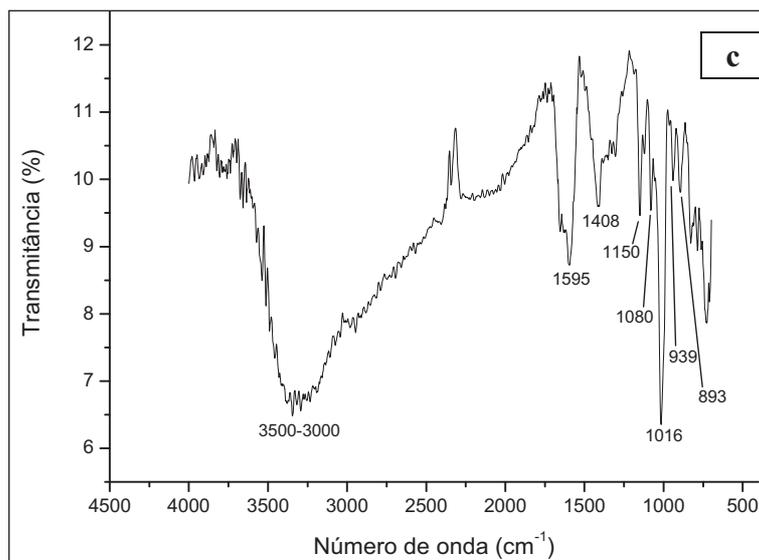
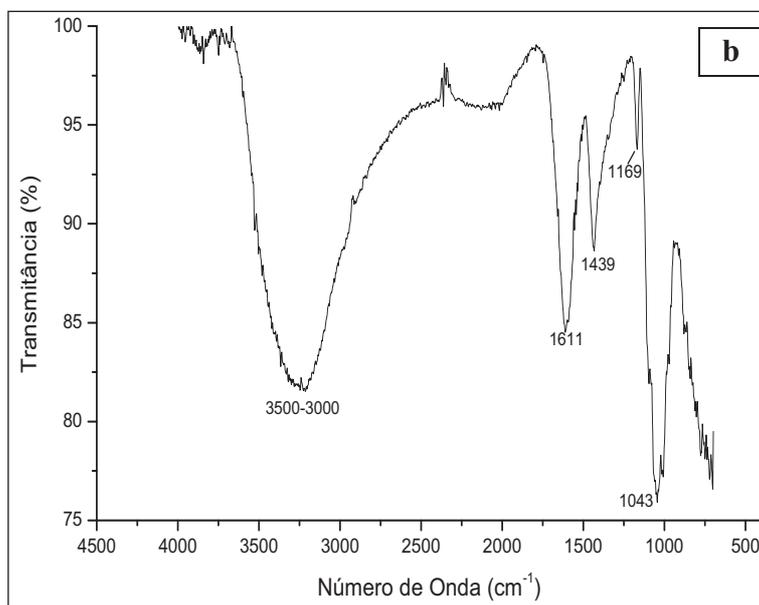
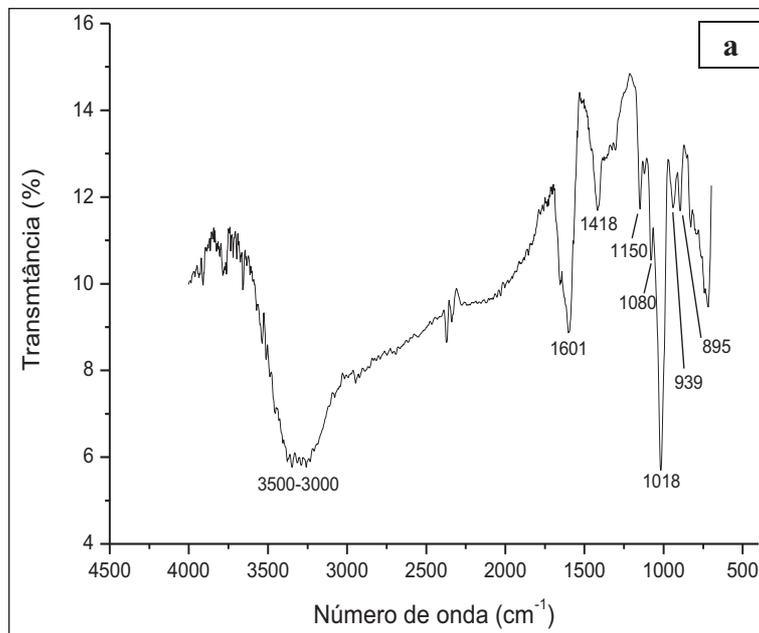


Fig. 4.47 - Espectros FTIR-ATR dos revestimentos: (a) amostra TiD-21, (b) amostra TiM-21; (c) amostra TiP-21.

#### 4.9. Espectroscopia RAMAN

As duas formas de espectroscopia vibracional empregadas neste estudo permitem uma compreensão completa destes sistemas, porque exploram diferentes propriedades da molécula. Espectroscopia no infravermelho requer uma mudança no momento dipolar sendo sensível aos movimentos polar da molécula, enquanto a espectroscopia Raman requer uma mudança na polarizabilidade, e, portanto, sensíveis aos movimentos apolares da molécula. Estas duas técnicas fornecem informações sobre as vibrações de fosfatos e as vibrações da água (NOTNGHER *et al.*, 2003).

A Espectroscopia Raman das amostras TiD, TiM e TiP com revestimento de fosfato de cálcio obtido com 21 dias de imersão em SS, foi utilizada para a identificação das estruturas formadas sobre a superfície.

Enquanto os espectros de infravermelho de fosfatos de cálcio apresentam vários picos com intensidades relevantes referentes aos grupos funcionais de fosfatos de cálcio, no Raman aparece predominantemente um único pico bem definido e com elevada intensidade em  $962\text{ cm}^{-1}$ , correspondente à hidroxiapatita (Fig. 4.48, 4.49 e 4.50). Isto pode ser confirmado com trabalhos na literatura (MITCHELL *et al.*, 1996, NOTNGHER *et al.*, 2003, MACHADO *et al.*, 2008). O pico de fosfato apareceu na amostra TiD-21 e na amostra TiP-21, porém não apareceu na amostra TiM-21.

