

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**INFLUÊNCIA DE MODIFICAÇÕES SUPERFICIAIS NA RESISTÊNCIA À
CORROSÃO E NA BIOATIVIDADE DA LIGA BETA Ti-40Nb PARA
APLICAÇÕES BIOMÉDICAS**

Virgilio Pereira Ricci

São Carlos-SP
2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS

INFLUÊNCIA DE MODIFICAÇÕES SUPERFICIAIS NA RESISTÊNCIA À
CORROSÃO E NA BIOATIVIDADE DA LIGA BETA Ti-40Nb PARA
APLICAÇÕES BIOMÉDICAS

Virgilio Pereira Ricci

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Engenharia
de Materiais como requisito parcial à
obtenção do título de DOUTOR EM
CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS

Orientador: Prof. Dr. Conrado Ramos Moreira Afonso

Coorientador: Prof. Dr. Alberto Moreira Jorge Junior

Agência Financiadora: CNPq Processo: 169128/2017-2

CAPES/COFECUB Processo: 88887.364134/2019-00

São Carlos-SP

2021

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Sebastião e Vera, pelo apoio durante toda minha vida, sempre me proporcionando o melhor para que eu pudesse buscar meus objetivos. Esta tese também é dedica à minha esposa Laiane, pela paciência, dedicação e companheirismo desde sempre. Sem vocês nada seria possível.

VITAE

Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Alfenas (2017), Bacharel em Engenharia de Materiais pelo Centro Universitário da FEI (2013).



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado do candidato Virgilio Pereira Ricci, realizada em 30/07/2021.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Conrado Ramos Moreira Afonso (UFSCar)

Prof. Dr. Carlos Alberto Della Rovere (UFSCar)

Prof. Dr. Pedro Augusto de Paula Nascente (UFSCar)

Profa. Dra. Neide Aparecida Mariano (UNIFAL - MG)

Prof. Dr. Rubens Caram Júnior (UNICAMP)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.

AGRADECIMENTOS

Um agradecimento mais que especial à minha família, minha mãe, meu pai, irmãos e minha esposa Laiane por estar sempre me apoiando, por todo seu amor, compreensão, apoio e motivação a cada dia. Sem vocês isso não seria possível.

Agradeço ao Prof. Dr. Conrado Ramos Moreira Afonso por esta oportunidade, por toda a confiança e liberdade que me deu, pela sua valiosa ajuda e pelas discussões produtivas durante todos esses anos.

Gostaria de expressar meu especial agradecimento ao meu coorientador, Prof. Dr. Alberto Moreira Jorge Júnior, pela oportunidade de realização do doutorado sanduiche, pela orientação, pelas discussões técnicas, conselhos, paciência e tudo o mais ministrado.

Também gostaria de expressar minha gratidão à Profa. Dra. Virginie Roche pela recepção no Laboratoire d'Electrochimie et de Physicochimie des Matériaux et des Interfaces (LEPMI), paciência, contribuição na análise e discussão dos resultados eletroquímicos.

Gostaria de expressar meus agradecimentos ao Prof. Dr. José Eduardo Spinelli, e todos meus colegas do M2PS. Também quero agradecer a todos os meus colegas do PPGCEM.

Em especial agradeço ao meu grande amigo Rafael Formenton, pelas intermináveis ajudas dentro e fora do DEMa, discussões e conversas.

Agradeço a todos que me fizeram sentir bem-vindo em Grenoble e no LEPMI. Aos meus colegas, obrigado pela ajuda nos experimentos, pelos cafés e almoços.

Agradeço ao Consortium des Moyens Technologiques Communs (CMTCC - França) e ao Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE/DEMa/UFSCar) por me permitirem utilizar as suas instalações, particularmente ao Eduardo pelas incontáveis imagens de MEV.

Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro para realização desse trabalho com bolsa de estudos, processo 169128/2017-2.

À CAPES/COFECUB - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/Comitê Francês de Avaliação da Cooperação Acadêmica e Científica com o Brasil pelo apoio financeiro para realização do estágio no exterior, processo nº 88887.130204/2017-01.

À FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro do projeto temático nº 2017/20287-3

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM) da Universidade Federal de São Carlos e a todo o Conselho de Professores, pelo conhecimento compartilhado que contribuiu para minha formação acadêmica.

RESUMO

As ligas β -titânio (Ti) possuem grande aplicabilidade na área biomédica devido às propriedades como, baixa densidade, elevada resistência à corrosão, baixo módulo de elasticidade (E) e biocompatibilidade, porém estas ligas não são bioativas. Sendo assim, é necessário que se faça modificações superficiais produzindo superfícies bioativas e também com melhores propriedades eletroquímicas. Assim, este trabalho avaliou o desempenho da bioatividade e resistência à corrosão da liga β Ti-40Nb modificada superficialmente através de anodização, produzindo as nanoestruturas amorfas de nanotubos (NTs-AM) e nanoporos (NPs-AM). Foi realizado o recozimento, com objetivo de avaliar a variação no módulo de elasticidade (E) da liga. O recozimento também foi utilizado para promover a cristalização das nanoestruturas uma mistura das fases anatase e rutilo, obtendo esta combinação com o recozimento a 550 °C, nomeadas NTs-HT e NPs-HT. Para aumentar a bioatividade dos NTs-HT e NPs-HT foi realizado o processo de pré-calcificação (PC), a saber, NTs-PC e NPs-PC. O comportamento eletroquímico foi estudado através de curvas do potencial de circuito aberto (OCP), polarização potenciodinâmica e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). Amostras com NTs-HT e NPs-HT apresentaram maior potencial de corrosão (E_{corr}) e menor densidade de corrente de passivação (i_{pass}), e para a amostra NPs-HT foi observada a menor i_{pass} de $\sim 0,3 \mu A/cm^2$. Na simulação da EIE por circuitos elétricos equivalentes (CEE) os NPs-HT apresentaram maior resistência e espessura da camada de barreira. Após 14 dias imersos em fluido corporal simulado (SBF) (do inglês “simulated body fluid”), não foi observada formação de hidroxiapatita (HAp) no substrato não modificado, as condições NTs/NPs-HT exibiram moderada formação de apatita, enquanto que as amostras NTs/NPs-PC mostraram alta formação apatita, com ganho de massa de $\sim 3,5x$ superior às amostras anodizadas e recozidas.

Palavras-chave: Liga β -Ti; Anodização; Nanoestruturas de TiO_2 ; Pré-calcificação; Bioatividade; Corrosão; Módulo de Elasticidade.

ABSTRACT

INFLUENCE OF SURFACE MODIFICATION ON CORROSION RESISTANCE AND BIOACTIVITY OF BETA Ti-40Nb ALLOY FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

β -titanium (Ti) alloys have great applicability in the biomedical area due to properties such as low density, high corrosion resistance, low elasticity modulus (E), and biocompatibility. However, these alloys are not bioactive. It is necessary to make surface modifications producing bioactive surfaces and with better electrochemical properties. For these reasons, this work evaluated the bioactivity performance and corrosion resistance of the Ti-40Nb alloy modified superficially by anodization, producing the amorphous nanostructures of nanotubes (NTs-AM) and nanopores (NPs-AM). Initially, the annealing was carried out on anodized samples with amorphous nanostructure to reduce the alloy's E and crystallize the amorphous nanostructures in a mixture of anatase and rutile, obtaining these characteristics with annealing at 550 °C, namely NTs-HT and NPs-HT. The pre-calcification (PC) process was performed to increase the bioactive behavior of NTs-HT and NPs-HT, that is, NTs-PC and NPs-PC. The electrochemical behavior was studied by open circuit potential (OCP), potentiodynamic polarization, and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). Samples with NTs-HT and NPs-HT showed the highest corrosion potential (E_{corr}) and lower passivation current density (i_{pass}), with the lowest i_{pass} of $\sim 0,3 \mu A/cm^2$ being observed in NPs-HT. The EIS simulation by equivalent electrical circuits (EEC), the NPs-HT showed greater resistance and thickness of the barrier layer. After 14 days of soaking in SBF, it was not observed HAp formation in the unmodified substrate, NTs/NPs-HT conditions exhibited moderate apatite formation. In contrast, NTs/NPs-PC samples showed high apatite formation, with apatite mass gain $\sim 3.5x$ higher than anodized and annealed samples.

Keywords: β -Ti alloys; Anodizing; Pre-calcification; TiO₂ Nanostructures; Bioactivity; Corrosion; Elastic Modulus.

PUBLICAÇÕES

RICCI, V.P., dos SANTOS, R. F.M., ASATO, G.H., ROCHE, V., JORGE JUNIOR, A. M., AFONSO, C.R.M., Assessment of anodization conditions and annealing temperature on the microstructure, elastic modulus, and wettability of β -Ti40Nb alloy, Thin Solid Films. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2021.138949>.

SUMÁRIO

	Pág.
FOLHA DE APROVAÇÃO	i
AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO	v
ABSTRACT	vii
PUBLICAÇÕES	ix
SUMÁRIO	xi
ÍNDICE DE TABELAS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xv
SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	xix
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
2.1 Biomateriais metálicos	7
2.2 Titânio e suas ligas	11
2.2.1 Nióbio e o sistema Ti-Nb	18
2.3 Modificação superficial	22
2.3.1 Anodização eletroquímica	26
2.4 Corrosão em biomateriais metálicos	36
2.4.1 Medidas de potencial em circuito aberto	38
2.4.2 Polarização potenciodinâmica	39
2.4.3 Espectroscopia de impedância eletroquímica	43
2.5 Tecido ósseo e osseointegração	47
3 MATERIAIS E MÉTODOS	53
3.1 Modificações superficiais	54
3.1.1 Processo de Anodização	54
3.1.2 Processo de pré-calcificação	56
3.2 Ensaio eletroquímico	57
3.3 Avaliação da bioatividade	59
3.4 Caracterização Microestrutural	60
3.4.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	60
3.4.2 Difração de raios-X (DRX)	61

3.4.3	Avaliação do módulo de elasticidade	61
3.4.4	Molhabilidade	61
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	65
4.1	Caracterização microestrutural e mecânica da liga β Ti-40Nb.....	65
4.1.1	Caracterização da liga β Ti-40Nb.....	65
4.1.2	Caracterização da liga β Ti-40Nb – Anodização	66
4.1.3	Pré-calcificação e Caracterização Superficial.....	79
4.2	Resistência à Corrosão (Caracterização eletroquímica)	82
4.2.1	Medidas de potencial de circuito aberto.....	83
4.2.2	Polarização potenciodinâmica.....	84
4.2.3	Espectroscopia de impedância eletroquímica	88
4.3	Avaliação da bioatividade	98
5	CONCLUSÕES.....	109
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	113
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1 - Classificação geral de biomateriais de acordo com sua interação com os tecidos circundantes. Adaptado de [6].	8
Tabela 2.2 - Propriedades físicas do titânio (Ti). Adaptado de [39].	12
Tabela 2.3 - Valores de B_0 e M_d para alguns elementos. Adaptado de [51].	17
Tabela 2.4 - Classificação das superfícies de acordo com o ângulo de contato. Adaptado de [75].	25
Tabela 3.1 - Temperaturas de recozimento, módulo de elasticidade e fases formadas (substrato Ti-40Nb e nas nanoestruturas).	56
Tabela 3.2 - Concentrações iônicas do fluido corporal simulado (SBF) e do plasma sanguíneo. Adaptado de [117].	59
Tabela 3.3 - Tensão superficial (γ_L) e seus componentes polar γ_{LP} e dispersa γ_{LD} dos líquidos utilizados. Adaptado de [124].	62
Tabela 4.1 - Valores de diâmetro e comprimento de nanoestruturas após anodização em diferentes tensões.	70
Tabela 4.2 - Temperaturas de recozimento, módulo de elasticidade e fases formadas (substrato Ti-40Nb; não recozido e para temperaturas de recozimento).	75
Tabela 4.3 – Valores de ângulo de contato e energia superficial (γ) do substrato, .NTs-AM, NPs-AM, NTs-HT e NPs-HT.	78
Tabela 4.4 - Resultados da análise semi-quantitativa de EDS após o processo de PC.	81
Tabela 4.5 - Parâmetros de Corrosão: E_{corr} (mVxECS) e i_{pass} ($\mu A/cm^2$) de amostras não anodizadas de Ti-40Nb (Substrato); NTs-AM, NPs-AM; NTs-HT, NPs-HT; NTs-PC, NPs-PC.	87
Tabela 4.6 - Parâmetros elétricos obtidos pelo ajuste dos resultados experimentais de impedância para amostras estudadas neste trabalho.	95
Tabela 4.7 – Resultados da capacitância efetiva (C_{effB}) e da espessura da camada passiva (d_{effB}) para as diferentes condições utilizadas neste trabalho.	97

Tabela 4.8 - Resultados da análise semi-quantitativa EDS (espectroscopia de energia dispersiva de raios-X) após 14 dias para o substrato Ti-40Nb não modificado, NTs-HT, NPs-HT, NTs-PC, NPs-PC.....	107
--	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 - Esquema simplificado do processo de regeneração óssea. Adaptado de [3].	4
Figura 2.1 - Esquema das várias causas de falha do implante que podem levar à revisão da cirurgia. Adaptado de [6].	10
Figura 2.2 - Biomateriais metálicos para aplicações ortopédicas e odontológicas. Adaptado de [43].	11
Figura 2.3 - Estruturas cristalinas do titânio. (a) hexagonal compacta, fase α ; (b) cúbica de corpo centrado, fase β [39].	13
Figura 2.4 - Diagrama de fases de ligas do titânio contendo a e b estabilizadores. Adaptado de [39].	15
Figura 2.5 - Efeito dos elementos de liga nos diagramas de fase de ligas de titânio. Adaptado de [39].	16
Figura 2.6 – Diagrama B_o vs. M_d . Adaptado de [51].	17
Figura 2.7 - Diagrama de equilíbrio Ti-Nb. Adaptado de [58].	19
Figura 2.8 - Representação esquemática da interação das células ósseas com as próteses ortopédicas. (a) Comportamento celular em uma prótese sem modificações superficiais. (b) Comportamento celular em uma prótese com modificações superficiais (micro/nano). Adaptado de [69].	23
Figura 2.9 – Fluxograma esquemático mostrando alguns métodos de modificações superficial. Adaptado de [74].	24
Figura 2.10 - Diagrama esquemático dos processos de condução (iônico/eletrônico) que ocorrem durante o crescimento do óxido de titânio. Adaptado de [85].	29
Figura 2.11 - Curva típica da densidade de corrente vs tempo, indicando os estágios (i), (ii) e (iii). Adaptado de [84].	30
Figura 2.12 - Micrografia das amostras da liga Ti-c.p. após o ensaio de biatividade. A-Anatase, R-Rutilo. Adaptado de [92].	34
Figura 2.13 - Representação esquemática da curva $E \times \text{Log}(I)$. Adaptado de [104].	40

Figura 2.14 - Representação esquemática da parte anódica da curva de polarização (a) de metal passivo em um meio agressivo (b) de um metal passivo em meio não agressivo. Adaptado de [105].	41
Figura 2.15 - Curvas de polarização potenciodinâmica das amostras revestidas com PEO e substrato de Ti-c.p. não revestido em solução fisiológica de Ringer. Adaptado de [106].	42
Figura 2.16 - Curvas de polarização potenciodinâmica de nanotubos de TiO ₂ : (a) amorfo e, recozido nas temperaturas de: (b) 350 °C; (c) 450 °C; (d) 550 °C; (e) 650 °C e (f) 750 °C. Adaptado de [107].	43
Figura 2.17 - Representação esquemática dos resultados da impedância: a) Gráfico de Nyquist; b) magnitude do gráfico de Bode e (c) ângulo de fase do gráfico de Bode. Adaptado de [109].	46
Figura 2.18 - Diagrama representativo da biologia da osseointegração. Adaptado de [113].	50
Figura 3.1 - Fluxograma dos procedimentos que serão adotados no trabalho.	53
Figura 3.2 - Esquema do processo de anodização e formação de TiO ₂ nanotubos (NTs-AM) e nanoporos amorfos (NPs-AM) - na superfície da liga β Ti-40Nb.	55
Figura 3.3 - Esboço esquemático de um ciclo de pré-calcificação das amostras da liga β Ti-40Nb anodizadas e recozidas (NTs-HT e NPs-HT). Neste estudo, foram realizados 20 ciclos para cada amostra.	57
Figura 3.4 – Representação esquemática da montagem experimental usada para ensaios de bioatividade.	60
Figura 4.1 - (a) Micrografia MEV da liga β Ti-40Nb mostrando α' martensita (agulhas) dispersa através da matriz β -Ti; (b) e (c) Mapeamento por EDS Ti (vermelho) e Nb (verde), respectivamente; (d) Padrão de DRX da liga β Ti-40Nb.	66
Figura 4.2 - Imagens de MEV para diferentes parâmetros de anodização: Eletrólito (I) - (a) 10V-1h, (b) 10V-2h,(c) 20V-1h e (d) 20V-2h; eletrólito (II) - (e) 10V-1h, (f) 10V-2h, (g) 20V-1h e (h) 20V-2h; Eletrólito (III) - (i) 10V-2h, (j) 20V-2h.	68

- Figura 4.3 - Micrografias obtidas por MEV de (a) nanotubos de TiO_2 (NTs-AM) e (b) nanoporos de TiO_2 (NPs-AM) mostrando a vista superior das nanoestruturas, junto com a inserção (no canto superior direito) da vista em seção transversal de uma região riscada dos NTs-NPs de TiO_2 69
- Figura 4.4 - (a) Gráfico da corrente de anodização em função do tempo de anodização. (b) ampliação do gráfico apresentado na Figura 4.4 (a), até 5 minutos de anodização..... 70
- Figura 4.5 – Esquema de formação de nanoestruturas anódicas de TiO_2 auto organizadas. Adaptado de [84]. 72
- Figura 4.6 - Padrões de DRX das amostras anodizadas e nanoestruturas amorfa e recozidas a 450°C , 550°C e 800°C , A - Anatase; R - Rutilo..... 73
- Figura 4.7 - Gráfico mostrando os valores de ângulo de contato (barras-valores à esquerda) e energia superficial (pontos-valores à direita) para o substrato, NTs/NPs-AM e NTs/NPs-HT..... 77
- Figura 4.8 - Micrografias obtidas por MEV das vistas superiores das amostras recozidas a 550°C (a) Nanotubos (NTs-HT) e (b) Nanoporos (NPs-HT). As inserções (no canto superior direito) apresentam as vistas em corte transversal das nanoestruturas de TiO_2 79
- Figura 4.9 - Micrografias de MEV da vista superior das amostras anodizadas, recozidas a 550°C e pré-calcificadas (PC): (a) e (b) Nanotubos (NTs-PC); (c) e (d) Nanoporos (NPs-PC). As imagens (b) e (d) apresentam as seções destacadas das condições NTs-PC e NPs-PC, respectivamente. Setas pretas: precipitados de Ca-P, setas brancas: cristais tipo flocos Ca-P. *Branco: agregados prismáticos Ca-P 80
- Figura 4.10 - Padrões de DRX das condições anodizadas+recozidas+pré-calcificadas (NTs-PC e NPs-PC). A- TiO_2 Anatase; R- TiO_2 Rutilo; OCaP - Fosfato octacálcio. 82
- Figura 4.11 - Medições de potencial de circuito aberto após 3600 segundos (1 hora) de imersão em SBF a $36,5^\circ\text{C}$; (a) Substrato Ti40Nb não anodizado, NTs-AM, NPs-AM; (b) NTs-HT, NPs-HT, NTs-PC, NPs-PC..... 84
- Figura 4.12 - Curvas de polarização potenciodinâmica, medidas em meio de SBF a $36,5^\circ\text{C}$ de -300 a +2000 mV em relação ao OCP com taxa de varredura

de 1 mV/s; (a) Substrato Ti-40Nb não modificado, NTs-AM, NPs-AM; (b) NTs-HT, NPs-HT; NTs-PC, NPs-PC..... 86

Figura 4.13 - Curvas de impedância de Nyquist (a) e Bode (b) do substrato não modificado e das amostras anodizadas e não recozidas (NTs-AM e NPs-AM), registradas na solução SBF a 37 °C. 90

Figura 4.14 - Curvas de impedância de Nyquist (a)-(c) e Bode (b)-(d) das amostras anodizadas e recozidas (NTs-HT e NPs-HT) e anodizadas, recozidas e PC (NTs-PC e NPs-PC), registradas na solução SBF a 37 °C. 91

Figura 4.15 - Gráficos de α_{eff} das condições estudadas neste trabalho (a) nanoestruturas amorfas (NTs/NPs-AM) e o substrato não modificado, em (b) curvas referentes aos NTs-HT e NTs-PC e em (c) curvas de α_{eff} dos NPs-HT e NPs-PC, em solução de SBF à 37 °C. 93

Figura 4.16 - Circuitos elétricos equivalentes (CEE) utilizados, em (a) CEE para o substrato e em (b) CEE para as nanoestruturas. 95

Figura 4.17 – Imagens obtidas por MEV mostrando a superfície do substrato Ti40Nb onde, (a) 1 dia, (b) 7 dias e (c) 14 dias de tempo de imersão em SBF à 37°C..... 99

Figura 4.18 - Imagens obtidas por MEV após 1 dia (a-c) e 7 dias (b-d) dias de imersão em SBF mostrando o NTs-HT (a) e (b); (c) e (d) NPs-HT e o canto superior direito da Figura 4.18 (b e d) é uma micrografia ampliada. 100

Figura 4.19 - Imagens obtidas por MEV após 14 dias de imersão em SBF mostrando o NTs-HT (a) e (b); (c) e (d) NPs-HT e, (e) padrões de DRX. A - TiO₂ Anatase; R - Rutilo TiO₂; HAp - hidroxiapatita..... 101

Figura 4.20 - Imagens obtidas por MEV após 1 dia (a) e (c) e 7 dias (b) e (d) de imersão em SBF mostrando o NTs-PC (a) e (b) e NPs-PC (c) e (d), e no canto superior direito das Figuras 4.20 (b) e (d) uma micrografia ampliada... 103

Figura 4.21 - Imagens obtidas por MEV após 14 dias de imersão em SBF mostrando o NTs-PC (a) e (b); (c) e (d) NPs-PC e, (e) padrões de DRX. A - TiO₂ Anatase; R - Rutilo TiO₂; HAp - hidroxiapatita..... 105

Figura 4.22 - Ganho de massa de hidroxiapatita (HAp) para a liga Ti40-Nb não modificada (Substrato); NTs-HT, NPs-HT, NTs-PC, NPs-PC quando imersas em SBF, em função do tempo de imersão (1, 7, 14 dias). 106

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Al	Alumínio
ASTM	American Standard for Testing of Materials
Bo	Bonder order
Ca	Cálcio
CCC	Cúbica de corpo centrado
CEE	Circuito elétrico equivalente
Co	Cobalto
CPE	Elemento de fase constante
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DRX	Difração de raios-X
E	Módulo de elasticidade
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva
EIE	Espectroscopia de impedância eletroquímica
E_{corr}	Potencial de corrosão
Fe	Ferro
H	Hidrogênio
HAp	Hidroxiapatita
HC	Hexagonal Compacta
i_{corr}	Densidade de corrente de corrosão
i_{pass}	Densidade de corrente de passivação
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
Md	Mean "d" orbital energy level
Mn	Manganês
Nb	Nióbio
Ni	Níquel
NPs-AM	Nanoporos amorfos
NPs-HT	Nanoporos recozidos
NPs-PC	Nanoporos pré-calcificados
NTs-AM	Nanotubos amorfos

NTs-HT	Nanotubos recozidos
NTs-PC	Nanotubos pré-calcificados
OCP	Potencial de circuito aberto
OCaP	Fosfato octacálcio
P	Fósforo
PEO	Oxidação eletrolítica por plasma
SBF	fluido corporal simulado (do inglês "Simulated body fluid")
Si	Silício
Sn	Estanho
Ta	Tântalo
Ti	Titânio
Ti-c.p.	Titânio comercialmente puro
V	Vanádio
Zr	Zircônio
α	Fase de hexagonal compacta do titânio
β	Fase de cúbica de corpo centrado do titânio

1 INTRODUÇÃO

Historicamente, o dano ou a perda de tecidos ou órgãos devido a doenças, acidentes e envelhecimento têm sido um problema crítico para a humanidade. Há evidências de que no Egito antigo (1000 a.C), foi criada uma prótese de madeira para substituir um dedo do pé amputado de uma mulher. Hipócrates (460-370 a.C.), conhecido como “pai da medicina”, apresentou a primeira descrição racional das fraturas ósseas. Hegetor (100 a.C.) foi o primeiro a descrever, em detalhes, a anatomia e o funcionamento da articulação do quadril. Infelizmente, um alto nível de infecções críticas e falha desses dispositivos implantáveis existiam, devido à falta de técnicas de esterilização adequadas. Essas evidências demonstram que as antigas civilizações contribuíram de forma significativa, com conhecimento para o estudo e aperfeiçoamento atual da ciência dos biomateriais [1,2].

Com o aumento da expectativa de vida e, das atividades desempenhadas por pessoas de faixa etária mais elevada, são apontadas como as principais causas do crescimento no número de cirurgias para implantes ortopédicos [3].

Um biomaterial, em sua definição mais aceita, é qualquer substância (ou combinação de substâncias), que foi projetada para assumir uma forma que, como um todo ou parte de um sistema vivo complexo é utilizada por determinado período de tempo para o tratamento ou substituição de qualquer tecido, órgão ou função deste organismo sem causar efeitos prejudiciais [1].

As ligas metálicas são a classe de materiais mais utilizada no campo biomédico, representando cerca de 70% dos materiais utilizados como implantes ortopédicos, dentários e, mais recentemente, para endopróteses. A utilização de ligas metálicas como biomateriais ocorre pela sinergia entre boa resistência mecânica e durabilidade, ao contrário das cerâmicas e polímeros [1]. As ligas metálicas podem ser utilizadas como implantes temporários (placas, pinos e parafusos) e como implantes permanentes (substituição total da articulação) [1,2]. Entre as diversas ligas metálicas utilizadas no mercado, de materiais implantáveis de longa duração, destacam-se o aço inoxidável austenítico (316 L), ligas à base de cobalto-cromo (Co-Cr), titânio comercialmente puro (Ti-c.p.),

ligas à base de titânio e as ligas níquel-titânio (NiTi - nitinol), quando utilizados como implantes temporários, destacam-se as ligas a base de Magnésio [1,2].

As ligas metálicas para implantes devem apresentar características essenciais que são: i) A liga metálica deve ter excelente biocompatibilidade e, também deve ser livre de elementos considerados nocivos (tóxicos) ao organismo; ii) O implante deve exibir módulo de elasticidade próximo ao osso humano, evitando o efeito de “stress shielding” (osteopenia), gerando grandes tensões na interface osso/implante, sobrecarregando o implante durante o carregamento e deixando de exigir mecanicamente do osso, e assim acarretando uma diminuição da produção óssea e, dessa forma podendo levar a fratura do osso próximo à região do implante; iii) Devem possuir a capacidade de osseointegração, ou seja, além de não causar nenhum efeito negativo, a liga metálica necessita (através de ligações químicas e físicas) prover e favorecer a formação de tecido ósseo (para próteses ósseas); e iv) excelente resistência à corrosão em fluidos biológicos, suprimindo ao máximo a liberação de íons metálicos no organismo que, além de causar graves efeitos para rejeição do implante pelo organismo, podem levar a diminuição da resistência à fadiga levando a falha catastrófica do implante e, dessa forma causando graves lesões ao implantado [3,4].

Por conciliar as características descritas acima, as ligas de titânio (Ti) vêm sendo estudadas ao longo dos anos devido a seu amplo espectro de aplicações, podendo ser utilizadas nos campos aeroespacial, biomédico, entre outros [5,6]. As ligas de titânio mais comumente utilizadas em implantes, como a liga Ti-6Al-4V e o titânio comercialmente puro (Ti-c.p.), tem a desvantagem de possuir elevado módulo de elasticidade (~100-120 GPa) quando comparado ao do osso humano onde o módulo de elasticidade varia, dependendo da região do osso, de 10 a 40 GPa e assim inicia-se o processo de “stress-shielding” [7–10]. Além da desvantagem em relação ao módulo de elasticidade da liga Ti-6Al-4V, outro fator encontra-se na presença de alumínio (Al) que pode apresentar toxicidade aguda, além de ser reportado como um elemento ligado a distúrbios neurológicos, como doença de Alzheimer, doenças no fígado e câncer de mama [11, 12]. Já o vanádio (V), por sua vez, não é um elemento naturalmente presente no organismo e sua

interação com sistemas biológicos é um tema ainda controverso, com autores defendendo sua ação como agente terapêutico alternativo, diminuindo os níveis de glicose sanguínea em pacientes diabéticos [13,14]. Entretanto estudos na direção oposta, indicam a sua toxicidade em implicações como doenças cardíacas, podendo até acarretar alterações anatômicas quando administrado por via oral, sendo sua toxicidade geralmente associada à dose e geração de seus sub compostos, sendo a forma pentavalente (V^V) a mais nociva [15]. Em decorrência destes efeitos nocivos estes elementos, Al e V, devem ser evitados, pois, como o processo de corrosão/desgaste de um implante é inevitável, ocorrerá a liberação de íons metálicos no organismo [5,13].

Como forma de evitar o efeito de “stress shielding” e a presença de elementos tóxicos, a produção de novas ligas de titânio com baixo módulo de elasticidade e livre de elementos tóxicos vem sendo cada vez mais relatados e estudados na literatura. Estas ligas são conhecidas como ligas β -Ti essas são, ao mesmo tempo, livres de elementos tóxicos e possuem módulo de elasticidade mais baixo e comparável ao do osso humano [6,16–18]. As várias ligas β -Ti: Ti-13Nb-13Zr [18], Ti-35Nb-5Ta-7Zr (TNZT) [19] e Ti-29Nb-13Ta-4,6Zr [20] têm sido especificamente desenvolvidas para uso biomédico. Dentre os elementos β -estabilizadores um dos mais eficientes é o nióbio, que mesmo em pequenas quantidades (10% em peso) já produz uma estrutura do tipo $\alpha+\beta$ [21,22]. A liga β Ti-40Nb (40% em peso) possui como importante característica o baixo módulo de elasticidade ~ 65 GPa [22–24].

As ligas metálicas utilizadas em implantes devem ser, obrigatoriamente, biocompatíveis, entretanto uma desvantagem recorrente em todas as ligas metálicas ocorre em relação à bioatividade [18]. O contato direto na interface metal/osso não implicará na formação e desenvolvimento de tecido ósseo [25]. A formação óssea em torno dos implantes metálicos de fixação biológica é um processo de múltiplos passos, conforme mostra a Figura 1.1, que envolve adesão de osteoblastos, proliferação, diferenciação, secreção de proteínas e mineralização [3,26]. Entre vários fatores, as propriedades químicas e físicas da superfície do implante, como composição química, rugosidade, molhabilidade e

energia de superfície, são alguns dos parâmetros mais importantes que podem influenciar as interações osso-implante [3,26].

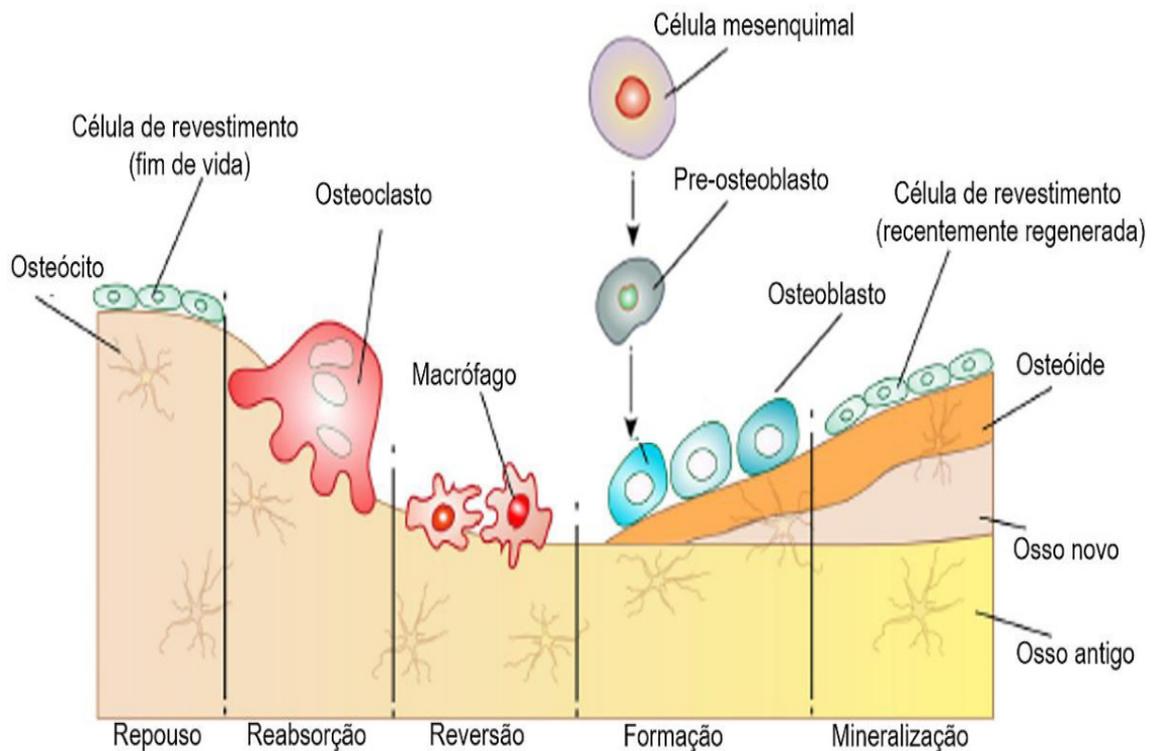


Figura 1.1 - Esquema simplificado do processo de regeneração óssea. Adaptado de [3].

Como forma de melhorar a resposta biológica dos implantes, a engenharia de superfícies tem um papel fundamental na busca por superfícies que, otimizem a bioatividade e conseqüentemente a formação e desenvolvimento do tecido ósseo [3]. Neste sentido, várias pesquisas têm sido desenvolvidas visando a modificação da superfície dos implantes através de diversos processos envolvendo métodos mecânicos, químicos e físicos de tratamento de superfície, obtendo assim, os mais variados graus de texturas e morfologias [27].

Dentre as técnicas utilizadas na modificação superficial, a anodização é uma das técnicas mais comumente utilizada [18,25,28–30]. Em certas condições, a anodização permite sintetizar uma rede organizada de nanoestruturas (nanotubos e nanoporos) de TiO_2 (óxido de titânio ou titânia) que, conferem melhor bioatividade ao material [18,31]. A vantagem dessa técnica

está relacionada ao seu baixo custo de produção e, quando associada a tratamentos térmicos adequados permite um controle preciso da morfologia e da estrutura cristalina da camada nanoestruturada [4]. Além do mais, a anodização não apenas melhora as propriedades bioativas da superfície, mas também é possível o encapsulamento de fármacos que se liberados de maneira controlada evitam o risco de infecções nos primeiros dias pós-implante e a deposição de elementos como cálcio (Ca) e fósforo (P) que aceleram o processo de osseointegração [32].

Tendo em vista que nenhum implante é completamente inerte em meios biológicos durante um período razoável de tempo, e que, em praticamente, todos os casos os implantes não possuem elementos que ocorrem naturalmente no corpo humano, então a seleção dos elementos presentes nos implantes deve apresentar baixa toxicidade nas quantidades passíveis de liberação in vivo [33,34]. Em vista disto outro aspecto de extrema importância a ser considerado e estudado de maneira aprofundada é o processo de degradação do implante, seja por corrosão ou desgaste [35]. A baixa taxa de desgaste e a resistência à corrosão dos materiais utilizados como implantes que interagem com os fluidos corporais evitam que resulte, na maioria das vezes, na liberação de íons metálicos ou fragmentos metálicos pelo implante no corpo, diminuindo a vida útil do implante e, principalmente, causando reações alérgicas ou tóxicas [18,25,34,36].

OBJETIVO

Portanto, o objetivo principal deste trabalho é avaliar a bioatividade e o desempenho à corrosão de amostras da liga β Ti-40Nb anodizadas e recozidas, obtendo NTs e NPs e pela prévia bioativação através do processo de pré-calcificação (PC), bem como a obtenção do menor módulo de elasticidade possível obtido com a realização de tratamento térmico de recozimento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biomateriais metálicos

A grande revolução e conseqüente uso de biomateriais metálicos como implantes, pode ser remetida ao século XX, mais especificamente, durante a Revolução Industrial quando a indústria metalúrgica começou a se expandir [2]. O uso de biomateriais metálicos ocorreu particularmente como implantes, na reparação óssea, principalmente na fixação de fraturas internas de ossos longos [2]. Um biomaterial pode ser utilizado para reparar, ou até mesmo, substituir tecidos e órgãos, restaurando, ou melhorando, funções originais [1].

Espera-se que os biomateriais utilizados como implantes sejam altamente não tóxicos, não cancerígenos e não devam causar nenhuma reação inflamatória ou alérgica no corpo que possa levar à morte celular ou prejuízo das funções celulares ou dos tecidos [37]. Para que um biomaterial obtenha sucesso este deve possuir características muito importantes como biocompatibilidade e biofuncionalidade [38]. Biocompatibilidade foi definida como a capacidade de um material quando implantado não produzir nenhuma resposta negativa no organismo [37]. Por sua vez a biofuncionalidade é definida como a capacidade de um dispositivo funcionar com resposta apropriada do hospedeiro em uma aplicação específica [37]. Em geral, os biomateriais são classificados como biotolerantes, bioativos e bioabsorvíveis de acordo com sua interação com os tecidos circundantes, conforme apresentado na Tabela 2.1 [6,37].

Os materiais bioativos são preferencialmente requeridos em aplicações ortopédicas, pois dão origem a uma alta integração com o osso circundante, estimulando a osseointegração, entretanto materiais biotolerantes também são aceitos para a fabricação de implantes. Os materiais bioabsorvíveis se destinam a se dissolver no corpo após cumprirem sua função. Nos últimos anos, no entanto, o potencial de materiais bioabsorvíveis além dos dispositivos de fixação ortopédica tornou-se cada vez mais evidente. Eles não apenas foram fundamentais para impulsionar o progresso no desenvolvimento de dispositivos de “*drug delivery*”, mas também estão desempenhando um papel importante na em aplicações mais recentes, incluindo “*stents*” e enxertos vasculares [1,6,37].

Tabela 2.1 - Classificação geral de biomateriais de acordo com sua interação com os tecidos circundantes. Adaptado de [6].

Classificação	Resposta	Materiais
Biotolerantes	Formação de uma camada de tecido conjuntivo não aderente à superfície do implante	Ti e sua ligas; Co-Cr; Aço inoxidável.
Bioativos	Formação de tecido ósseo ao redor do material do implante exibindo uma forte integração com a interface implante/osso	Biovidros; Fosfatos de cálcio (HAp).
Bioabsorvíveis	Substituído pelo tecido autólogo	Enxertos ósseos processados; Quitosana.

Dureza, resistência à tração, módulo de elasticidade e alongamento de implantes são de primordial importância [39]. A resposta do material às repetidas cargas ou esforços cíclicos é determinada por sua resistência à fadiga, que determina o sucesso de longo prazo do implante submetido a carregamento cíclico, por exemplo, durante a mastigação, caminhada ou corrida [37]. Portanto, materiais com excelente combinação de alta resistência e módulo de elasticidade o mais próximo ao do osso, devem ser utilizados como implantes [6]. No entanto, os materiais de implante atuais tem maior rigidez do que o osso, evitando que a tensão necessária seja transferida para o osso adjacente [6]. Isso resulta na reabsorção óssea ao redor do implante e, conseqüentemente, na soltura do mesmo, essa incompatibilidade biomecânica que leva à reabsorção óssea é conhecida como “*stress shielding*” [37].

Para que um biomaterial seja implantado com sucesso, durante a regeneração óssea é desejável que este seja, a) biofuncional apresentando módulo de elasticidade o mais próximo possível ao osso e resistente à corrosão;

b) biocompatível que não cause nenhum efeito prejudicial ao implantado; c) osseointegrável sendo capaz de promover o crescimento ósseo através de ligações químicas [1]. Por conta destas características são poucos materiais metálicos que podem ser utilizados como implantes, com destaque para os aços inoxidáveis austenítico (316L), e principalmente o titânio e suas ligas [39,40]. O uso destas ligas é amplamente difundido como implantes. Uma grande vantagem do titânio e suas ligas é a resistência à corrosão e biocompatibilidade superiores, quando comparadas ao aço inoxidável e as ligas de Co-Cr [40]. De forma geral a resistência à corrosão e a biocompatibilidade das ligas de titânio estão relacionadas com a formação de um filme óxido de TiO_2 , de escala nanométrica, formado de maneira espontânea na superfície do metal quando em contato com o ar [5]. Sendo que estes óxidos são bastante estáveis e aderentes à superfície [39]. Uma característica importante do TiO_2 é a repassivação, ou seja, após o rompimento deste filme, por conta do ambiente agressivo onde está inserido o implante [27,41]. O tempo de repassivação desta camada será determinante para estimar a taxa de corrosão [42].