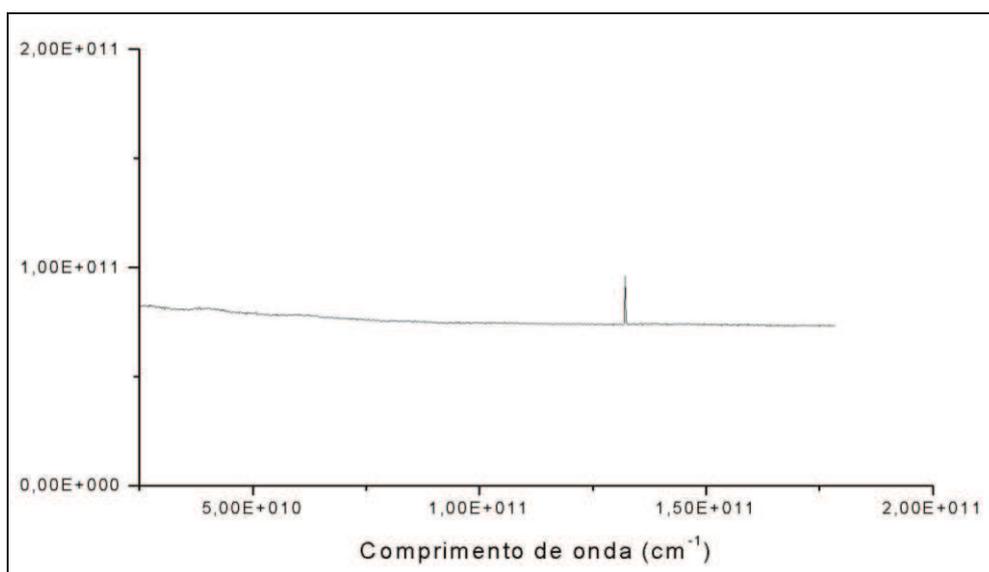


Fig. 4.48- Espectroscopia Raman da amostra TiD-21.

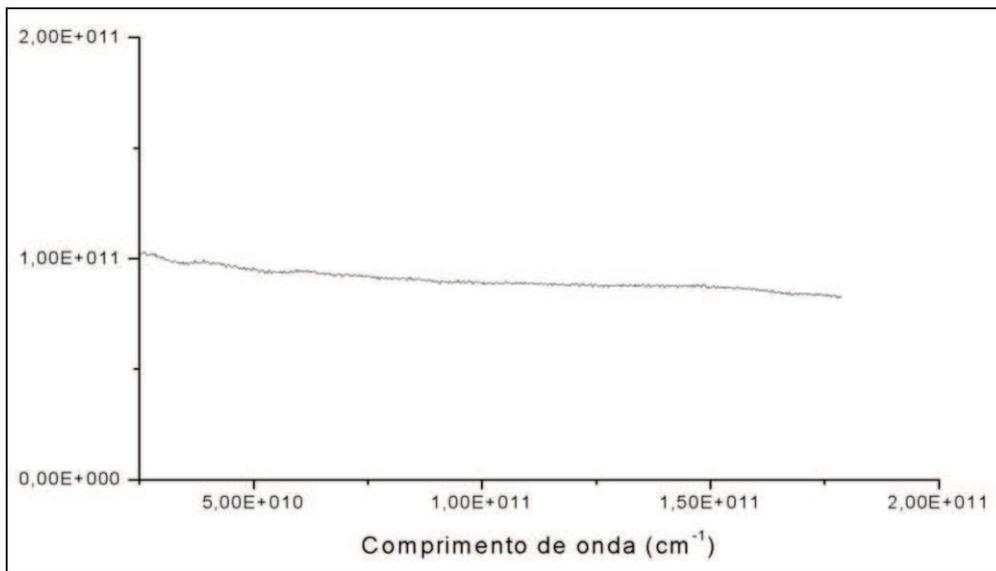


Fig. 4.49 - Espectroscopia Raman da amostra TiM-21.

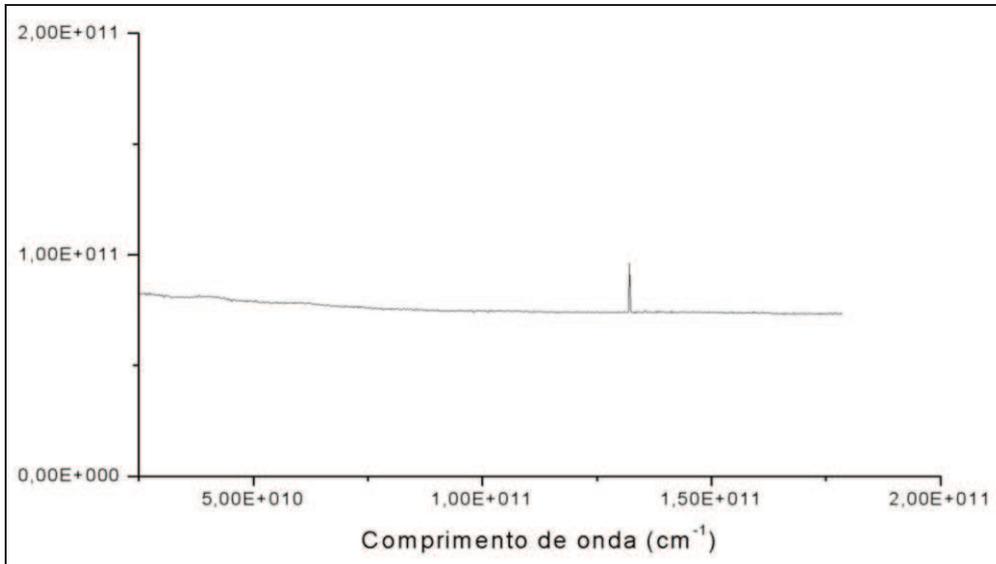


Fig. 4.50 - Espectroscopia Raman da amostra TiP-21.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

A metalurgia do pó foi adotada pelo grupo de pesquisa como uma alternativa viável para o processamento de substratos de titânio, em virtude das características operacionais que permeiam a técnica e a capacitação laboratorial do LATEP/INT. A pesquisa que originou este trabalho vem utilizando a técnica com o objetivo de obter substratos sinterizados de titânio puro com porosidade controlada e de estudar o efeito da quantidade e do tamanho médio de partículas na obtenção dos mesmos (SILVA, 2001, MEDEIROS, 2006).