Apesar do titânio ter propriedades vantajosas em relação aos aços inoxidáveis, o titânio comercialmente puro (Ti-c.p.) tem baixa resistência ao cisalhamento, tornando inadequado o uso em placas e parafusos [6,39].

Devido às limitações desses biomateriais, a vida útil dos implantes é restrita a cerca de 10 anos [39]. Este fato estimulou a pesquisa e desenvolvimento e a otimização de implantes com módulo de elasticidade o mais próximo possível ao osso humano [6]. Um esquema das várias causas de falha do implante que pode levar à realização de uma cirurgia de revisão é mostrado na Figura 2.1 [6].

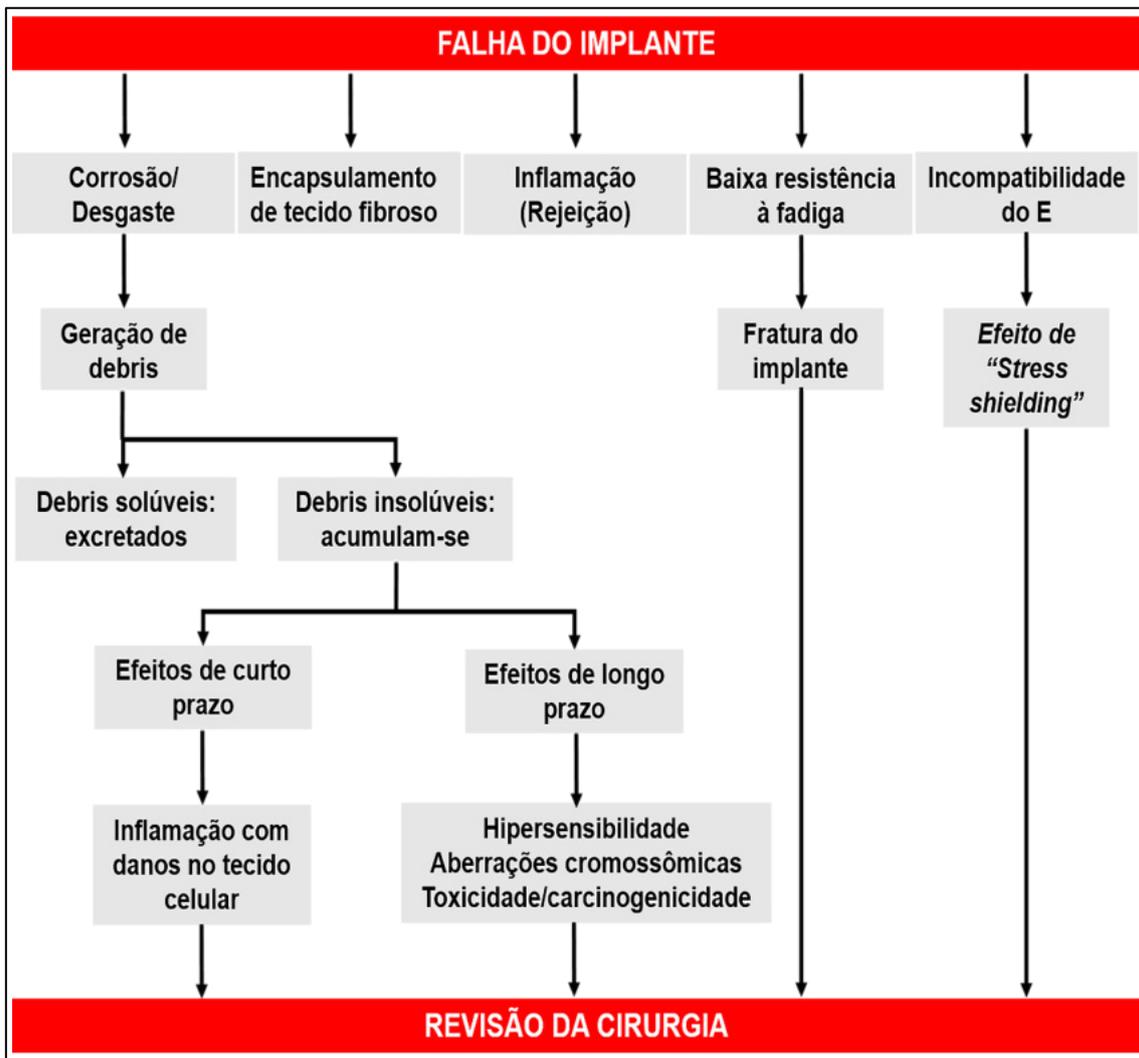


Figura 2.1 - Esquema das várias causas de falha do implante que podem levar à revisão da cirurgia. Adaptado de [6].

O desenvolvimento de ligas β -Ti de baixo módulo de elasticidade e baseadas em elementos não tóxicos ao organismo é um dos avanços mais significativos neste campo [6,39]. Neste contexto, as aplicações mais comuns incluem fios, parafusos, placas para fixação de fraturas, implantes dentários e próteses para substituição de articulações, conforme apresentado na Figura 2.2 [43].

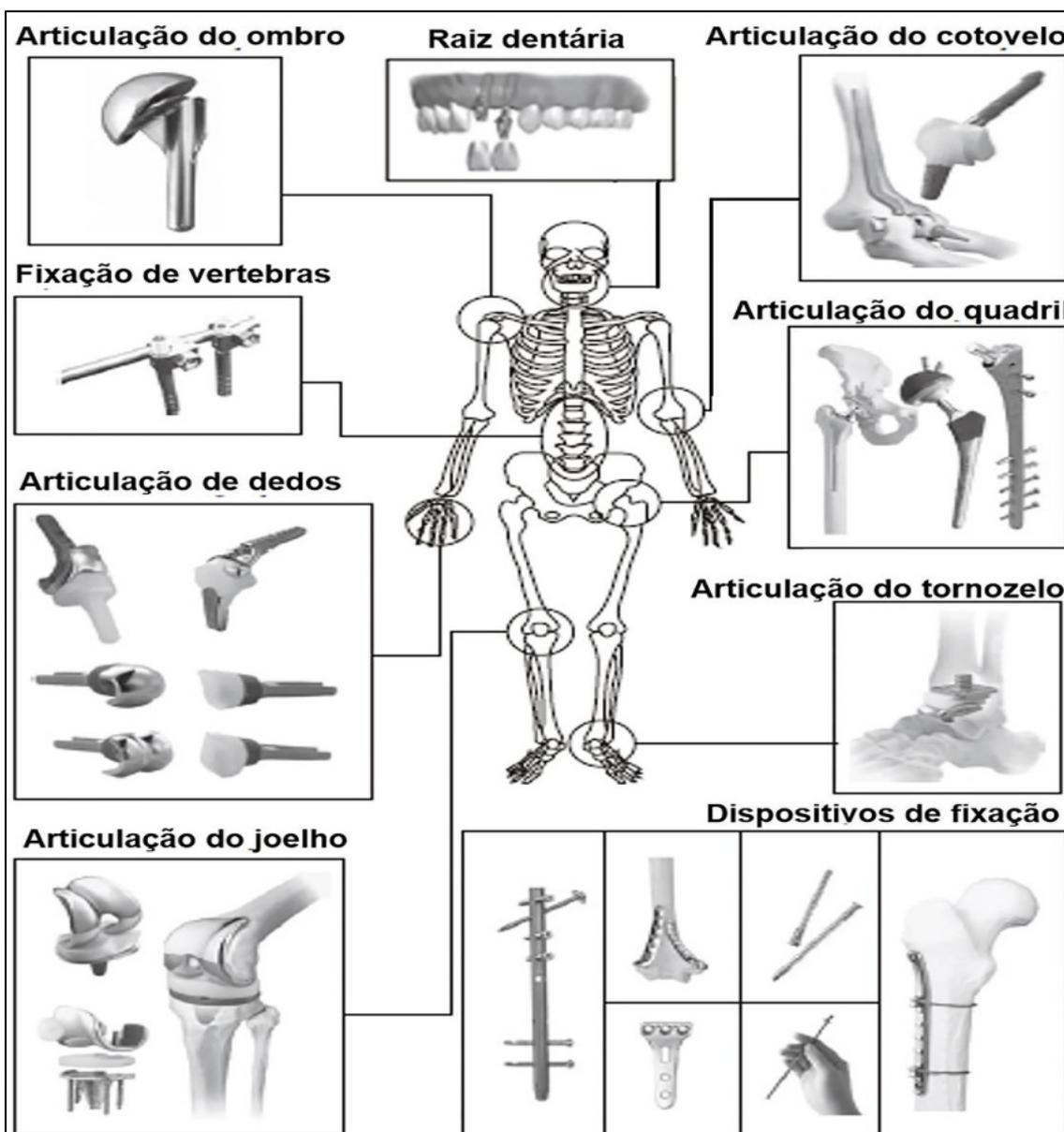


Figura 2.2 - Biomateriais metálicos para aplicações ortopédicas e odontológicas.

Adaptado de [43].

2.2 Titânio e suas ligas

O titânio foi descoberto por Willian Gregor, um mineralogista inglês, em 1791. Durante uma análise química Willian Gregor isolou, a partir da ilmenita, (FeTiO_3) uma substância residual contendo um metal desconhecido, inicialmente chamado de manacanita (manaccanite), em homenagem ao Vale de Manaccan, local onde foi descoberta. Em 1795, o alemão Martin Heinrich Klaproth descobriu

a mesma substância metálica no rutilo, um óxido de titânio, neste mesmo ano o titânio recebeu no seu atual nome. O nome Titânio vem dos primeiros filhos mitológicos de Gaia e Urano, os Titãs na mitologia grega. Somente em 1910, o americano Matthew Albert Hunter isolou o metal utilizando $TiCl_4$ [39].

Na década de 1940, impulsionado pela segunda guerra mundial, o luxemburguês Wilhelm Justin Kroll desenvolveu o processo Kroll, sendo capaz de produzir grandes quantidades de titânio metálico. Embora ainda seja o processo mais utilizado, o processo Kroll envolve diversas etapas e grande quantidade de energia, isto confere alto custo ao titânio [37,44].

O titânio é o quarto metal mais abundante na crosta terrestre, superado apenas pelo alumínio, ferro e magnésio. O titânio possui uma ótima relação peso/resistência mecânica, além de baixa densidade e, principalmente, excelente resistência à corrosão, além de ser biocompatível. As propriedades físicas do titânio estão resumidas na Tabela 2.2 [37,39].

Tabela 2.2 - Propriedades físicas do titânio (Ti). Adaptado de [39].

Propriedades	Valores
Número atômico	22
Massa molar	47,9 g/mol
Densidade	4,54 g/cm ³
Temperatura de fusão	1668 °C
Temperatura de transformação alotrópica	882 °C
Módulo de elasticidade (E) – α	115 GPa

O titânio e suas ligas passaram a ser utilizadas em aplicações aeroespaciais na década de 1940 nos Estados Unidos, em particular por sua leveza, resistência à temperatura e excelente resistência à corrosão [39,45]. Na indústria aeroespacial, a liga Ti-6Al-4V é a mais utilizada, que é encontrada em peças na fuselagem, no motor, trem de pouso, entre outras partes [39]. Apesar do alto custo do titânio, como produto acabado, seu uso tem crescido em outras indústrias, por exemplo, na indústria química, petroquímica ou nuclear (contenção, tanques, etc.) por sua alta resistência à corrosão. Sua

biocompatibilidade também torna o titânio um excelente candidato para as indústrias alimentícia, cervejeira, vinícola e farmacêutica [39,45]. O titânio e suas ligas têm sido utilizados como biomateriais implantáveis desde a década de 1950 (próteses de quadril e joelho, válvulas cardíacas, placas e parafusos para reparo de fraturas, implantes dentários, etc.) [37].

Assim como o ferro, o titânio é um material alotrópico, ou seja, em baixas temperaturas possui uma estrutura do tipo hexagonal compacta (HCP), conhecida como fase α ; na temperatura de, aproximadamente, 882 °C ocorre a transformação alotrópica do titânio que passa a possuir estrutura cúbica de corpo centrado (CCC) chamada de fase β (Figura 2.3) [39].

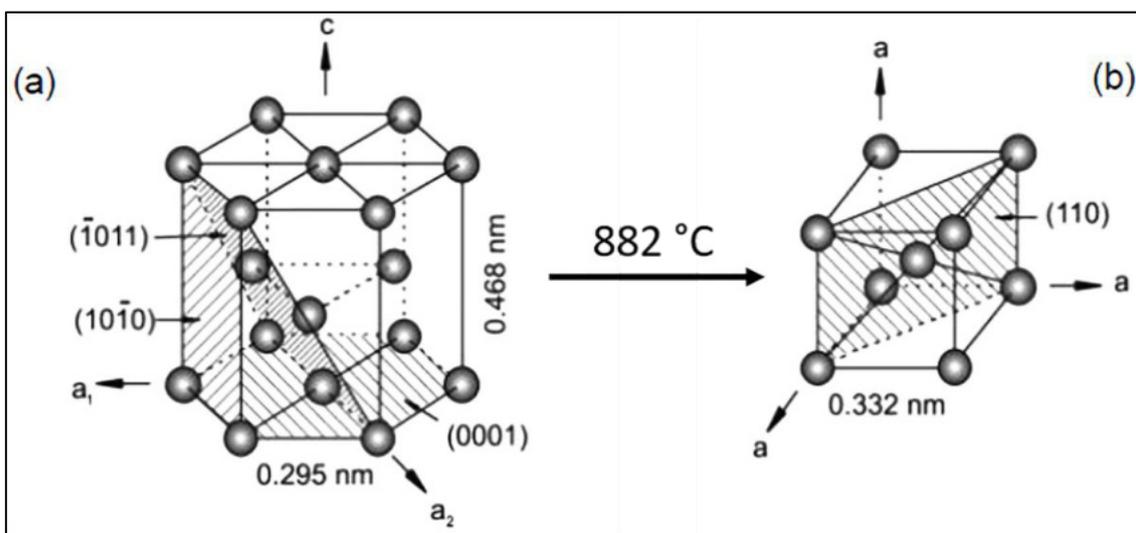


Figura 2.3 - Estruturas cristalinas do titânio. (a) hexagonal compacta, fase α ; (b) cúbica de corpo centrado, fase β [39].

O titânio é um metal altamente reativo que, em virtude de sua elevada afinidade química entre o metal e o oxigênio, quando exposto ao ar forma espontaneamente uma camada de óxido em sua superfície [39]. A camada de óxido que cobre naturalmente as ligas de titânio consiste geralmente no óxido de Ti mais termodinamicamente estável, o TiO_2 [45,46]. No entanto, o titânio pode assumir uma ampla gama de óxidos, como por exemplo: TiO , Ti_3O , Ti_2O_2 , Ti_2O_3 , Ti_3O_2 e Ti_3O_5 [39,45,46]. A camada compacta de TiO_2 exhibe três polimorfos cristalinos: anatase (tetragonal), rutilo (tetragonal), e brookita (ortorrômbica), mas também pode ser amorfo [46].

O rutilo tem a menor energia livre e é o mais comum, o mais estudado e conhecido dos três polimorfos. Anatase, que é raro em comparação com o rutilo, é de grande interesse particularmente pela sua aplicação em dispositivos fotovoltaicos [47]. Brookita é a forma mais rara do mineral e não é facilmente obtida sinteticamente. Brookita e anatase são polimorfos metaestáveis e se transformam exotermicamente em rutilo; a transformação é irreversível e ocorre em uma faixa de temperaturas (400–1200 °C) dependendo de vários fatores, como a presença de impurezas e o tamanho das partículas [47].

O TiO₂ formado sob a exposição ao ar é tão compacto que é quase impossível que o oxigênio penetre nele, bloqueando rapidamente a oxidação do metal e o espessamento da camada, possuindo espessura que varia de 3-7 nm [46]. Finalmente, como o TiO₂ é quimicamente inerte, ele confere maior estabilidade à superfície, garantindo assim proteção do metal contra a corrosão nos mais diversos meios [45,46].

Dependendo da microestrutura, na temperatura ambiente, as ligas de titânio podem ser classificadas como α , near- α , $\alpha+\beta$, β -metaestável, β -estável, esta classificação é definida pela quantidade das fases α e β , na microestrutura da liga na temperatura ambiente [6,43]. Na Figura 2.4 está apresentado de maneira ilustrativa o diagrama de fases de ligas de titânio com adição de elementos α e β estabilizadores [39].

Elementos de liga como Al, O, N e C são α estabilizadores, pois, aumentam a temperatura β -transus (temperatura de transformação de α para β) [6,45,46]. Os elementos, como V, Mo, Nb, Ta e Fe estabilizam a fase β e são conhecidos como β estabilizadores, estes elementos aumentam o campo de transformação α para β [6]. Existe ainda os elementos de caráter neutro, como Zr e Sn, estes elementos não influenciam na transformação de fases, são adicionados para otimizar propriedades específicas. Os elementos β estabilizadores são divididos em β -isomorfos (V, Zr, Nb, Mo, Ta), estes elementos aumentam o campo de estabilidade da fase β ; os elementos β -eutetóides (Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Si e H), apresentam reação eutetoide a partir da fase β [6,37,45].

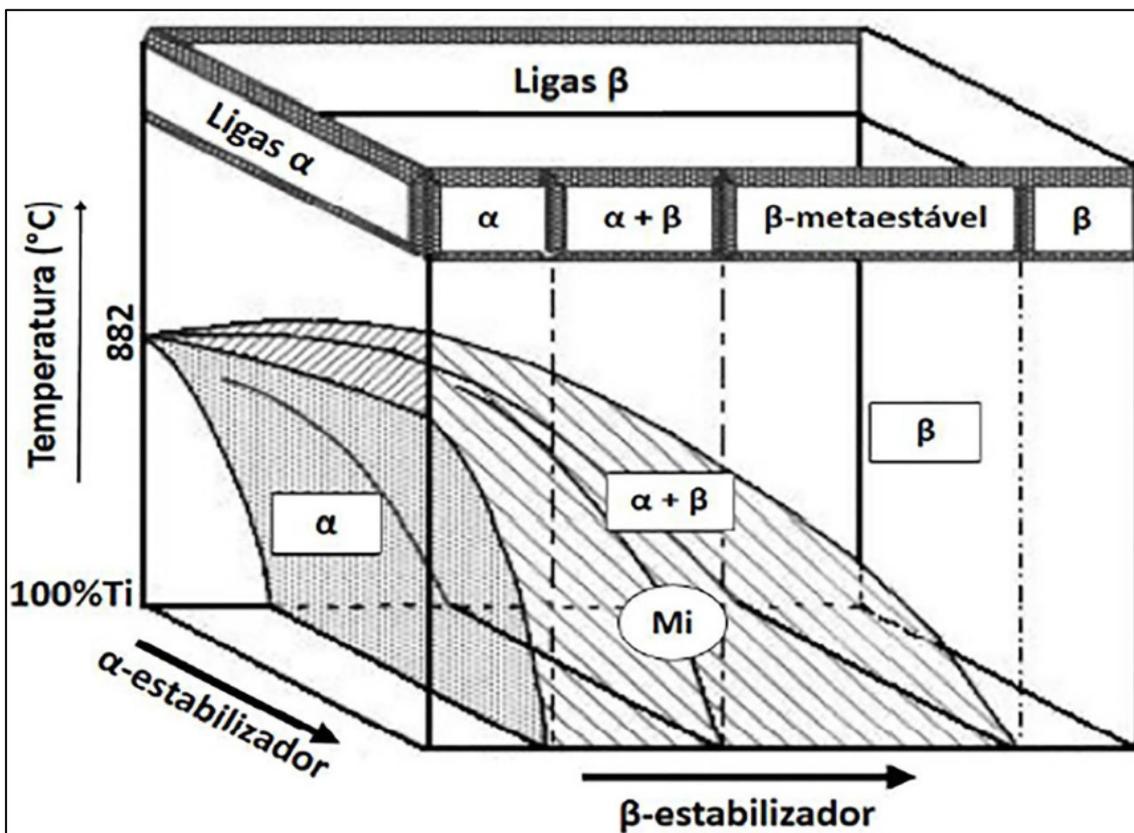


Figura 2.4 - Diagrama de fases de ligas do titânio contendo α e β estabilizadores. Adaptado de [39]

As ligas que contêm apenas α -estabilizadores e consistem inteiramente de fase α e são conhecidas como ligas α . As ligas de titânio que contêm entre 5 a 10% de fase β são conhecidos como ligas near- α . Estas ligas, geralmente, apresentam resistência mecânica moderada, boa resistência à fluência e alta resistência à oxidação [6,39,45].

As ligas contendo maior quantidade de β -estabilizadores, resultando em uma estrutura com 10 a 30% de fase β são habitualmente chamadas de ligas $\alpha+\beta$. É a classe de ligas de titânio mais utilizada, são empregadas em grande parte das aplicações industriais das ligas de titânio. É possível, através de tratamentos térmicos obter diferentes microestruturas para aplicações específicas [24,48]. A Figura 2.5 apresenta os diferentes diagramas de fase do titânio, dependendo dos elementos de liga [39].

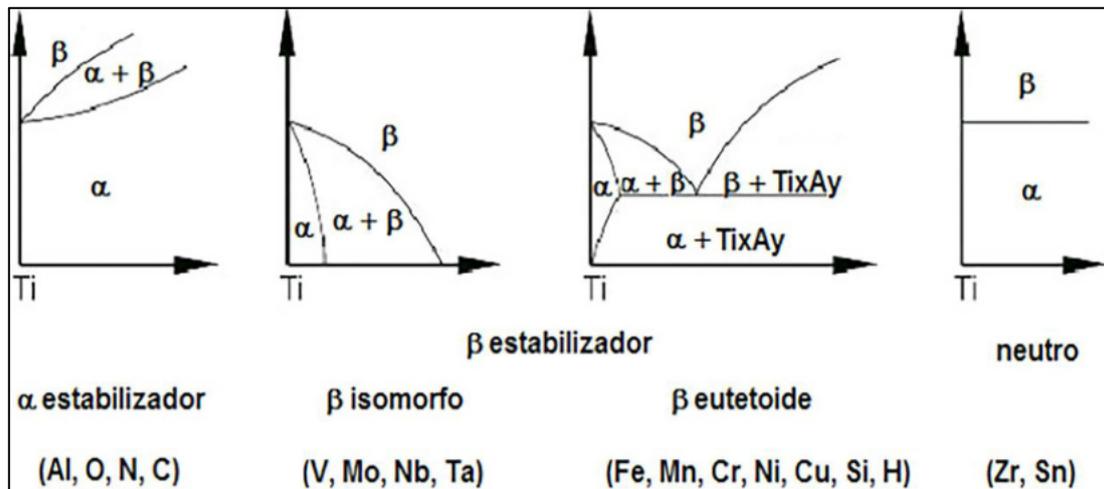


Figura 2.5 - Efeito dos elementos de liga nos diagramas de fase de ligas de titânio. Adaptado de [39].

As ligas do tipo β possuem na sua microestrutura mais de 50% de fração volumétrica da fase β . As ligas onde a estabilização da fase β ocorre em temperatura ambiente são designadas de ligas β -metaestáveis. As ligas β -metaestáveis apresentam a transformação $\beta \rightarrow \beta + \alpha$, quando submetidas ao tratamento térmico de envelhecimento [21,49]. As ligas do tipo β estáveis, são aquelas com teor de elementos β -estabilizadores suficiente para não ocorra a decomposição martensítica no resfriamento rápido [50].

A estabilidade das fases do Ti pode ser prevista pelos parâmetros B_o e M_d . O parâmetro B_o ("bond order") está associado à força de ligação covalente entre o Ti com o elemento [X], o parâmetro M_d (mean "d" orbital energy level) relaciona-se ao nível eletrônico do orbital "d" do elemento [X] adicionado ao Ti, que pode ser correlacionado com o raio atômico e eletronegatividade do elemento [X] [51]. Sendo assim, os parâmetros B_o e M_d estimam a força de interação dos elementos de liga com os elementos da matriz de titânio. Na Tabela 2.3 estão apresentados valores para alguns elementos utilizados em ligas de titânio [51]. O valor médio dos parâmetros B_o e M_d é calculado por meio da média ponderada destes parâmetros, a partir da soma da fração atômica de cada elemento químico com seu respectivo valor teórico, conforme apresentado nas Equações 2.1 e 2.2 [51,52].

$$B_o = \sum x_i B_{oi} \quad (2.1)$$

$$M_d = \sum x_i M_{di} \quad (2.2)$$

onde x_i representa a porcentagem atômica do elemento de liga.

Com os valores de B_0 e M_d é possível construir um diagrama (Figura 2.6). Neste diagrama, é possível observar as fases presentes, como por exemplo a transição de $\beta/\beta+\omega$, onde a fase ω é deletéria às propriedades mecânicas das ligas de titânio, observa-se também o valor do módulo de elasticidade, que diminui com o aumento dos valores dos parâmetros B_0 e M_d [51,52].

Tabela 2.3 - Valores de B_0 e M_d para alguns elementos. Adaptado de [51].

3d	B_0	M_d	4d	B_0	M_d	5d	B_0	M_d
Ti	2,790	2,447	Zr	3,086	2,934	Hf	3,110	2,975
V	2,805	1,872	Nb	3,099	2,424	Ta	3,144	2,531
Cr	2,779	1,475	Mo	3,063	1,961	W	3,125	2,072
Mn	2,723	1,194	Ru	2,704	0,859	Pt	2,252	0,146
Fe	2,651	0,969	Rh	2,736	0,561	Au	1,953	0,258

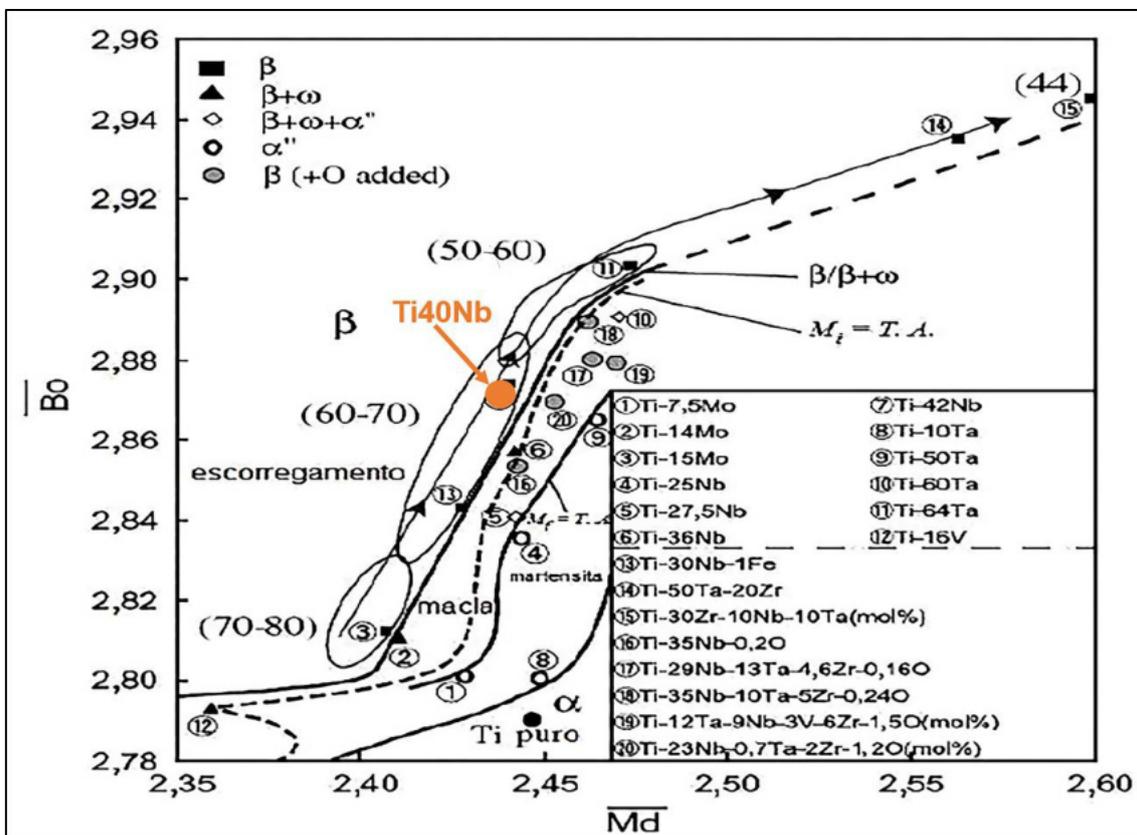


Figura 2.6 – Diagrama B_0 vs. M_d . Adaptado de [51].

2.2.1 Nióbio e o sistema Ti-Nb

O nióbio foi descoberto em 1801, pelo químico inglês Charles Hatchett. Inicialmente, Charles Hatchett chamou o elemento de colúmbio, pois, o metal foi isolado pela redução da columbita [53]. Em 1844, o químico alemão Heinrich Rose imaginou ter descoberto um novo elemento ao analisar uma tantalita (mineral de onde se obtém o tântalo) e o batizou de nióbio [54,55]. Somente em 1950 o nióbio foi oficialmente adotado União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) [53]. O nome nióbio deriva da deusa grega Níobe, que é filha do deus grego Tântalo [53].

Atualmente, a mais importante aplicação do nióbio em processos industriais, é como elemento de liga para conferir melhorias das propriedades nos aços de alta resistência e baixa liga, usados na fabricação tubulações para transporte de gás sob alta pressão [55,56].

As ligas binárias de Ti-Nb têm sido estudadas como candidatos promissores para aplicação ortopédica, devido à sua alta biocompatibilidade, baixo módulo de elasticidade e elevado limite de resistência [57]. Como um dos elementos β -estabilizadores mais eficientes, o nióbio tem uma influência importante na transformação $\alpha \rightarrow \beta$ nas ligas Ti-Nb, dissolvendo-se completamente em β -Ti [56,57]. Na Figura 2.7 está apresentado o diagrama de equilíbrio Ti-Nb, onde está sendo mostrado a temperatura Liquidus e a β -Transus da liga Ti-40Nb. [58].

Significativa atenção tem sido dada ao impacto da concentração de Nb na evolução microestrutural das ligas de titânio [57]. Dados experimentais indicam que, se a quantidade de nióbio for menor que 10% (em peso), a liga pode exibir uma transformação martensítica durante o resfriamento rápido. Para valores maiores que 10% (em peso), a fase β pode ser retida em um estado metaestável [56,57]. Ligas Ti-Nb contendo 15% (em peso) de Nb, quando submetidas a resfriamento brusco é possível obter uma estrutura martensítica (α'); para teores entre 17,5 a 25% (em peso) de nióbio a estrutura obtida com resfriamento rápido é do tipo martensítica (α'') [59]. Com teor de nióbio de, aproximadamente, 27,5% (em peso) é formada a fase β -metaestável, durante resfriamento rápido [57].

Em termos de ligas binárias de Ti-Nb, a fase- β é mais estável conforme ocorre o aumento da quantidade de nióbio na liga, aproximadamente 40% (em peso) é necessário para reter a fase- β à temperatura ambiente, enquanto que com 30% (em peso) a fase- β é obtida com resfriamento rápido [56]. Numerosas ligas binárias de Ti-Nb são usadas para aplicações biomédicas (Ti-35Nb, Ti-40Nb, Ti-45Nb) [60–62]. A excelente biocompatibilidade de ambos os metais foi demonstrada, em estudos *in vitro*, liberando íons de Ti e Nb de pós-metálicos em células de fibroblastos osteoblastos, foi observado que os íons não tinham efeito prejudicial no crescimento das células [63].

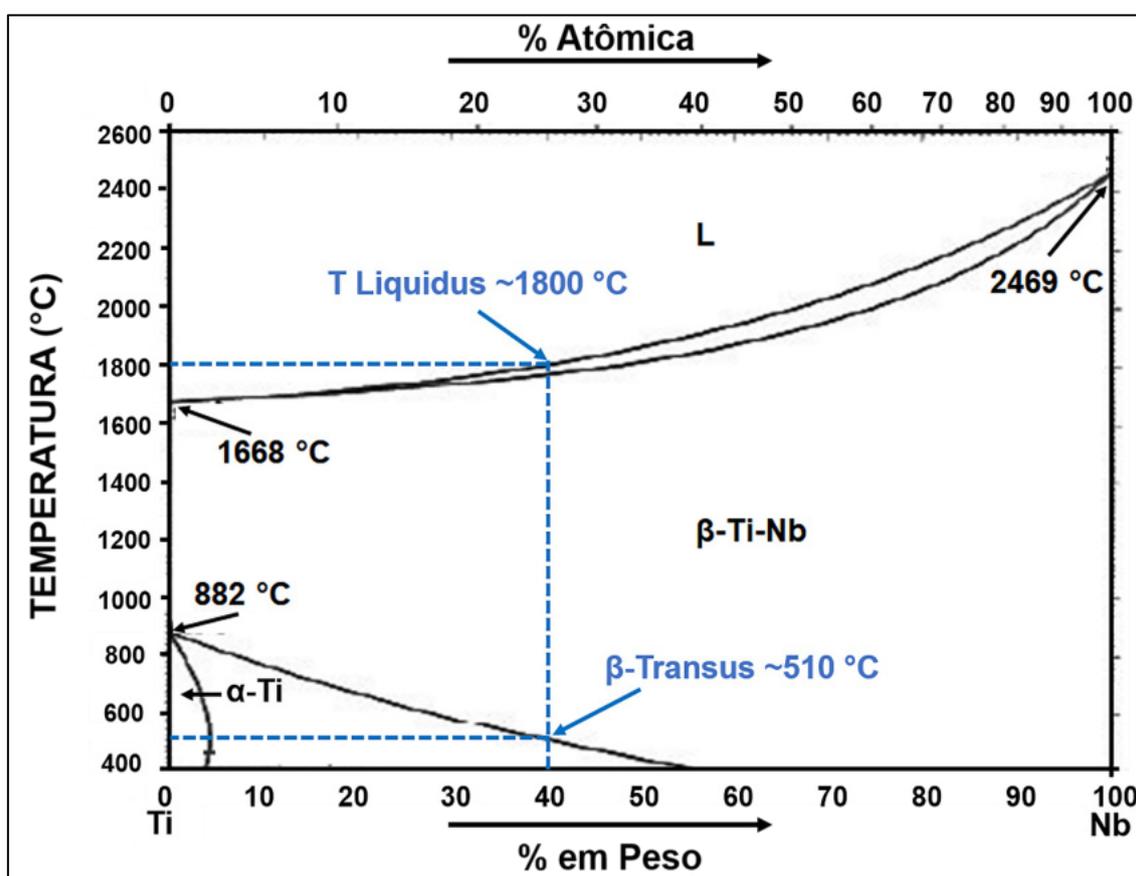


Figura 2.7 - Diagrama de equilíbrio Ti-Nb. Adaptado de [58].

Hon et al. [59] estudaram os efeitos do teor de Nb nas propriedades mecânicas e microestrutura de ligas binárias de Ti-Nb laminadas a quente e resfriadas em forno, aumentando gradualmente a concentração de Nb de 14% para 40% (% em peso). Nesta faixa, este sistema de liga inicialmente tem uma

estrutura duplex $\alpha+\beta$, com o teor de α diminuindo gradativamente até seu desaparecimento a 30% Nb, e o teor de ω aumentando até o limite da estabilidade α . Em contraste, as ligas fundidas e temperadas investigadas em uma faixa mais estreita, de 16% a 28,5 % de Nb (em peso), exibem α'' como fase primária, com pequenas quantidades de β ou ω quando a quantidade de Nb é inferior a 20% (em peso). Análogo ao estado resfriado no forno, as frações de volume de β e ω aumentam conforme a fração de volume de α'' diminui, e a adição suficiente de Nb eventualmente vê uma diminuição na fração de volume ω e, portanto, no módulo de elasticidade.

No artigo de Mello et al. [60] discutem os efeitos de tratamentos térmicos de envelhecimento na microestrutura, transformação de fase e comportamento mecânico da liga Ti-35Nb. As amostras foram tratadas termicamente no campo β , temperadas e envelhecidas sob diferentes condições de taxas de aquecimento, temperatura de envelhecimento isotérmico e tempo de envelhecimento isotérmico. Verificou-se que a precipitação isotérmica da fase ω ocorre acima de 300 °C, sua dissolução ocorre entre 430 e 500 °C. Os resultados indicam que a liga Ti-35Nb submetida a uma taxa de aquecimento de 30 °C/min e uma temperatura de envelhecimento isotérmico de 500 °C aplicada por 4 h garantiria alta resistência mecânica e baixo módulo de elasticidade. A aplicação dessas condições de envelhecimento levou a uma microestrutura composta por precipitados de fase α muito refinados e homoganeamente dispersos na matriz da fase β , apresentando uma resistência à tração final de 972 MPa, alongamento de 7,5% e módulo de elasticidade de 78 GPa.

Helth et al. [24] utilizaram diferentes estratégias para o endurecimento da liga β Ti-40Nb, com intuito de otimizar a biofuncionalidade mecânica. As estratégias são baseadas em tratamentos termomecânicos compostos por diferentes etapas de laminação a quente e a frio, bem como tratamentos de recozimento visando a exploração sucessiva de diferentes mecanismos de endurecimento (por trabalho a frio e por precipitação). Os testes de tração revelaram que o refinamento do grão em uma ordem de magnitude tem apenas um pequeno impacto na melhoria da biofuncionalidade mecânica da liga β -Ti-40Nb. No entanto, o endurecimento por trabalho a frio melhora efetivamente a

resistência à tração em 30% para um valor de 650MPa, enquanto que o módulo de elasticidade de liga permanece em 60GPa. Verificou-se também, que o endurecimento por precipitação da fase α tem um efeito crescente sobre a resistência e o módulo de elasticidade, mesmo em frações de fase α baixas. As mudanças de textura que evoluem a laminação a frio influenciam marcadamente o comportamento de recristalização. No entanto, no mesmo estudo, os autores observaram que os resultados não mostram um efeito significativo da textura nas propriedades mecânicas da liga β Ti-40Nb.

Em estudo desenvolvido por Pilz et al. [48] foi avaliado o efeito do processamento termomecânico das ligas Ti-36Nb e Ti-40Nb com a adição de 3,5% em peso de índio (In). Ambas as ligas apresentam maior estabilidade da fase β em comparação com ligas binárias devido às adições In. Isso leva a uma fração reduzida da fase α no caso da liga Ti-36Nb-3,5In e à supressão da formação da fase α , induzida por deformação, para a liga Ti-40Nb-3,5In. As propriedades mecânicas das ligas foram posteriormente estudadas por ensaios de tração no estado recristalizado, revelando valores de módulo de elasticidade reduzidos de 58 GPa Ti-40Nb-3,5In e 56 GPa Ti-36Nb-3,5In em comparação com 60 GPa conforme determinado para Ti-40Nb [24].

No trabalho de pesquisa desenvolvido por Reck et al. [61] com foco no comportamento em fadiga da liga Ti-40Nb (% em peso) com uma microestrutura de fase β única e um módulo de elasticidade de 60 GPa. Os resultados experimentais revelam uma grande dispersão e uma resistência à fadiga de 150 MPa em 2×10^6 ciclos ($R=1$). A concentração de tensões nessas falhas superficiais, geradas pelo corte a laser, juntamente com a sensibilidade ao entalhe das ligas de titânio, são a principal razão para a dispersão pronunciada dos resultados de fadiga acompanhados pela iniciação de trincas sempre começando da superfície. Como referência foram utilizadas amostras de Ti-c.p. (ASTM Grau 4), produzidas e testadas nas mesmas condições da liga Ti-40Nb exibem uma resistência à fadiga de 200 MPa a 2×10^6 ($R=1$) ciclos.

A liga β Ti-40Nb também se destaca no campo de materiais destinados ao armazenamento de hidrogênio no estado sólido. A liga β Ti-40Nb apresenta excepcional conformabilidade, podendo ser processadas por laminação a frio em

diversos passes, o que pode melhorar as propriedades de absorção de hidrogênio. Araujo-Silva et al. [64] investigaram os efeitos da laminação a frio nas propriedades de absorção de hidrogênio da liga de Ti-40Nb fundida a arco e resfriada rapidamente. As amostras foram processadas por laminação a frio com 40 e 80 passes. Após a laminação a frio as ligas Ti-40Nb apresentaram elevada densidade de defeitos cristalinos, rachaduras e energia de deformação armazenada que aumentou com a quantidade de passes de laminação. Na temperatura ambiente, as amostras deformadas com 80 passes absorveram ~2,0% em peso de hidrogênio após 15 min, enquanto as amostras deformadas com 40 passes absorveram ~1,8% em peso durante 2 h. Quando comparados com amostras não deformadas esses resultados foram ainda mais expressivos, que absorveram ~1,7% em peso após 2 h a 300 °C. A dessorção de hidrogênio evoluiu da mesma forma que a absorção quanto à quantidade de deformação, reduzindo a temperatura de dessorção de ~270° C, para amostras deformadas com 40 passes, a ~220° C, para amostras com 80 passes.

2.3 Modificação superficial

A seleção adequada de um biomaterial deve ter como principais propriedades o módulo de elasticidade o mais próximo possível ao do osso, resistência à corrosão em fluidos corpóreos, e resistência à fadiga cíclica. Entretanto somente estas características não são suficientes para determinar o sucesso de um implante. Processos de modificação superficial têm sido propostos com o objetivo de aumentar a área de superfície e a qualidade da adesão da interface osso/implante [25]. É reconhecido que a superfície do implante tem vital importância na resposta do organismo aos dispositivos médicos implantados. Dentre os vários parâmetros de superfície destacam-se a rugosidade, composição química e molhabilidade [65–67]. Modificações superficiais em implantes podem influenciar o processo de osseointegração, desde a diferenciação celular na interface osso/implante e na qualidade/quantidade de matriz óssea que será depositada e por fim calcificada na superfície do implante [65,68]. Estas modificações permitem, não somente a

recuperação mais rápida do paciente, mas também a fixação estável entre o osso/implante.

A Figura 2.8 mostra que uma superfície modificada (micro/nanotexturizada) promove maior adesão e diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos, necessários para o crescimento ósseo, em relação a uma superfície não modificada. Mais precisamente, os osteoblastos participam primeiro na síntese da parte não mineral dos ossos (colágeno, proteínas) e depois na mineralização da matriz, ou seja, na formação da hidroxiapatita (HAp) [69].

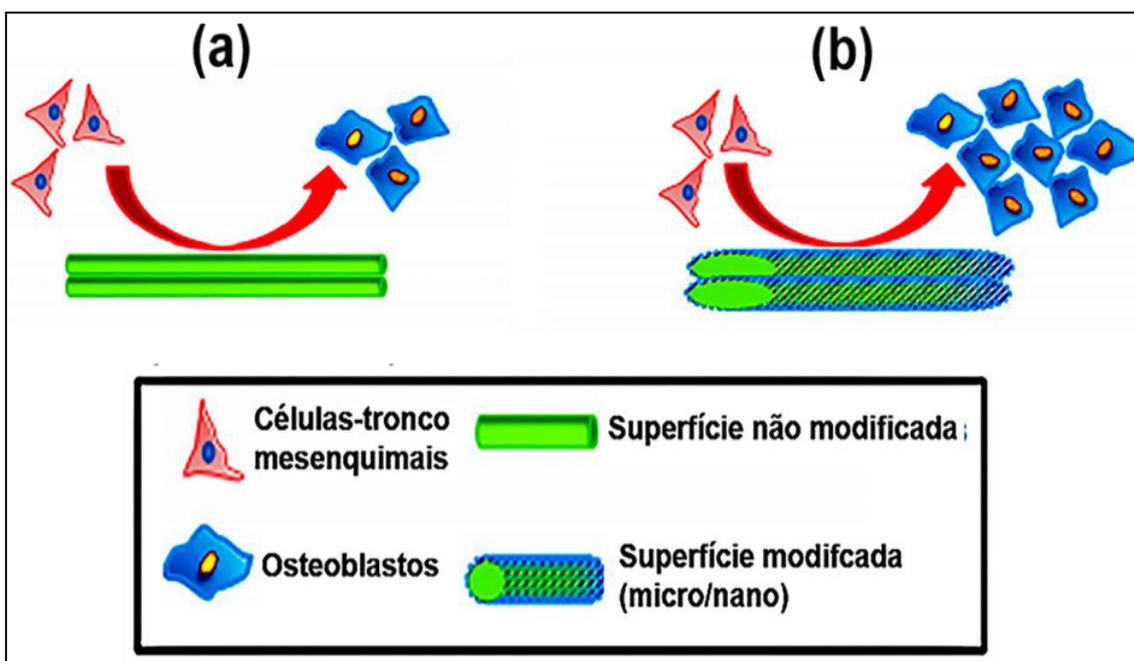


Figura 2.8 - Representação esquemática da interação das células ósseas com as próteses ortopédicas. (a) Comportamento celular em uma prótese sem modificações superficiais. (b) Comportamento celular em uma prótese com modificações superficiais (micro/nano). Adaptado de [69].

Basicamente, duas abordagens diferentes são usadas na modificação da superfície dos implantes. Na primeira, a interface implante/osso é melhorada fisicamente ou mecanicamente pela modificação da topografia da superfície [70]. Nesta abordagem, no nível micrométrico, uma superfície rugosa apresenta uma área específica maior do que uma superfície lisa, e assim facilita a ancoragem óssea. No nível nanométrico, a rugosidade aumenta a energia da superfície e,

portanto, melhora potencialmente a adsorção da proteína da matriz extracelular, facilitando a migração e proliferação das células ósseas e, conseqüentemente, a osseointegração [70,71]. Na segunda abordagem, a interface é melhorada quimicamente, revestindo o material do implante com óxidos bioativos e/ou compostos como fosfatos de cálcio, que podem estimular a regeneração óssea [72]. A modificação bioquímica da superfície é uma variante desta segunda abordagem, que incorpora moléculas orgânicas, como proteínas e enzimas ou peptídeos na superfície, para induzir respostas celulares e teciduais específicas [27,72,73].

Na Figura 2.9, encontram-se alguns métodos de modificação de superfície aplicados para alterar mecânica, física ou quimicamente os implantes.

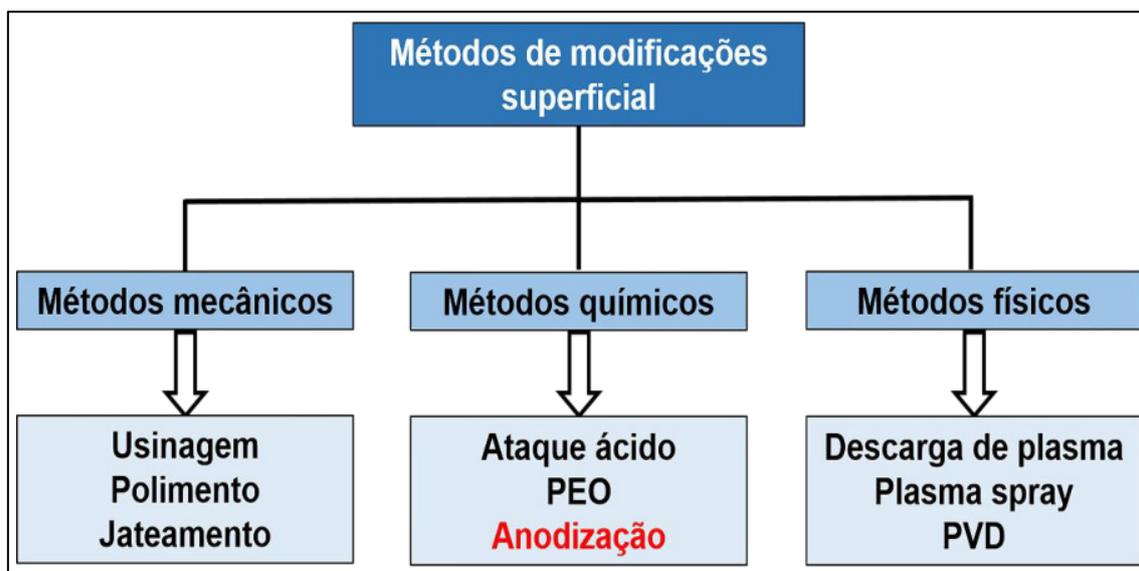


Figura 2.9 – Fluxograma esquemático mostrando alguns métodos de modificações superficiais. Adaptado de [74].

Uma questão importante a ser controlada e que é dependente da rugosidade na superfície, produzida através de modificações na superfície, é a molhabilidade [75,76]. A molhabilidade de uma superfície sólida depende da sua composição química e topografia, indicada pela rugosidade e organização da superfície [77]. A molhabilidade dos implantes afeta a propagação de fluidos biológicos e a adsorção de moléculas importantes durante os estágios iniciais da

formação óssea, se adsorvendo na superfície do implante e, afetando a adesão celular e, conseqüentemente, a diferenciação e proliferação celular [29,67,75].

Portanto, é interessante determinar quais parâmetros de superfície favorecem esses diferentes comportamentos de molhabilidade. O grau de molhabilidade pode ser classificado através do ângulo de contato de uma gota de líquido em contato com uma superfície sólida [73].

As superfícies podem ser classificadas em quatro tipos diferentes, dependendo do ângulo de contato desenvolvido por uma gota de água, conforme mostrado na Tabela 2.4 [75].

Tabela 2.4 - Classificação das superfícies de acordo com o ângulo de contato. Adaptado de [75].

Classificação	Ângulo de contato (°)
Super-hidrofóbicas	>150
Hidrofóbicas	>90
Hidrofílicas	<90
Super-hidrofílicas	~0

As superfícies hidrofóbicas geram um ângulo de contato com a água maior que 90°, enquanto uma superfície super hidrofóbica exibe um ângulo de contato com a água maior que pelo menos 150°. Em contraste, as superfícies hidrofílicas apresentam ângulos de contato inferiores a 90°, enquanto uma superfície super hidrofílica mostra um ângulo de contato com a água igual ou próximo a 0° [75]. Nos estágios iniciais da formação óssea a adsorção de moléculas é diretamente afetada pela molhabilidade de fluídos na superfície do implante [73]. Superfícies hidrofílicas (<90°) tendem a melhorar os estágios iniciais de adesão celular, proliferação, diferenciação e mineralização óssea em comparação com superfícies hidrofóbicas (>90°). Entretanto também foram relatados resultados opostos, onde, superfícies super hidrofílicas ~0° apesar promover a adesão celular, estas superfícies apresentam energia superficial extremamente elevada impedindo a mobilidade celular [67,75,77].

2.3.1 Anodização eletroquímica

A oxidação anódica, também chamada de anodização eletroquímica ou simplesmente anodização, é um processo eletroquímico que visa à formação de uma camada oxidada sobre a superfície de um metal. A anodização foi originalmente utilizada na indústria para crescer camadas compactas e espessas de óxido na superfície dos metais. No caso do titânio, a anodização é historicamente usada na joalheria para produzir superfícies coloridas, fenômeno resultante de um efeito de interferência óptica em função da espessura da camada de óxido [78,79]. A coloração dos filmes óxidos anodizados sofre influência dos parâmetros de anodização. A coloração do filme óxido pode sofrer influência não apenas da luz que nele interfere como também da estrutura cristalina do filme, no caso do titânio anatase, rutilo ou broquita. Colorações distintas se apresentam, com frequência, em espessuras idênticas quando em diferentes eletrólitos [79]. Sob certas condições de anodização (composição do eletrólito, voltagem aplicada, tempo de anodização, etc.), a camada anodizada pode ser porosa ou mesmo nanotubular [79].

O trabalho, considerado o pioneiro em termos de camadas nanoporosas/nanotubulares anodizadas de TiO_2 , foi desenvolvido por Assefpour-Dezfuly et al. [80] em 1984. Zwilling et al. [81] em 1999 obtiveram filmes porosos na liga Ti-6Al-4V formados pela anodização do titânio em solução de ácido crômico e de ácido fluorídrico (HF).

O processo de anodização é realizado em uma célula eletroquímica, ligada a uma fonte de alimentação, um ânodo (metal a ser anodizado, no caso deste trabalho a liga β Ti-40Nb), ligado ao terminal positivo da fonte de alimentação e um contra eletrodo, ligado ao polo negativo (cátodo, material inerte, normalmente de Platina (Pt)), além do eletrólito. O eletrólito é uma solução aquosa, que pode conter íons fluoreto (F^-) no caso de sínteses de camada porosa. Então, é aplicada uma diferença de potencial que resultará na formação de um campo elétrico entre eles, sendo este responsável pela dissolução e formação de óxido na superfície do metal [46,78].

O processo de anodização se destaca por ser um processo simples, de baixo custo, bastante versátil, facilmente controlável e reproduzível. Neste

processo é possível controlar a morfologia e estrutura das nanoestruturas formadas (incluindo diâmetro interno, espessura da parede e comprimento do tubos) através de ajustes das condições eletroquímicas do processo, tais como a composição do eletrólito e o seu pH, temperatura, tensão aplicada e tempo de anodização [78,79,82].

De forma geral, durante o processo de anodização do titânio acontecem os seguintes processos: [79,82,83]

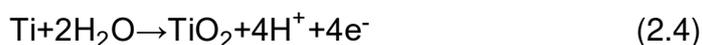
- i) Crescimento do óxido, ocorre através da interação dos íons O^{2-} ou OH^- , presentes no eletrólito, com o titânio;
- ii) Corrosão, ocorre a migração de íons metálicos (Ti^{4+}) da interface metal/óxido, para a interface óxido/eletrólito;
- iii) Redução, devido à presença de campo elétrico ocorre a dissolução da camada de óxido na interface óxido/eletrólito, os íons livres de O^{2-} migram através da interface óxido/metálico;
- iv) Dissolução química, quando a transferência de carga de íons metálicos é compensada pela de íons de oxigênio.

No início, a amostra de Ti está imersa no eletrólito, porém sem sofrer influência do mesmo. Aplica-se então uma tensão entre os eletrodos, forte o suficiente para que se forme um campo elétrico através do óxido. O campo elétrico formado ativa a migração iônica (íons do eletrólito O^{2-}) que migram em direção à amostra e os íons do metal (Ti^{4+}) que realizam o caminho inverso, saindo do metal em direção ao eletrólito. O campo elétrico também é responsável pela condução eletrônica, que resulta principalmente na evolução do oxigênio na interface óxido/eletrólito, os processos (i-iv) de formação e crescimento da camada de TiO_2 por anodização podem ser descritos pelas reações apresentadas nas Equações 2.3 a 2.6:[79,84]

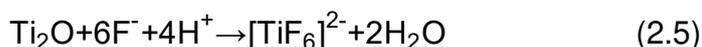
Inicialmente, no eletrodo de trabalho (ânodo), o metal é oxidado, de acordo com a Equação 2.3:



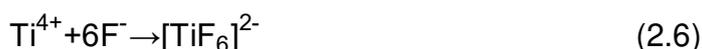
O metal oxidado, em contato com o eletrólito forma um óxido, de acordo com a Equação 2.4:



O óxido de TiO_2 formado é solúvel no eletrólito que, neste caso apresenta em sua composição íons Flúor (F^-) e então, é estabelecido um equilíbrio entre a reação de formação de filme (Equação (2.4)) e sua dissolução, conforme a Equação 2.5:



Os íons Ti^{4+} que migram para a superfície do titânio também podem ser complexados por íons fluoreto, como mostra a Equação 2.6:



O crescimento da camada de óxido de TiO_2 é resultado da migração iônica assistida pelo campo elétrico. Para que ocorra o crescimento do óxido de TiO_2 é necessário que o campo elétrico seja suficientemente forte para manter o direcionamento dos íons [79,85]. Devido ao aumento da espessura do filme óxido, haverá uma redução gradual do campo elétrico no interior desta camada. Como ocorre uma competição entre a formação e a dissolução química do óxido de TiO_2 , o que torna o processo de anodização auto limitante [79,85]. A presença do campo elétrico também é responsável por tornar instável a água presente no eletrólito, resultando na quebra de algumas moléculas e gerando oxigênio gasoso na reação [79]. A ativação simultânea da migração iônica e da condução eletrônica durante o crescimento do óxido também é responsável pela produção de gás no óxido. Os íons de oxigênio que migram para o interior do óxido podem perder seus elétrons e serem convertidos em oxigênio molecular, produzindo bolhas de gás que são retidas no óxido, conforme a Figura 2.10 [85].

Parâmetros como a composição do eletrólito, a tensão aplicada, o tempo e a temperatura influenciam o processo de anodização. Com a alteração de qualquer um desses parâmetros é possível obter diferentes estruturas e morfologias da camada de óxido de TiO_2 [79]. A formação de nanotubos e de camadas porosas de óxido de titânio é realizada em eletrólitos contendo íons flúor (F^-), o titânio e dióxido de titânio são facilmente dissolvidos nestes eletrólitos. Devido ao pequeno raio atômico, o íon flúor penetra facilmente na camada de óxido de TiO_2 , levando a formação de pites de corrosão que, posteriormente, resultarão na formação de diferentes estruturas de acordo com os parâmetros do processo [85,86].

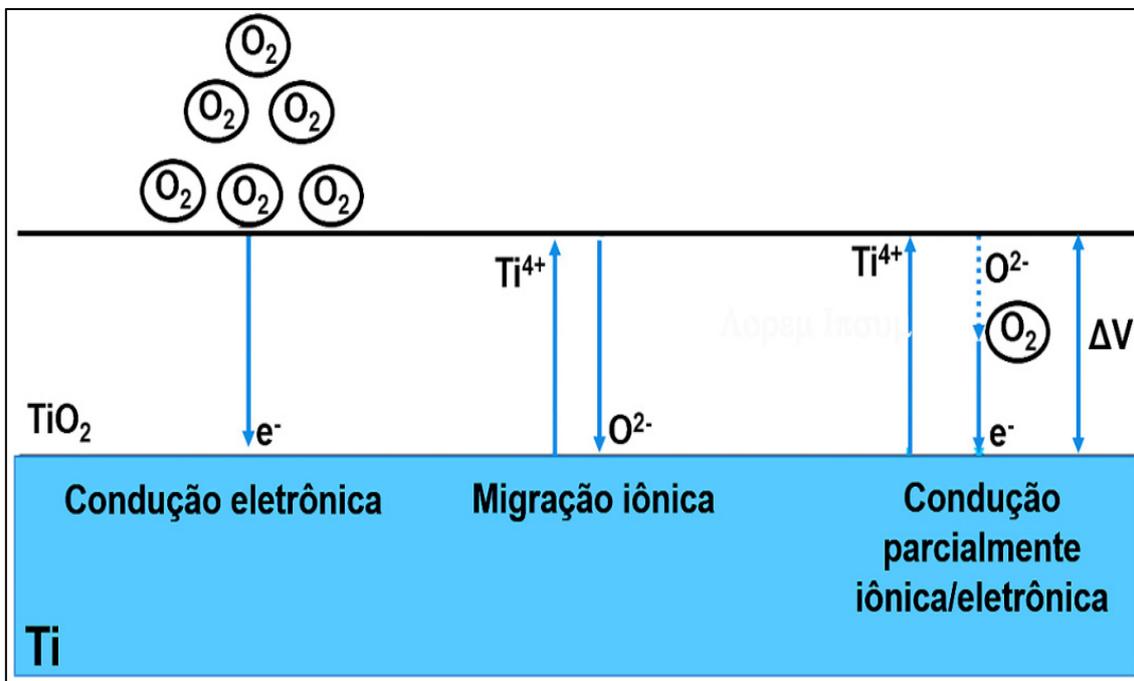


Figura 2.10 - Diagrama esquemático dos processos de condução (iônico/eletrônico) que ocorrem durante o crescimento do óxido de titânio. Adaptado de [85].

As camadas nanotubulares e nanoporosas formadas na superfície de substratos metálicos através de anodização são geradas pela interação de três reações concorrentes: (1) oxidação assistida por campo na superfície do substrato metálico, formando TiO_2 ; (2) dissolução assistida por campo dos íons titânio dentro do eletrólito; (3) dissolução química do titânio e da camada de óxido gerada pelos íons F^- contidos no eletrólito [79].

De forma geral, a formação dos nanotubos pode ser explicada em função da curva de densidade de corrente vs. do tempo de anodização (Figura 2.11). As regiões (i) e (ii) são descritas como estados instáveis e a região (iii) é definida como uma região de estado quase estacionário [87].

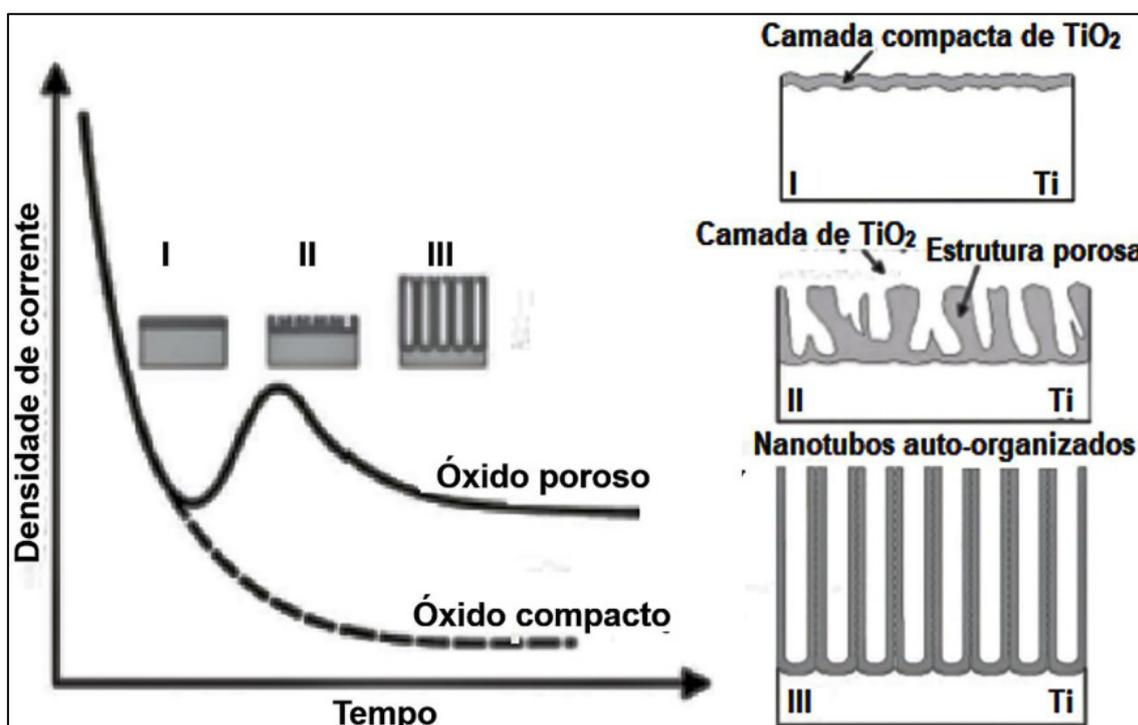


Figura 2.11 - Curva típica da densidade de corrente vs tempo, indicando os estágios (i), (ii) e (iii). Adaptado de [84].

No estágio (i), inicialmente é medida uma grande densidade de corrente, dando início à oxidação do $\text{Ti} \rightarrow \text{Ti}^{4+}$, após a oxidação do Ti ocorre um decaimento da densidade de corrente. A diminuição da densidade de corrente é devido à formação da camada do óxido que acontece pela presença de O^{2-} e OH^- no eletrólito. Os íons F^- presentes no eletrólito formam pequenos canais na camada de óxido, por onde o fluxo de corrente se mantém ativo, apesar da presença destes canais a corrente diminui para um valor mínimo, pois o processo é dominado pela presença da camada de óxido [79,82,85]. Como ocorre um acúmulo de íons H^+ na base destes canais, para que seja mantida a neutralidade eletroquímica, os íons F^- migram para estas regiões. Depois de alcançada uma concentração crítica nestas regiões, ocorre a dissolução da camada de TiO_2 , e desta maneira são formados complexos $(\text{TiF}_6)^{2-}$ [85].

No estágio (ii), devido ao aumento da densidade de corrente provocada pelo coalescimento destes canais (estágio i), forma-se nanoporos que, por sua vez, vão se tornando uma estrutura uniforme e interconectada sobre a camada de óxido. Conforme ocorre o crescimento destes nanoporos, a dissolução da

camada de óxido é aumentada, deixando a superfície do metal exposta e ocorre um incremento no valor da corrente [79,82,85,86].

No último estágio (iii) a intensidade da corrente se mantém constante, pois, é atingido o equilíbrio entre as taxas de crescimento óxido (metal/óxido) e de dissolução na interface óxido/eletrólito, nesta etapa acontece a estabilização dos nanotubos [79,84,86].

A anodização eletroquímica permite o crescimento de uma variedade de nanoestruturas tubulares mudando algumas variáveis do processo, como:

I. Efeito da tensão aplicada: A maioria dos experimentos de anodização é realizada em condições potencioestáticas, o que envolve a aplicação de uma tensão constante e o monitoramento da corrente de anodização. Vale ressaltar que é possível realizar anodização com crescimento galvanostático, obtido pela imposição de uma corrente, porém este método é menos difundido, uma vez que o controle da morfologia das nanoestruturas é mais complicado [79]. O potencial aplicado geralmente varia de 5 a 30 V e 10 a 60 V em eletrólitos aquosos e orgânicos, respectivamente [82,88]. O potencial aplicado determina a força do campo elétrico através do óxido, afetando assim a migração de íons e, por fim, o diâmetro, o comprimento e a morfologia das nanoestruturas [79]. Em estudo desenvolvido por Yin et al. [89] os autores relataram que, em potenciais maiores que 100 V, observou-se uma relação inversa entre o potencial e o diâmetro dos nanotubos este comportamento, possivelmente, ocorreu pela difusão da água.

II. Eletrólito: Alguns pesquisadores classificam o desenvolvimento destes eletrólitos em três gerações, na primeira geração o eletrólito era utilizado um meio aquoso contendo ácido fluorídrico (HF) e realizado em tensões entre 3 e 20 V, devido à elevada acidez do eletrólito e a natureza corrosiva do HF são obtidos nanotubos com comprimento entre 500 e 600 nm. Na segunda geração é utilizado eletrólitos livre de HF, em substituição são usados sais de flúor como o NaF e KF, com utilização de tensões acima de 25 V, nestes eletrólitos o pH é mais elevado, resultando em menor dissolução da camada de óxido e por consequência nanotubos com comprimento mais elevado 3 à 4 μm . Na terceira geração a anodização é realizada com eletrólitos orgânicos (etilenoglicol,

glicerol, etc), estes eletrólitos se tornaram bastante populares devido a facilidade de controlar o comprimento e diâmetro dos nanotubos. Na quarta geração estão agrupados os eletrólitos livres de flúor, nestes eletrólitos existe a presença de HCl, H₂SO₄, entre outros. Nestes eletrólitos a principal desvantagem é que são obtidos somente aglomerados e pacotes de nanotubos [79,83,90].

III. Efeito do pH: O pH do eletrólito é a chave para alcançar o crescimento dos nanotubos de alta razão de aspecto e pode afetar a auto-organização dos nanotubos. A diferença no pH leva a variações significativas no diâmetro e as espessuras dos poros. O pH da solução é influenciado diretamente pela concentração de íons flúor no eletrólito, com uma concentração muito baixa de flúor na solução (<0,05% em peso) não ocorre a dissolução da camada de óxido, permanecendo esta compacta e estável; em teores intermediários (0,05 a 1,5% em peso) tem-se uma competição entre a formação e a dissolução da camada de óxido, resultando em uma matriz nanotubular; em concentrações superiores à 1,5% (em peso) é retardada a formação da camada oxidada [79,88].

IV. Temperatura do eletrólito: A temperatura do eletrólito influencia a velocidade de dissolução da camada de óxido, em eletrólitos orgânicos, o intervalo de temperatura entre 0 e 40°C é favorável para o crescimento de nanotubos. Com a diminuição da temperatura, a viscosidade do eletrólito aumenta, reduzindo assim, tanto a migração de íons F⁻ como a dissolução da camada oxidada. Aumentando a temperatura (>40°C) são obtidos pacotes instáveis de nanotubos, sem organização regular e mecanicamente instáveis [31,79].

V. Tempo de anodização: O tempo de anodização é um parâmetro fundamental para o controle da formação de nanotubos sob tensões constantes. O comprimento dos nanotubos é atingido em questão de minutos, no entanto, o tempo de anodização geralmente varia entre 30 minutos a 2 horas, a fim de permitir que a estrutura se rearranje e aumente o grau de auto-organização. Se o tempo de anodização for muito curto não são formados nanotubos. Com tempos de anodização muito curtos (< 5 min), apenas estrutura nanoporosa e sem organização é formada [79,91].

Após a anodização as nanoestruturas formadas, possuem estrutura amorfa. Através de tratamento térmico de recozimento é possível cristalizar a estrutura dos nanotubos em anatase e rutilo [79].

Veríssimo et al. [22] analisaram o efeito da temperatura na transição do óxido amorfo para as estruturas cristalinas do TiO_2 . Neste estudo os autores observaram que a cristalização do TiO_2 amorfo para anatase no Ti-c.p. ocorreu a 225°C , enquanto o TiO_2 formado nos substratos Ti-35Nb e Ti-35Nb-4Sn mostrou temperaturas de cristalização de 295°C e 390°C , respectivamente. A transformação de anatase para rutilo ocorreu em 400°C , 520°C e 640°C , nos substratos de Ti-c.p., Ti-35Nb e Ti-35Nb-4Sn, respectivamente. Por fim, os autores concluíram que a adição de Nb e Sn influenciam na estabilidade dos polimorfos do TiO_2 .

An et.al., [92] após a formação de nanotubos de TiO_2 realizaram tratamento térmico de recozimento em diferentes temperaturas. Estas amostras foram então submetidas ao ensaio de bioatividade, em meio de SBF, durante o período de 21 dias. Como resultado foi obtido que, na condição onde os nanotubos com estrutura de anatase+rutilo, tratamento térmico de 550°C , a superfície apresenta melhores propriedades bioativas, pois, num período de tempo mais curto (3 dias) é formada uma camada de HAp mais uniforme, conforme observado na Figura 2.12.

Hillario et al. [25] em seu estudo sobre a anodização do Ti-c.p. identificaram que os nanotubos de anatase tendem a induzir a deposição de HAp de maneira mais eficiente que a forma mista (anatase+rutilo). Entretanto a forma mista foi geralmente preferida à estrutura de anatase por possuir propriedades mecânicas mais adequadas e maior resistência à corrosão.

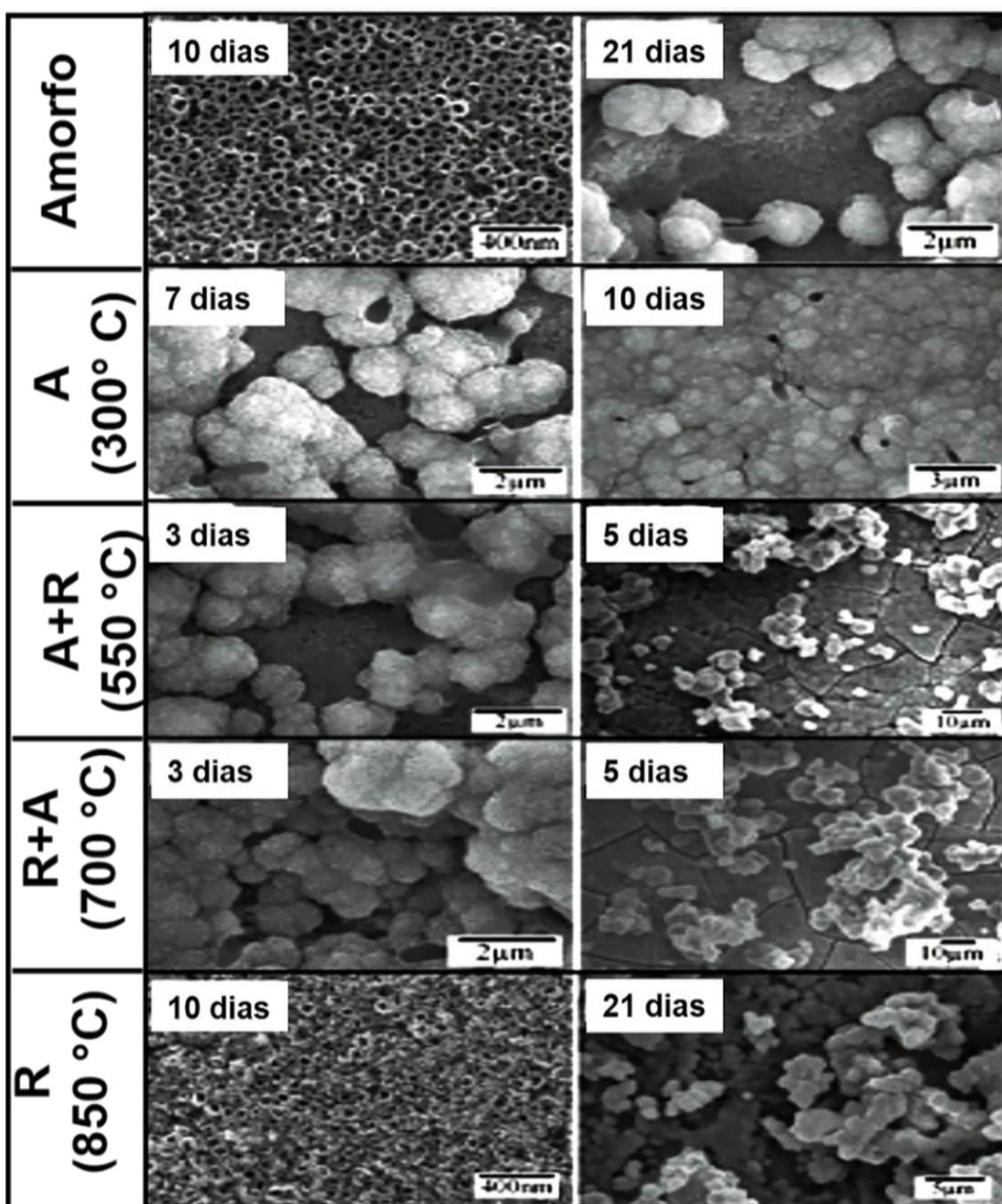


Figura 2.12 - Micrografia das amostras da liga Ti-c.p. após o ensaio de biatividade. A-Anatase, R-Rutilo. Adaptado de [92].

Com objetivo de estudar a adesão e resistência à corrosão dos nanotubos da liga β Ti-40Nb, produzidos por anodização em duas etapas Çaha et al.[93] avaliaram, pelo teste Daimler-Benz Rockwell C [94] a adesão dos nanotubos. A resistência à corrosão foi avaliada por curvas de polarização e espectroscopia

de impedância eletroquímica e o a tribocorrosão foi avaliada por deslizamento alternativo contra uma bola de alumina em potencial de circuito aberto. Os resultados mostraram que o comportamento de adesão, corrosão e tribocorrosão da camada nanotubular foi drasticamente melhorado com a combinação do processo de anodização em duas etapas e tratamento térmico. O tratamento térmico desempenhou principalmente um papel na melhoria da adesão, tribocorrosão, e resistência à corrosão foi devido à formação da estrutura cristalina.

.As nanoestruturas de TiO_2 são utilizadas para depositar e transportar materiais secundários, como a liberação de drogas (“drug delivery”) que podem prevenir possíveis complicações, e/ou moléculas bioativas, como partículas de cálcio-fósforo (Ca-P) [95]. A combinação da anodização eletroquímica com uma técnica para encapsular moléculas de Ca-P, que podendo ser um processo hidrotérmico, recobrimento biomimético ou um método de imersão, acelera a taxa de proliferação e diferenciação dos osteoblastos e, conseqüentemente, melhora a osseointegração [95–98].

Em estudo desenvolvido por Li et al. [99], os autores recobriram com polidopamina nanotubos de TiO_2 , previamente carregados com ibuprofeno pelo método de imersão. Os resultados mostraram que os nanotubos modificados por dopamina melhoravam notavelmente a liberação prolongada de ibuprofeno. Em conclusão, os nanotubos modificados com dopamina podem ser uma abordagem promissora na liberação sustentada da droga que é visivelmente essencial para terapias de implante ósseo. Por fim os autores concluíram que o recobrimento de polidopamina promoveu uma maior nucleação de HAp na superfície das amostras e, também da viabilidade celular.

Para otimizar a osseointegração de implantes dentários Nguyen et al. [95], estudaram a viabilidade do uso de pré-calcificação cíclica em combinação com anodização eletroquímica da liga Ti-6Al-7Nb e exploraram a biocompatibilidade da superfície modificada in vitro dos nanotubos de TiO_2 . Os autores concluíram que, após a cultura de células em 2, 4 e 7 dias o número de osteoblastos viáveis nas amostras tratadas com pré-calcificação foi significativamente maior do que nas modificadas somente com a anodização eletroquímica.

Resultados semelhantes foram relatados por Kodama et al. [98] onde foi realizado o que os autores descreveram como método alternativo de imersão (MAI), que pré-carrega os nanotubos de TiO_2 com hidroxiapatita sintética. Para estudar o efeito do MAI, camadas de nanotubos com vários diâmetros e estruturas cristalinas (amorfo, anatase/rutilo) foram produzidas, tratadas com MAI e avaliada a formação de HAp em SBF. Os resultados mostram um aumento drástico das taxas de deposição de HAp para camadas de nanotubos de TiO_2 tratadas com MAI em comparação com superfícies de TiO_2 não tratadas, indicando que um pré-carregamento dos nanotubos de TiO_2 com HAp sintética é um caminho altamente promissor para aumentar a taxa de formação de apatita em materiais implantáveis à base de titânio.

Em trabalho desenvolvido por Alves et al. os autores focaram seus objetivos na biofuncionalização de filmes nanotubulares de TiO_2 , obtidos via anodização eletroquímica. A biofuncionalização foi realizada com polarização reversa, com zinco (Zn) como um agente antimicrobiano e de cicatrização óssea, juntamente com dois componentes principais da matriz óssea, cálcio (Ca) e fósforo (P). Como conclusão da anodização foi obtida uma estrutura auto-organizada com comprimento de $\sim 4,6 \mu\text{m}$. Na polarização reversa foi obtida uma camada intermediária de óxido de TiO_2 entre os nanotubos e o substrato de aproximadamente $\sim 250 \text{ nm}$, em relação aos elementos bioativos estes foram uniformemente distribuídos ao longo das regiões superiores dos filmes, bem como ao longo de seu comprimento, com Ca preso em sua região superficial.

2.4 Corrosão em biomateriais metálicos

Corrosão é o ataque destrutivo de um metal por reação química ou eletroquímica com seu ambiente. A deterioração por causas físicas não é chamada de corrosão, mas é descrita como erosão ou desgaste [100].

O processo de corrosão pode ser dividido em dois grandes grupos (i) corrosão química ou corrosão seca, ocorre pela ação química direta de gases como o O_2 , CO_2 , H_2 , geralmente acontece em temperaturas elevadas; (ii) corrosão eletroquímica ou corrosão aquosa, este tipo de corrosão ocorre quando

metais dissimilares estão em contato com um líquido condutor (eletrólito), com envolvimento de um fluxo de elétrons [100].

O comportamento em corrosão de um implante é influenciado por uma variedade de fatores, como por exemplo, a composição química, microestrutura, condição da superfície do material, o pH, temperatura e concentração de oxigênio no ambiente além da presença de frestas entre as partes que compõe o dispositivo. A degradação de implantes metálicos pode, além de prejudicar a integridade do material, gerar problemas de biocompatibilidade como infecções ou reações alérgicas [35,36].

O processo de corrosão em implantes metálicos pode ser dos tipos uniforme/generalizada ou localizada. Na corrosão uniforme ou generalizada a corrosão ocorre em toda a superfície do metal exposto ao meio corrosivo, todos os implantes metálicos estão sujeitos a este tipo de corrosão. Na corrosão localizada acontece deterioração em regiões do material que apresentem alguma heterogeneidade, seja na superfície ou na sua microestrutura. Mesmo envolvendo perda de massa relativamente pequena os danos causados por este tipo de corrosão são trágicos ao implantado [36,101].

Os tipos de corrosão mais comumente relatados em implantes são:

i. Corrosão por pites: ocorre a formação de pequenas cavidades, de razoável profundidade, na superfície devido ao ataque de íons presentes no eletrólito, em implantes metálicos a corrosão localizada tem início quando ocorre o rompimento do filme passivo na superfície do implante [35,101].

ii. Corrosão em frestas: ocorre quando não há renovação do eletrólito, deixando a região com acúmulo de produtos de corrosão nestas regiões. Em implantes, normalmente, tem início entre um parafuso e a placa de fixação [36,101,102].

iii. Corrosão galvânica: este tipo de corrosão ocorre quando dois metais dissimilares, em contato físico, ou nas heterogeneidades químicas de um único material metálico. Este é o tipo de corrosão mais comum em implante dentário, ocorre devido à interação entre restaurações adjacentes, como obturações e coroas [36,101].

iv. Corrosão sob tensão: é o resultado da ação combinada de uma tensão de tração que é aplicada e de um ambiente corrosivo. Quando a superfície do implante é submetida a forças de tração ocorre o rompimento do filme passivo, a camada oxidada de implantes é pouco resistente quando tracionados [36,101,103].

v. Corrosão por atrito, ocorre quando duas superfícies, das quais pelo menos uma é metálica, são friccionadas uma contra a outra a ponto do filme passivo se romper e perder as suas características de proteção. Este fenômeno é responsável, em muitos casos, pelo afrouxamento de próteses de quadril [36,101].