A partir da análise de difração de raios-x pode-se constatar que os substratos processados por metalurgia do pó (TiM e TiP), estavam de acordo com as recomendações da norma ASTM F 67-06 quanto ao teor de elementos químicos para titânio grau 2.

Os resultados de microscopia confocal revelaram que o tratamento termo-químico aumenta a rugosidade superficial dos substratos, possivelmente em função da formação do composto titanato de sódio na sua superfície, devido aos tratamentos químico e térmico. Tal fato é esperado e além de favorecer a deposição de fosfatos de cálcio propicia uma superfície adequada para o revestimento, conforme relatado em estudos na literatura (NISHIGUCHI, 2001, YANG, 2004, TAKEMOTO, 2005).

A partir da análise em AFM, pode ser verificada uma alteração da topografia da superfície das amostras, após deposição de revestimento, de forma distinta para cada substrato avaliado (TiD e TiM). Possivelmente em função das diferentes superfícies do substrato, ocorreu uma deposição diferenciada que acarretou uma alteração nos parâmetros de rugosidade, resultando em um aumento da rugosidade para a amostra TiM, com relação ao substrato sem revestimento. Diferentemente, foi observado que a amostra TiD teve seus parâmetros de rugosidade reduzidos. Em função do alto grau de porosidade apresentado pela amostra TiP não foi possível a realização da análise em AFM.

Ao analisar as imagens de MEV/EDS, foram observados compostos com morfologia do tipo globular ou lamelar (plate-like) típicas de fosfatos de cálcio depositados ao longo da superfície de todas as amostras de Ti imersas em SS por 7, 14 ou 21 dias. Este resultado está em concordância com os estudos que obtiveram morfologias de CaP tipo globular (MEDEIROS, 2006, JALOTA, 2007, CHEN., 2009) ou lamelar (CHOU, 2005, ZHANG, 2005, GEMELLI, 2009).

As imagens MEV/FIB das amostras TiM e TiP revelaram a formação de um revestimento nanométrico de CaP com nanoporos dispersos. A interface revestimento/substrato é contínua e coerente com substrato de Ti, que é um fator importante para a adesão do revestimento e fixação osso-implante. Não foram observados defeitos como trincas no revestimento. A espessura média de revestimento para a amostra TiM (217,70nm), foi significativamente maior quando comparada com a amostra da TiP (54.30nm). Estudos na literatura mostram a formação de um revestimento de fosfato de cálcio de espessura, na ordem de 15 $\mu$ m (BARRÈRE, 1999, RESENDE, 2008). No entanto, a espessura fina do filme pode ser um fator positivo uma vez que quando esta encontra-se aumentada pode levar à formação de trincas no revestimento (De GROOT, 1994).

O DRX com Luz Síncrotron identificou picos de Hap em todas as amostras analisadas, as quais foram submetidas ao processo biomimético, cujas intensidades variaram de acordo com o tipo de substrato. Os valores numéricos dos picos mais intensos encontrados para Hap foram em  $2\theta$  igual a 31,77; 32,20; 32,90 e 25,88, sendo que o último valor indica a existência de Hap não muito cristalina (JPDS). Os picos de Hap não foram necessariamente mais intensos em função do maior tempo de imersão em SS. Este fato, possivelmente está relacionado à detecção da parte amorfa do revestimento.

As análises químicas RAMAN e FTIR indicam a presença de hidroxiapatita nas amostras TiD-21 e TiP-21, mas na amostra TiM-21, não foi possível fazer a identificação. Contudo, nessa mesma amostra (TiM-21), foi possível identificar a presença de hidroxiapatita na análise FTIR.

Neste sentido, a solução SS proposta neste estudo mostrou ser uma alternativa viável para o revestimento dos substratos de Ti com fosfatos de cálcio, a exemplo da

hidroxiapatita,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , conforme resultados obtidos nas análises DRX com Luz Síncrotron, Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) e Espectroscopia RAMAN.

Os resultados apontam os substratos de Ti porosos, via metalurgia do pó, submetidos ao processo biomimético com solução concentrada em fosfatos de cálcio (SS) como sendo potencialmente viáveis para, uma vez que além de propiciar uma superfície bioativa, permite a penetração do tecido ósseo dentro dos poros, o que favorece a fixação de implantes cirúrgicos.

Ensaio *in vitro* estão em curso, com o objetivo de avaliar a biocompatibilidade dos revestimentos, comparando as amostras com diferentes tipos de substratos e submetidas a diferentes tempos de imersão em solução SS.

As amostras processadas por metalurgia do pó apresentaram 19,56% de microporosidade e 57,45% de porosidade com distribuição uniforme de poros. A alta porosidade obtida nas amostras porosas, com poros grandes e interconectos, favorecem a osseointegração do implante e encontra-se na faixa ideal tornando-o adequado ao uso cirúrgico.

As análises OMCS e AFM foram consideradas ferramentas valiosas para a caracterização da rugosidade da superfície e topografia, que são importantes referências para posterior reprodução das amostras semelhantes e continuidade da investigação.

A análise por MEV revelou morfologias típicas para fosfato de cálcio, depositados ao longo da superfície, e a análise qualitativa por EDS confirmou a presença de Ca e P em todas as amostras. De maneira semelhante, os espectros EDS/FIB apresentaram picos Ca e P, confirmando os resultados encontrados no MEV/EDS. A partir da análise MEV/FIB foi possível constatar a deposição do filme CaP de forma contínua sobre a superfície do Ti.