No intuito de evitar ou minimizar os efeitos nocivos da corrosão, como a liberação de íons metálicos no organismo que, além de causar graves danos ao implantado no que se refere a inflamações e rejeição do implante. A corrosão de implantes metálicos também pode levar à fragilização do implante, fazendo com que ocorra uma substituição antecipada do implante ou em casos mais graves a fratura do implante causando sérios danos no implantado. Uma das formas de se evitar estes efeitos deletérios da corrosão em meios fisiológicos, que são um ambiente excessivamente agressivo para os implantes metálicos, é através de modificações superficiais, formando uma camada de passiva de óxido de TiO_2 , que como já discutido anteriormente melhora as propriedades de corrosão do titânio por ser um óxido extremamente aderente à superfície do metal.

Em estudo realizado por Perez et al. [18] foi realizado a anodização eletroquímica da liga Ti-13Nb-13Zr, os resultados apresentados mostram que a resistência à corrosão por polarização potenciodinâmica (tema que será melhor abordado na seção 2.4.2), quando referido à densidade de corrente de corrosão (i_{corr}) foi incrementada em aproximadamente 2 ordens de grandeza, além do mais, a anodização otimizou a bioatividade da liga.

2.4.1 Medidas de potencial em circuito aberto

O potencial de corrosão (E_{corr}) de um metal imerso em uma solução eletrolítica, é denominado de potencial de circuito aberto (OCP - "open potential circuit"). O OCP é determinado quando as correntes anódica e catódica são

iguais, em valores absolutos, na interface metal/eletrólito. O OCP fornece informações sobre a nobreza do material em um determinado ambiente, seu monitoramento é realizado em função do tempo permitindo avaliar as modificações da superfície da amostra [104].

As medições de OCP, que é um método estacionário e, consiste em medir um potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência. Mudanças no potencial de corrosão fornecem informações sobre a degradação da interface, passivação ou fortalecimento da resistência à corrosão de uma superfície metálica. Uma variação no sentido positivo do OCP, ou seja, aumentando o OCP indica uma passivação do metal no eletrólito em função do tempo incrementando a resistência à corrosão, no sentido oposto uma diminuição do OCP infere que a resistência à corrosão do metal diminuiu em função tempo, este comportamento pode indicar a quebra da camada de passivação do metal [104].

2.4.2 Polarização potenciodinâmica

A polarização potenciodinâmica é um processo eletroquímico induzido pelo desvio do potencial de equilíbrio eletroquímico (E_{corr}), neste potencial as reações anódicas e catódicas têm uma taxa igual, sendo a que a corrente líquida, neste ponto, é igual a zero. Para realizar as medições obtidas na polarização potenciodinâmica é usual a utilização da curva de densidade de corrente vs. tensão de um sistema que é chamada de curva de polarização. A representação usualmente utilizada no estudo da corrosão consiste em traçar o valor absoluto da densidade de corrente i em uma escala logarítmica em função da tensão aplicada, conforme a Figura 2.13 [104]. A Figura 2.13 dá a forma característica da curva $E \times \log(i)$ de um sistema "ativo", submetido à corrosão generalizada, cuja cinética é limitada pela transferência de carga e onde duas reações eletroquímicas diferentes ocorrem simultaneamente: uma reação anódica e uma reação catódica [104].

Este tipo de curva nos fornece informações como a região passiva e ativa do sistema, bem como o potencial de corrosão (E_{corr}) e a densidade de corrente de corrosão (i_{corr}). O potencial de corrosão (E_{corr}) é identificado por uma forte

queda de corrente tanto nos ramos do ânodo (I_a) quanto do cátodo (I_c), formando um "pico" direcionado para a esquerda [25,104].

O procedimento básico para avaliar experimentalmente a corrente de corrosão (i_{corr}) é por extrapolação de Tafel. Este método requer a presença de uma seção linear ou seção de Tafel na curva de polarização. É possível traçar linhas de Tafel, conforme apresentado na Figura 2.13. A intersecção dessas linhas no potencial de corrosão (E_{corr}) dá o valor da densidade da corrente de corrosão (i_{corr}), que é diretamente proporcional à taxa de corrosão, ou seja, quanto menor o i_{corr} , melhor resistência à corrosão do material no meio em estudo [104].

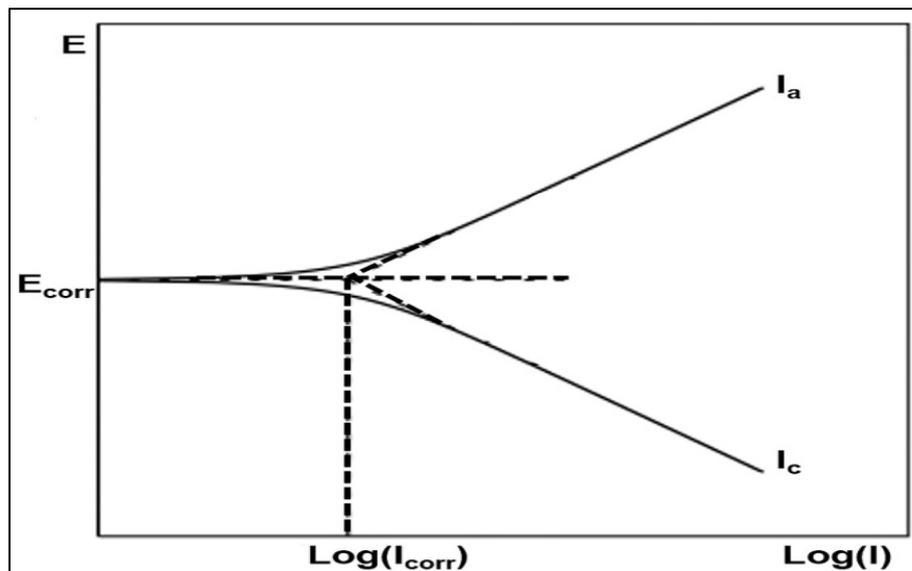


Figura 2.13 - Representação esquemática da curva $E \times \text{Log}(I)$. Adaptado de [104].

Os materiais metálicos utilizados como implantes possuem como características a elevada resistência à corrosão em meios fisiológicos, devido à formação espontânea de uma camada de óxido na sua superfície. Este óxido, como no caso dos aços inoxidáveis e do titânio e suas ligas, possui elevada estabilidade química e é extremamente aderente à superfície [101]. Como resultado desta estabilidade conferida pela camada passiva de óxido as correntes anódicas medidas nestes metais são muito baixas e sofrem alteração quando comparadas aos metais ativos [101].

Na Figura 2.14 (a) está apresentada de forma ilustrativa, a forma característica da curva de polarização anódica de um metal em um eletrólito ácido, enquanto que, na Figura 2.14 (b) ilustra a forma da curva de polarização anódica de um metal passível em um meio não agressivo [105].

Na Figura 2.14(a) por se tratar de um meio ácido, a camada passiva, neste caso, é removida e o metal fica exposto, sofrendo corrosão generalizada, esta região é referida na Figura 2.14(a) como região ativa. Como alguns metais como aço inoxidável e o titânio e suas ligas, formam uma camada passiva, mesmo em ambientes agressivos, nota-se uma redução na densidade de corrente com o aumento do potencial. Mesmo com o aumento do potencial, a densidade de corrente se estabiliza em um valor constante, neste ponto é iniciado um platô passivo e identifica-se a densidade de corrente passiva (i_{pass}). Este platô é referente à camada passiva que protege a superfície do metal. Por fim, em potenciais com valores mais elevados, é atingida a região de transpassividade onde a camada passiva é destruída e inicia-se novamente o processo de corrosão no metal.

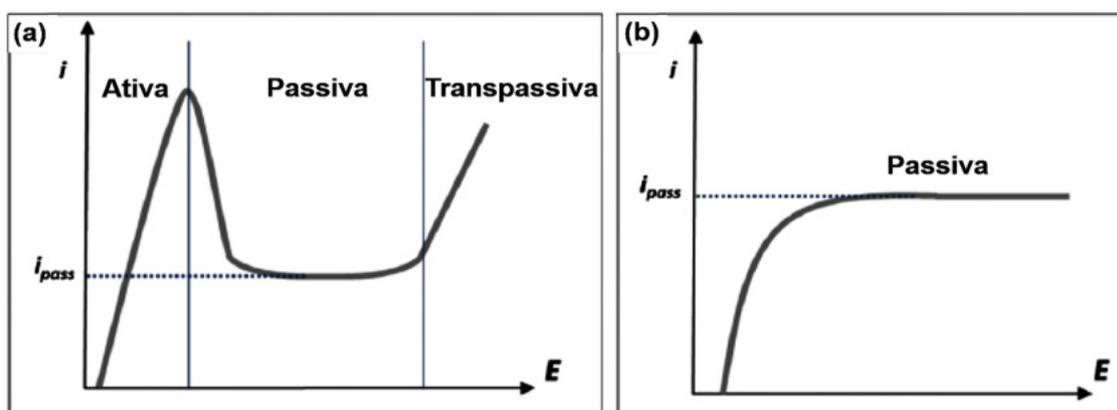


Figura 2.14 - Representação esquemática da parte anódica da curva de polarização (a) de metal passivo em um meio agressivo (b) de um metal passivo em meio não agressivo. Adaptado de [105].

Na Figura 2.14(b) está apresentada a curva de polarização de um metal com uma camada passiva aderente e estável, em um meio não muito agressivo.

Neste caso, a camada passiva não se rompe, existindo somente a região passiva (i_{pass}) e o potencial se mantém constante e se estendendo por uma ampla faixa.

Processos de modificação superficial tem se mostrado eficientes no que se refere ao aumento da resistência à corrosão. Rokinian et al. [106], utilizaram o método de oxidação eletrolítica por plasma (PEO) para obter revestimentos na superfície do Ti-c.p. Foi utilizado um eletrólito à base de fosfato, contendo nanopartículas de ZnO em diversas concentrações para a realização do PEO. Para investigar o comportamento da corrosão, as amostras foram imersas em solução de Ringer. Os autores observaram que, a incorporação de nanopartículas de ZnO aos revestimentos resultou na redução do número de poros e na modificação da microestrutura do revestimento, o que consequentemente aumentou a resistência à corrosão. Além disso, a adição de nanopartículas de ZnO resultou no aumento da densidade da corrente de corrosão. Na Figura 2.15 estão apresentadas as curvas de polarização obtidas pelos autores, onde é possível perceber a diminuição nos valores de i_{pass} .

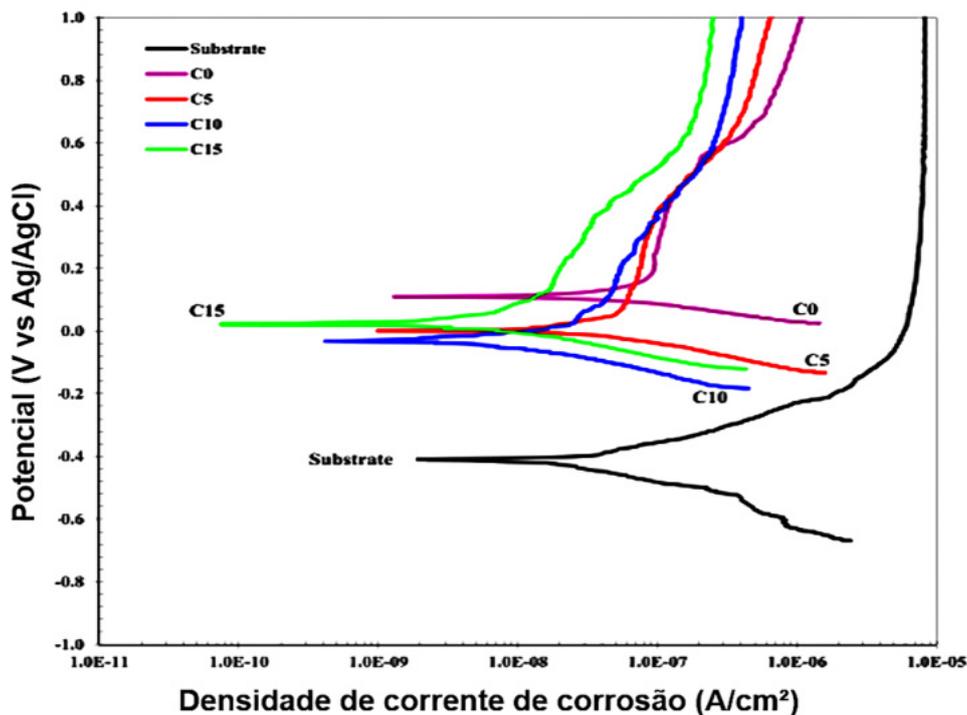


Figura 2.15 - Curvas de polarização potenciodinâmica das amostras revestidas com PEO e substrato de Ti-c.p. não revestido em solução fisiológica de Ringer. Adaptado de [106].

No trabalho realizado por Mazare et al. [107], os autores relatam o comportamento à corrosão e a atividade antibacteriana de nanotubos de TiO_2 , produzidos por anodização, variando a temperatura de recozimento (350–750 °C). Além das mudanças morfológicas e composicionais devido ao recozimento, a resistência à corrosão e a atividade antibacteriana são significativamente melhoradas. Com o aumento das temperaturas de recozimento, uma camada de rutilo é formada na interface nanotubos/metal que leva à sinterização da estrutura nanotubular, e essa camada de rutilo incrementou a resistência à corrosão, conforme apresentado na Figura 2.16.

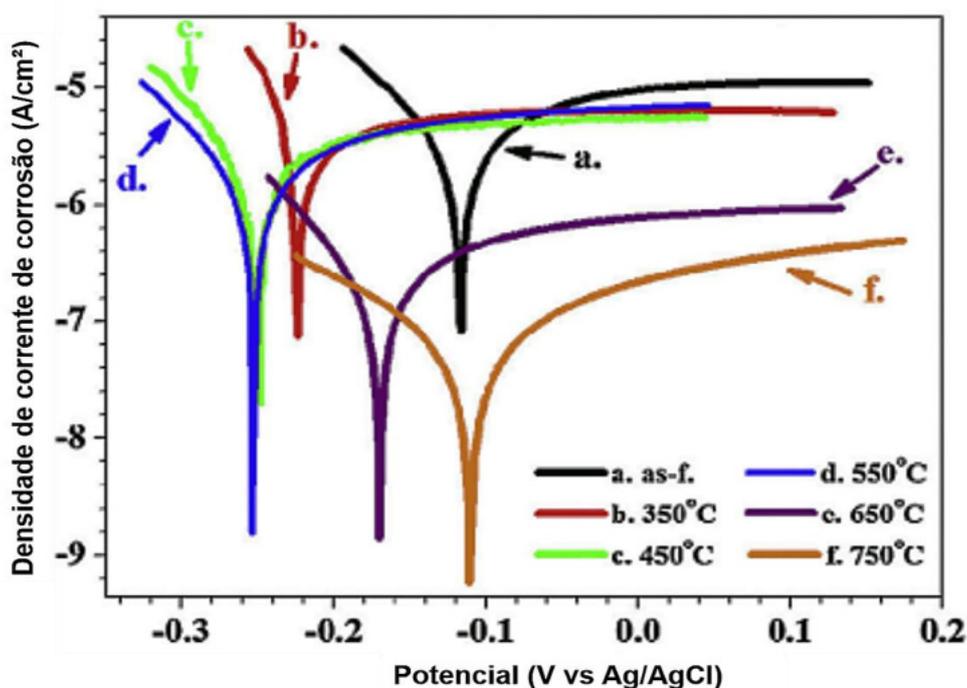


Figura 2.16 - Curvas de polarização potenciodinâmica de nanotubos de TiO_2 : (a) amorfo e, recozido nas temperaturas de: (b) 350 °C; (c) 450 °C; (d) 550 °C; (e) 650 °C e (f) 750 °C. Adaptado de [107].

2.4.3 Espectroscopia de impedância eletroquímica

O método de polarização, apesar de fornecer importantes informações sobre as propriedades eletroquímicas gerais, no entanto esta técnica é um

processo destrutivo e os dados obtidos são referentes aos processos mais lentos que ocorrem na superfície do material a ser analisado [101,104].

O método de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) apresenta diversas vantagens com relação às técnicas de corrente contínua, destacando-se as seguintes: [104]

- ✓ Utilização de sinais muito pequenos que não perturbam as propriedades do eletrodo;
- ✓ Possibilidade de estudar reações de corrosão e medir taxas de corrosão em meios de baixa condutividade;
- ✓ A resistência de polarização e a capacitância da dupla camada podem ser determinadas numa mesma medida;
- ✓ Técnica não estacionária mais comum que permite a varredura em uma ampla faixa de escala de tempo;
- ✓ A EIE é um teste não destrutivo e um método de detecção muito sensível da condição do metal revestido.

A EIE é realizada na excitação da interface metal/eletrólito por uma corrente alternada (CA), para a qual a função de excitação potencial é senoidal com variação de frequência, ao contrário da polarização potenciodinâmica, que utiliza corrente contínua (CC) [104].

Normalmente é aplicado ao eletrodo de trabalho um pequeno potencial sinusoidal (5-10 mV) em uma gama de frequências discretas e, como resposta ao sinal de frequência gera os dados de impedância [104]. Os dados de impedância estão relacionados a um ângulo de mudança de fase e uma variação nas amplitudes de potencial e corrente [108].

Para que as medições de impedância sejam válidas, o sistema deve ser estacionário (ou quase estacionário), linear e invariante no tempo. A estacionariedade e a invariância na medição do potencial em circuito aberto (OCP) precedem a medição da impedância, enquanto que a linearidade é determinada aplicando um sinal de baixa amplitude, tipicamente de 10 mV [108].

A tensão de corrente alternada (CA), aplicada a uma célula eletroquímica, e a resposta de corrente são mostradas pelas Equações 2.8 e 2.9.

$$E(t)=E_0\text{sen}(\omega t) \quad (2.8)$$

$$I(t)=I_0\text{sen}(\omega t+\Phi) \quad (2.9)$$

Sendo E_0 a amplitude do sinal, ω a frequência radial ($\omega=2\pi f$), f a frequência (em Hz), Φ o deslocamento de fase em relação à entrada potencial e, I_0 a amplitude da corrente.

A impedância do sistema é então definida pela relação entre o sinal de entrada e o sinal de saída, podendo ser escrito, conforme a Equação 2.10:

$$Z(\omega)=\frac{E_0}{I_0}\exp(j\Phi)Z_r(\omega)+jZ_i(\omega) \quad (2.10)$$

Z_r é a parte real da impedância em Ω ou $\Omega.\text{cm}^2$, Z_i é a parte imaginária da impedância em Ω ou $\Omega.\text{cm}^2$ e $|Z|$ o módulo ou magnitude do vetor da impedância em Ω ou $\Omega.\text{cm}^2$.

A magnitude da impedância pode ser expressa em termos dos componentes reais e imaginários como descrito na Equação 2.11:

$$|Z(\omega)|=\sqrt{Z_r(\omega)^2+Z_i(\omega)^2} \quad (2.11)$$

O ângulo de fase pode ser obtido a partir da Equação 2.12:

$$\Phi(\omega)=\tan^{-1}\left(\frac{Z_i(\omega)}{Z_r(\omega)}\right) \quad (2.12)$$

Dois tipos de representação gráfica podem ser utilizados para uma melhor visualização e análise dos resultados experimentais de impedância.

Uma desta é a representação de Nyquist (Figura 2.17(a)), os valores experimentais de $Z_r(\omega)$ e $Z_i(\omega)$ são representados diretamente num gráfico de $-Z_i$ vs Z_r . Neste tipo de representação, a impedância imaginária (Z_i) dos sistemas eletroquímicos é geralmente negativa [104]. O segundo tipo são os gráficos de Bode, podendo ser plotados em função do módulo de impedância ($|Z|$), Figura 2.17(b), ou ângulo de fase (Φ), Figura 2.17(c), versus frequência (ω) [104].

Como vantagem destas representações estão a facilidade de demonstrar os fenômenos interfaciais envolvidos na resposta de impedância, e também permite uma rápida visualização do valor do módulo de baixa frequência, que fornece informações sobre a resistência à corrosão do sistema. Entretanto a representação de Bode mostra algumas desvantagens em sistemas eletroquímicos devido à influência da resistência eletrolítica (R_e) [104,108,109]. Cordoba-Torres et al. [60] demonstraram que, em alguns sistemas, o número de processos distribuídos envolvidos na resposta de impedância pode ser

determinado usando os gráficos de ângulo de fase de Bode corrigidos. Este conhecimento é um ponto crucial na escolha do circuito equivalente se resultados confiáveis são desejados.

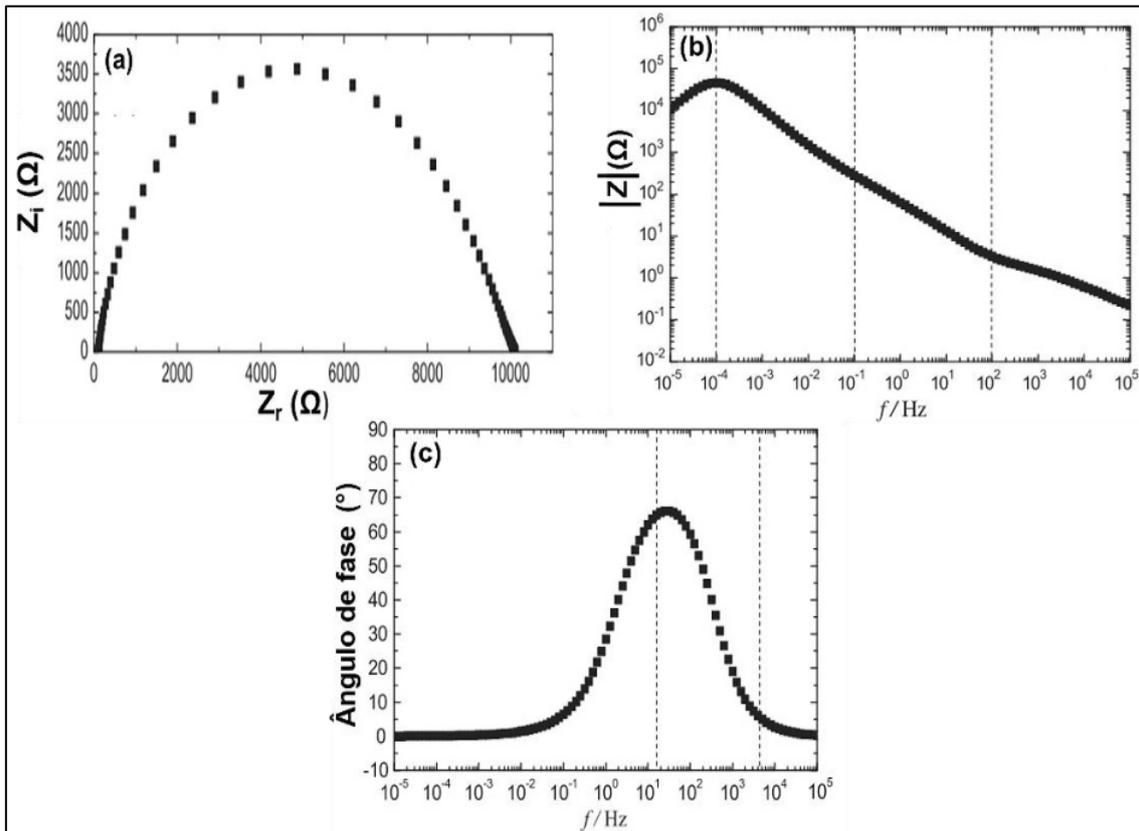


Figura 2.17 - Representação esquemática dos resultados da impedância: a) Gráfico de Nyquist; b) magnitude do gráfico de Bode e (c) ângulo de fase do gráfico de Bode. Adaptado de [109].

Os dados EIE, geralmente, podem ser modelados por um circuito elétrico equivalente (CEE). Na modelagem dos CEE a maioria dos elementos do circuito são construídos combinando elementos elétricos em série e/ou em paralelo, como resistores (R), capacitores (C) e indutores (L). Para uma interpretação correta dos resultados, a impedância requer um modelo adequado e conhecimento sobre os processos físico-químicos que ocorrem na interface metal/eletrólito [110].

Quando as respostas eletroquímicas não são ideais e não podem ser representadas por uma conexão de elementos R-C-L simples, o elemento de

fase constante (CPE) é usado. O CPE é um parâmetro normalmente utilizado no ajuste de CEE em EIE. A impedância de um elemento de fase constante é definida de acordo com a Equação 2.13 [102]:

$$Z=[Q(j\omega)^\alpha]^{-1} \quad (2.13)$$

Os parâmetros de CPE α e Q são independentes da frequência. Quando o eletrodo mostra um comportamento capacitivo, α é igual a 1, Q tem unidades de uma capacitância ($\mu\text{F}/\text{cm}^2$). Quando $\alpha < 1$, o sistema mostra um comportamento sendo este atribuído à heterogeneidade da superfície ou a constantes de tempo continuamente distribuídas para reações de transferência de carga [111].

Se o comportamento do CPE é associado às constantes de tempo distribuídas pela superfície, para reações de transferência de carga (distribuição da constante de tempo ao longo da superfície do eletrodo), então é possível aplicar a equação de Brug (Equação 2.14) para calcular a capacitância efetiva (C_{eff}) associada ao CPE [111,112]:

$$C_{\text{eff}}(\text{Brug})=Q^\frac{1}{\alpha}(R_e^{-1}+R_t^{-1})^\frac{\alpha-1}{\alpha} \quad (2.14)$$

onde R_e é a resistência do eletrólito e R_t a resistência de transferência de carga.

Sendo assim, a resposta de impedância de CPE pode ser associada a uma capacitância efetiva (C_{eff}), a constante dielétrica ou a espessura do filme podem ser obtidas a partir da Equação 2.15 [111,112].

$$d_{\text{eff}}=\frac{\epsilon \cdot \epsilon_0}{C_{\text{eff}}} \quad (2.15)$$

Onde d_{eff} é a espessura do filme, ϵ é a constante dielétrica do $\text{TiO}_2=100$ e ϵ_0 é a permissividade do vácuo com um valor de $\epsilon_0=8,8542 \times 10^{-14} \text{ F/cm}$ [111,112].

2.5 Tecido ósseo e osseointegração

O osso é um tecido duro, dinâmico, anisotrópico e altamente vascularizado com uma capacidade única de cicatrização e remodelação sem deixar cicatrizes. É constituído de matriz orgânica, a qual é composta de colágeno, glicosaminoglicanos e proteínas adesivas (30-35%), e matriz

inorgânica são compostos de cristais de hidroxiapatita e cristais de cálcio e fósforo (65-70%). A parte mineral do osso é aproximadamente 60% mineral, 10% água e cerca de 30% de matriz orgânica (90% de colágeno e 10% de outras proteínas não colágenas) [37,113]

Por se tratar de um material anisotrópico os ossos possuem resistência à tração e módulo de elasticidade que variam de acordo com a direção da carga aplicada, como por exemplo o osso cortical tem uma resistência à tração variando de 78,8-151,0 MPa na direção longitudinal e 51,0-56,0 MPa na direção transversal. Enquanto que o módulo de elasticidade os valores do módulo de elasticidade variam na faixa de 17,0-20,0 GPa e 6,0-13,0 GPa na direção longitudinal e transversal, respectivamente. O caráter anisotrópico se deve à combinação de uma matriz orgânica com cristais minerais (HAp) geralmente orientados na direção longitudinal do osso, conferindo maior resistência e rigidez nessa direção [37,114].

Três tipos de células, com suas funções específicas, podem descrever o complexo ósseo que são:

- Osteoblastos: Responsáveis pela formação do novo tecido ósseo;
- Osteoclastos: Encarregados pela reabsorção óssea;
- Osteócitos: Presentes quando há completa formação óssea.

O tecido ósseo é continuamente remodelado através de uma sequência complexa e ordenada de atividades de troca de tecido primário pelo secundário, seguido de uma contínua renovação deste [115]. O tecido primário também chamado de não lamelar ou imaturo, apresenta disposição irregular das fibras de colágeno, também possui menos minerais e maior quantidade de osteócitos, comparado com o tecido ósseo secundário. O tecido ósseo secundário, também chamado de lamelar ou maduro, apresenta as fibras colágenas organizadas em lamelas, que ficam paralelas umas às outras, os osteócitos se dispõem no interior ou na superfície de cada lamela [113].

A osseointegração é definida como uma conexão direta, estrutural e funcional, entre o osso vivo, ordenado, e a superfície de um implante submetido a carga funcional [37].

Para ser considerada eficiente a osseointegração requer a formação óssea em torno do implante. Este processo é resultante da modelagem e remodelagem do tecido ósseo, cuja arquitetura é fundamental na eficiência da distribuição das cargas mecânicas. O processo de modelagem é uma atividade específica da superfície (aposição ou reabsorção), produzindo assim uma alteração em cadeia no tamanho e ou formato do osso, este é um mecanismo fundamental do crescimento ósseo. A remodelagem é definida como sendo a modificação ou reestruturação interna do osso previamente existente (modelagem) [37,113].

A rugosidade e a porosidade da superfície do implante, apresentam influência significativa nos fenômenos químicos e fisiológicos na interface osso/implante e são determinantes para o crescimento ósseo [68].

A mineralização gradual na superfície do implante, leva ao crescimento do tecido ósseo. Para que ocorra uma mineralização e, por consequência disto, uma osseointegração mais acelerada esta superfície deve ter características bioativas, que induzem respostas positivas das células assegurando dessa maneira a adesão celular [37,116].

O processo de osseointegração em termos bioquímicos é, inicialmente, regulado pelos fluidos teciduais que interagem com a superfície do implante. Imediatamente após esse contato, é formada na superfície do implante uma camada de macromoléculas glicoproteicas e água, responsáveis pela adesão e proliferação celular [37,113].

Em uma segunda etapa, na região da interface implante/osso tem-se início um processo de reparação tecidual muito semelhante ao reparo ocorrido em fraturas ósseas, com a deposição de matriz colágena não calcificada e a consequente formação de matriz fibrosa. Minerais do tecido ósseo como cálcio, fosfato, sódio, magnésio entre outros, serão gradativamente aderidos à essa matriz fibrosa, e dessa forma serão os responsáveis pela maturação estrutural do tecido ósseo [37,113].

Uma terceira etapa do processo de osseointegração é iniciada com o aumento gradativo na adesão de componentes inorgânicos à matriz, com o modelamento e o posterior remodelamento dessa camada parcialmente mineralizada no entorno do implante. A carga funcional recebida nesta região e

aspectos sistêmicos do paciente são responsáveis por regular esta etapa. Os principais componentes responsáveis pelo processo de osseointegração, nas regiões adjacente, ao implante são as células que respondem pela formação e reabsorção óssea, osteoblastos e osteoclastos, respectivamente. É importante ressaltar que a sinergia dos fatores mecânicos e metabólicos, no controle da remodelagem óssea, ainda não é bem compreendida, entretanto o seu controle fisiológico parece fortemente relacionado à distribuição da tensão mecânica concentrada no osso adjacente à interface (osso/implante) [37,113].

A Figura 2.18 representa de forma esquemática, o processo biológico envolvido na osseointegração.

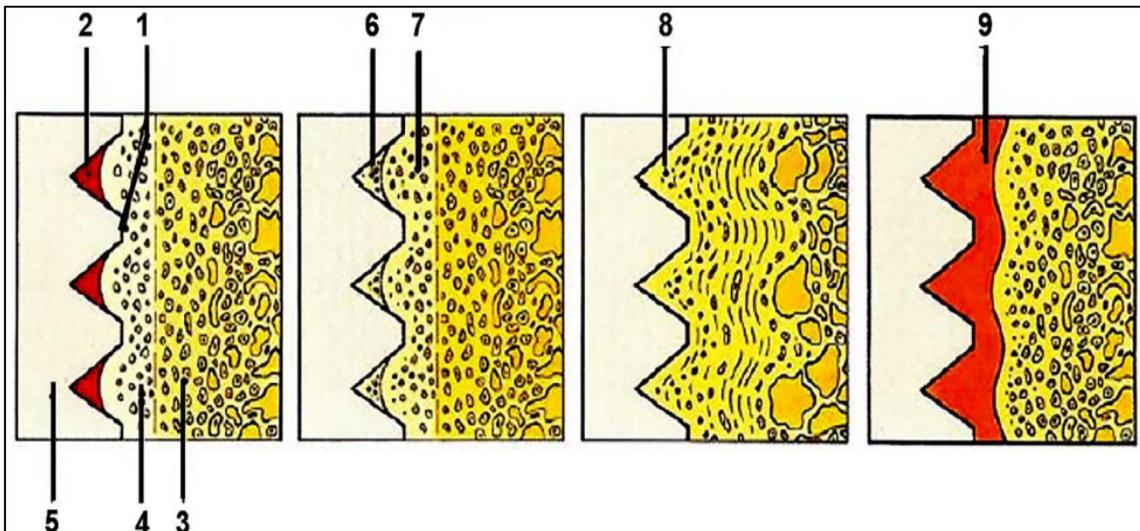


Figura 2.18 - Diagrama representativo da biologia da osseointegração. Adaptado de [113].

Em (1) é mostrado a região de contato na interface osso/implante, uma informação importante mostrada nesta etapa indica que o formato do implante nunca é perfeitamente congruente com o sítio ósseo; (2) hematoma; (3) osso danificado por trauma mecânico e térmico; (4) osso sadio; (5) implante. Durante o período de cicatrização, sem a presença de cargas, o hematoma é transformado em osso novo. Em (6) é mostrado o osso danificado, o qual também cicatriza, passando por revascularização, desmineralização e remineralização na etapa (7). A região mais próxima ao implante sofre remodelação óssea (8). Em casos de insucesso do implante, um tecido não

mineralizado, forma-se entre a superfície do implante e o osso (9). O desenvolvimento desse tecido conectivo pode ser iniciado devido um trauma excessivo na preparação da região do implante, infecção, aplicação de cargas muito precocemente. Uma vez formado, esse tecido conectivo pode apresentar certo grau de organização, mas não o suficiente para garantir uma ancoragem do implante, devido sua pobre capacidade mecânica e biológica.

Kokubo et al. [117] propuseram que o requisito básico para um material se ligar a um osso vivo é a formação da HAp em sua superfície quando implantada no corpo. Esta camada de HAp facilita a formação, através de ligações químicas entre o implante e o tecido vivo, gerando uma fixação bioativa. A formação da HAp *in vitro* pode ser reproduzida em uma solução que simula os fluidos corpóreos (SBF), com concentrações de íons aproximadamente iguais à do plasma sanguíneo.

A bioatividade de um implante, quando imerso em fluidos corpóreos, é indispensável para a adesão de minerais como fosfato de cálcio na superfície do implante. O fosfato de cálcio, por sua vez dará origem a hidroxiapatita (HAp). A hidroxiapatita estequiométrica é um composto inorgânico, com composição $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ e uma estrutura cristalina hexagonal. A HAp natural possui ligeira diferença na estequiometria quando comparada com a HAp sintética, onde alguns íons de cálcio podem ser trocados por outros íons metálicos, como o magnésio ou o sódio. Como a HAp sintética possui excelentes propriedades de biocompatibilidade, bioatividade e osseointegração, devido a estas características a HAp sintética tem adquirido bastante importância nos últimos anos [117,118].

Hsu et al. [119], avaliaram a habilidade de formação de apatita em nanotubos de Ti anodizados com diferentes diâmetros e comprimentos, produzidos variando o parâmetro da voltagem. As amostras de Ti-c.p., foram imersos em SBF a 37 ° C por 0,5, 1 e 14 dias. Os testes *in vitro* dos nanotubos indicaram que a formação de Ca-P ocorreu após apenas 1 dia de imersão em SBF. Também foi observado que a espessura da camada de Ca-P aumenta à medida que o potencial aplicado para o Ti-c.p. aumenta. A espessura média da camada de Ca-P no Ti que foi anodizado a 5 V e 10 V foi de aproximadamente

170 nm e 190 nm, respectivamente, após imersão em fluido corporal simulado por 14 dias.

Santos-Coquillat et al. [120], investigaram a capacidade de revestimentos de oxidação eletrolítica de plasma (PEO) no Ti-c.p., a fim de melhorar a osseointegração e a fixação do implante. Revestimentos PEO com razões Ca/P relativamente altas de ~2,0 e ~4,0 foram projetados, caracterizados e avaliados in vitro. O revestimento com elevado teor de anatase e relação Ca/P de ~ 2,0 revelou uma bioatividade diminuída em relação recobrimento com relação Ca/P de ~4,0 e reduzida densidade de poros possibilitou maior atividade de adsorção de HAp. Entretanto, ambos os revestimentos revelaram comportamento positivo, forte deposição de matriz óssea na superfície do implante.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O material (liga metálica) que foi utilizado neste trabalho teve como base a liga β Ti-40Nb (% peso) obtida através de um lingote de 500 g da empresa Ercata, GmbH, Development Co., Ltd., Germany. O lingote da liga β Ti-40Nb foi então submetido ao processo de forjamento rotativo (“swaging”) onde foi realizado em etapas alternadas de aquecimento a 900 °C seguido da deformação rotativa. Esses ciclos foram repetidos até que uma barra de formato cilíndrico com aproximadamente 11,5 mm de diâmetro fosse obtida. O processo de forjamento rotativo foi realizado em uma forja rotativa FENN 5F, no Departamento de Engenharia Mecânica do Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA). A barra, após o processo de “swaging” foi então cortada em discos com 1 mm de espessura e 11,5 mm de diâmetro através de disco de diamante na cut-off da marca Buehler, Modelo IsoMet 5000 Linear Precision Saw. Na Figura 3.1 está apresentado, de maneira esquemática, as etapas que foram realizadas durante o trabalho.

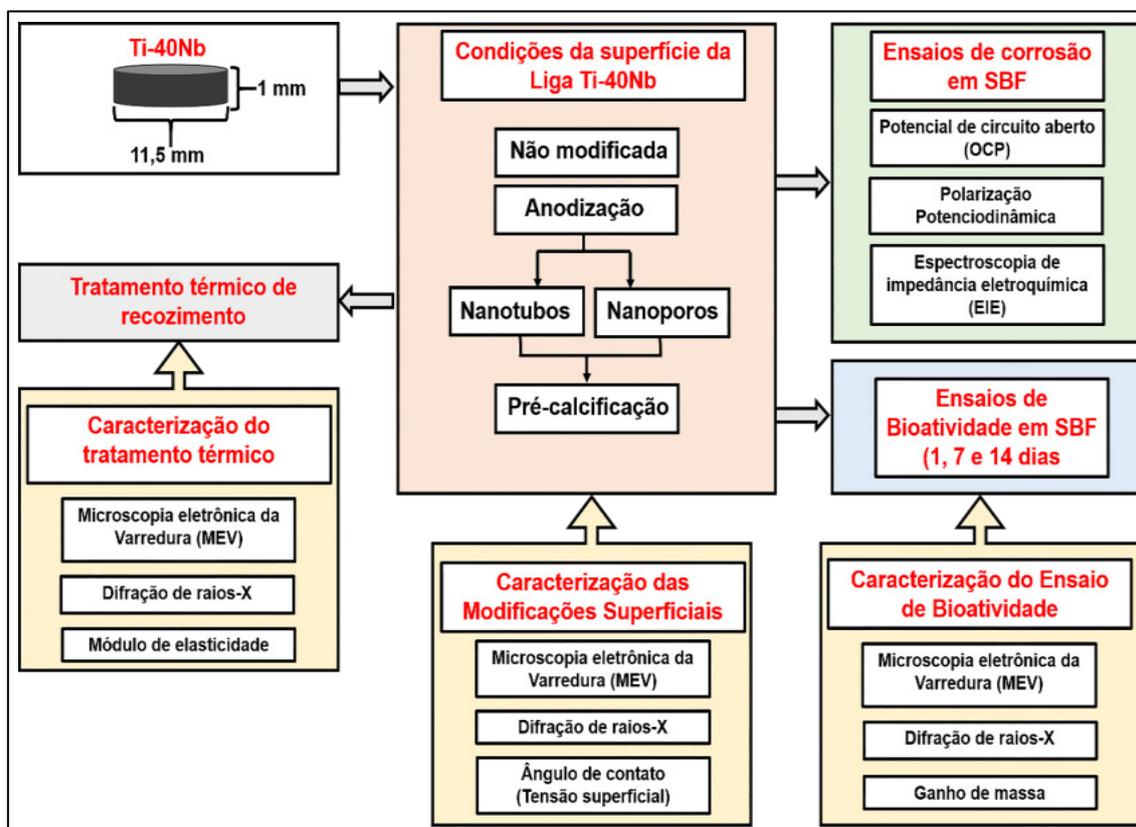


Figura 3.1 - Fluxograma dos procedimentos que serão adotados no trabalho.

3.1 Modificações superficiais

No presente trabalho, foram avaliadas 7 diferentes condições de superfície da liga β Ti-40Nb.

- Superfície não modificada, esta condição foi lixada até 2400 mesh, condição esta que será nomeada de Substrato (1).
- Superfície modificada com anodização, produzindo: (2) nanotubos amorfos (NTs-AM) e (3) nanoporos amorfos (NPs-AM).
- Superfície modificada com anodização e recozimento (HT), obtendo: (4) nanotubos cristalizados (NTs-HT) e (5) nanoporos cristalizados (NPs-HT).
- Superfície anodizada, recozida e pré-calcificada (PC), com: (6) nanotubos recozidos com uma camada de Ca-P (NTs-PC) e (7) nanoporos recozidos com uma camada de Ca-P (NPs-PC).

Todas as amostras submetidas aos processos de modificação superficial foram lixadas com lixas d'água de carbeto de silício (SiC) de 180, 300, 400, 600, 1200 e 2400 mesh. Em seguida, foram limpas por ultrassom em água destilada e posteriormente com álcool isopropílico por 10 minutos em cada caso. Finalmente, as amostras foram secas com ar comprimido.

3.1.1 Processo de Anodização

Para a realização do processo de anodização e formação de TiO_2 , onde foram obtidas nanoestruturas amorfas - nanotubos amorfos (NTs-AM) e nanoporos amorfos (NPs-AM) - na superfície da liga β Ti-40Nb, foi utilizada uma célula eletroquímica com um arranjo convencional de dois eletrodos, sendo os discos de 1 mm de espessura e 11,5 mm de diâmetro da liga β Ti-40Nb utilizados como eletrodo de trabalho e como eletrodo de referência platina (Pt).

Inicialmente foram testados três tipos de eletrólitos orgânicos, a base de glicerol, para se determinar a melhor condição de anodização. Os eletrólitos utilizados no trabalho continham em sua composição:

- Eletrólito (I): 0,15M de fluoreto de amônio (NH_4F), 10% de H_2O e glicerol;
- Eletrólito (II): 1,5M de NH_4F 10% de H_2O e glicerol;

- Eletrólito (III): 0,25M de NH_4F , 25% de H_2O e glicerol, sendo este o eletrólito com as nanoestruturas mais homogêneas.

Para todos os eletrólitos utilizados variou-se os parâmetros de tempo em $t=1$ hora e 2 horas, além da voltagem aplicada $V=10$ e 20 Volts (V).

Após a escolha da melhor condição, a anodização foi realizada no LEPMI, localizado na Universidade de Grenoble Alpes na França durante o doutorado sanduiche do pós-graduando sob orientação da Profa. Dra. Virginie Roche. A célula utilizada durante esta etapa do trabalho permitia a anodização simultânea de até quatro amostras. Do mesmo modo, os discos da liga β Ti-40Nb foram empregados como eletrodos de trabalho, onde cada área superficial exposta ao eletrodo de cada amostra foi de $0,785 \text{ cm}^2$, o contra eletrodo era uma grade cilíndrica de platina. As amostras da liga β Ti-40Nb (eletrodo de trabalho) foram conectadas ao terminal positivo (+) da fonte de alimentação (TCR - Electronic Measures Inc.), e o contra eletrodo foi conectado a um amperímetro que foi conectado ao terminal negativo (-) da fonte de alimentação, onde foi possível medir a variação da corrente durante o processo de anodização. Na Figura 3.2 está apresentada, de forma esquemática o processo de anodização, realizado neste trabalho.

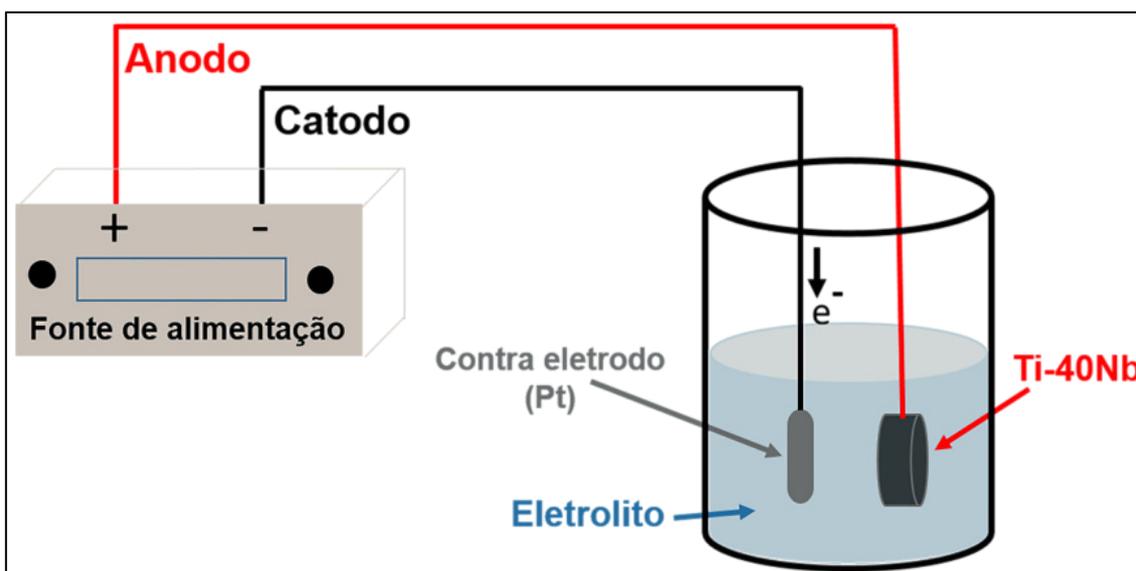


Figura 3.2 - Esquema do processo de anodização e formação de TiO_2 nanotubos (NTs-AM) e nanoporos amorfos (NPs-AM) - na superfície da liga β Ti-40Nb.

As nanoestruturas inicialmente formadas, possuem estrutura amorfa, com baixa resistência mecânica e à corrosão. Foi então realizado um tratamento térmico nas temperaturas de 450 °C, 550 °C, e 800 °C, conforme indicado na literatura, nestas faixas de temperaturas ocorre a transformação de fases no substrato metálico e nas nanoestruturas, pelo período de 1 hora, tendo como objetivo do recozimento a obtenção de uma estrutura mista de anatase e rutilo nos NTs e NPs, além do mais outro objetivo de extrema importância no tratamento térmico foi a obtenção do menor módulo de elasticidade da liga β Ti-40Nb. Finalmente, após o recozimento das amostras e a medição do módulo de elasticidade na temperatura de 550 °C foi a condição escolhida para dar continuidade neste trabalho, pois, foi obtida a estrutura mista (anatase+rutilo) nas nanoestruturas e também a de menor módulo de elasticidade. A Tabela 3.1 resume os parâmetros, como a temperatura de recozimento, módulo de elasticidade, além das fases presentes no substrato Ti-40Nb e nanoestruturas de TiO₂, que justificaram a escolha da temperatura de recozimento de 550 °C.

Tabela 3.1 - Temperaturas de recozimento, módulo de elasticidade e fases formadas (substrato Ti-40Nb e nas nanoestruturas).

Condições	Módulo de elasticidade (GPa)	Fases da liga (DRX)	Fases das nanoestruturas
TT a 450°C	88±2	$\beta+\alpha+\omega$	Anatase
TT a 550°C	65±2	β	Anatase+Rutilo
TT a 800°C	75±3	$\beta+ \omega$	Rutilo+Nb ₂ O ₅

3.1.2 Processo de pré-calcificação

Ciclos de pré-calcificação foram realizados com a imersão das amostras anodizadas e recozidas (NTs-HT e NPs-HT), em soluções de fosfato de sódio monobásico, (NaH₂PO₄), com concentração de 0,05M, na temperatura de 80°C por 1 minuto. Após a imersão em NaH₂PO₄ as amostras foram imersas em H₂O, na temperatura ambiente, por 10 segundo, em seguida as amostras foram

imersas em uma solução saturada de hidróxido de cálcio [$\text{Ca}(\text{OH})_2$] à 100°C por 1 minuto e, sequencialmente imersas novamente em H_2O , em temperatura ambiente por 10 segundos. Neste estudo, as amostras da liga β Ti-40Nb anodizadas, foram expostas a 20 ciclos deste processo, conforme descrito esquematicamente na Figura 3.3. As condições desta etapa serão chamadas de NTs-PC e NPs-PC

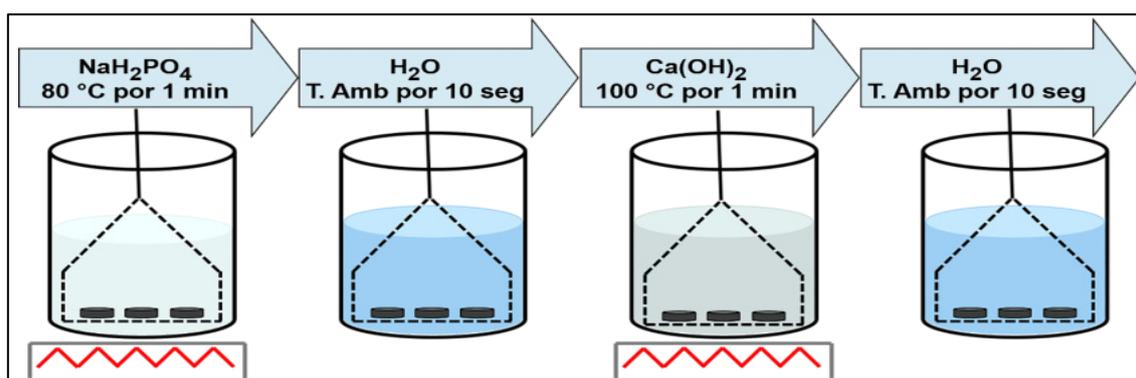


Figura 3.3 - Esboço esquemático de um ciclo de pré-calcificação das amostras da liga β Ti-40Nb anodizadas e recozidas (NTs-HT e NPs-HT). Neste estudo, foram realizados 20 ciclos para cada amostra.

3.2 Ensaios eletroquímicos

Os ensaios eletroquímicos foram realizados em todas as condições utilizadas neste trabalho, ou seja, substrato não modificado, na condição anodizada e recozida (NTs-HT e NPs-HT), inclusive nas amostras com nanoestruturas amorfas (NTs-AM e NPs-AM) e, na condição pré-calcifica (NTs-PC, NPs-PC).

Os ensaios eletroquímicos foram realizados em solução de SBF (Tabela 3.2), com pH 7,40 em temperatura de $36,5^\circ\text{C}$ [117]. A resistência à corrosão foi obtida através de 3 ensaios eletroquímicos que são:

- (i) Potencial de circuito aberto (OCP): As amostras permaneceram imersas pelo período de 1 hora até a estabilização do OCP, permitindo assim que as condições de estado estacionário fossem alcançadas.
- (ii) Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE): As medidas de EIE foram realizadas logo após o ensaio de OCP, em uma faixa de frequência

variando de 10^6 até 10^{-2} Hz com um sinal de perturbação sinusoidal de amplitude de 10 mV em relação ao OCP, nesta amplitude o sinal de saída pode ser facilmente e também permite que seja alcançado o critério de linearidade.

(iii) Polarização potenciodinâmica: Nesta etapa foi avaliada, por meio de curvas de polarização (densidade corrente – A/cm^2 x potencial vs ECS - mV) a resistência à corrosão das amostras. As curvas de polarização foram registradas com potencial variando de -30 mV até 2000 mV, em relação ao OCP, com velocidade de varredura de 1mV/s.

Na realização dos ensaios eletroquímicos foi utilizado um potenciostato Gamry REF600+ conectado a um microcomputador com software para aquisição dos dados.

Uma célula convencional de três eletrodos (eletrodo de trabalho, contra eletrodo e eletrodo de referência) foi usada para a realização dos ensaios eletroquímicos, onde as amostras da liga β Ti-40Nb representavam o eletrodo de trabalho com uma área exposta de $0,636\text{ cm}^2$, uma malha de platina plana foi utilizada como o contra eletrodo e um eletrodo de calomelano saturado (ECS), como o eletrodo de referência. O eletrodo de trabalho e o contra eletrodo sempre foram mantidos à mesma distância ($\sim 3\text{ cm}$). Além disso, o eletrodo de referência foi conectado em paralelo a um fio de platina conectado a um capacitor de $1\ \mu\text{F}$. Este dispositivo é usado para evitar efeitos capacitivos e indutivos que podem ocorrer ao registrar as medições de impedância em altas frequências [121].

Todo o aparato experimental foi montado em uma gaiola de Faraday (caixa de aço) conectada a um aterramento. A gaiola de Faraday reduz o ruído das correntes captadas no eletrodo de trabalho (Ti-40Nb) e os ruídos da tensão captados pelo eletrodo de referência (ECS). Para reproduzir, o mais próximo possível, das condições corporais, a caracterização eletroquímica foi realizada em um ambiente escuro. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Os ensaios foram realizados no LEPMI na Universidade de Grenoble Alpes.

Tabela 3.2 - Concentrações iônicas do fluido corporal simulado (SBF) e do plasma sanguíneo. Adaptado de [117].

Íons	Concentração iônica (mmol/L)	
	SBF	Plasma sanguíneo
Na ⁺	142,0	142,0
K ⁺	5,0	5,0
Mg ²⁺	1,5	1,5
Ca ²⁺	2,5	2,5
Cl ⁻	147,8	103,0
HCO ₃ ⁻	4,2	27,0
HPO ₄ ²⁻	1,0	1,0
SO ₄ ²⁻	0,5	0,5

3.3 Avaliação da bioatividade

Uma forma de avaliar a bioatividade *in vitro* de um material é através da formação espontânea de HAp na sua superfície em meio fisiológico. O protocolo seguido neste estudo para a realização dos testes de bioatividade foi proposto por Kokubo e Takadama [117] e está presente na ISO 23317:2014 [122].

Cinco, das sete condições utilizadas neste trabalho, (substrato, NTs-HT, NPs-HT, NTs-PC, NPs-PC) foram submetidas ao ensaio de bioatividade. O ensaio de bioatividade consistiu na imersão das amostras em um frasco plástico, contendo 50 ml de SBF em 37 °C, pelo período de 1, 7 e 14 dias. As amostras foram posicionadas perpendicularmente ao fundo do frasco para evitar possíveis distorções na deposição de íons Ca/P. Após 1, 7 e 14 dias de imersão, as amostras foram retiradas da solução de SBF e secas ao ar. Na Figura 3.4 está representada de forma esquemática a montagem experimental usada para o ensaio de bioatividade.

A formação de HAp foi então avaliada pela pesagem das amostras (ganho de massa) antes e depois da imersão. A morfologia da HAp formada na superfície de cada condição analisada foi examinada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), análise química por espectroscopia de energia dispersiva

(EDS) e difração de raios-X (DRX). O ensaio de bioatividade foi realizado no DEMa-UFSCar, enquanto que a caracterização dos resultados foi realizada no LCE-DEMa-UFSCar.

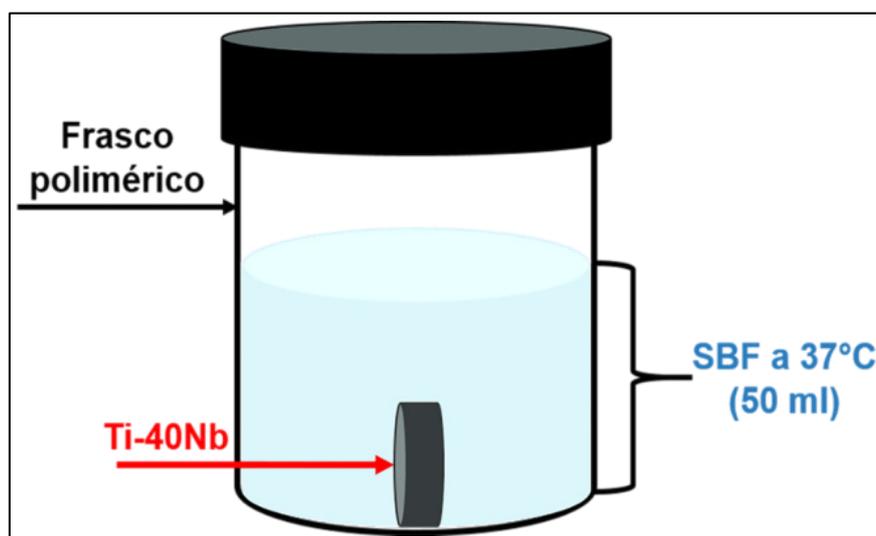


Figura 3.4 – Representação esquemática da montagem experimental usada para ensaios de bioatividade.

3.4 Caracterização Microestrutural

3.4.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para a caracterização microestrutural da amostra não modificada (substrato), esta foi embutida em resina, com posterior lixamento de 180, 300, 400, 600, 1200 e 2400 mesh e, posterior polimento abrasivo com alumina de 3,0 e 1,0 μm . O ataque químico foi realizado com reagente Kroll, na seguinte proporção 2:1:2 de ácido fluorídrico, ácido nítrico e água destilada, respectivamente.

A caracterização microestrutural da liga β Ti-40Nb e das modificações superficiais (anodização, pré-calcificação) foram feitas através microscopia eletrônica de varredura (MEV), acoplado com EDS.

Os microscópios eletrônicos Philips XL30 FEG e FEI Magellan 400L estão disponíveis no Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) no DEMa-

UFSCar, enquanto que o MEV FEG-SEM Zeiss Ultra 55 está disponível na Universidade de Grenoble Alpes.

3.4.2 Difração de raios-X (DRX)

A análise por difração de raios-X teve como objetivo observar as fases presentes na liga β Ti-40Nb antes e após as modificações superficiais e o tratamento térmico de recozimento, bem como após o ensaio de bioatividade. O ensaio foi realizado utilizando um difratômetro Rigaku Gierflex ME210GF2, usando radiação Cu-K α ($\lambda=1,54056$ Å), com intervalo de varredura de 20° a 90° com passo de 0,02°. Os ensaios foram realizados no LCE, DEMa-UFSCar.

3.4.3 Avaliação do módulo de elasticidade

As medidas do módulo de elasticidade, E (GPa) foram realizadas através da técnica de excitação por impulso, de acordo com a norma ASTM E1876 [123]. Esta técnica consiste em determinar o módulo de elasticidade de um material de acordo com a frequência natural de uma amostra de geometria regular, sendo este um ensaio não destrutivo. Essas frequências são excitadas por um curto impulso mecânico, seguido pela aquisição da resposta acústica por meio de um microfone.

Foi utilizado para a medição do módulo de elasticidade o equipamento ATCP Sonelastic, conectado a um computador com software dedicado para processamento do sinal, o equipamento está localizado no Laboratório Microestrutura e Propriedades em Processos de Solidificação (M2PS), no DEMa-UFSCar.

3.4.4 Molhabilidade

A molhabilidade e a energia de superfície foram obtidas através de medidas de ângulo de contato, usando a técnica de gota sésil em um

goniômetro Krüss DSHAT HTM Reetz GmbH, fornecidos por método da tangente como implementado no software do sistema. Os experimentos foram realizados em condições ambientais, tomando o valor médio de três medidas, em diferentes locais das amostras. O equipamento está localizado no Laboratório Microestrutura e Propriedades em Processos de Solidificação (M2PS) DEMa-UFSCar.

Água deionizada (líquido polar) e glicerol (líquido apolar) foram usados como fluido teste, cuja energia superficial é bem definida (Tabela 3.3) [124].

Tabela 3.3 - Tensão superficial (γ_L) e seus componentes polar (γ_L^P) e dispersa (γ_L^D) dos líquidos utilizados. Adaptado de [124].

Líquido	γ_L (10^{-3} N.m $^{-1}$)	γ_L^D (10^{-3} N.m $^{-1}$)	γ_L^P (10^{-3} N.m $^{-1}$)
Água	72,8	21,8	51,0
Glicerol	63,4	37,0	26,4

Com base nos parâmetros de energia da superfície desses diferentes líquidos, e o ângulo de molhamento, foi calculada a energia livre superficial com o auxílio do modelo de Owens-Wendt, conforme demonstrado nas Equações 3.1 até 3.6 [70, 71].

$$\gamma_L \times \cos\theta = \gamma_S - \gamma_{SL} \quad 3.1$$

$$\gamma_{SL} = \gamma_S + \gamma_L - 2 \times \sqrt{(\gamma_S^D \times \gamma_L^D)} - 2 \times \sqrt{(\gamma_S^P \times \gamma_L^P)} \quad 3.2$$

Substituindo γ_{SL} na equação de Young (3.2), se obtém a Equação (3.3), onde γ_L é a tensão superficial do líquido, γ_L^D e γ_S^D são as componentes dispersas do líquido e do sólido, respectivamente, e γ_L^P e γ_S^P são as componentes polares do líquido e do sólido, respectivamente.

$$\gamma_L \times (\cos\theta + 1) = 2 \times \left(\sqrt{(\gamma_S^D \times \gamma_L^D)} + \sqrt{(\gamma_S^P \times \gamma_L^P)} \right) \quad 3.3$$

Reorganizando a Equação (3.3) para calcular a energia livre superficial do sólido (γ_S), as Equações 3.4 e 3.5 podem ser aplicadas. A Equação 3.4 descreve a γ_S^D , e a Equação 3.5 descreve a γ_S^P .

$$(\gamma_S^D)^{0,5} = \frac{\gamma_{LG} \times (\cos\theta_{LG} + 1) - \gamma_{LW} \times (\cos\theta_{LW} + 1) \times \sqrt{\frac{\gamma_{LG}^P}{\gamma_{LW}^P}}}{2x \left(\sqrt{\gamma_{LG}^D} - \sqrt{\gamma_{LG}^P \times \frac{\gamma_{LW}^D}{\gamma_{LW}^P}} \right)} \quad 3.4$$

$$(\gamma_S^P)^{0,5} = \frac{\gamma_{LW} \times (\cos\theta_{LW} + 1) - 2x \sqrt{\gamma_S^D \times \gamma_{LW}^D}}{2x \sqrt{\gamma_{LW}^P}} \quad 3.5$$

Onde γ_L , γ_L^D , γ_L^P e θ com subíndice “LW” se refere a água e “LG” se refere ao glicerol são valores de tensão superficial, componente dispersa, componente polar e ângulo de contato para um líquido apolar e polar, respectivamente.

A energia livre superficial do sólido (γ_S) (Equação 3.6) pode ser determinada como a soma da componente polar (γ_S^P) e a componente dispersa do sólido (γ_S^D).

$$\gamma_S = \gamma_S^D + \gamma_S^P \quad 3.6$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização microestrutural e mecânica da liga β Ti-40Nb

Nesta seção, serão apresentados os resultados referentes à caracterização da liga β Ti-40Nb. Inicialmente serão discutidos os resultados obtidos na liga após o processo de swaging, então serão apresentados e discutidos os resultados para a anodização e pré-calcificação.

4.1.1 Caracterização da liga β Ti-40Nb

Nesta seção serão discutidos os resultados da microestrutura (MEV-EDS e DRX) e do módulo de elasticidade, medido pela técnica de excitação por impulso, da liga β Ti-40Nb após o processo de swaging.

A Figura 4.1(a) apresenta a imagem obtida por MEV da liga β Ti-40Nb após ataque químico com o reagente Kroll modificado, observou-se que a microestrutura consiste, principalmente, pela matriz composta pela fase β -Ti, além das agulhas da fase martensita α'' dispersas na matriz β , sendo a fase α'' resultante do processo de swaging. A presença dessas fases (β e α'') pôde ser confirmada através do padrão de DRX (Figura 4.1(d)), onde foi possível observar a presença dos picos característicos de ambas as fases (β -Ti e α''). As Figuras 4.1(b) e (c) apresentam os resultados do mapeamento elemental obtido por MEV-EDS, nota-se uma distribuição uniforme dos elementos Ti e Nb. O EDS realizado na liga β Ti-40Nb apresentou percentuais (em peso) de 61,4 e 38,6% para o Ti e Nb, respectivamente. O valor do módulo de elasticidade, obtido pela da liga β Ti-40Nb apresentou um baixo valor de $E=69\pm 1$ GPa. O baixo valor do módulo de elasticidade, medido pela técnica de excitação por impulso, ocorreu devido à alta proporção da fase β na liga, sendo esta característica obtida pela elevada fração de Nb (que é um elemento β -estabilizador) [8,125–127]. Assim, a combinação de baixo módulo de elasticidade e elementos não tóxicos, indica que a liga β Ti-40Nb pode ser considerada uma candidata promissora para aplicações biomédicas, sendo seu uso mais adequado do que o das ligas Ti-c.p. e Ti-6Al-4V, as mais utilizadas comercialmente como implantes.

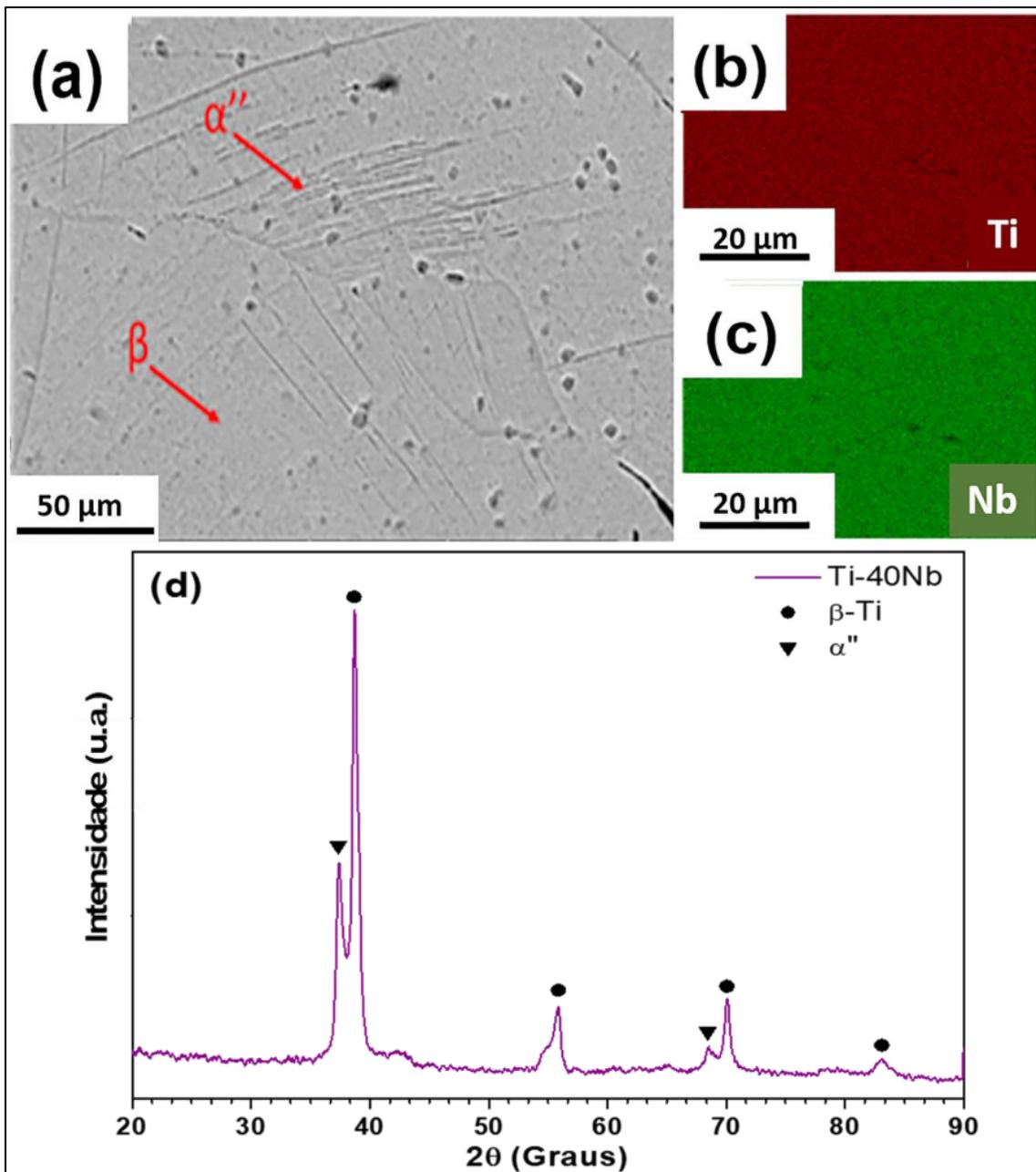


Figura 4.1 - (a) Micrografia MEV da liga β Ti-40Nb mostrando α'' martensita (agulhas) dispersa através da matriz β -Ti; (b) e (c) Mapeamento por EDS Ti (vermelho) e Nb (verde), respectivamente; (d) Padrão de DRX da liga β Ti-40Nb.

4.1.2 Caracterização da liga β Ti-40Nb – Anodização

Nesta seção serão abordados os resultados do processo de anodização nas amostras de Ti-40Nb, sendo a microestrutura caracterizada por MEV-EDS e DRX, o módulo de elasticidade da liga β Ti-40Nb. Além do mais foram realizadas

medidas de ângulo de contato (goniômetro) e tensão superficial, nas condições com a superfície já otimizada.

Para otimizar a superfície após a anodização foram realizadas várias tentativas, onde se variou o tempo (1 e 2 horas), o potencial (10 e 20 Volts) e três eletrólitos, onde foi variado o teor de água e de fluoreto de amônio.

As micrografias das análises preliminares estão apresentadas nas Figuras 4.2 (a) até (j).

As imagens das Figuras 4.2 (a) até (d), obtidas por MEV, referentes aos testes realizados com o eletrólito I (0,15M NH_4F , 10% de H_2O e glicerol), mostram que para este eletrólito existem somente nanoporos, isto para os potenciais de 10 e 20V, bem como os tempos de 1 e 2 horas, na superfície da liga. Além disto, estes nanoporos se encontram distribuídos não uniformemente. Uma explicação para este comportamento, de formar nanoporos e não homogêneos, ocorreu pela baixa quantidade de íons flúor (F^-) e a baixa quantidade de H_2O , sendo que a elevada densidade do eletrólito dificulta a movimentação dos íons F^- , fazendo com que estes íons não tenham energia suficiente para formar os nanotubos. Quando utilizado o eletrólito II (1,5M NH_4F , 10% de H_2O e glicerol), Figuras 4.2 (e) à (h), foi observada a presença de nanotubos. Entretanto estes nanotubos encontram-se distribuídos em colônias separadas por vazios, este comportamento acontece pela elevada quantidade de F^- , que desta vez foi menos influenciado pelo teor de água no eletrólito, este comportamento foi verificado para os potenciais de 10 e 20V, bem como os tempos de 1 e 2 horas. Nas Figuras 4.2 (i) e (j) encontram-se as micrografias obtidas quando utilizado o eletrólito III (0,25M NH_4F , 25% de H_2O e glicerol), foi possível verificar a formação de nanotubos, para ambos os potenciais (10 e 20V) e tempo de 2 horas, entretanto estes nanotubos se encontram mal distribuídos na superfície da liga.

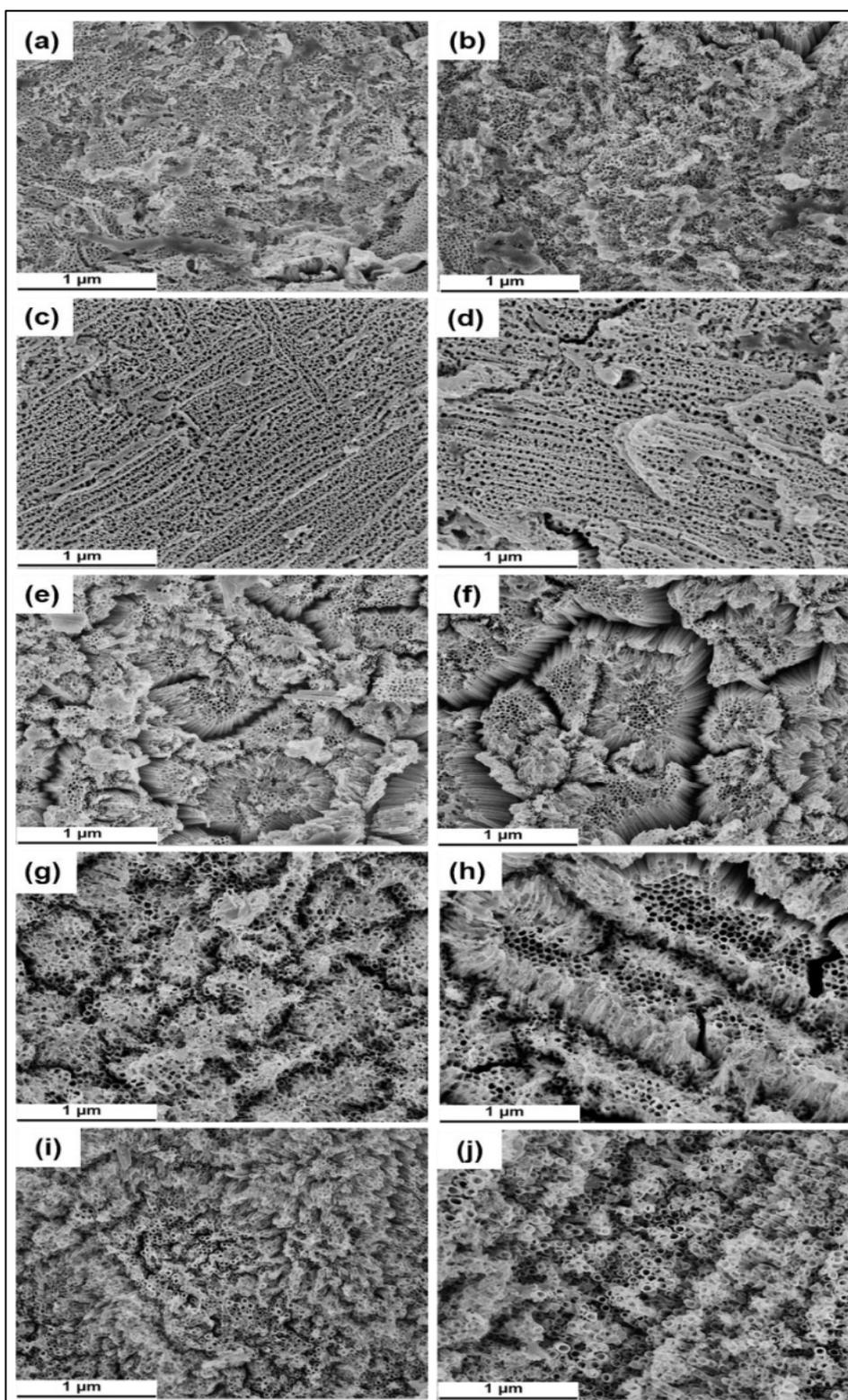


Figura 4.2 - Imagens de MEV para diferentes parâmetros de anodização: Eletrólito (I) - (a) 10V-1h, (b) 10V-2h, (c) 20V-1h e (d) 20V-2h; eletrólito (II) - (e) 10V-1h, (f) 10V-2h, (g) 20V-1h e (h) 20V-2h; Eletrólito (III) - (i) 10V-2h, (j) 20V-2h.

As Figuras 4.3 (a) e (b) ilustram as duas nanoestruturas de TiO_2 obtidas após a aplicação de tensões de 10 e 20V, sendo utilizado o eletrólito III e tempo constante de 1 hora. A Figura 4.3 (a) apresenta a morfologia dos nanotubos (NTs-AM), obtidas com tensão de 10V, enquanto a Figura 4.3 (b) apresenta a morfologia dos nanoporos (NPs-AM), obtidas com tensão de 20V.

A variação dessas nanoestruturas ocorre durante o processo de anodização eletroquímica sob diferentes tensões, onde é favorecido o transporte dos íons Ti^{4+} para fora do substrato metálico e dos íons O^{2-} e OH^- na direção do eletrólito [78,128]. O aumento da tensão de anodização para 20V aumenta a força motriz, levando a um movimento mais rápido dos íons na interface metal/filme de óxido. Portanto, tensões de anodização mais altas do que 10V aumentam o campo elétrico e podem induzir a rápida formação da camada de óxido de TiO_2 , levando à formação de NPs [78,128,129].

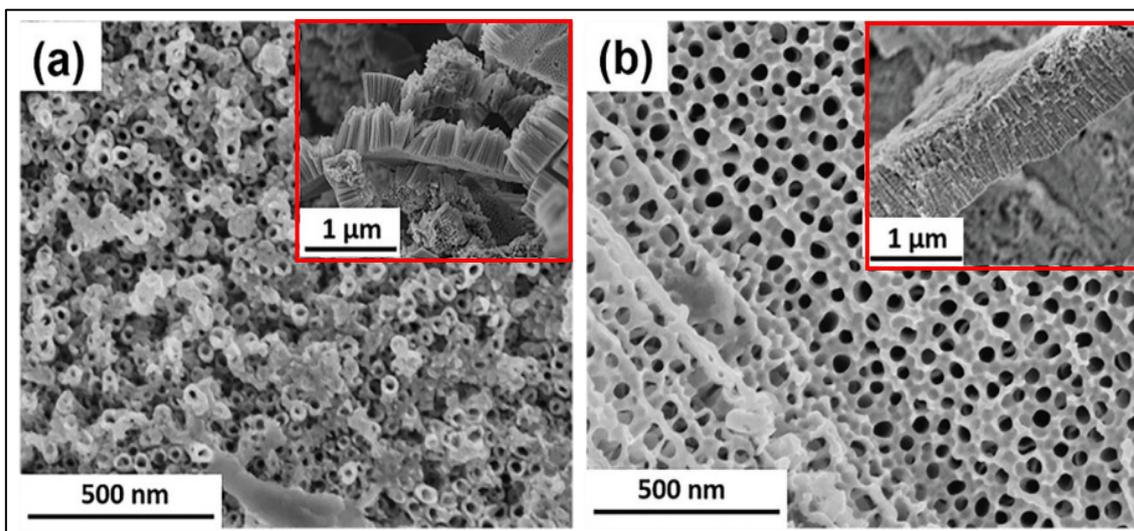


Figura 4.3 - Micrografias obtidas por MEV de (a) nanotubos de TiO_2 (NTs-AM) e (b) nanoporos de TiO_2 (NPs-AM) mostrando a vista superior das nanoestruturas, junto com a inserção (no canto superior direito) da vista em seção transversal de uma região riscada dos NTs-NPs de TiO_2 .

A Tabela 4.1 apresenta os resultados das medidas de diâmetro e comprimento das diferentes nanoestruturas. Pode-se notar que a tensão maior

de 20V quase dobra o diâmetro e o comprimento da nanoestrutura quando comparada à anodização realizada a 10V.

Tabela 4.1 - Valores de diâmetro e comprimento de nanoestruturas após anodização em diferentes tensões.

Tensão (Volts)	Diâmetro (nm)	Comprimento (nm)
10	46±7	419±61
20	76±5	1110±83

A Figura 4.4 (a) apresenta o gráfico da corrente de anodização em função do tempo de anodização, e a Figura 4.4 (b) amplia o gráfico apresentado na Figura 4.4 (a) até 5 minutos de anodização. Aqui, é interessante analisar a formação das diferentes nanoestruturas. A corrente diminui exponencialmente com a formação de uma camada de óxido (filme de passivação [22,130]) de algumas dezenas de nm de espessura. O eletrólito contém espécies capazes de dissolver a camada de óxido anodizado (F^-), então a superfície começa a ser dissolvida localmente e os poros crescerão aleatoriamente na superfície do óxido de TiO_2 .

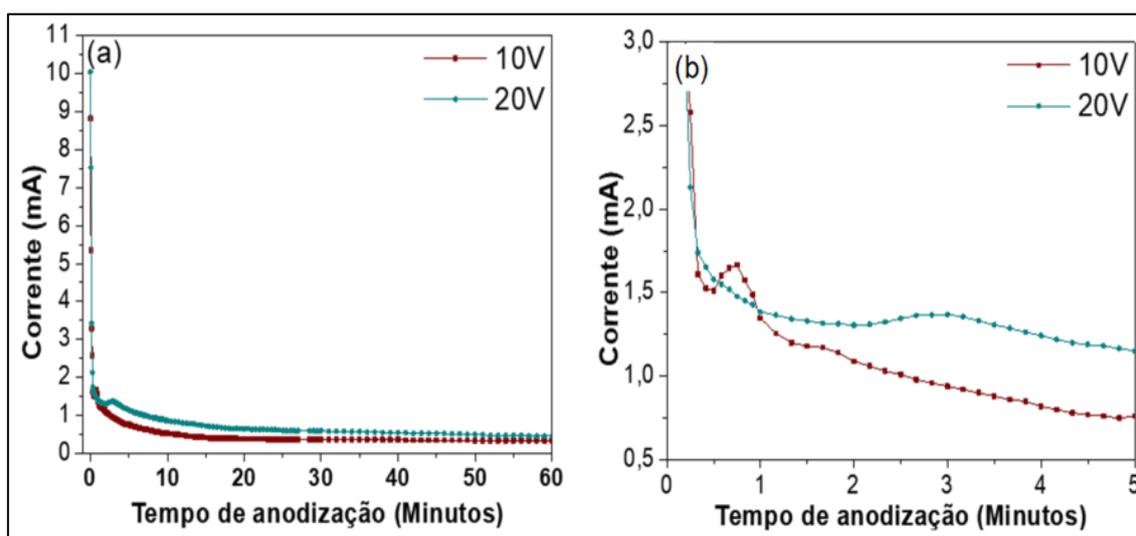


Figura 4.4 - (a) Gráfico da corrente de anodização em função do tempo de anodização. (b) ampliação do gráfico apresentado na Figura 4.4 (a), até 5 minutos de anodização.