A análise SDRX identificou picos de Hap em todas as amostras analisadas e sua presença foi ainda confirmada nas análises RAMAN e FTIR realizadas nas amostras imersas em solução durante 21 dias, confirmando os resultados.

O pré-tratamento termo-químico prévio à imersão dos substratos na solução otimiza a precipitação dos íons Ca e P e favorece a obtenção de uma contínua deposição de revestimento de fosfato de cálcio. Além disso, possivelmente a alta concentração de íons Ca e P na solução influenciaram os resultados.

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, ficou evidenciado que a Solução Simplificada foi efetiva na obtenção de revestimentos finos contínuos e regiões com precipitados de fosfato de cálcio sobre a superfície dos substratos de Ti analisados, conforme a proposição inicial do estudo, demonstrando o potencial da solução como técnica de revestimento e simplificação do processo.

## SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

---

- Estudar as propriedades mecânicas dos substratos porosos em função do grau de porosidade obtido após a sinterização;
- Avaliar a molhabilidade da superfície dos substratos de Ti densos e porosos, uma vez que a característica hidrofílica da superfície pode ser decisiva para a adesão de proteínas;
- Continuação do estudo para a otimização da metodologia para utilização da solução SS proposta neste trabalho, visando à obtenção de revestimentos com maior espessura e em menor tempo de imersão em solução SS;
- Utilização de outra solução SS, de forma a obter de revestimentos com maior espessura e em menor tempo de imersão em solução SS;
- Avaliação da biocompatibilidade dos substratos revestidos por meio de ensaios *in vitro* (citotoxicidade, adesão e proliferação celular) e ensaios *in vivo* para avaliar a neoformação óssea e osseointegração dos materiais estudados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, Y., KOBUBO, T., YAMAMURO, T., 1990, “Apatite coatings on ceramics, metals and polymers utilising a biological process”. **J Mater Sci Mater Med.**, v.1, n.4 (Nov.), pp. 233-238.

ALBREKTSSON, T. AND ZARB, G.A., 1993, Current interpretations of the osseointegrated response: clinical significance. *Int. J. Prosthodont.* 6, pp. 95–105

ALBREKTSSON, T. et al., 2008, State of the art of oral implants. *Periodontol* 2000 47, 15–26

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

ANDRADE, MC., SADER, MS., FILGUEIRAS, MRT. *et al.*, 2000, “Microstructure of ceramic coating on titanium surface as a result of hydrothermal treatment”. **J Scien Mat Med.**, v.11, pp.751-755.

ANDRADE, M.C., FILGUEIRAS, MRT., OGASAWARA, T., 2002, “Hydrothermal Nucleation of Hydroxyapatite on Titanium Surface”. **J Euro Cer Soc.**, v.22, pp.505-510.

ANSELME, K., 2000, “Osteoblast adhesion on biomaterials”. **Biomaterials.**, v.21, n.7 (Apr), pp. 667-681.

ASTM B 265-09a<sup>e1</sup> – Standard Specification for Titanium and Titanium Alloy Strip, Sheet, and Plate<sup>1</sup>.

ASTM F 67-06 – Standard Specification for Unalloyed Titanium, for Surgical Implant Applications (UNS R50250, UNS R50400, UNS R50550, UNS R50700)<sup>1</sup>.

ASTM B 600-91 (Reapproved 2002)<sup>e1</sup> – Standard Guide for Descaling and Cleaning Titanium and Titanium Alloy Surfaces<sup>1</sup>.

ASTM F 86-04 – Standard Practice for Surface Preparation and Marking of Metallic Surgical Implants<sup>1</sup>.

ASTM E 407-07 – Standard Practice for Microetching Metals and Alloys.

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

BAKER, K.C., ANDERSON MA, OEHLKE SA. *et al.*, 2006, “Growth, characterization and biocompatibility of bone-like calcium phosphate layers biomimetically deposited on metallic substrata”. **Mater Sci Eng.**, v.26, n.8 (Sept.) pp.1351-1360.

BARRABÉS, M., SEVILLA, P., PLANELL, JA. *et al.*, 2008 “Mechanical properties of nickel-titanium foams for reconstructive orthopaedics”. **Mater Sci Eng.** v.28, n.1 (Jan), pp.:23-27.

BARRÈRE, F.; LAYROLLE, P., BLITTERSWIJK, C.A.; GROOT, K. A., 1999, “Physical and Chemical Characteristics of Plasma-Sprayed and Biomimetic Apatite Coating.” In: *Bioceramics*, v.12, Proceeding of the 12th International Symposium on Ceramics in Medicine, Japan, pp.125 – 128.

BIGI, A., BOANINI, E., BRACCI, B. *et al.*, 2005, “Nanocrystalline Hydroxyapatite Coatings on Titanium: a New Fast Biomimetic Method”, **Biomaterials**, v.26, (july), pp. 4085-4089.

BRACERAS, I., ONATE, J.I., GOIKOETXEA, L. *et al.*, 2005, “Bone cell adhesion on ion implanted titanium alloys”. **Surface & Coatings Technology**, v.196 (june), pp. 321-326.

BRAM, M., STILLER, C., BUCHKREMER, HP. *et al.*, 2000, “High-porosity titanium, stainless steel, and superalloy parts”. **Adv Eng Mater.** v.2, n.4 ( ), pp.196-199.

BRÄNEMARK, P. I., 1986, **Tissue-Integrated Prostheses**. Quintessence Publishing co. pp. 99 – 116.

BRANEMARK. P.I, 2001, **The Brånemark novum protocol for same day teeth: a global perspective**. Berlin: Quintessence Books, pp.9-15.

BRÈME J., 1989, “Titanium and Titanium Alloys, Biomaterials of Preference”, **Mem. et Études Scientifiques Rev. de Met.**, v.7 (Oct), pp. 625 – 637.

BRÈME, H.J., WADEWITZ, V., FÜRbacher, B., 1989, “Production and Mechanical Properties of Porous Sintered Specimens of the Implant Alloy TiB5BA1B2BFeB5B”, **Advances in Biomaterials**, v.9, pp. 63-68.