A iniciação desses poros leva a um aumento da área de superfície ativa e, conseqüentemente, a um aumento da corrente, formando um pico. Desta forma, os poros compartilham, igualmente, a corrente disponível o que finalmente leva à formação de uma série de nanoestruturas organizadas verticalmente que param de crescer com a estabilização da dissolução e formação da camada de TiO_2 . Portanto, a corrente se torna constante (após ~15 min para os NTs-AM (10V) e ~25 min para os NPs-AM (20V)). Mais precisamente, o estado estacionário é estabelecido quando a taxa de crescimento do óxido (na interface metal/óxido) é igual à sua taxa de dissolução (na interface óxido/eletrólito) [27,36,91]. Porém, observando a Figura 4.4 (b), o pico de corrente apareceu rapidamente para amostras anodizadas com 10V, este pico era mais nítido e se extinguiu mais rápido do que a condição anodizada com 20V, que apareceu aos poucos, ficou mais largo e demorou mais para ser extinto. No caso de 20V, pode-se observar que o gradiente de corrente antes e depois do pico é menor do que para 10V, indicando que a dissolução em 20V começou mais cedo e que a dissolução foi gradual, levando a diâmetros de poros maiores e, finalmente a nanoestruturas com comprimento maiores do que para 10V (Tabela 4.1).

A tensão aplicada determina a força do campo elétrico através do óxido e, portanto, a migração das espécies iônicas, afetando diretamente o diâmetro e o comprimento das nanoestruturas [79,83]. Portanto, quanto maior a voltagem, mais forte é o campo elétrico, maior o diâmetro e nanoestruturas mais longas.

No Ti-c.p., traços da camada porosa inicial podem permanecer no topo dos tubos. Esses traços geralmente assumem a forma de "nanofilamentos" e cobrem a superfície dos nanotubos. Na literatura, essa camada é denominada "nanograss". Métodos foram desenvolvidos para superar a formação de "nanograss" no Ti-c.p. [131,132]. No entanto, os resultados deste trabalho indicam que o Nb estabiliza e engrossa a estrutura das "nanograss". A camada porosa inicial persiste no topo dos tubos (inserções da Figura 4.4 (b)). Portanto, para esta condição de tensão, uma camada nanoporosa é mantida no topo dos nanotubos.

Na Figura 4.5 está mostrada, de forma ilustrativa, os estágios da transição de uma morfologia nanoporosa para uma nanotubular. Na parte superior pode-se ver uma estrutura tubular claramente separada, enquanto que, na parte inferior dos tubos pode-se ver uma estrutura porosa, mas altamente organizada. Não apenas a composição do eletrólito (concentração de íons fluoreto e/ou H_2O), mas também a variação na tensão de anodização afetará a transição da estrutura nanoporosa para nanotubular; onde o "nanograss" ainda pode estar presente. Este comportamento pode ser atribuído a um efeito do campo elétrico na mobilidade dos íons de flúor e efeitos de stress que afetam o grau de acúmulo de flúor na interface óxido/metal.

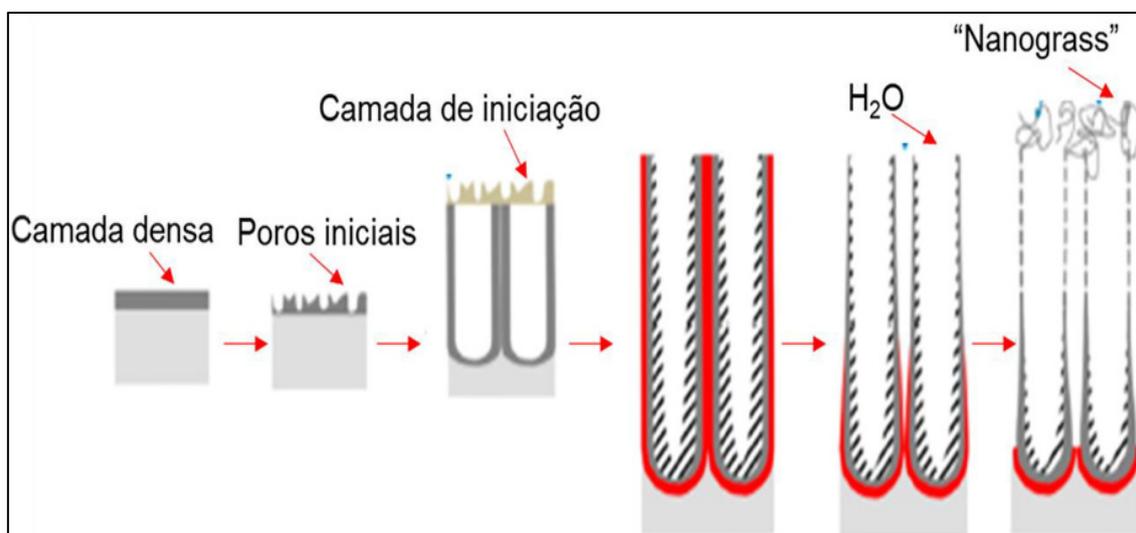


Figura 4.5 – Esquema de formação de nanoestruturas anódicas de TiO_2 auto organizadas. Adaptado de [84].

4.1.2.1 Recozimento e módulo de elasticidade

Nesta seção serão discutidos os resultados microestruturais e o módulo de elasticidade, obtidos após o recozimento das amostras anodizadas.

Como é amplamente relatado na literatura, as nanoestruturas formadas no processo de anodização, possuem estrutura amorfa e baixa resistência mecânica. Desta maneira, é necessário a cristalização da estrutura amorfa para melhorar as propriedades das nanoestruturas [25,28,29,133].

A Figura 4.6 apresenta os padrões de DRX das amostras anodizadas em comparação com as anodizadas recozidas em diferentes temperaturas. Como a camada de óxido nanoestruturada inicialmente formada na superfície é amorfa, apenas picos (fases cristalinas) de difração relacionados ao substrato (liga β Ti-40Nb) são possíveis de serem identificados (α'' e β) como também observado na Figura 4.1 (d).

O tratamento térmico de recozimento levou à cristalização das nanoestruturas de TiO_2 e à transformação de fase no substrato. Percebe-se que, a 450 °C (curva azul), a nanoestrutura de TiO_2 cristaliza em anatase. A fase α é formada devido à dissolução da martensita α'' , percebe-se também que ocorreu a precipitação de uma pequena quantidade de fase ω metaestável com pico na região de $2\theta \sim 78^\circ$, que também é formada pela decomposição da fase α'' que é típica para ligas β -Ti nesta temperatura.

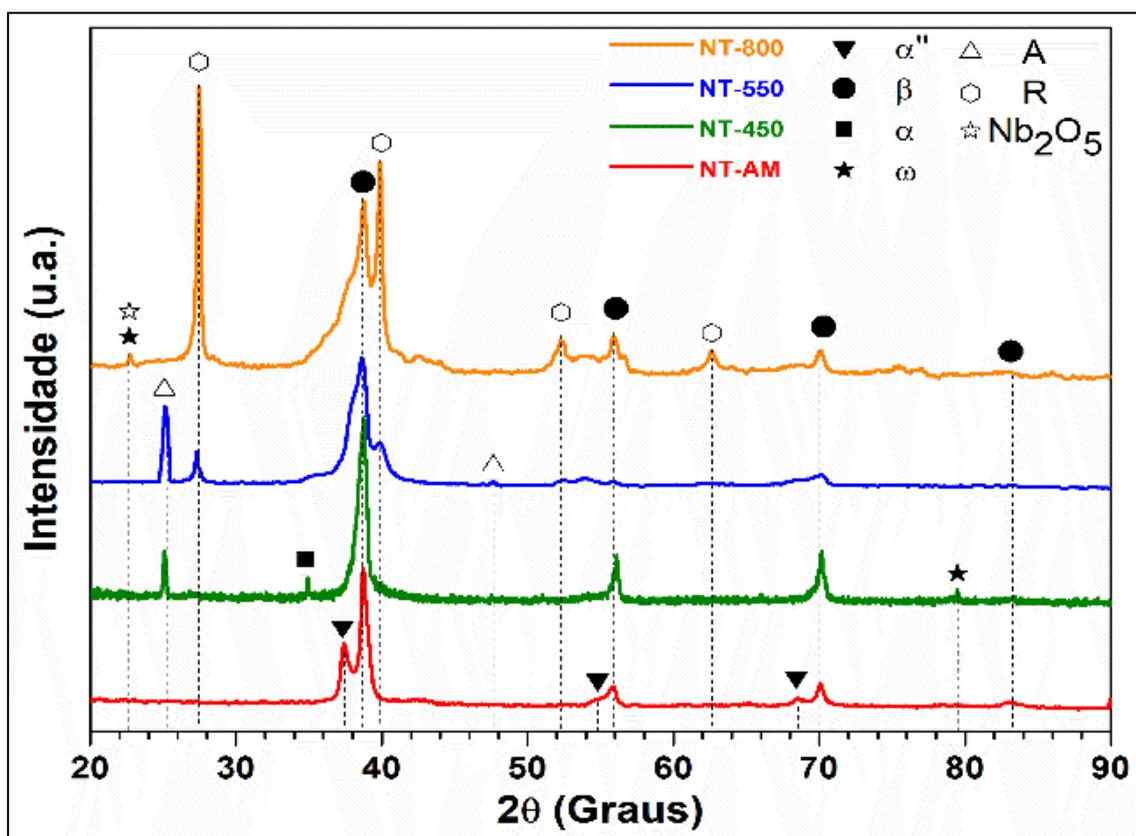


Figura 4.6 - Padrões de DRX das amostras anodizadas e nanoestruturas amorfa e recozidas a 450°C, 550°C e 800°C, A - Anatase; R - Rutilo.

Quando a temperatura é aumentada para 550 °C (curva azul), a camada anodizada adota uma estrutura mista onde os nanotubos retêm a estrutura anatase. Em contraste, a camada de óxido na interface metal/NTs é transformada na fase rutilo [134,135]. O surgimento da fase rutilo deve-se principalmente à oxidação térmica do substrato de Ti, que leva, dentro desta faixa de temperatura, à formação do TiO₂ na forma de rutilo [84]. À medida que a temperatura de recozimento aumenta, a camada de óxido de rutilo aumenta e "consome" a parte inferior dos nanotubos [136]. Estudos anteriores [22] indicam que o Nb estabiliza a fase anatase, levando ao aumento da temperatura de transformação de anatase para rutilo. Nessa temperatura, apenas a fase β está presente no substrato Ti-40Nb, indicando que as fases α e ω foram dissolvidas. De acordo com o diagrama de fase binário Ti-Nb (Figura 2.7), a temperatura β -transus é de ~510 °C para a liga β Ti-40Nb [58].

A 800 °C (curva laranja), a fase anatase se transforma totalmente em rutilo e ocorre a formação de Nb₂O₅, cuja estrutura é relatada para melhorar a resistência ao desgaste de ligas à base de Ti [137]. Observa-se também que, além da fase β -Ti estar presente no substrato Ti-40Nb, ocorre a precipitação da fase ω ($2\theta \sim 22,5^\circ$), conhecidamente uma fase deletéria quando relacionada ao módulo de elasticidade em ligas de titânio [138].

Como o módulo de elasticidade é uma propriedade fundamental na escolha e no sucesso de uma futura aplicação de implante, é necessário estudar a influência das fases formadas após o recozimento sobre o módulo de elasticidade. A Tabela 4.2 resume os resultados do módulo de elasticidade e das fases presentes no substrato Ti-40Nb e nanoestruturas de TiO₂, de acordo com a temperatura de recozimento.

O módulo de elasticidade do substrato Ti-40Nb + nanoestruturas de TiO₂ amorfas é o mesmo do substrato original, ou seja, E=69 GPa, tendo β e α'' como fases presentes.

A decomposição da fase α'' e a posterior precipitação das fases α e ω a 450 °C levou ao aumento do módulo de elasticidade para E=88 GPa. Quando a amostra é recozida na temperatura de 550 °C, as fases α e ω foram dissolvidas e apenas a fase β -Ti (ccc) está presente. Assim, o módulo é reduzido para E=65

GPa, que é menor do que o do substrato original com martensita (α'') como segunda fase.

Após o recozimento a 800 °C, o módulo de elasticidade voltou a aumentar, atingindo o valor de $E=75$ GPa, o que pode ser explicado pela formação da fase ω nesta temperatura [138].

Tabela 4.2 - Temperaturas de recozimento, módulo de elasticidade e fases formadas (substrato Ti-40Nb; não recozido e para temperaturas de recozimento).

Condições	Módulo de elasticidade (GPa)	Fases da liga (DRX)	Fases das nanoestruturas
Ti-40Nb substrato	69±1	$\beta+\alpha''$	-
Anodizada	69±1	$\beta+\alpha''$	Amorfa
TT a 450°C	88±2	$\beta+\alpha+\omega$	Anatase
TT a 550°C	65±2	β	Anatase+Rutilo
TT a 800°C	75±3	$\beta+\omega$	Rutilo+Nb ₂ O ₅

Após o recozimento da liga β Ti-40Nb verificou-se que a condição recozida na temperatura de 550 °C apresentou o menor valor para o módulo de elasticidade ($E=65$ GPa), sendo assim esta foi a temperatura escolhida na sequência do trabalho.

A formação de fases durante o tratamento térmico (TT) dependerá das respectivas temperaturas (450 °C, 550 °C e 800 °C) e do tempo de TT em uma determinada temperatura. A condição de resfriamento após o TT, se rápido (em água) ou mais lento (em ar ou forno) também será determinante nas fases finais mantidas ou transformadas após o resfriamento até a temperatura ambiente. As amostras após TT foram resfriadas no forno, ou seja, em uma condição lenta de resfriamento ($dt/dT \sim 0,01-0,05$ °C/s), sendo este resfriamento mais próximo à condição de equilíbrio.

Vale a pena ressaltar que a variação do módulo de elasticidade deve-se mais às transformações de fase ocorridas no “bulk” (amostra maciça) do substrato/liga β Ti-40Nb do que devido à influência das transformações ocorridas

na superfície anodizada, que possui espessura irrisória ($e = 0,4$ a $1,0 \mu\text{m}$) se comparada ao "bulk" ($e = 1 \text{ mm}$).

A influência da temperatura de TT de recozimento nas transformações de fase em ligas β Ti não é um fator muito explorado na literatura, mas também é um fator determinante na estabilização da fase β Ti (no campo de fase) em alta temperatura. A estabilização de fase no campo de fase β -Ti em alta temperatura combinado com o tempo, serão determinantes na cinética de transformação de fases finais após o resfriamento também, conforme estudado por Kuroda et al. [139] em ligas β Ti-25Ta-xZr (com $x = 10, 20, 30$ e 40%).

No caso do presente estudo da liga β Ti-40Nb, há também similaridades na formação das fases β e α " no resfriamento (de modo similar às ligas β Ti-25Ta-xZr) e a possível formação de ω atérmica após o resfriamento. Mas há de se mencionar que em baixas temperaturas de recozimento ($T=450^\circ\text{C}$) na verdade está sendo realizado um TT de envelhecimento, pois a temperatura β -transus para a liga Ti-40Nb é de cerca de 510°C , portanto estaria abaixo do campo β ainda, promovendo outras transformações de fase, como a dissolução da martensita α ", precipitação de ω isotérmica, e possível precipitação de α , dependendo da cinética (tempo e temperatura).

Já para as temperaturas mais altas de recozimento ($T=550$ e 800°C), as amostras já se encontram acima da β -transus da liga Ti-40Nb ($\sim 510^\circ\text{C}$), portanto dentro do campo da fase β , promovendo a transformação gradativa de todas as fases da amostra para a fase β . Na temperatura de 550°C , a liga β -Ti-40Nb apresentou o menor valor para o módulo de elasticidade ($E=65 \text{ GPa}$), mantendo apenas a fase β -Ti após o resfriamento no "bulk". Já para a $T=800^\circ\text{C}$ pode ser que no resfriamento houve tempo hábil para a formação de certa fração da fase ω , aumentando o valor do módulo para $E=75 \text{ GPa}$.

4.1.2.2 Molhabilidade e tensão superficial

De acordo com os resultados apresentados na seção 4.1.2.1, a temperatura de recozimento de 550°C levou a apenas fase β no substrato e, conseqüentemente ao menor módulo de elasticidade (65 GPa). Portanto, a

análise de molhabilidade foi realizada em amostras anodizadas (NTs/NPs-AM), nas amostras recozidas a 550 °C (NTs/NPs-HT) e também na liga β Ti-40Nb não modificada.

A Figura 4.7 mostra os resultados relacionados aos testes de ângulo de contato e energia superficial. A energia superficial foi obtida aplicando as Equações 3.4 à 3.6. Todas as amostras analisadas, incluindo a condição não modificada, apresentaram comportamento hidrofílico ($<90^\circ$). No entanto, como esperado, o substrato apresentou o maior ângulo de contato, 76° para o líquido polar (água) e 85° para o líquido apolar (glycerol). Considerando os erros, seja qual for a voltagem aplicada, ou a morfologia (nanotubos ou nanoporos), a anodização reduziu o ângulo de contato para cerca de 33° para a água e 45° para o glicerol. O recozimento a 550 °C diminuiu ainda mais o ângulo para cerca de 27° para o líquido polar de água e 31° para o líquido apolar de glicerol.

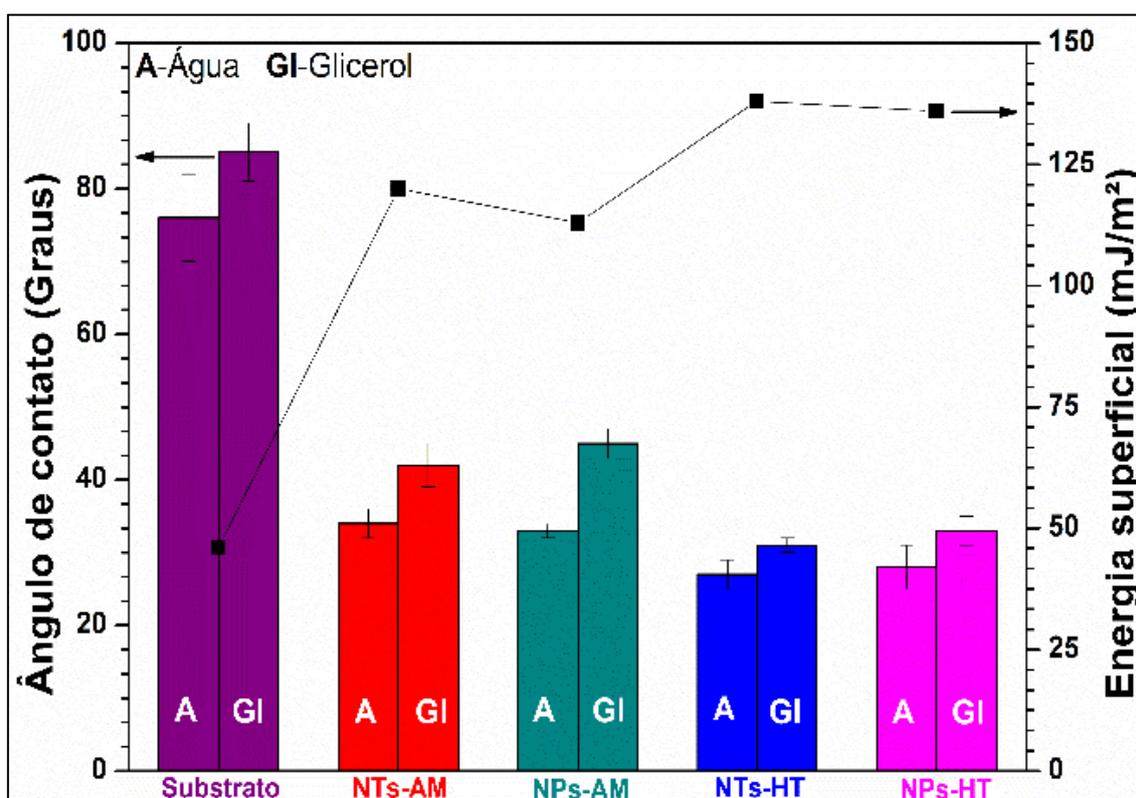


Figura 4.7 - Gráfico mostrando os valores de ângulo de contato (barras-valores à esquerda) e energia superficial (pontos-valores à direita) para o substrato, NTs/NPs-AM e NTs/NPs-HT.

Os resultados da Figura 4.7, em relação à energia superficial (γ), estão de acordo com os resultados para ângulos de contato. Em outras palavras, a energia da superfície varia inversamente com o ângulo de contato. Portanto, quanto maior a energia da superfície, menor o ângulo de contato. Após a análise da Figura 4.7, pode-se observar que o menor valor de energia de 46 mJ/m² foi medido para o substrato, que apresentou o maior ângulo de contato. Tal valor de energia aumenta e atinge o maior valor de 138 mJ/m² para a condição anodizada e recozida com nanotubos na superfície (NTs-HT), que apresentou o menor ângulo de contato. A Tabela 4.3 apresenta um resumo dos resultados do teste de molhabilidade (ângulo de contato) e os resultados da energia superficial (γ).

A redução dos ângulos de contato e o conseqüente aumento da energia de superfície, seja em nanotubos ou nanoporos, é induzida pela penetração do líquido, favorecida por forças de capilaridade [140,141]. Os menores ângulos de contato resultantes em amostras recozidas a 550 °C, foram provavelmente induzidos pela mistura de fases de óxido de TiO₂ (anatase e rutilo) formadas nos NTs/NPs que apresentam propriedades hidrofílicas [140–142]. A energia de superfície e o ângulo de contato estão diretamente ligados à adsorção de proteínas em meios de cultura de células e íons Ca e P quando analisados em fluidos corporais (SBF). Assim, quanto maior a energia superficial (γ) e quanto menor o ângulo de contato, maior a adesão e maior a taxa de osseointegração [68,75,77].

Tabela 4.3 – Valores de ângulo de contato e energia superficial (γ) do substrato, .NTs-AM, NPs-AM, NTs-HT e NPs-HT.

Condições	Ângulo de contato (°)		Energia superficial (mJ/m ²)
	Água	Glicerol	
Substrato	76±6	85±4	46±5
NTs-AM	34±2	42±3	120±7
NPs-AM	33±1	45±2	113±4
NTs-HT	27±2	31±1	138±2
NPs-HT	28±3	33±2	136±4

As Figuras 4.8 (a) e (b) apresentam as nanoestruturas anodizadas das amostras recozidas a 550 °C para nanotubos (NTs-HT) e nanoporos (NPs-HT), respectivamente, obtidas por MEV. Como se pode observar, a morfologia das nanoestruturas de TiO₂ não foi modificada. O diâmetro e o comprimento foram mantidos para ambas as nanoestruturas, quando comparadas com as amostras não recozidas (NTs-AM e NPs-AM).

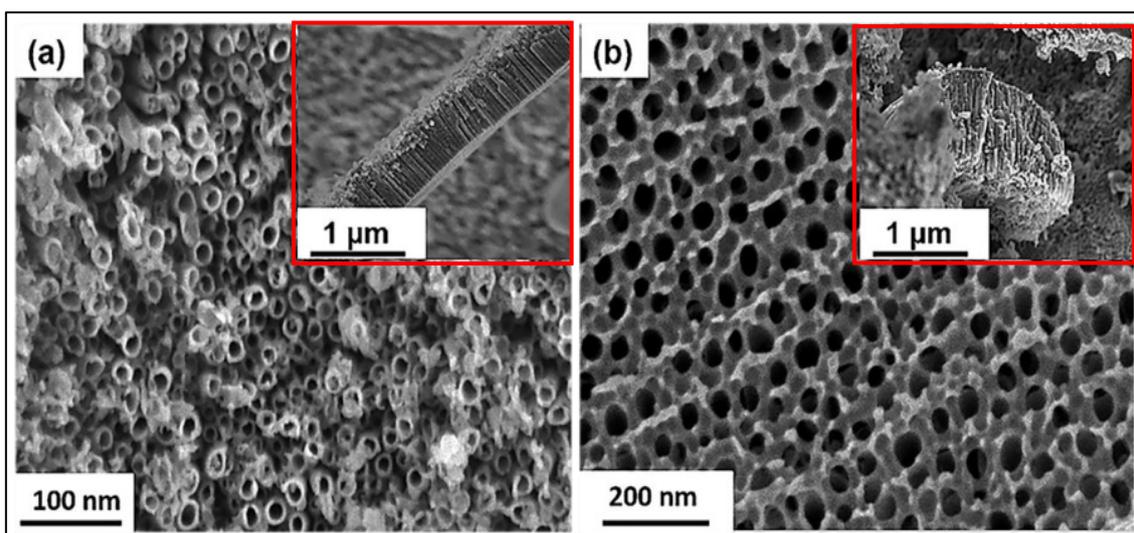


Figura 4.8 - Micrografias obtidas por MEV das vistas superiores das amostras recozidas a 550°C (a) Nanotubos (NTs-HT) e (b) Nanoporos (NPs-HT). As inserções (no canto superior direito) apresentam as vistas em corte transversal das nanoestruturas de TiO₂.

4.1.3 Pré-calcificação e Caracterização Superficial

Na sequência da anodização as amostras foram então submetidas ao processo de pré-calcificação (PC), tendo como objetivo obter uma superfície com maior bioatividade.

A Figura 4.9 mostra as características morfológicas das superfícies das amostras NTs-PC, Figuras 4.9 (a)-(b) e NPs-PC, Figuras 4.9 (c)-(d). Após a exposição a ciclos de tratamento de PC (imersão dos NTs-HT e NPs-HT em solução de 0,05M de NaH₂PO₄ a 80 °C e solução saturada de Ca(OH)₂ a 100 °C por 20 ciclos). As Figuras 4.9 (a) e (c) mostram que os NTs e NPs de TiO₂,

respectivamente estavam completamente cobertos com a deposição de Ca-P, ao mesmo tempo, precipitados semelhantes a grãos de tamanho micrométrico (indicados por setas pretas) podem ser observados. Nas Figuras 4.9 (b) e (d), está sendo mostrada uma região com a maior ampliação. Percebe-se que a camada de Ca-P é formada por cristais compactados com geometria em flocos (indicados por setas brancas). Também há a presença de agregados prismáticos Ca-P (Indicados por *brancos) em ambas as condições analisadas.

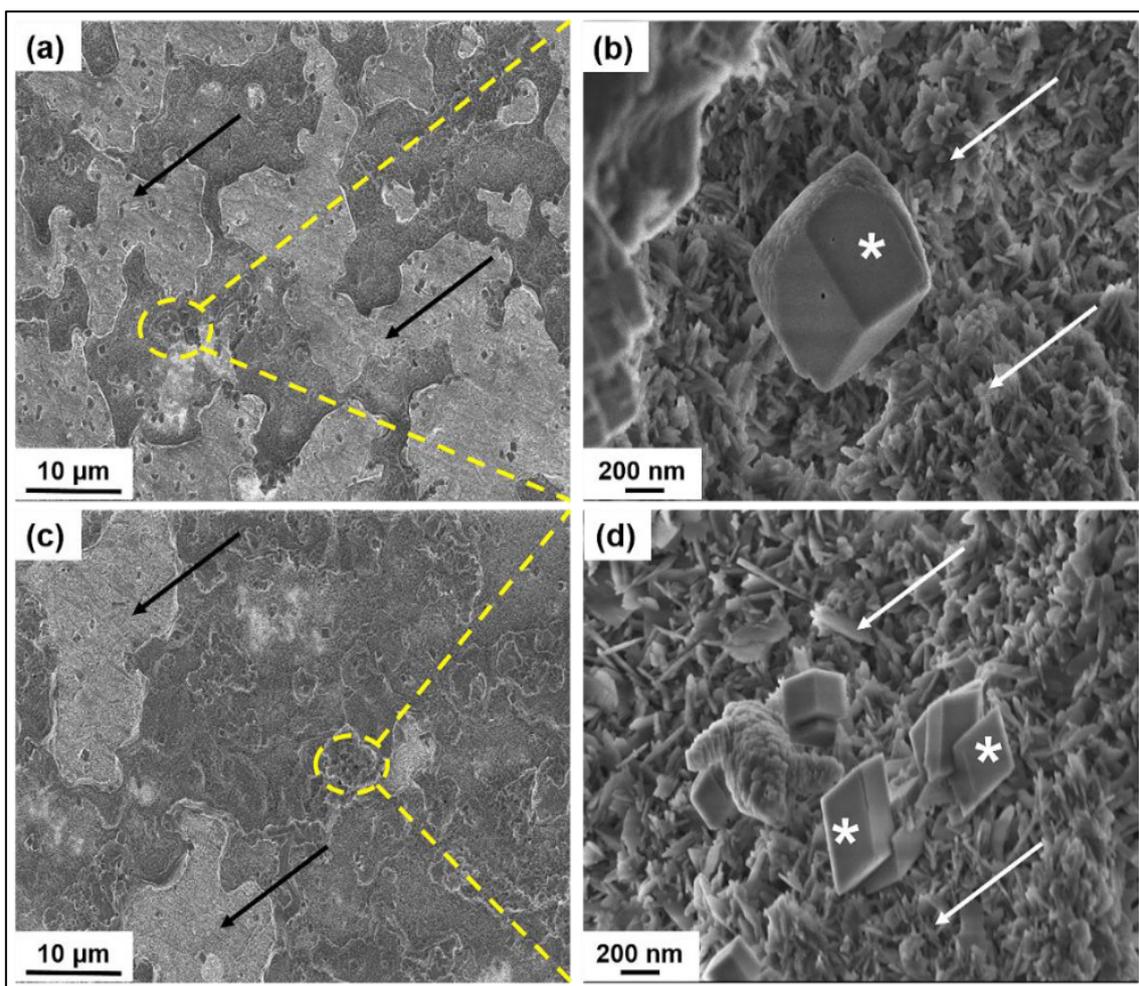


Figura 4.9 - Micrografias de MEV da vista superior das amostras anodizadas, recozidas a 550°C e pré-calcificadas (PC): (a) e (b) Nanotubos (NTs-PC); (c) e (d) Nanoporos (NPs-PC). As imagens (b) e (d) apresentam as seções destacadas das condições NTs-PC e NPs-PC, respectivamente. Setas pretas: precipitados de Ca-P, setas brancas: cristais tipo flocos Ca-P. *Branco: agregados prismáticos Ca-P

As análises semi-quantitativas realizadas por EDS, mostraram uma razão Ca/P de 1,49 para NTs-PC e 1,53 para NPs-PC, conforme mostrado na Tabela 4.4, onde também contém as quantidades de Ca e P. A PC realizada em alguns ciclos levou à adsorção do grupo H_2PO_4^- , presente na solução de NaH_2PO_4 , fazendo com que toda a superfície fique carregada negativamente [95]. Esta adsorção de H_2PO_4^- é facilitada pelos grupos OH^- presentes na superfície das nanoestruturas. Com a imersão das amostras em uma solução saturada de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, a superfície que estava previamente carregada negativamente, resulta em uma alta adsorção de cálcio (Ca^{2+}) [32,143]. A adsorção dos grupos Ca^{2+} e H_2PO_4^- proporciona supersaturação de Ca-P, aumentando a taxa de nucleação de HAp, presentes nos fluidos corporais (SBF) e, conseqüentemente, acelerando a taxa de osseointegração [32,95].

Tabela 4.4 - Resultados da análise semi-quantitativa de EDS após o processo de PC.

Condições	Elementos (% em peso)				Razão Ca/P
	Titânio (Ti)	Nióbio (Nb)	Cálcio (Ca)	Fósforo (P)	
NTs-PC	57,0	37,2	3,5	2,3	1,52
NPs-PC	60,6	33,2	3,6	2,3	1,56

A Figura 4.10 mostra os padrões de DRX das amostras anodizadas+recozidas+pré-calcificadas (NTs/NPs-PC). A análise dos padrões de DRX nos NTs-PC e NPs-PC indicou que a camada depositada continha uma estrutura cristalina de fosfato octacálcio (OCaP). Conforme relatado por Nguyen et al. [95] e Kodama et al. [98], a hidroxiapatita não é formada diretamente a partir do tratamento de pré-calcificação. Nesse caso, é formada uma fase intermediária, comumente referida como fosfato de octacálcio (OCaP), esta fase é conhecida como um potencial precursor de cristais biológicos de apatita em ossos e dentes. O tratamento com PC não produziu alterações nas fases presentes na liga β Ti-40Nb (fase β) ou nas fases presentes nas nanoestruturas (anatase/rutilo). Outro excelente dado no processo de PC se refere ao módulo

de elasticidade onde não houve alteração, mantendo-o constante, em relação à condição anodizadas e recozida, com valor de $E=65\pm 3$ GPa.

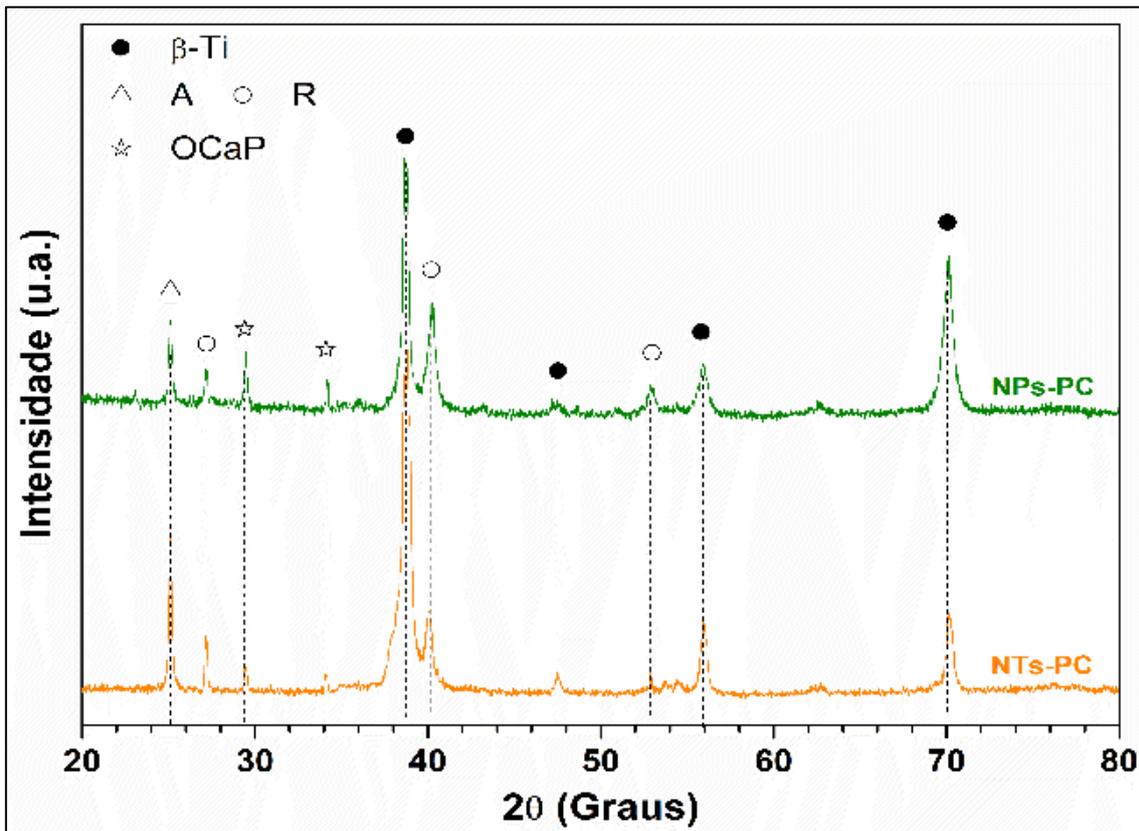


Figura 4.10 - Padrões de DRX das condições anodizadas+recozidas+pré-calcificadas (NTs-PC e NPs-PC). A- TiO_2 Anatase; R- TiO_2 Rutilo; OCaP - Fosfato octacálcio.

4.2 Resistência à Corrosão (Caracterização eletroquímica)

Nesta seção serão abordados os resultados eletroquímicos do potencial de circuito aberto (OCP) (4.2.1), as curvas de polarização (4.2.2) e os resultados referentes à espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) (4.2.3) realizados em meio de SBF, na temperatura de $36,5$ °C. Estes resultados foram utilizados para avaliar a influência da morfologia e da estrutura cristalina das nanoestruturas de TiO_2 e do processo de pré-calcificação nas propriedades eletroquímicas, como referência foi utilizada a liga β Ti-40Nb sem modificações.

4.2.1 Medidas de potencial de circuito aberto

A Figura 4.11 apresenta a evolução das medidas de potencial em circuito aberto (OCP) após 3600 segundos (1 hora) de imersão em SBF a 36,5°C (a) Ti-40Nb não modificado (Substrato), anodizado amorfo (NTs-AM, NPs-AM); e (b) anodizado+recozido (NTs-HT, NPs-HT), anodizado+recozido+PC (NTs-PC, NPs-PC).

É sabido que quanto maior o potencial, mais nobre e estável é a superfície do material no meio analisado. Como esperado, o Substrato Ti-40Nb não modificado (Figura 4.11(a)), apresentou o comportamento menos nobre, uma pequena diminuição nos valores de OCP foi observado inicialmente em torno de 600 segundos, se mantendo constante até ~1200 segundos, comportamento pode ser explicado pelo rompimento do óxido de TiO₂ previamente existente na superfície da liga β Ti-40Nb. Após o tempo imersão de ~1200 segundos o ocorre um leve aumento do potencial devido à formação do filme de TiO₂ em contato com o eletrólito. Este comportamento (aumento no valor de OCP) corresponde a uma diminuição da cinética da reação anódica [108]. Em relação às amostras anodizadas amorfas (NTs-AM e NPs-AM) na Figura 4.11(a), foi observado um aumento nos valores do OCP para o substrato da liga β Ti-40Nb devido à camada de óxido previamente formada. Nas condições anodizadas e recozidas (NTs/NPs-HT) mostradas na Figura 4.11(b), o tratamento térmico de recozimento resultou em um leve aumento no OCP em comparação com as amostras anodizadas. Os resultados obtidos indicam que não apenas a cristalinidade das nanoestruturas, mas também a morfologia (NTs ou NPs) influenciam nas propriedades eletroquímicas. Para as amostras nanoporosas (NPs-HT e NPs-PC), o potencial de corrosão foi aumentado em comparação com a condição com nanotubos (NTs-HT e NTs-PC). Esse comportamento mais nobre ocorre devido à superfície nanoporosa, que é mais homogênea e densa quando comparada às condições com nanotubos, aliás, conforme relatado por Hillario et al. [25] o aumento no comprimento dos nanotubos resultou em uma melhora dos valores de OCP.

Outra observação que pode ser feita na Figura 4.11(b) indica que a presença da camada de Ca-P não altera significativamente os valores de OCP.

Por fim, o mesmo comportamento foi observado em relação à morfologia das nanoestruturas, onde o maior OCP foi obtido para os nanoporos (NPs-PC) na superfície. As observações discutidas acima destacam a existência de uma influência mútua da morfologia das nanoestruturas (NTs/NPs) e sua estrutura cristalina nas propriedades eletroquímicas da superfície em um meio fisiológico.

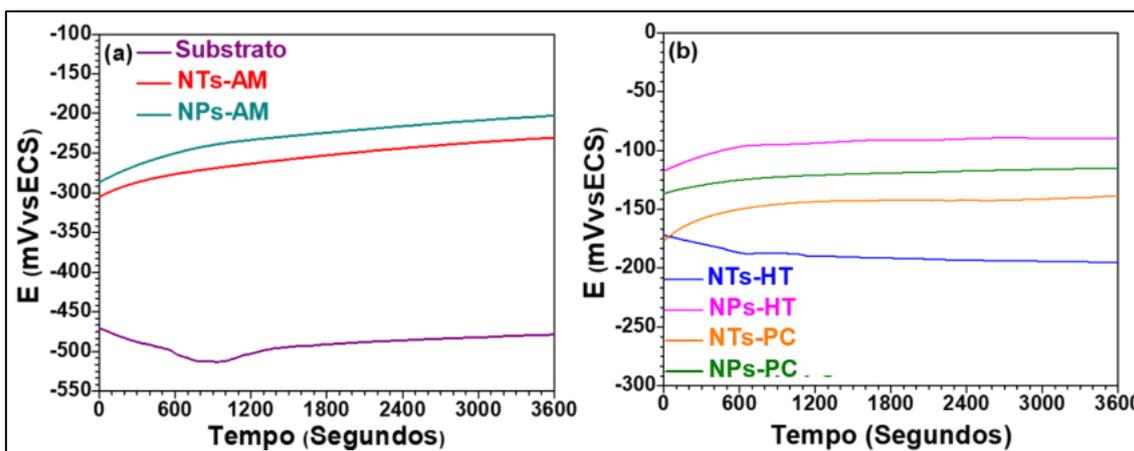


Figura 4.11 - Medições de potencial de circuito aberto após 3600 segundos (1 hora) de imersão em SBF a 36,5°C; (a) Substrato Ti40Nb não anodizado, NTs-AM, NPs-AM; (b) NTs-HT, NPs-HT, NTs-PC, NPs-PC.

4.2.2 Polarização potenciodinâmica

As densidades de corrente ($I-A/cm^2$), mostradas no eixo y na Figura 4.12 (a) e (b), foram calculadas dividindo-se a corrente medida pela área geométrica ($0,636 \text{ cm}^2$). As curvas de polarização potenciodinâmica registradas no SBF a 36,5 ° C estão presentes na Figura 4.12(a) Ti-40Nb não modificado (Substrato), anodizado (NTs-AM, NPs-AM); e (b) anodizado+recozido (NTs-HT, NPs-HT), anodizado+recozido+PC (NTs-PC, NPs-PC). Os parâmetros eletroquímicos (E_{corr} e i_{pass}) estão resumidos na Tabela 4.5.

Conforme esperado, os potenciais de corrosão obtidos pelas curvas de polarização potenciodinâmica são inferiores aos obtidos pelas medidas de OCP. Isso se deve ao fato do teste de polarização potenciodinâmica ser iniciado em um potencial catódico em relação ao potencial de corrosão.

Os resultados das curvas de polarização potenciodinâmica mostram diferentes valores de potencial de corrosão (E_{corr}) para as diferentes condições, sendo maiores para as amostras anodizadas e recozidas, com nanoporos na superfície (-118 mVx ECS), o que significa que os nanoporos de TiO_2 aumentam a estabilidade em relação aos nanotubos de TiO_2 . Enquanto que o substrato não modificado apresentou o menor potencial de corrosão (-487 mVx ECS), indicando que esta condição apresenta os valores menos nobres para o E_{corr} . Observa-se também na Figura 4.12 (a) que, para potenciais maiores que E_{corr} , existe uma região ativa. Esta região ativa cresce bastante monotonicamente, variando ~600 mVx SCE para a condição não modificada (substrato), e tem um crescimento ondulado para amostras anodizadas. Este comportamento refere-se a uma tentativa de formar uma camada passiva que se quebra em um potencial de ~75 mVx SCE e é então reformada em cerca de ~300 mVx SCE, para as curvas das condições anodizadas enquanto que, na curva do substrato a camada passiva é quebrada em ~60 mVx ECS e, em ~230 mVx ECS é indicada uma reforma desta camada passiva.. Após esta região, a densidade de corrente torna-se extremamente linear, indicando que a estabilidade pode ser atribuída a um comportamento passivo ou a um processo de difusão limitado, devido à camada de óxido. Na Figura 4.12(a) as curvas referentes às nanoestruturas (NTs-AM e NPs-AM) é observa uma melhora expressiva no E_{corr} . Entretanto, as curvas não apresentam uma evidente região ativa, como na curva referente à condição não modificada (substrato), este comportamento ocorreu pela presença de uma espessa camada de TiO_2 , mesmo este sendo óxido amorfo.

A Figura 4.12(b) mostra as curvas de polarização das amostras recozidas a 550°C (NTs-HT, NPs-HT) e também as amostras pré-calcificadas (NTs-PC, NPs-PC). Vale ressaltar que, o tratamento térmico na temperatura de 550 °C levou à cristalização das nanoestruturas em uma estrutura mista, com as nanoestruturas adotando a estrutura anatase e a camada barreira, na interface metal/óxido é constituída pela estrutura rutilo. A forma das curvas de polarização dessas amostras ainda é típica do comportamento passivo, entretanto, apresenta algumas diferenças em relação às curvas da Figura 4.12(a). A extensão da região monotônica é reduzida, e a região passiva é mais extensa,

se comparada ao observado na Figura 4.12(a). Quanto mais curtas as nanoestruturas, neste caso os nanotubos, menos evidente é a região passiva e maior é a densidade de corrente passiva (i_{pass}). Além disso, as curvas NTs-HT e NTs-PC a densidade de corrente passiva não é absolutamente constante, aumentando lentamente após 0 mVxECS. Esta mudança na densidade de corrente reflete a menor estabilidade da camada passiva quando ela é submetida a potenciais anódicos mais elevados. Finalmente, as amostras NPs-HT e NPs-PC tem uma curva anódica com um platô passivo muito estável e muito amplo de ~450-1150 mVxECS.

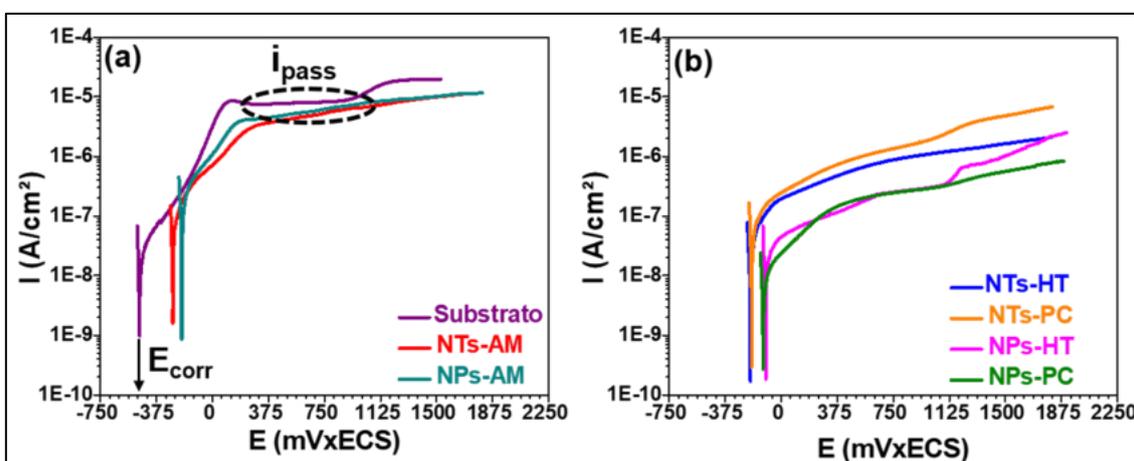


Figura 4.12 - Curvas de polarização potenciodinâmica, medidas em meio de SBF a 36,5 °C de -30 a +2000 mV em relação ao OCP com taxa de varredura de 1 mV/s; (a) Substrato Ti-40Nb não modificado, NTs-AM, NPs-AM; (b) NTs-HT, NPs-HT; NTs-PC, NPs-PC.

O aumento na densidade de corrente, para potenciais maiores que ~1150 mVxECS pode ser atribuído à oxidação do eletrólito.

Os dados da Tabela 4.5 mostram os valores médios de densidade de corrente passiva (i_{pass}), além dos valores do potencial de corrosão (E_{corr}) registrados para as diferentes amostras.

Tabela 4.5 - Parâmetros de Corrosão: E_{corr} (mVxECS) e i_{pass} ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$) de amostras não anodizadas de Ti-40Nb (Substrato); NTs-AM, NPs-AM; NTs-HT, NPs-HT; NTs-PC, NPs-PC.

Condições	E_{corr} (mVxECS)	i_{pass} ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)
Substrato	-487±18	7,7±0,3
NTs-AM	-247±15	4,4±0,5
NTs-HT	-209±14	0,8±0,1
NTs-PC	-178±18	1,0±0,1
NPs-AM	-234±21	4,1±0,7
NPs-HT	-118±10	0,3±0,1
NPs-PC	-137±7	0,3±0,1

Nota-se que, dentre todas as amostras, inclusive o substrato não modificado, a densidade de corrente passiva (i_{pass}) é baixa, da ordem 7,7 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$. Essas ordens de magnitude de densidades de corrente garantem uma boa resistência à corrosão de superfícies em um meio fisiológico, sendo relativamente agressivo, que é da ordem de magnitude das correntes de corrosão observadas para aço inoxidável 316L e a liga Ti-6Al-4V, também amplamente utilizadas em aplicações biomédicas ($\sim 1-10 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ em um ambiente fisiológico). Para as amostras não recozidas, para as quais os NTs e NPs são amorfos, as densidades de corrente registradas estão entre 4,4 e 4,2 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$. Para o estado amorfo, a presença de NTs e NPs na superfície da liga β Ti-40Nb não melhora significativamente a resistência à corrosão do material. Entretanto ao que tudo indica, quanto mais curtas as nanoestruturas (NTs), mais aumenta o i_{pass} . Por outro lado, o tratamento térmico levou a uma redução notável nos valores de i_{pass} . Analisando as amostras recozidas a 550 °C, as densidades de corrente de passivação observadas são da ordem de 0,8 a 0,3 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$, para os NTs-HT e NPs-HT, respectivamente, indicando maior estabilidade dos nanoporos. Quanto à influência do processo de PC a morfologia da camada nanoporosa, verificou-se que as amostras NTs-PC e NPs-PC, possuem em média i_{pass} de 1 e 0,3 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$, respectivamente, valores similares que as condições NTs-HT e NPs-HT. Este comportamento das amostras com PC é de

extrema importância, pois, foi mantida a estabilidade da camada anodizadas e recozida sobre o substrato de Ti-40Nb. É importante ressaltar que, as propriedades de corrosão mais nobres, ou seja, alto potencial de corrosão (E_{corr}) e baixa densidade de corrente de passivação (i_{pass}), significam maior estabilidade em ambientes fisiológicos.

Com relação ao comportamento da densidade de corrente de corrosão (i_{corr}), sendo este parâmetro um indicativo de taxa de corrosão, ou seja, quanto maior o valor de i_{corr} maior será a taxa de corrosão do material. A Figura 4.12 (a) revela que, o i_{corr} para substrato de Ti-40Nb é de cerca de $\sim 45,9$ nA/cm², enquanto, para as amostras anodizadas, é diminuindo para $\sim 7,3$ nA/cm² na condição NTs-AM. Na Figura 4.12 (b) percebe-se uma diminuição significativa do i_{corr} para amostras anodizadas e recozidas. Nas amostras cristalizadas, a presença da camada nanoestruturada recozida de TiO₂ faz a diferença em relação à densidade de corrente de corrosão em comparação com as condições somente anodizadas, com nanoestrutura amorfa. Nota-se também que a morfologia das nanoestruturas influencia na densidade da corrente de corrosão, sendo que, as amostras nanoporosas apresentam menor i_{corr} , atingindo valores de $\sim 1,6$ nA/cm² para a condição NPs-HT enquanto que nas amostras com nanotubos recozidos o valor de i_{corr} tem um aumento para $\sim 3,1$ nA/cm².

Então, a sinergia entre a resistência à corrosão e as propriedades mecânicas, tais como, baixo módulo de elasticidade, conforme observado nas condições anodizadas+recozidas (NTs/NPs-HT) e anodizadas+recozidas+PC (NTs-PC e NPs-PC). Estas amostras indicam que a combinação destas condições é capaz de atender as necessidades com resultados eletroquímicos otimizados quando comparados com a condição não modificada (substrato).

4.2.3 Espectroscopia de impedância eletroquímica

Complementando a caracterização eletroquímica das superfícies abordadas neste trabalho, informações adicionais sobre a Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE) e sua interpretação serão interpretadas e discutidas nesta seção.

Inicialmente, ao longo desta seção, algumas generalidades sobre o princípio de modelagem das medidas de impedância serão apresentadas. O objetivo dessa seção é estudar a resposta da Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE) para os diferentes tratamentos de superfície, estudados neste trabalho, via Circuito Elétrico Equivalente (CEE), a fim de avançar no entendimento de seu comportamento eletroquímico em meio fisiológico. A EIE tem sido utilizada de forma eficaz para medir a resistência à polarização e determinar os mecanismos de corrosão em diferentes sistemas. Os resultados dos testes de impedância são modelados por circuitos elétricos, por meio da combinação de componentes elétricos como resistores (R), capacitores (C) e indutores (L); entretanto, é fundamental ressaltar que a forma de utilização desses elementos deve ter um significado físico e eletroquímico. Vale ressaltar que os dados plotados nas figuras deste subcapítulo foram corrigidos pela área geométrica de $0,636 \text{ cm}^2$ exposta ao eletrólito.

A Figura 4.13 mostra a evolução dos gráficos de Nyquist (Figura 4.13(a)) e dos diagramas de Bode (Figura 4.13(b)) das amostras não modificada (substrato) e das amostras anodizadas não recozidas (NTs-AM e NPs-AM) que foram imersas em solução de SBF. O diagrama de Nyquist (Figura 4.13(a)) refletiu a resposta típica de um sistema capacitivo-resistivo ou pseudocapacitivo. Em materiais pseudocapacitivos, a transferência de carga na interface eletrólito/camada de óxido e, conseqüentemente, as reações nessa interface são limitadas devido ao excelente comportamento protetor da camada de óxido de TiO_2 [144].

Na Figura 4.13(b), percebe-se o aumento do módulo de impedância $|Z|$ após o processo de anodização, sugerindo que mesmo em seu estado amorfo as nanoestruturas de TiO_2 otimizam a resistência à corrosão das amostras não modificada (substrato), passando de $\sim 0,6 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^2$ para o substrato e, atingindo valores para os NTs-AM de $\sim 2,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^2$ e $2,4 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^2$ para os NPs-AM. Com a redução da frequência na curva de Bode (Figura 4.13(b)), um aumento do ângulo de fase é observado de $\sim 0^\circ$ a $\sim 81^\circ$ para as amostra anodizadas, iniciando em $\sim 0,09 \text{ MHz}$ e, de $\sim 0^\circ$ a $\sim 72^\circ$ iniciando em $\sim 0,03 \text{ MHz}$ para o substrato não modificado. Materiais com este tipo de comportamento indicam uma resposta

capacitiva, sendo este comportamento mais pronunciado para as amostras anodizadas com TiO_2 amorfo em relação ao substrato de Ti-40Nb não modificado indicando propriedades superiores de resistência à corrosão. Essa observação é complementar e convergente com as medidas de E_{corr} (Figura 4.12(a)), que mostra um incremento nas amostras anodizadas (NTs/NPs-AM) em relação ao substrato de Ti-40Nb não modificado.

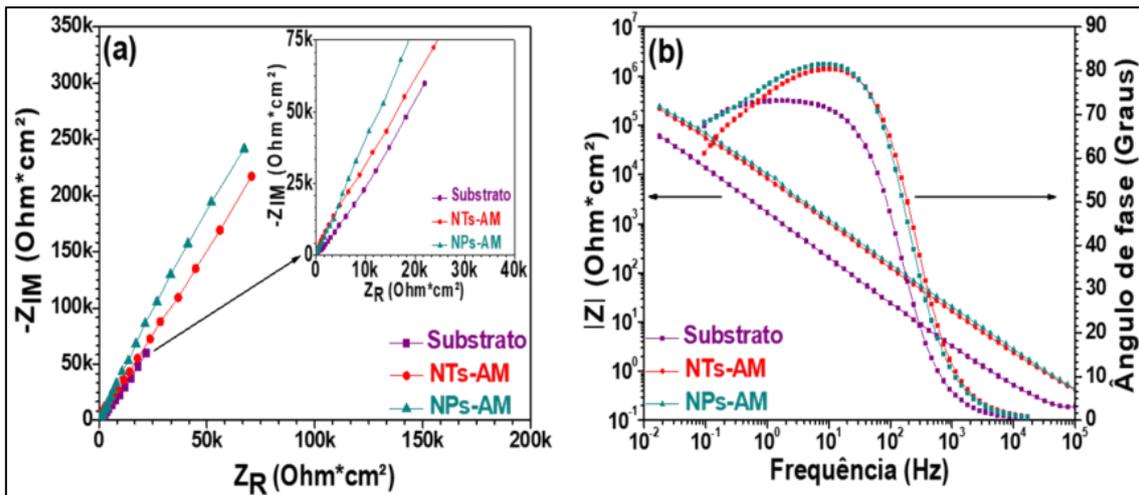


Figura 4.13 - Curvas de impedância de Nyquist (a) e Bode (b) do substrato não modificado e das amostras anodizadas e não recozidas (NTs-AM e NPs-AM), registradas na solução SBF a 37 °C.

Os resultados obtidos da EIE para as diferentes nanoestruturas (nanotubos e nanoporos) após o tratamento térmico e PC estão apresentados nas Figuras 4.14 (a)-(d). Inicialmente, foi analisada a evolução eletroquímica das amostras de nanotubos (NTs-HT e NTs-PC) por meio dos gráficos de Nyquist e dos diagramas de Bode mostrados nas Figura 4.14 (a) e (b) enquanto que, os diagramas de Nyquist e Bode das amostras com nanoporos na superfície (NPs-HT e NPs-PC) estão apresentados nas Figuras 4.14 (c) e (d).

A observação dos diagramas de Nyquist (Figura 4.14 (a) e (c)) revelam que, independentemente do tipo de nanoestrutura e também da pré-calcificação, a forma dos espectros de impedância é típica de um sistema puramente pseudocapacitivo (linha reta inclinada). Isso significa que as reações faradaicas são muito limitadas.

As Figuras 4.14 (b) e (d), mostra o módulo de impedância $|Z|$ para amostras NTs-HT, NTs-PC, NPs-HT, NPs-PC apresentando comportamento semelhante para as amostras da Figura 4.13(a).

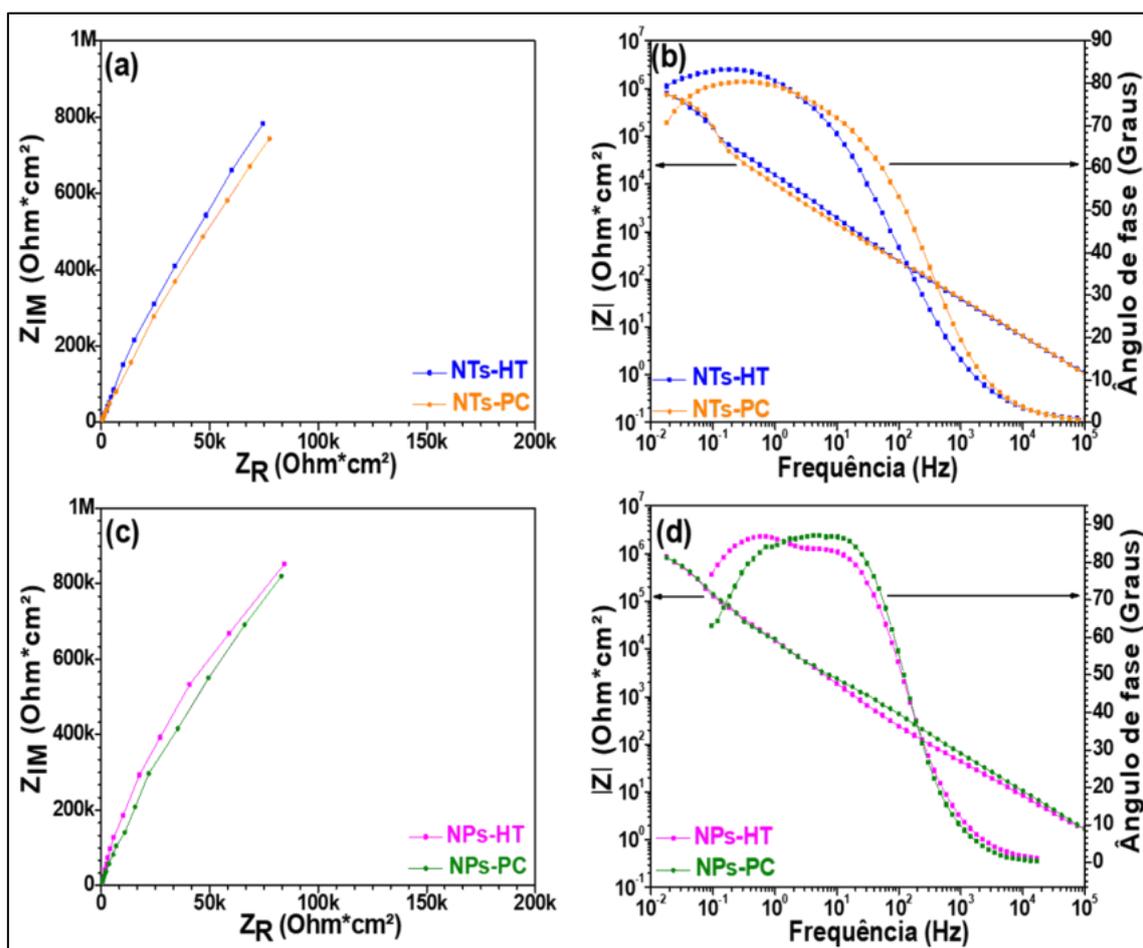


Figura 4.14 - Curvas de impedância de Nyquist (a)-(c) e Bode (b)-(d) das amostras anodizadas e recozidas (NTs-HT e NPs-HT) e anodizadas, recozidas e PC (NTs-PC e NPs-PC), registradas na solução SBF a 37 °C.

Percebe-se também que os valores do $|Z|$ foram incrementados para valores $\sim 8,5 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^2$, valores $\sim 3,5$ vezes superiores em relação às amostras anodizadas com TiO_2 amorfo, sendo este comportamento é característico de superfícies capacitivas [144]. Com a redução da frequência na curva de Bode (Figura 4.14(b) e (d)), um aumento do ângulo de fase é observado de $\sim 0^\circ$ a $\sim 86^\circ$ para as amostras anodizadas com nanoporos (NPs-HT e NPs-PC) e de $\sim 0^\circ$ a $\sim 82^\circ$ para os NTs-HT e NTs-PC em ambos os casos iniciando em $\sim 0,01 \text{ MHz}$.

Este comportamento indica que a resposta capacitiva e, por sua vez, propriedades superiores de resistência à corrosão dos nanoporos é mais acentuada em relação aos nanotubos. O incremento na resistência à corrosão das amostras anodizadas, recozidas e pré-calcificadas está em concordância com as medidas de E_{corr} (Figura 4.12(b)), mostrando um comportamento mais nobre nas amostras NTs/NPs-PC em relação às nanoestruturas não recozidas e ao substrato de Ti-40Nb não modificado.

Na sequência da análise dos resultados obtidos da EIE serão abordadas as respostas de impedância pelo modelamento por circuito elétrico equivalente (CEE) e através de expressões analíticas.

Quando as respostas eletroquímicas não são ideais é utilizado um Elemento de Fase Constante (CPE-constant phase element) é usado. Este elemento CPE indica o comportamento capacitivo. O uso desses elementos depende estritamente dos aspectos físicos que acontecem na interface, filme óxido/eletrólito.

Para determinar os resultados adequados da análise de impedância é necessário entender quantos e quais os processos ocorrem fisicamente na superfície que está sendo estudada durante o teste e então definir o modelo adequado. Este modelo deve abordar também as características físicas da superfície em estudo. Tradicionalmente, os diagramas de Bode tem sido bastante útil no reconhecimento do número de constantes de tempo do sistema e, assim verificar a validade de um CEE. Entretanto, este tipo de representação gráfica é sensível aos parâmetros de modelagem como a resistência eletrolítica ou resistência ôhmica quando a resistência da solução não é desprezível principalmente em altas frequências, além de ser muito sensíveis a ruídos externos [144,145]. Para evitar que possíveis interferências possam alterar os resultados da modelagem CEE, uma curva complementar para os gráficos de Bode é a representação gráfica do expoente CPE efetivo (α_{eff}), extraído da parte imaginária da impedância (Z_{IM}) de acordo com a Equação 4.1 [109]:

$$\alpha_{eff}(f) = \left| \frac{d \log |Z_{IM}(f)|}{d \log f} \right| \quad (4.1)$$

Nas curvas de α_{eff} , os elementos CPE estão associados a platôs estendidos em vários níveis de frequências. No entanto, essas regiões podem diminuir para formar saliências ou picos suaves devido à interação de eventos com processos de relaxação próximos [109].

Desta forma a Figura 4.15 mostra os gráficos de α_{eff} das condições estudadas neste trabalho. Na Figura 4.15(a) estão apresentadas as condições com nanoestruturas amorfas (NTs/NPs-AM) e o substrato não modificado, na Figura 4.15(b) encontram-se as curvas referentes aos NTs-HT e NTs-PC e finalmente na Figura 4.15(c) estão as curvas de α_{eff} dos NPs-HT e NPs-PC.

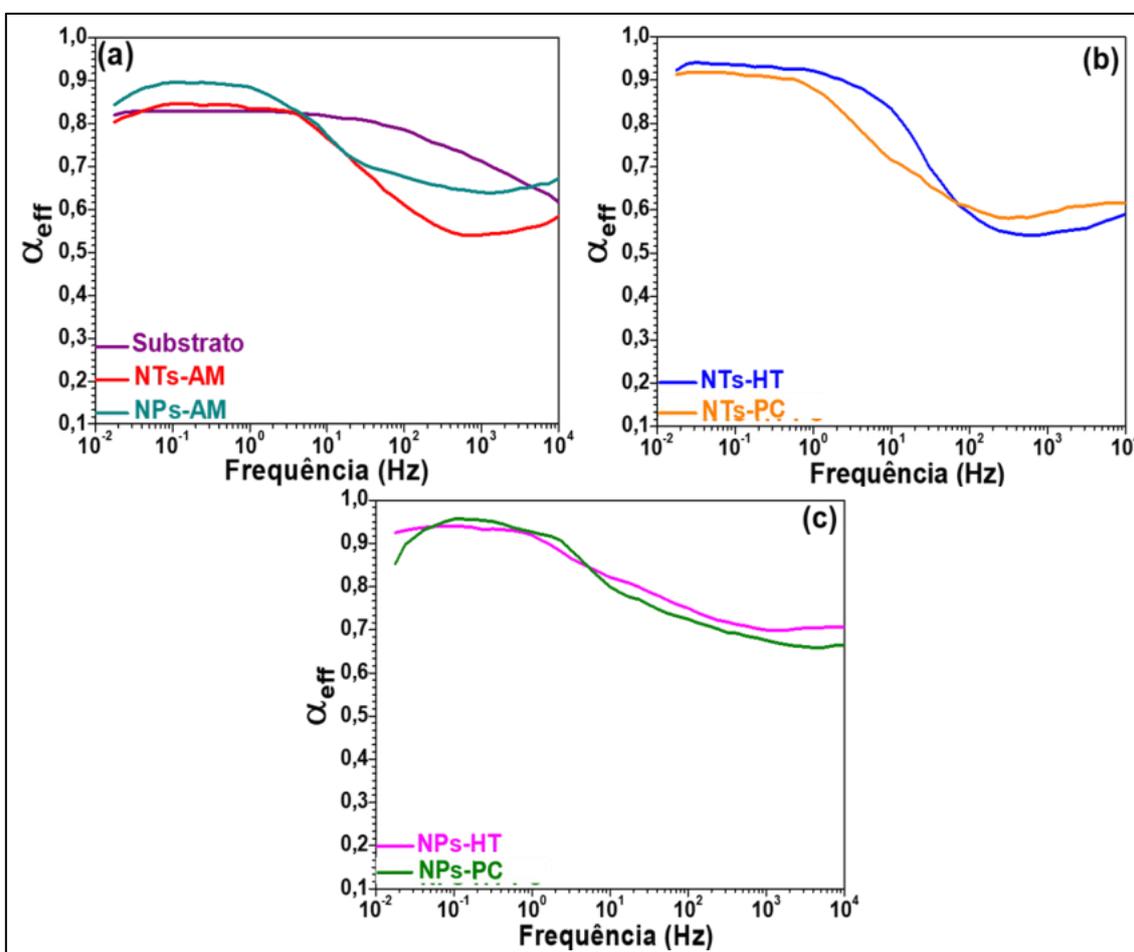


Figura 4.15 - Gráficos de α_{eff} das condições estudadas neste trabalho (a) nanoestruturas amorfas (NTs/NPs-AM) e o substrato não modificado, em (b) curvas referentes aos NTs-HT e NTs-PC e em (c) curvas de α_{eff} dos NPs-HT e NPs-PC, em solução de SBF à 37 °C.

Nesse sentido, a Figura 4.15 (a) que se refere ao substrato Ti-40Nb não modificado, mostra claramente apenas um platô que se estende da faixa de frequência de $\sim 10^{-2}$ a $\sim 10^2$ Hz, e assim modeladas por apenas um CPE. Em relação as amostras anodizadas, há a presença de duas constantes de tempo, e assim os resultados foram modelados por dois CPE, um deles na faixa de $\sim 10^{-2}$ a ~ 10 Hz e o segundo em altas frequências em torno de $\sim 10^3$ a $\sim 10^4$ Hz.

Sobre a superfície da liga β Ti-40Nb não modificada é esperada a presença de uma camada de barreira passiva que é referente ao TiO_2 que é formado espontaneamente na sua superfície [93,146]. Desta forma, o CEE mais adequado para modelar os resultados de impedância obtidos para o substrato não modificado está mostrado na Figura 4.16(a).

No caso das amostras anodizadas, sejam estas recozidas ou não e também para as amostras com pré-calcificação, existe a formação de uma bicamada (bi-layered) passiva [146]. Esta bi-layered camada passiva seria composta de uma camada porosa externa (nanoestruturas) e uma camada de barreira interna na interface do metal/nanoestruturas; assim, espera-se encontrar dois processos de relaxamento ou constantes de tempo nos resultados de impedância [109]. No substrato não modificado encontra-se apenas um processo de relaxação, que ocorre pela presença da camada de barreira, enquanto que nas amostras anodizadas estão presentes dois processos de relaxamento ou constantes de tempo nos resultados de impedância, sendo assim o modelo de CEE para estas condições está apresentado na Figura 4.16(b).

Nestes circuitos elétricos das Figura 4.16(a) e (b), R_e se refere a resistência da solução SBF, entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência. Os sufixos B e OP estão associados aos elementos que representam a camada de barreira interna e a camada de óxido poroso externo, respectivamente. O uso de um CPE, ao invés de um capacitor puro, foi considerado devido à suposição de uma distribuição heterogênea de carga na superfície da amostra [93,146].

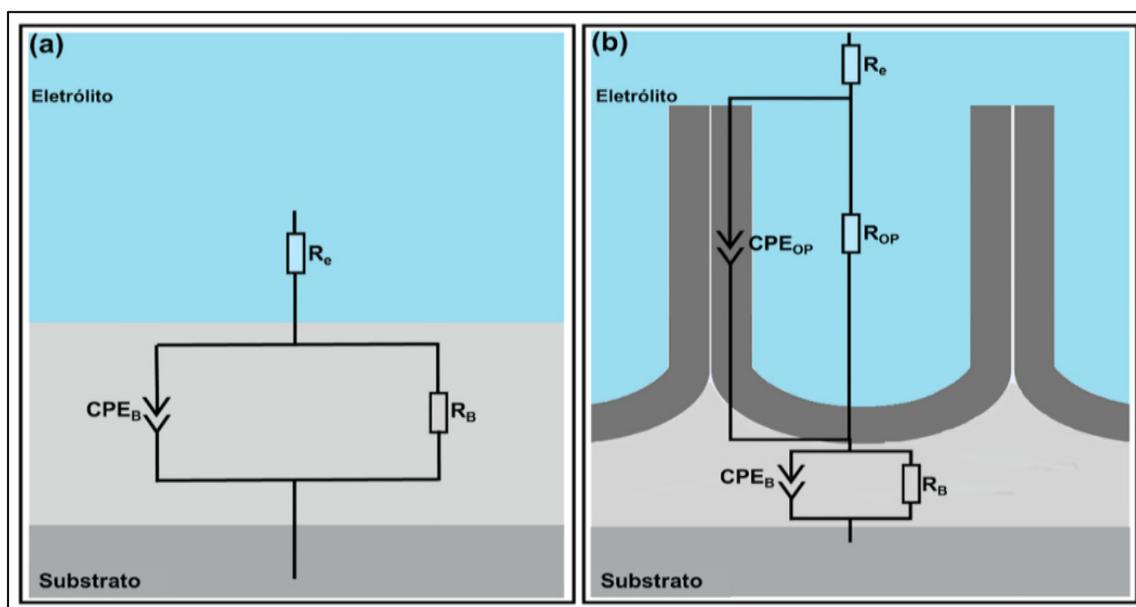


Figura 4.16 - Circuitos elétricos equivalentes (CEE) utilizados, em (a) CEE para o substrato e em (b) CEE para as nanoestruturas.

A impedância de um elemento de fase é definida como $Z_{CPE}=[Q(j\omega)^\alpha]^{-1}$. O valor de α está relacionado à distribuição heterogênea da corrente em função da superfície não uniforme. A capacitância é Q , enquanto j e ω são a corrente e a frequência, respectivamente. Os valores dos parâmetros elétricos (R_e , R_{OP} , R_B , Q_{OP} e Q_B), além dos valores χ^2 , que representam os erros obtidos pelo ajuste dos resultados experimentais de EIE estão apresentados na Tabela 4.6.

Tabela 4.6 - Parâmetros elétricos obtidos pelo ajuste dos resultados experimentais de impedância para amostras estudadas neste trabalho.

Condições	R_e $\Omega \cdot \text{cm}^2$	Q_{OP} $\Omega \text{s}^{-\alpha} \cdot \text{cm}^2$	α_{OP}	R_{OP} $\Omega \cdot \text{cm}^2$	Q_B $\Omega \text{s}^{-\alpha} \cdot \text{cm}^2$	α_B	R_B $10^6 \Omega \cdot \text{cm}^2$	χ^2 (%)
Substrato	32	-	-	-	16,8	0,82	0,35	0,7
NTs-AM	31	7,2	0,88	250	6,1	0,88	1,1	1,2
NPs-AM	31	6,5	0,89	275	5,9	0,87	1,4	1,0
NTs-HT	33	2,1	0,90	480	1,3	0,88	3,1	0,9
NPs-HT	32	1,8	0,92	500	0,9	0,87	3,9	1,1
NTs-PC	33	2,6	0,87	510	1,9	0,87	2,8	0,8
NPs-PC	34	2,8	0,87	478	2,0	0,86	2,8	1,2

Em todas as amostras os valores de α_{OP} e α_B variando de 0,82 à 0,92 indicam que o comportamento dessa camada passiva se aproximou de um capacitor ideal ($\alpha=1$) [146].

A resistência do eletrólito ou ôhmica (R_e), estimada a partir do modelo proposto, varia entre 31 e 34 $\Omega \cdot \text{cm}^2$, demonstrando estabilidade para todas as amostras. Os valores da resistência R_B , associada à camada de barreira interna (B) ocorreu um incremento de uma ordem de grandeza, para as amostras anodizadas em relação ao substrato não modificado. Quando comparadas as amostras anodizadas e recozidas com as amostras somente anodizadas, nota-se um aumento de R_B e R_{OP} , independente da nanoestrutura, porém com maiores valores se formadas por nanoporos. Outra informação importante no caso das amostras anodizadas e recozidas, em relação ao aumento nos valores de R_B , este incremento é proveniente da camada de rutilo que se forma na base das nanoestruturas recozidas, o TiO_2 na forma de rutilo é reconhecido como o mais estável dos polimorfos do TiO_2 [25]. No caso da amostra não modificada, os resultados indicam que a proteção é fornecida predominantemente pela camada de barreira interna (B), como também observado em outras ligas de titânio [144,146]. Nas amostras anodizadas, a proteção é promovida com a combinação de uma camada porosa de TiO_2 (OP) com elevada capacidade isolante e da camada de barreira interna (B). A concordância entre os resultados experimentais e simulados indica que os resultados experimentais são bem ajustados pelos circuitos elétricos equivalentes propostos, com valores de erro (χ) de no máximo 1,2% que foram encontrados durante a simulação dos dados de EIE.

Os valores de capacitância Q_B variam com o tipo de modificação na superfície da liga, sendo que na condição não modificada apresenta os maiores valores para Q_B , enquanto que na condição NPs-HT os valores Q_B são aproximadamente 19 vezes menores. Tradicionalmente, valores baixos de capacitância estão associados a um comportamento eletroquímico mais nobre [144]. Além disso, a diminuição do Q_B pode estar associada ao crescimento do filme passivo interno. Os valores da resistência R_B aumentam gradativamente indicando que os processos de anodização e recozimento mostram a evidente

estabilidade da camada de barreira na interface TiO_2 /substrato, independentemente do tipo de nanoestrutura que foi formada na superfície da liga. Vale ressaltar aqui, que os valores de R_{OP} e Q_{OP} podem estar subestimados, pois, na análise destes parâmetros não foi incorporado o comprimento das nanoestruturas, sendo assim os valores de R_{OP} provavelmente, seriam incrementados, enquanto que uma redução nos valores de Q_{OP} seria observada. Por conta desta limitação nos parâmetros da camada porosa, o cálculo da capacitância efetiva (C_{eff}) e da espessura da camada da camada passiva (d_{eff}) será realizado somente com os valores obtidos para a camada passiva compacta interna (B).

A partir dos valores de CPE (Q e α), R_e , e R_B e utilizando a equação de Brug (Equação 2.14), foi possível calcular os valores da capacitância efetiva (C_{eff}) da camada passiva compacta interna (B). Utilizando a Equação 2.15, foi possível calcular a espessura da camada passiva (d_{effB}) para as diferentes condições utilizadas neste trabalho. Os resultados de C_{effB} e d_{effB} estão apresentados na Tabela 4.7, o C_{effB} calculado a partir dos valores listados na Tabela 4.6.

Tabela 4.7 – Resultados da capacitância efetiva (C_{effB}) e da espessura da camada passiva (d_{effB}) para as diferentes condições utilizadas neste trabalho.

Condições	C_{effB} ($\mu\text{F}/\text{cm}^2$)	d_{effB} (nm)
Substrato	32,3	2,8
NTs-AM	18,9	4,7
NPs-AM	16,4	5,4
NTs-HT	3,3	26,8
NPs-HT	3,1	27,9
NTs-PC	4,4	20,2
NPs-PC	4,2	21,1

Para as diferentes condições de superfície variam de 32,3 para o substrato a 3,1 $\mu\text{F}\cdot\text{cm}^2$ para a camada compacta interna dos NPs-HT. Esta redução da capacitância está associada a um aumento na espessura da camada

passiva, provocada pelo tratamento térmico de recozimento. Percebe-se um aumento na espessura da camada passiva com a anodização e posterior tratamento térmico, inicialmente, o substrato não modificado apresentou uma d_{effB} de 2,8 nm e, esta espessura atingiu valores, aproximadamente, 10 vezes maiores para a condição NPs-HT com valor de 27,9 nm, indicando que o tratamento térmico e a anodização levam a uma melhora bastante considerável na resistência à corrosão da liga β Ti-40Nb.

4.3 Avaliação da bioatividade

Em geral, os biomateriais devem possuir a propriedade de ser biocompatíveis, ou seja, quando em contato com o corpo humano, não devem produzir nenhuma reação adversa, como inflamação ou rejeição, evitando a remoção do implante [27,76]. Porém, apenas a biocompatibilidade não é garantia de sucesso para os biomateriais, eles também devem ter a característica/propriedade bioativa. Como os ossos são compostos principalmente por fosfato de cálcio (~70%), um material semelhante à hidroxiapatita (HAp, $\text{Ca}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), o restante é principalmente formado por colágeno [68]. Uma forma de avaliar a bioatividade in vitro é testando a bioatividade do material, ou seja, sua capacidade de formar HAp em sua superfície quando imerso em solução fisiológica (SBF) [25,147]. Portanto, para avaliação da bioatividade neste estudo, as amostras foram imersas por 1, 7 e 14 dias em solução simulada de fluido corporal (SBF). Como as nanoestruturas amorfas apresentaram resultados inferiores nos testes eletroquímicos, quando comparadas às condições anodizada e recozida, o teste de bioatividade não foi realizado nessas condições. Como referência, o teste de bioatividade foi realizado no substrato Ti-40Nb, embora o substrato tenha mostrado os piores resultados em testes de corrosão.

A Figura 4.17 mostra o teste de bioatividade em Ti-40Nb não anodizado (substrato), onde (a) 1 dia, (b) 7 dias e (c) 14 dias de tempo de imersão em SBF. Percebe-se que o substrato de Ti-40Nb não apresenta comportamento bioativo, conforme observado e relatado na literatura, a hidroxiapatita (HAp) possui forma

globular, portanto, mesmo após 14 dias de imersão, não houve precipitação de HAp na superfície do substrato não modificado [147,148].

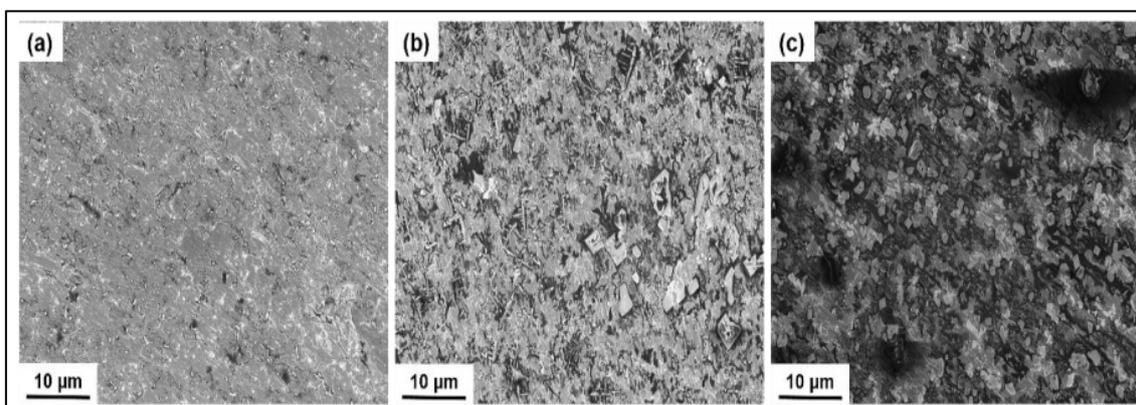


Figura 4.17 – Imagens obtidas por MEV mostrando a superfície do substrato Ti40Nb onde, (a) 1 dia, (b) 7 dias e (c) 14 dias de tempo de imersão em SBF à 37°C.