BROWNE, M., GREGSON, P.J., 1994, “Surface Modification of Titanium Alloy Implants”, **Biomaterials**, v.15, n.11, pp. 894-898.

BROWNER *et al*, 2003, **Skeletal Trauma: basic science, management and reconstruction**. 3. ed. v.1. New York: Saunders, p. 195-249.

CHEHROUDI, B., BRUNETTE, D.M., 1995, “Effects of Surface Topography on Cell Behavior”, In: Wise D. L., Trantolo D.J., Altobelli D.E “et al.”, *Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering*, part A: Materials, v 1, chapter 22, Marcel Dekker, Inc, 1995.

CHEN, X. B., LI, Y. C., HODGSON, P. D., *et al.*, 2009, “The Importance of Particle Size in Porous Titanium and Nonporous Counterparts for Surface Energy and its Impact on Apatite Formation”, **Acta Biomaterialia**, v. 5, pp. 2290-2302.

CHIESA, R., GIAVARESI, G., FINI, M. *et al.*, 2007, “In vitro and in vivo performance of a novel surface treatment to enhance osseointegration of endosseous implants”. **Pathol Oral Radiol Endod.**, v.103 (june), pp. 745-756.

CHO, AS., JUNG, SK., 2003, “The removal torque of the laser-treated titanium implants in rabbit tibia”. **Biomaterials.**, v.24, pp. 4859-4863.

CHOU, Y. -F., HUANG, W., DUNN, J. C. Y., *et al.*, 2005, “The Effect of Biomimetic Structure on Osteoblast Viability, Proliferation, and Gene Expression”, **Biomaterials**, v. 26, pp. 285-295.

CHOSA, N., TAIRA, M., SAITOH, S., *et al.*, 2004, “Characterization of apatite formed on alkaline-heat-treated Ti, research reports”. **J Dent Res.**, v.83, n.6 (June), pp. 465-469.

COELHO, P.G., Granjeiro, JM; Romanos, GE, *et al.*, 2009, “Basic research methods and current trends of dental implant surfaces”. **J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.** V.88, pp. 579–596.

COLPAERT, H., 2008, ***Metalografia dos Produtos Siderúrgicos Comuns.*** 4 ed. São Paulo, Edgard Blucher.

DA SILVA, J.C., 2006, **Estudo Comparativo de Superfícies de Titânio Utilizadas em Implantes.** Tese de M.Sc., Engenharia e Ciências dos Materiais/PIPE, Universidade Federal do Paraná.

DEPORTER, DA., WATSON, PA., PILLIAR, RM. *et al.*, 1986, “A histological assessment of the initial healing response adjacent to porous-surfaced, titanium alloy dental implants in dogs”. **J Dent Res.**, v. 65, n.8 (Aug), pp. 1064-1070.

DEPORTER, DA., PILLIAR, RM., TODESCAN, R. *et al.*, 2001, “Managing the posterior mandible of partially edentulous patients with short, porous-surfaced dental implants: early data from a clinical trial”. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, v.16, n.5 (Sept/Oct), pp. 653-658.

DEPORTER, DA., TODESCAN, R., RILEY, N., 2002, “Porous-surfaced dental implants in the partially edentulous maxilla: assessment for subclinical mobility”. **Int J Periodontics Restor Dent.** , v.22, n.2 (Apr), pp. 184-192.

DONACHIE Jr., M.J. *Titanium: A Technical Guide*. USA: ASM International, 1988.

DOROZHKIN, S.V., 2010, Calcium Orthophosphate – Based Biocomposites and Hybrid Biomaterials. New York, Nova Science Publisher, Inc.

DU, C., CUI, F., De GROOT, K., 2006, “Hydroxyapatite/Collagen Scaffolds“. In: *Scaffolding in Tissue Engineering*, New York, CRC Press, Taylor & Francis Group, pp. 265-272.

FERNÁNDEZ E, GIL FJ, GINEBRA MP, DRIESSENS FCM, PLANELL JA, BEST SM., 1999, “Calcium phosphate bone cements for clinical applications Part II: precipitate formation during setting reactions”, *J Mater Sci- Mater Med*, v. 10, pp. 177-183

FERRAZ MP, MONTEIRO FJ, SANTOS JD., 1999, “CaO-P2O5 glass hydroxyapatite double-layer plasma-sprayed coating: In vitro bioactivity evaluation”, *J Biomed Mater Res*, v. 45, pp. 376-383.

FILGUEIRAS, M.R.T., ANDRADE, M.C., SADER, M.S., OGASAWARA, T., 2000, “Estudo Cinético da Precipitação Heterogênea de Fosfatos de Cálcio Sobre Implantes de Titânio”. In: *Anais do Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais*, v.14, pp. 14101-14109, São Pedro – SP, Set.

FORSGREN, J., SVAHN, F., JARMAR, T. *et al.*, 2007, “Formation and adhesion of biomimetic hydroxyapatite deposited on titanium substrates”. *Acta Biomater.*, v.3, pp. 980-84.

FROSCH, KH., BARVENCIK, F., LOHMANN, CH. *et al*, 2002, “Migration, matrix production and lamellar bone formation of human osteoblast-like cell in porous titanium implants”. *Cells Tis Org.*, v.170, n.4, pp. 214-227.

FUJIBAYASHI, S., NEO, M., KIM, HM. *et al*, 2004, “Osteoinduction of porous bioactive titanium metal”. *Biomaterials.*, v.25, n.3, pp. 443-450.

GEMELLI, E., RESENDE, C. X., LEPIENSKI, C. M., et al., 2009, “Nanomechanical Properties of Titanium Coated with Octacalcium Phosphate by Immersion in a Simplified Simulated Body Fluid”, **Key Engineering Materials**, v. 396-398, pp. 365-368.

GENTIL, V., 1996, *Corrosão*, 3 ed., Rio de Janeiro: LTC Editora S.A.

GERMAN RM., 1994, *Powder Metallurgy Science*, 2nd ed. Princeton: MPIF.

GIANNOUDIS PV, DINOPOULOS H, TSIRIDIS E., 2005, “Bone substitutes: un update”. *Injury*. v.36 (Nov), pp. S20-S27.

GIAVARESI, G., FINI, M., CIGADA, A. *et al.*, 2003, “Mechanical and histomorphometric evaluations of titanium implants with different surface treatments inserted in sheep cortical bone”. *Biomaterials*, v.24, n.9 (apr), p.1583-1594.

GROSSKINSKY, U., 2006, “Biomaterial regulations for tissue engineering”, *Desalination*, v. 199, pp. 265–267

GU YW, TAY BY, LIM CS, et al., 2005, “Biomimetic deposition of apatite coating on surface-modified NITI alloy”. *Biomaterials*, v.26, pp. 6916- 6923.

GUÉHENNEC, L. Le, SOUEIDAN, A., LAYROLLE, P. *et al*, 2006, “Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration”. *Dental Materials*, v.23, p.844-854.

GUO, Y, ZHOU Y, JIA D., 2008, “Fabrication of hydroxycarbonate apatite coatings with hierarchically porous structures”. *Acta Biomater.*, v.4, n.2 (mar), pp. 334-42.

HABIBOVIC, P., BARRÈRE, F., VAN BLITTERSWIJK, C.A. *et al.*, 2002, Biomimetic Hydroxyapatite Coating on Metal Implants. *J Ame Cer Soc.*, v.85: 517-522.

HABIBOVIC, P., YUAN, H., VALK, C.M., et al., 2005, “3D Microenvironment as Essential Element for Osteoinduction by Biomaterials”, **Biomaterials**, v.26, pp. 3565-3575.

HADDAD, A., *et al.*, 2007, “Técnicas de microscopia eletrônica aplicadas às ciências biológicas”. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia.

HAHN, H., 1985, “Mechanical Properties and Structure of Ti6Al4V with Graded Porosity Coatings Applied by Plasma Spraying for Use in Orthopedic Implants”. In: ***Corrosion and Degradation of Implant Materials***, 2<sup>nd</sup> Symposium ASTM STP 859, pp.179-191.

ISO FDIS 23317, 2005, Implants for surgery – In vitro evaluation for apatite-forming ability of implant materials.

JALOTA, S., BHADURI, S. B., CUNEYT TAS, A., 2007, “Osteoblast Proliferation on Neat and Apatite-like Calcium Phosphate-coated Titanium Foam Scaffolds”, **Materials Science and Engineering C**, v. 27, pp. 432-440.

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.

KAWACHI, E.Y. et al., 2000, “Biocerâmicas: Tendências e Perspectivas de uma Área Interdisciplinar.” **Química Nova**, v. 23, n. 4, pp.518-522.

KIM, H.M., KOKUBO, T., FUJIBAYASHI, S. *et al.*, 2000, “Bioactive macroporous titanium surface layer on titanium substrate”. **J Biomed Mater Res**. V.52, n.3, pp.553-557.

KIM, H.M., TAKADAMA, H., KOKUBO, T. *et al.*, 2000, “Formation of a Bioactive Graded Surface Structure on Ti-15Mo-5Zr-3Al Alloy by Chemical Treatment”. **Biomaterials**, v.21, pp. 353-358.

KOKUBO T., 1991, "Bioactive glass ceramic: properties and applications". **Biomaterials**, v.12, n.2, pp. 155-163.

KOKUBO, T., MIYAJI, F., KIM, HM., 1996, "Spontaneous formation of bonelike apatite layer on chemically treated titanium metals". **J Am Ceram Soc.**, v.79, n.4, pp.1127-1129.

KOKUBO, T., 1998, "Apatite Formation on Surfaces of Ceramics, Metals and Polymers in Body Environment", **Acta Metallurgica**, v.46, n.7, pp. 2519-2527.

KOKUBO, T., KIM, H-M., MYIAJI, F. et al., 1999, "Ceramic-metal and ceramic-polymer composites prepared by a biomimetic process Composites" **Appl Sci Manufacturing.**, v.30, n.4 (apr), pp. 405-9.

KOKUBO T., 2005, "Design of bioactive bone substitutes based on biomineralization process". **Mater Sci Eng.**, v.25, n.2 (Apr), pp. 97-104.

KOKUBO, T., TAKADAMA, H., 2006, "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?" **Biomaterials**, v.27, pp. 2907-2915

KUJALA, S., RYHANEN, J., DANILOV, A. *et al.*, 2003, "Effect of porosity on the osteointegration and bone ingrowth of a weight-bearing nickeltitanium bone graft substitute". **Biomaterials**, v.24, n.25 (nov), p.4691- 4697.

LANGE, D.A., et al., 1993, "Analysis of surface roughness using confocal microscopy", **Journal of Materials Science**, v. 28, n 14, 3879-3884.

LAPTEV, A., BRAM, M., BUCHKMER, H.P, et al., 2004, "Study of production route for titanium parts combining very high porosity and complex shape". **Powder Metallurgy**, v.47, n.1, 85-92.

LAPTEV, A., VYAL, O., BRAM, M. et al., 2005, "Green strength of powder compacts provided for production of highly porous titanium parts". **Powder Metallurgy**, v.48, n.4, 358-364.

LEÓN, B., JANSEN, J.A., 2009, *Thin Calcium Phosphate Coatings for Medical Implants*. New York, Springer Science + Business Media.

LI, F., FENG, Q.L., CUI, F.Z., LI, H.D., SCHUBERT, H., 2002, “A Simple Biomimetic Method for calcium Phosphate Coating”, **Surface & Coatings Technology**, v. 154, pp. 88-93.

LI, J.P., WIJN, J.R., VAN BLITTERSWIJK, A. *et al.*, 2006, “Porous Ti6Al4V Scaffold Directly Fabricating by Rapid Prototyping: Preparation and in Vitro Experiment”. **Biomaterials**, v.27, pp.1223-1235.

LIANG, F., ZHOU, L., WANG, K., 2003, “Apatite Formation on Porous Titanium by Alkali and Heat-treatment”. **Surf and Coat Tech**, v.165, pp.133-139.

LIU, X., CHU, P.K., DING, C., 2004, “Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications”. **Materials Science and Engineering: R: Reports**, v.47, n.24, p.49-121.

LAYROLLE, P., DACULSI, G., 2009, “Physicochemistry of apatite and its related calcium phosphate”, in *Thin calcium phosphate coatings for medical implants*, B. León and J.A. Jansen (ed.), Springer Science + Business Media, New York.

LUMBIKANONDA, N., SAMMONS, R., 2001, “Bone cell attachment to dental implants of different surface characteristics”. **Int J Oral Maxillofac Implants**. v.16, n.5, pp.627-636.

MACHADO, A.C.P.; OLIVEIRA, M.V.; PEREIRA, R.P., et al., 2008, **In vivo Evaluation of Porous Titanium Implants with Biomimetic Coating**. 21st International Symposium of Ceramics in Medicine – Bioceramics 21, Buzios-Rio de Janeiro.

MACHADO, A.C.P., 2008, **Biocompatibilidade in vivo de Implantes de Titânio Submetidos ao Processo Biomimético**, Tese de D.Sc.,UNESP/Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, São Paulo, Brasil.

MASUDA, T., SALVI, G.E., OFFENBACHER, S., *et al.*, 1997, “Cell Matrix Reactions at Titanium Implants in Surgically Prepared Rat Tibiae”. **The International Journal of Oral and Maxillofacial Implant**, v.12, n.4, pp. 472-485. *Maxillofacial Implants*, v. 11, n° 1, pp. 87 – 95, 1996

MEDEIROS, W.S., 2006, **Estudo da Deposição de Revestimento Biomimético em Titânio Poroso para Implantes Cirúrgicos**. Tese de M.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

MITCHELL, P.C.H., PARKER, S.F., SIMKISS, K., SIMMONS, J., TAYLOR, M.G., 1996, “Hydrated Sites in Biogenic Amorphous Calcium Phosphates: An Infrared, Raman, and Inelastic Neutron Scattering Study”, **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 62, pp. 183-197.

MIURA, I., 1985, “Artificial Bone Made of Porous Titanium”. **New Mat Developed in Japan**, v.130, pp. 351-353.

NAKAMURA, T., 2004, “Osteoinduction of Porous Bioactive Titanium Metal”, **Biomaterials**, v.25, pp.443-450.

NBR ISO 5832-2 – Implantes para Cirurgia – Materiais Metálicos, Parte 2: Titânio Puro.

NBR 14233 – Implantes Cirúrgicos – Materiais Metálicos – Limpeza e Decapagem de Superfície de Titânio e de Ligas de Titânio.

NIKLAUS, P.L., 1998, **Periodontology 2000 - Implant Dentistry**, 1° ed., Munksgaard Copenhagen - Denmark, 1998.

NISHIGUCHI, S. T, KOBAYASHI, M., KIM, H.M., *et al.*, 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. *et al.*, 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., *et al.*, 2003, “Mechanical Properties of Porous Titanium Compacts Prepared by Powder Sintering”. **Scripta Materialia**, v.49, pp.1197-1202.

OHTSUKI C, KAMITAKAHARA M, MIYASAKI T., 2007, “Coatings bone-like apatite onto organic substrates using solutions mimicking body fluid”. **J Tissue Eng Regen Med**, v.1, pp. 33-38.

OLIVEIRA, MV., PEREIRA, LC., CAIRO, C.A.A., 2002, “Porous Structure Characterization in Titanium Coating for Surgical Implants”, **Materials Research**, v.5, n.3 (Jul/Set), pp.269-273.

OLIVEIRA, M.V., 2003, **Desenvolvimento de Revestimento Poroso de Titânio para Implantes Cirúrgicos**. Tese de D.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

OLIVEIRA, M.V., MOREIRA, A.C., PEREIRA, L.C., MEDEIROS, W.S., APPOLONI, C.R., 2008, “Porosity Characterization of Sintered Titanium Scaffolds for Surgical Implants“, **Materials Science Forum**, v. 591-593, pp. 36-41.

ONG, J.L., LUCAS, L.C., 1998, “Auger electron spectroscopy and its use for the characterization of titanium and hydroxyapatite surfaces”. **Biomaterials**. v.19, n.4-5 (mar), pp. 455-64.

PLATT, G.M., BASTOS, I.N., SOARES, G.A., 2007, Gripp.SimSE - Simulador de Soluções Eletrolíticas, registro 08237-01 090, RPI 1921. 30/10/2007.

RACK, H. J., QAZI, J. I., 2006 “Titanium alloys for biomedical applications”, **Materials Science & Engineering**, v. 26, p.1269-1277.

RESENDE, C.X. , DILIE, J., PLATT, G.M. et. al., 2008, “Characterization of coating produced on titanium surface by a designed solution containing calcium and phosphate ions “. *Materials Chemistry and Physics*. n.109, p. 429-435.

RIBEIRO, A.A., MARQUES, R.F.C., GUASTALDI, A.C. *et al.*, 2009, “Hydroxyapatite Deposition Study Through Polymeric Process on Commercially Pure Ti Surfaces Modified by Laser Beam Irradiation”, **Journal of Materials Science**, v. 44, pp. 4056-4061

RIGO, E.C.S., BOSCHI, A.O., YOSHIMOTO, M. *et al.*, 2004, “Evaluation in Vitro and in Vivo of Biomimetic Hydroxyapatite Coated on Titanium Dentals Implants”. **Mat Scie and Eng C**. v.24, pp. 647-651.

ROUAHI, M., CHAMPION, E., GALLET, O., *et al.*, 2006, Physico-chemical characteristics and protein adsorption potential of hydroxyapatite particles: Influence on in vitro biocompatibility of ceramics after sintering, **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.47, p. 10-19.

SARGEANT, A., GOSWAMI, T., 2006, **Materials & Design**, v. 27, n. 4, pp. 287–307.

SCHARNWEBER, D., BEUTNER, R., RASSLER, S. et al., 2002, “Electrochemical behavior of titanium-based materials – are there relations to biocompatibility?” **J Mater Sci Mater Med.**, v.13, pp. 1215-20.

SEPULVEDA, P., BRESSIANI, A.H., BRESSIANI, J.C., *et al.*, 2002 “In vivo evaluation of hydroxyapatite foams”. **J Biomed Mater Res.**, v.62, n.4, pp.587-92.

SINGH, R., DAHOTRE, N.B., 2007, **Journal of Materials Science: Material in Medicine**, v. 18, pp. 725–751.

STOCH, A., JASTRZEBSKI W., BROZEK, A., et al., 1999, “FTIR monitoring of the growth of the carbonate containing apatite layers from simulated and natural body fluids”, **Journal of Molecular Structure**, vol 511-512, 287-294.

STOCH, A., JASTRZEBSKI, A., STOCH, J., et al., 2006, "FTIR absorption-reflection study of biomimetic growth of phosphates on titanium implants". **J Molecular Structure**. V.555 (Jan), pp.375-82.

SUL, Y.T., JOHANSSON, C.B., PETRONIS, S. et al., 2002, "Characteristics of the surface oxides on turned and electrochemically oxidized pure titanium implants up to dielectric breakdown: the oxide thickness, micropore configurations, surface roughness, crystal structure and chemical composition". **Biomaterials**. v.23, n.2, pp. 491-501.

SYKARAS, N., YAKOPINO, A.M., MARKER, V.A. ET AL., 2000, "Implants materials, designs and surface topographies: their effect on osseointegration: a literature review". **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.15, n. 5 (set/out), pp. 675 – 690.

TAKEMOTO, M., FUJIBAYASHI, S., NEO, MASHASHI et al., 2005, "Mechanical Properties and Osteoconductivity of Porous Bioactive Titanium". **Biomaterials**, v.26 (oct), pp. 6014-6023.

TANAHASHI, M., YAO, T., KOKUBO, T., *et al.*, 1994, "Apatite coated on organic polymers by biomimetic process: improvement in its adhesion to substrate by NaOH treatment", **Journal of Applied Biomaterials**, v. 5, n. 4, p. 339-347.

TANAHASHI, M., YAO, T., KOKUBO, T., *et al.*, 1995, "Apatite coated on organic polymers by biomimetic process: improvement in adhesion to substrate by HCl treatment", **Journal of Material Science: Materials in Medicine**, v. 6, n. 6, p. 319-326.

THELEN S, BARTHELAT F, BRINSON LC., 2004, "Mechanics considerations for microporous titanium as an orthopedic implant material". **J Biomed Mater Res.**, v.69A, pp.601-610.

VASUDEV, D.V., RICCI, J.L., SABATINO, C. *et al.*, 2004, "In vivo evaluation of a biomimetic apatite coating grown on titanium surfaces". **J Biomed Mater Res.**, v.69, pp.629-36.

VERCIK, L.C.O., ALENCAR, A.C., RAMIREZ, I. et al., 2003, “Dental implants: surface modification of Ti-cp using plasma spraying and the deposition of hydroxyapatite”. **Mater Sci. Forum. Adv Powder Techn III**, v.418, p. 669-673.

WACK, T., BIEHL, V., BRÈME, J., 1989, “Comparison of TiTa and TiNb Alloys for Application as Dental Implants”. **The Inter J of Oral and Maxillofacial Implants**, v.4, pp.113-118.

WEI, M., UCHIDA, M., KIM, H.M., et al., 2002, “Apatite-forming Ability of CaO-containing Titania”, **Biomaterials**, .v.23, pp. 167-172.

WEN, C.E., MABUCHI M., YAMADA, Y., et al., 2001, “Processing of biocompatible porous Ti and Mg”. **Scripta Materialia**. 2001; v.45, n.10, pp.1147-1153.

WENNERBERG, A. AND ALBREKTSSON, T., 2009, “Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review”, **Clin. Oral Implants Res.**, v. 20, suppl. 4, pp.172–184.

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 Mats/Adv in Biomaterials**, v.9, pp. 309-314.

WILLIAMS, D.F., 1981, “Clinical Application of Orthopedic Implants”. In: **Biocompatibility of Orthopedic Implants**, 1<sup>a</sup> ed., v.1, chapter 1, Boca Raton, Florida-EUA.

YAN, W.Q., NAKAMURA, T., KOBAYASHI, M. *et al.*, 1997, “Bonding of chemically treated titanium implants to bone”. **J Biomed Mater Res.**, v.37, n.2 (Nov), pp. 267-75.

YANG, W.Q., NAKAMURA, T., KAWANABE, K. *et al.*, 1997, “Apatite Layer-coated Titanium for use as Bone Bonding Implants. **Biomaterials**, v.18 (Sep), pp. 1185-1190.

YANG, B., UCHIDA, M., KIM, HM et al., 2004, "Preparation of Bioactive Titanium Metal via Anodic Oxidation Treatment". **Biomaterials**, v.25 (mar), pp.1003-1010.

YUNOKI, S; IKOMA, T; MONKAWA, A; OHTA, K; KIKUCHI, M; SOTOME, S; SHINOMIYA, K; TANAKA, J., 2006, "Control of pore structure and mechanical property in hydroxyapatite/collagen composite using unidirectional ice growth", **Materials Letters**, v. 60, pp. 999-1002.

ZAFFE, D., 2005, "Some considerations on biomaterials and bone". **Micron**. v.36, n. 7-8 (Sept), pp. 583-592.

ZAVERI, N., MCEWEN, G.D., KARPAGAVALLI, R. *et al.*, 2010. "Biocorrosion Studies of Ti O<sub>2</sub> nanoparticle-coated ti-6Al-4V implant in simulated biofluids", **Journal of Nanoparticle Research**, v. 12, n. 5, pp. 1609-1623.

ZHANG, Q., LENG, Y., 2005, "Electrochemical Activation of Titanium for Biomimetic Coating of Calcium Phosphate", **Biomaterials**, v. 26, pp. 3853-3859.