Em relação às superfícies anodizadas e recozidas após o dia 1 (Figura 18(a e c)) notou-se a presença de poucos e dispersos aglomerados de Ca e P, indicando que, a partir do dia 1 já ocorre deposição de íons na superfície das nanoestruturas, mesmo que em pequenas quantidades, destacadas por círculos amarelos. No período de 7 dias de imersão, houve uma precipitação acentuada de apatita para ambas as condições, conforme mostrado na Figura 18(b e d), em comparação com as imagens após o dia 1, com a presença dos glóbulos característicos de apatita. No canto superior direito da Figura 18(b e d) encontra-se uma micrografia ampliada onde se percebe que a apatita depositada neste período tem uma estrutura semelhante a uma fibra, que é uma indicação da coalescência dos glóbulos de apatita previamente formados, dando início à formação de novos cristais do mesmo material, este comportamento indica que a camada de óxido nanoestruturada, sendo esta nanotubular ou nanoporosa, tem alta bioatividade. Em fluidos corporais, grupos hidroxila (OH^-), presentes na superfície das nanoestruturas, podem adsorver na superfície de TiO_2 para formar Ti-OH na interface sólido-líquido. Como este grupo OH^- está com carga negativa, ele resulta na atração eletrostática de cátions carregados positivamente, como cálcio e fósforo [149]. Como a hidroxiapatita é o composto de fosfato de cálcio

mais estável em meio aquoso, o depósito superficial cristaliza, de preferência nesta forma. A HAp cristalina, uma vez formada, cresce espontaneamente consumindo os íons cálcio e fosfato presentes no SBF [149].

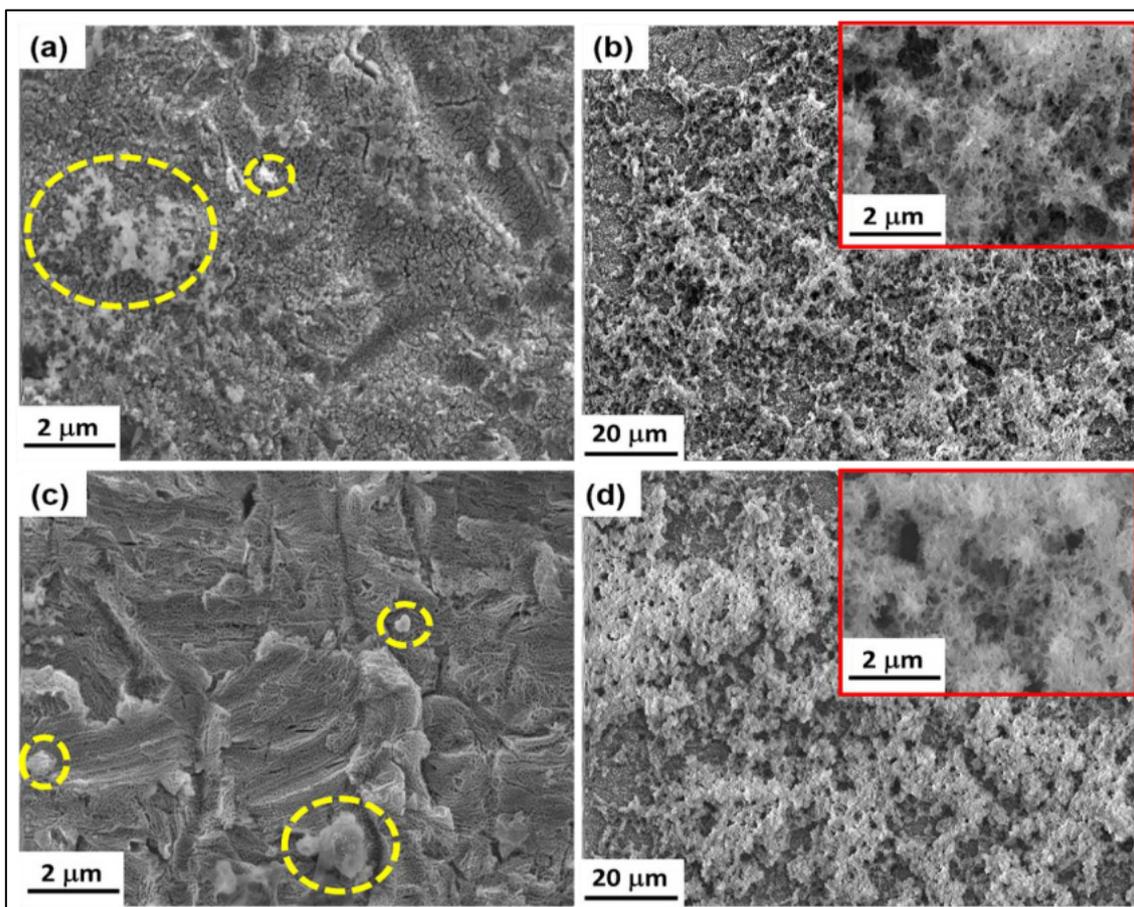


Figura 4.18 - Imagens obtidas por MEV após 1 dia (a-c) e 7 dias (b-d) dias de imersão em SBF mostrando o NTs-HT (a) e (b); (c) e (d) NPs-HT e o canto superior direito da Figura 4.18 (b e d) é uma micrografia ampliada.

O EDS realizado na amostra NTs-HT após o dia 1 indicou uma pequena quantidade de Ca e P de 1,9 e 1,6 % em massa, respectivamente, enquanto que, após o dia 7 a quantidade de Ca e P aumentou para 5,0 e 2,9 % em peso, respectivamente, indicando uma relação Ca/P 1,73. O mesmo procedimento foi realizado nas amostras NPs-HT apresentando uma quantidade de Ca e P 2,0 e 1,6, respectivamente. Enquanto que após o dia 7, aumentaram para 5,8 e 3,4 % em peso para Ca e P, respectivamente, e uma relação Ca/P de 1,71. Este

comportamento para ambas as amostras indica que a anodização influenciou positivamente a formação de apatita durante este período.

A Figura 4.19 mostra a morfologia da vista superior da camada de apatita nas condições NTs-HT e NPs-HT após 14 dias de imersão em SBF.

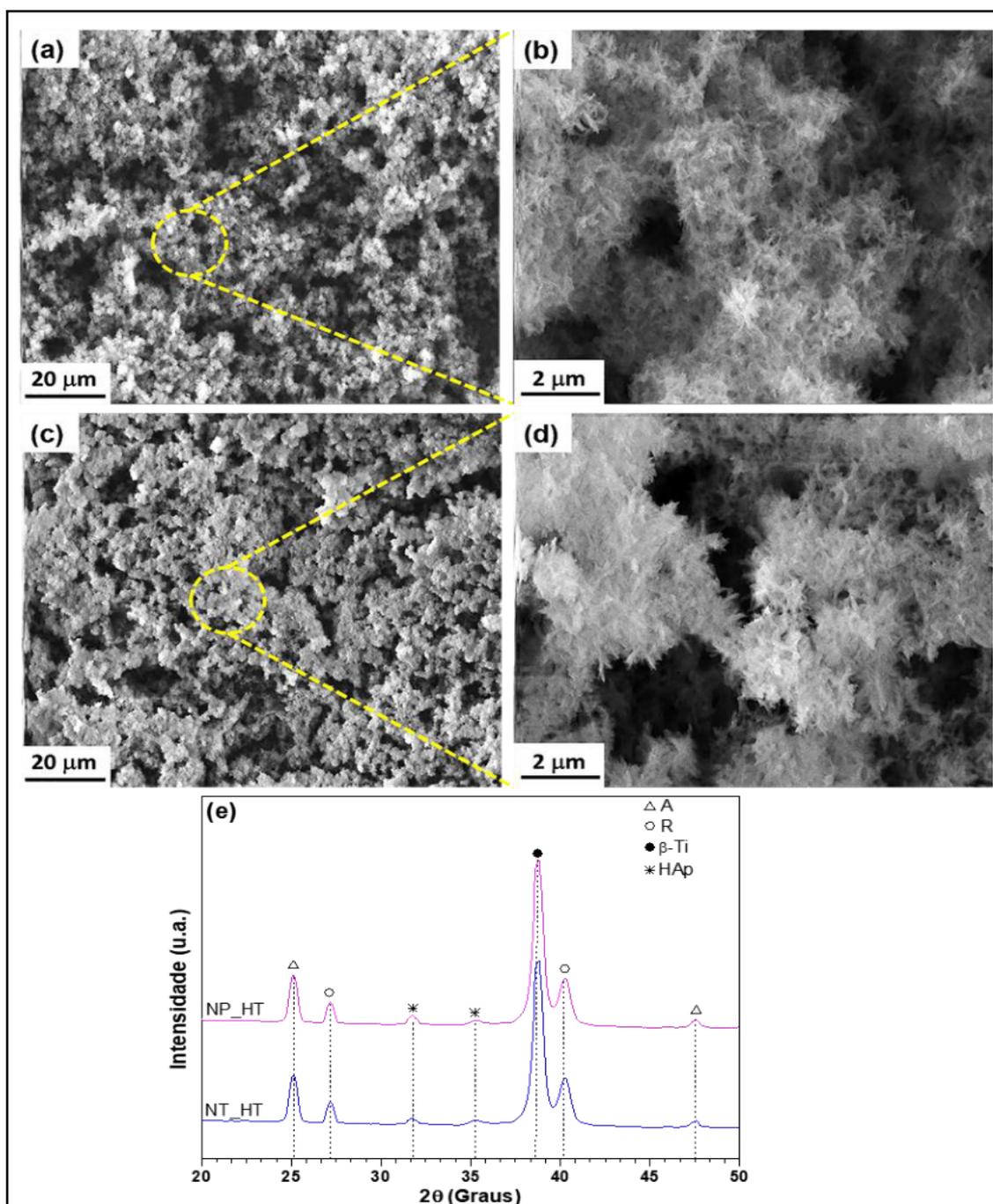


Figura 4.19 - Imagens obtidas por MEV após 14 dias de imersão em SBF mostrando o NTs-HT (a) e (b); (c) e (d) NPs-HT e, (e) padrões de DRX. A - TiO₂ Anatase; R - Rutilo TiO₂; HAp - hidroxiapatita.

São observadas na Figura 4.19(a) a estrutura globular, típica da hidroxiapatita, com pequenos vazios em toda a superfície, enquanto na condição NPs-HT (Figura 4.19(c)) observa-se uma camada mais densa desses glóbulos apatita. É importante notar que na Figura 4.19 (b e d), a presença de uma estrutura semelhante a fibra de apatita, sendo este o resultado de glóbulos apatita precipitados do SBF, que podem ter crescido e coalescido para formar uma espessa camada de apatita. Na Figura 4.19(e) onde os padrões de difração de raios-X (DRX) das condições NTs-HT e NPs-HT são apresentados para o período de 14 dias em SBF. Os picos em $2\theta \sim 32^\circ$ e $\sim 35^\circ$ são característicos da hidroxiapatita, conforme relatado anteriormente em alguns estudos [25,133,149]. Pelas caracterizações químicas e estruturais, pode-se dizer que a camada espessa depositada nos nanotubos, formada a partir do SBF, é realmente de apatita.

A Figura 4.20 (a) e (c), que se refere, respectivamente, aos NTs-PC e NPs-PC, após o dia 1 de imersão em SBF. Nestas condições existe a presença de glóbulos de hidroxiapatita pequenos e dispersos (destacados por círculos amarelos) nos cristais fosfato octacálcio (OCaP) previamente formados no processo de PC. Isso é importante pois, na fase inicial pós-implante, a camada de Ca-P vai reagir imediatamente com o SBF e, assim, liberar íons Ca e P na região próxima ao implante, o que aumenta a saturação destes íons os fluidos corporais nesta região e assim facilitando a precipitação de apatita na superfície do implante [72]. Outra propriedade importante é que essa camada pode conter proteínas endógenas que servirão de matriz para a proliferação celular e posterior diferenciação, formando um novo osso [72]. O EDS realizado na amostra NTs-PC após o dia 1 indicou uma quantidade de Ca de 5,7 e P de 3,0 % em peso, enquanto que na amostra NPs-PC a quantidade de Ca e P foi de 5,8 e 3,1 % em massa, respectivamente. Analisando os dados após o dia 1 de imersão no SBF e a Tabela 4.4, onde se encontram os dados referentes às amostras após o tratamento de PC, há um aumento de $\sim 1,5X$ nas quantidades de Ca e P, mostrando que o tratamento é eficaz desde o primeiro dia.

Em relação às Figura 4.20 (b) e (d), que se referem, respectivamente, a NTs-PC e NPs-PC, após 7 dias de imersão em SBF há uma maior distribuição e

tamanho dos glóbulos apatita nos cristais de OCaP. Outra informação importante que pode ser extraída das Figura 4.20 (b) e (d) refere-se à deposição por quase toda a superfície pré-calcificada, não sendo mais possível identificar os cristais de OCaP. Nos cantos superiores da Figura 4.20 (b) e (d) há uma ampliação da superfície das amostras após 7 dias, as imagens indicam que apatita tem a mesma estrutura e comportamento encontrados na Figura 4.18 (b e d), isto é, a estrutura é do tipo fibra, o que indica que apatita está em coalescência constante e formação subsequente de novos cristais de apatita.

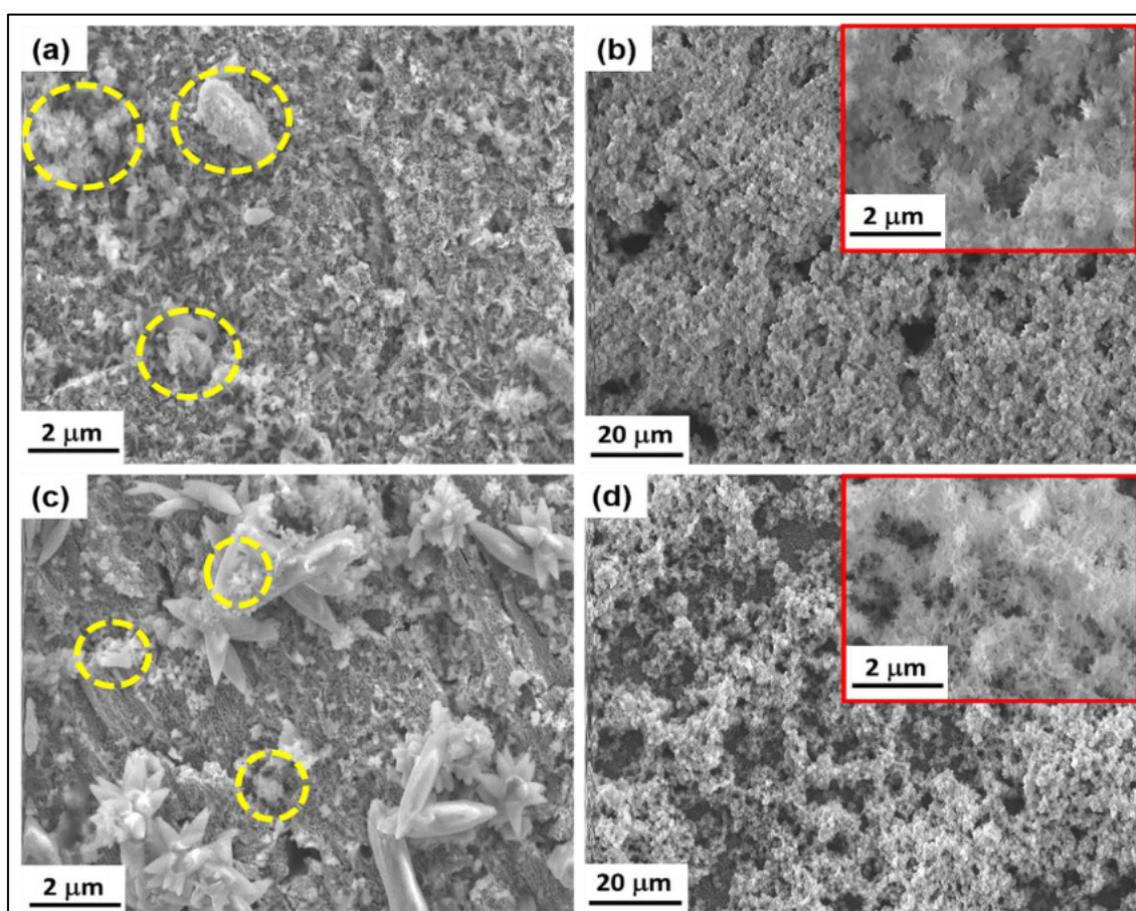


Figura 4.20 - Imagens obtidas por MEV após 1 dia (a) e (c) e 7 dias (b) e (d) de imersão em SBF mostrando o NTs-PC (a) e (b) e NPs-PC (c) e (d), e no canto superior direito das Figuras 4.20 (b) e (d) uma micrografia ampliada

O EDS realizado na amostra NTs-PC após o dia 7 indicou uma quantidade de Ca de 10,4 e P de 7,2 % em massa com uma relação Ca/P de 1,45; na

amostra NPs-PC a quantidade de Ca e P foi de 11,6 e 6,9 % em peso, respectivamente, enquanto que a relação Ca/P foi de 1,61. Os dados do EDS obtidos nas amostras NTs-PC e NPs-PC, mostram um aumento de ~2x de Ca e P, entre os dias 1 e 7, esses dados indicam um comportamento altamente bioativo da superfície. O tratamento de PC quando comparado com as amostras não pré-calcificadas (NTs-HT e NPs-HT), a quantidade de Ca e P foi 2x maior, para o período de 7 dias, indicando que o tratamento de pré-calcificação foi bem sucedido no que diz respeito à otimização da bioatividade.

A Figura 4.21 mostra as imagens obtidas por MEV, após 14 dias de imersão em SBF, além dos padrões de DRX para ambas as amostras, na Figura 4.21 (e).

Nas Figura 4.21 (a) e (c), nota-se a sobreposição de camadas de apatita, este comportamento está mais evidente na Figura 4.21(c). À medida que as camadas se sobrepõem, observa-se que a estrutura de cobertura tem uma forma mais globular e esses glóbulos têm um diâmetro menor em relação à camada anterior, isso indica que à medida que ocorre a sobreposição, na camada que se forma posteriormente, o crescimento da camada de apatita ainda está ocorrendo. Nota-se que, na primeira camada, a estrutura da apatita tem uma forma globular e densa, devido ao seu crescimento ter se mantido por mais tempo do que na segunda camada, que em certos pontos apresenta vazios que indicam que esta camada ainda está em desenvolvimento. Na segunda camada que é destacada na Figura 4.21 (b) e (d), nota-se que a estrutura formada tem um formato semelhante a uma fibra, reforçando a ideia de que o apatita previamente formado, será coalescida e iniciará a formação da próxima camada de apatita. Nos padrões de DRX (Figura 4.21 (e)) é possível identificar claramente os picos de alta intensidade característicos de apatita $2\theta \sim 32^\circ$ e $\sim 35^\circ$, os picos característicos de óxidos de TiO_2 (anatase e rutilo) e os picos de fase $\beta\text{-Ti}$.

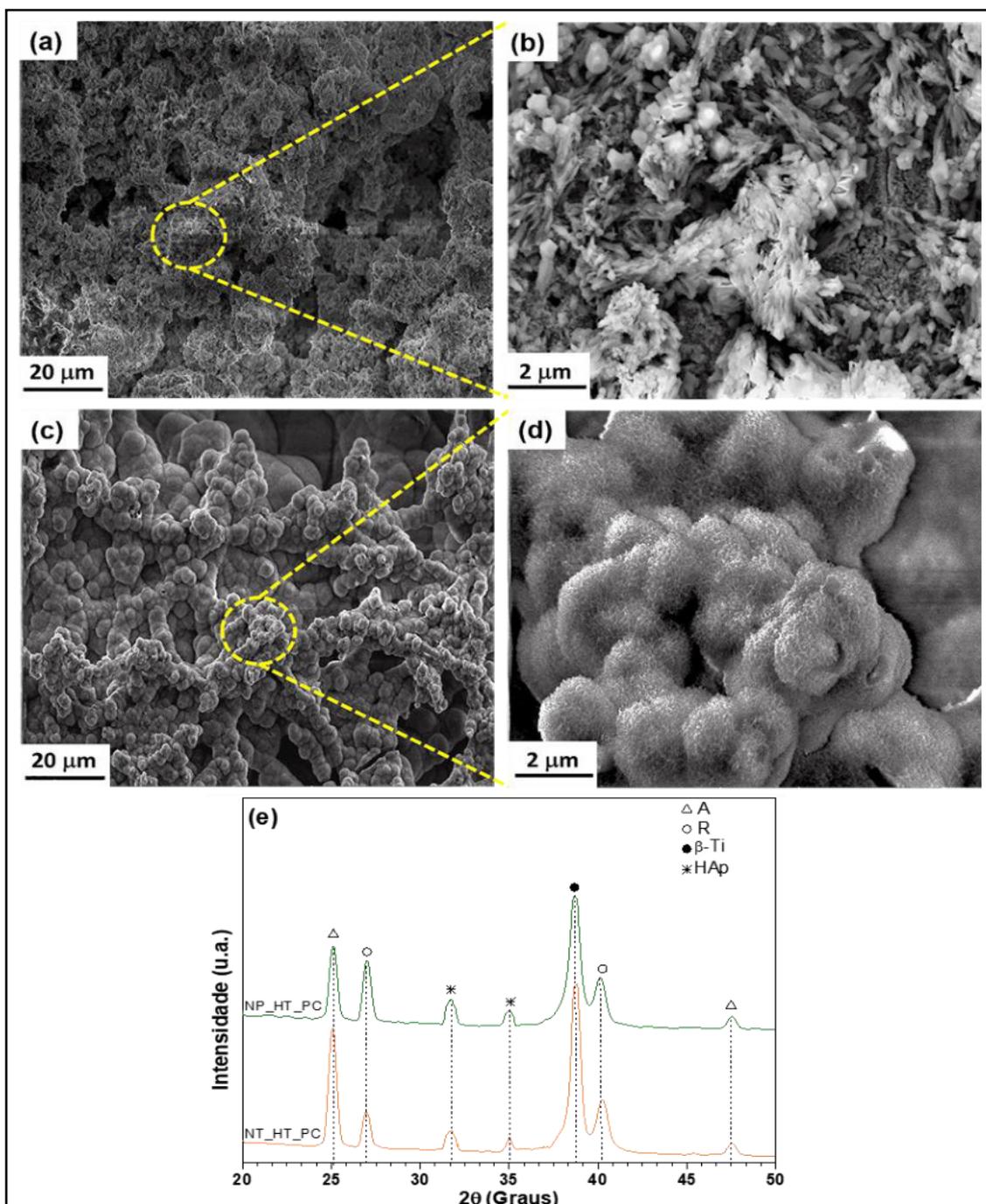


Figura 4.21 - Imagens obtidas por MEV após 14 dias de imersão em SBF mostrando o NTs-PC (a) e (b); (c) e (d) NPs-PC e, (e) padrões de DRX. A - TiO_2 Anatase; R - Rutilo TiO_2 ; HAp - hidroxiapatita.

A Figura 4.22 mostra o gráfico do ganho de massa de apatita após 1, 7 e 14 dias, de imersão em SBF para Ti-40Nb não modificado (substrato), anodizado+recozido (NTs-HT, NP-HT); anodizado+recozido+PC (NTs-PC, NPs-

PC). Na Tabela 4.8, estão apresentados os resultados da análise de EDS (Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X), razão de Ca/P e ganho de massa após 14 dias para Ti-40Nb não modificado (substrato), anodizado+recozido (NTs-HT, NP-HT); anodizado+recozido+PC (NTs-PC, NPs-PC).

O ganho de massa, para o substrato, em torno de 0,012 mg após 14 dias que é um indicador de que a amostra sem tratamento de superfície não apresentou comportamento bioativo, onde não foi apresentado quantidade de cálcio e fósforo.

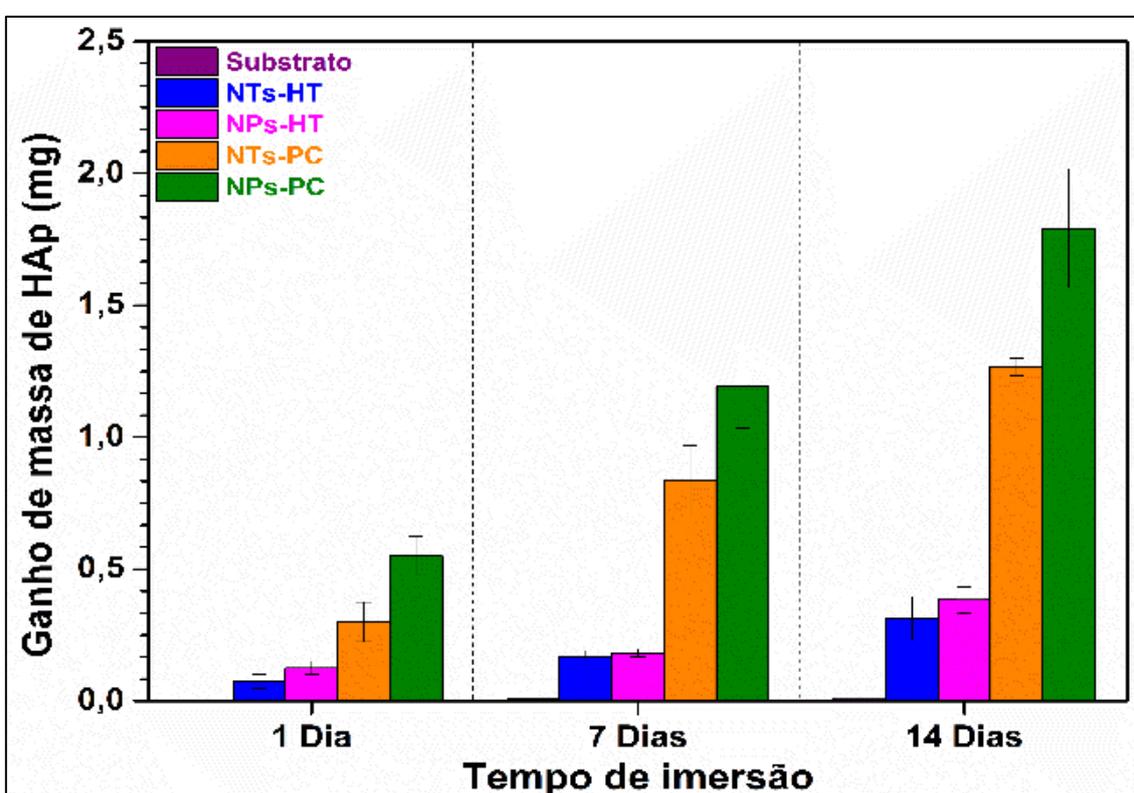


Figura 4.22 - Ganho de massa de hidroxiapatita (HAp) para a liga Ti40-Nb não modificada (Substrato); NTs-HT, NPs-HT, NTs-PC, NPs-PC quando imersas em SBF, em função do tempo de imersão (1, 7, 14 dias).

Em contraste à condição não modificada (substrato da liga Ti-40Nb), as condições com nanotubos e nanoporos mostraram ganho de massa significativos, variando para o NTs-HT condição de 0,31 mg, com Ca=10,9 e

P=6,3 % em peso, enquanto a condição NPs-HT mostra ganho de massa=0,38 mg, após 14 dias, com Ca=12,2 e P=7,1 % em peso.

Tabela 4.8 - Resultados da análise semi-quantitativa EDS (espectroscopia de energia dispersiva de raios-X) após 14 dias para o substrato Ti-40Nb não modificado, NTs-HT, NPs-HT, NTs-PC, NPs-PC.

Condições	Elementos (% em peso)				Razão Ca/P	Ganho de massa (mg)
	Ti	Nb	Ca	P		
Substrato	63,1	36,9	-	-	-	0,012
NTs-HT	56,5	26,3	10,9	6,3	1,73	0,31
NPs-HT	55,6	25,1	12,2	7,1	1,72	0,38
NTs-PC	36,4	12,0	31,9	19,7	1,62	1,27
NPs-PC	35,5	11,2	33,2	20,1	1,65	1,79

Observa-se também que com o tratamento PC foi extremamente importante aumentar o ganho de massa para 1,27 mg para NTs-PC e 1,79 mg para NP-PC indicando que a deposição prévia de Ca e P acelera consideravelmente a adsorção de apatita. É importante destacar que, após o dia 1 de imersão em SBF, já ocorre um ganho de massa nas amostras NTs-HT, NPs-HT e, principalmente nas amostras NTs-PC e NPs-PC. Em relação à relação Ca/P, houve variação de 1,72 a 1,73 (Tabela 4.8), para NTs-HT e NPs-HT respectivamente. Além disso, o processo de PC mostrou uma tendência de formação mais rápida de apatita em meio de SBF, aumentando os níveis de Ca e P e aumentando a relação Ca/P 1,49 para NTs-PC e 1,53 para NPs-PC (dados disponíveis na Tabela 4.4) para atingir um equilíbrio de 1,62 e 1,65 para NTs-PC e NPs-PC, respectivamente, valores estes próximos ao valor teórico de apatita (1,67). Por fim, com os dados obtidos na EDS entre os dias 7 e 14, eles indicam que, para todas as condições, houve aumento na quantidade de Ca-P de ~3x bem como no ganho de massa, este comportamento é uma forte indicação de que os tratamentos de anodização e PC são extremamente eficazes em termos de otimização da bioatividade. Também é importante notar que as amostras com tratamento de PC sempre têm uma quantidade de Ca e P de ~3x e um ganho de massa de ~3,5x, em comparação com amostras sem PC.

5 CONCLUSÕES

Nesta tese foi estudada a formação, estabilidade, comportamento eletroquímico e bioatividade de nanoestruturas na liga β Ti-40Nb. A partir dos resultados e discussões, foi possível chegar às seguintes conclusões:

✓ **Liga β Ti-40Nb não modificada**

- Liga β Ti-40Nb inicialmente as fases α'' (agulhas de martensita) e β (matriz) estavam presentes no substrato e módulo de elasticidade de 69 GPa.

✓ **ANODIZAÇÃO**

- É possível concluir que a quantidade de NH_4F teve influência decisiva na morfologia das nanoestruturas obtidas nos eletrólitos I e II;

- Obteve-se, na superfície da liga β Ti-40Nb, dois tipos de nanoestruturas, nanotubos (NTs) com tensão de 10V e nanoporos (NPs) com tensão de 20V quando utilizado o eletrólito III;

- A tensão também influenciou no comprimento das nanoestruturas, onde a tensão de 20V produziu NPs com o dobro do comprimento dos NTs obtidos com tensão de 10V;

- Através de DRX foi confirmado que as nanoestruturas são amorfas.

✓ **RECOZIMENTO, MÓDULO DE ELASTICIDADE E MOLHABILIDADE**

- O recozimento na temperatura de 450 °C levou à cristalização das nanoestruturas em anatase e a formação das fases α e ω e também a dissolução da fase α'' no substrato, com o maior módulo de elasticidade de 88GPa em decorrência da precipitação das fases α e ω ;

- Em 550 °C foi obtida uma cristalização das nanoestruturas em uma mistura de anatase e rutilo, com diminuição do módulo de elasticidade para cerca

de 65 GPa, além da dissolução das fases α e ω e a presença de somente fase β no substrato;

- Na temperatura de 800 °C ocorreu a transformação de total da fase anatase em rutilo, no substrato ocorreu a precipitação da fase ω e a manutenção da fase β no substrato e um aumento do módulo de elasticidade para 75 GPa;

- Um comportamento hidrofílico ($<90^\circ$) foi observado para todas as condições analisadas. A molhabilidade e a energia de superfície foram melhoradas com as nanoestruturas amorfas de TiO_2 (nanoporos/nanotubos) e, uma pequena diminuição após o recozimento em 550 °C.

✓ **PRÉ-CALCIFICAÇÃO**

- Por meio do processo de PC, precipitados de Ca-P foram depositados com sucesso em toda a superfície das nanoestruturas de TiO_2 , sem alteração no módulo de elasticidade (65 GPa).

✓ **COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO**

- As curvas de OCP e polarização potenciodinâmica das superfícies anodizadas revelaram ser mais protetoras contra a corrosão, destacando que, após o recozimento este comportamento foi ainda mais otimizado, com E_{corr} maior e i_{pass} menor.

- As curvas de impedância de todas as amostras apresentaram um comportamento pseudocapacitivo, corroborando a resposta protetora dessas condições superficiais;

- Após a anodização e recozimento o $|Z|$ foi incrementado em aproximadamente 1 ordem de grandeza;

- Também se conclui que a capacitância efetiva (C_{effB}) foi diminuída e a espessura da camada de barreira (d_{effB}) foi aumentada indicando que a anodização e o recozimento levaram a superfície à um comportamento mais nobre em meio de SBF.

✓ BIOATIVIDADE

- Os testes de bioatividade realizados indicaram a liga β Ti-40Nb não modificada não apresentou comportamento bioativo após 14 dias.
- As amostras anodizadas e recozidas foram eficientes em ambas as condições (NTs e NPS), sendo os NPs mais bioativos;
- O tratamento de pré-calcificação destacou o comportamento bioativo de forma bastante eficaz, e nesta condição os NPs apresentaram os melhores resultados com ganho de massa ~3 vezes maior do que a condição apenas anodizada e recozida;
- As características otimizadas para o uso da liga β Ti-40Nb como biomaterial, ou seja, menor módulo de elasticidade, melhores propriedades eletroquímicas e bioativas foram obtidas na condição anodizada com 20V, com nanoporos na superfície, recozido a 550 ° C e previamente pré-calcificado (NPs-PC) com fase β -Ti na matriz da liga Ti-40Nb e mistura dos óxidos de TiO₂ anatase e rutilo nos nanoporos.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudar condições alternativas de resfriamento do tratamento térmico, que podem influenciar na diminuição do módulo de elasticidade da liga.
- Realizar o tratamento térmico após o processo de pré-calcificação.
- Avaliar a dopagem da camada pré-calcificada de Ca-P com compostos antibacterianos e recobrimentos bioabsorvíveis.
- Analisar as estruturas dos Nanotubos formados em diferentes TT de recozimento, bem como amostras de Pré-calcificação, e após bioatividade (14 dias) através de microscopia eletrônica de transmissão (TEM).
- Investigar o comportamento mecânico das nanoestruturas, visando avaliar a sua adesão no substrato.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] B.D. Ratner, A.S. Hoffman, *An Introduction to Materials in Medicine*, Springer, New York, 2013.
- [2] J. Park, R.S. Lakes, *Biomaterials: An Introduction*, Springer, New York, 2007.
- [3] A. Wubneh, E.K. Tsekoura, C. Ayranci, H. Uludağ, Current state of fabrication technologies and materials for bone tissue engineering, *Acta Biomater*, vol. 80, pp. 1–30, 2018.
- [4] S. Minagar, C.C. Berndt, J. Wang, E. Ivanova, C. Wen, A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces, *Acta Biomater*, vol. 8, pp. 2875–2888, 2012.
- [5] M. Kaur, K. Singh, Review on titanium and titanium based alloys as biomaterials for orthopaedic applications, *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 102, pp. 844–862, 2019.
- [6] M. Geetha, A.K. Singh, R. Asokamani, A.K. Gogia, Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - A review, *Prog. Mater. Sci*, vol. 54, pp. 397–425, 2009.
- [7] M.T. Mohammed, Development of a new metastable beta titanium alloy for biomedical applications, *Karbala Int. J. Mod. Sci*, vol. 3, pp. 224–230, 2017.
- [8] E. Yılmaz, A. Gökçe, F. Findik, H.O. Gulsoy, O. İyibilgin, Mechanical properties and electrochemical behavior of porous Ti-Nb biomaterials, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater*, vol. 87, pp. 59–67, 2018.
- [9] Y. Su, S. Komasa, T. Sekino, H. Nishizaki, J. Okazaki, Nanostructured Ti6Al4V alloy fabricated using modified alkali-heat treatment: Characterization and cell adhesion, *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 59, pp. 617–623, 2018.
- [10] J.M. Hernández-López, A. Conde, J.J. de Damborenea, M.A. Arenas, Electrochemical response of TiO₂ anodic layers fabricated on Ti6Al4V alloy with nanoporous, dual and nanotubular morphology, *Corros. Sci*, vol. 112, pp. 194–203, 2016.
- [11] Y. Kuroda, Aluminum as a risk factor of Alzheimer's disease, *Brain and Nerve*, vol. 52, pp. 222–229, 2000.

- [12] P.D. Darbre, Environmental oestrogens, cosmetics and breast cancer, *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab*, vol. 20, pp. 121–143, 2006.
- [13] S.K. Ghosh, R. Saha, B. Saha, Toxicity of inorganic vanadium compounds, *Res. Chem. Intermed*, vol. 41, pp. 4873–4897, 2015.
- [14] M. Abdel-Hady Gepreel, M. Niinomi, Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater*, vol 20, pp. 407–415, 2013.
- [15] T.Q.M. Bittencourt, A.R. Santos, M.C.G. Silva, J.F. Silva, N.P.C. Silva, W.E. Silva, P.G. Cadena, M.J.A.A.L. Amorim, Efeitos tóxicos de compostos de vanádio sobre os parâmetros biológicos de embriões e adultos de zebrafish (*Danio rerio*), *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec*, vol. 70, pp. 1877–1886, 2018.
- [16] Y.P. Hou, S. Guo, X.L. Qiao, T. Tian, Q.K. Meng, X.N. Cheng, X.Q. Zhao, Origin of ultralow Young's modulus in a metastable β -type Ti-33Nb-4Sn alloy, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater*, vol. 59, pp. 220–225, 2016.
- [17] W. Chen, C. Chen, X. Zi, X. Cheng, X. Zhang, Y.C. Lin, K. Zhou, Controlling the microstructure and mechanical properties of a metastable β titanium alloy by selective laser melting, *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 726, pp. 240–250, 2018.
- [18] D.A.G. Pérez, A.M. Jorge Junior, G.H. Asato, J.C. Lepretre, V. Roche, C. Bolfarini, W.J. Botta, Surface anodization of the biphasic Ti₁₃Nb₁₃Zr biocompatible alloy: Influence of phases on the formation of TiO₂ nanostructures, *J. Alloys Compd*, vol 796, pp. 93–102, 2019.
- [19] S. Guo, Q. Meng, G. Liao, L. Hu, X. Zhao, Microstructural evolution and mechanical behavior of metastable β -type Ti–25Nb–2Mo–4Sn alloy with high strength and low modulus, *Prog. Nat. Sci. Mater. Int*, vol. 23, pp. 174–182, 2013.
- [20] E. Takematsu, K. Katsumata, K. Okada, M. Niinomi, N. Matsushita, Bioactive surface modification of Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr alloy through alkali solution treatments, *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 62, pp. 662–667, 2016.
- [21] J.M. Chaves, O. Florêncio, P.S. Silva, P.W.B. Marques, C.R.M. Afonso,

- Influence of phase transformations on dynamical elastic modulus and anelasticity of beta Ti-Nb-Fe alloys for biomedical applications, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 46, pp. 184–196, 2015.
- [22] N.C. Verissimo, A. Cremasco, C.A. Rodrigues, R. Bertazzoli, R. Caram, In situ characterization of the effects of Nb and Sn on the anatase-rutile transition in TiO₂ nanotubes using high-temperature X-ray diffraction, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 307, pp. 372–381, 2014.
- [23] I. Lindemann, R. Schmidt, S. Pilz, B. Gebel, A. Teresiak, A. Gebert, Ultrafine-grained Ti-40Nb prepared by reactive milling of the elements in hydrogen, *J. Alloys Compd.*, vol. 729, pp. 1244–1249, 2017.
- [24] A. Helth, S. Pilz, T. Kirsten, L. Giebeler, J. Freudenberger, M. Calin, J. Eckert, A. Gebert, Effect of thermomechanical processing on the mechanical biofunctionality of a low modulus Ti-40Nb alloy, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 65, pp. 137–150, 2017.
- [25] F. Hilario, V. Roche, R.P. Nogueira, A.M.J. Junior, Influence of morphology and crystalline structure of TiO₂ nanotubes on their electrochemical properties and apatite-forming ability, *Electrochim. Acta*, vol. 245, pp. 337–349, 2017.
- [26] J.A. Siddiqui, N.C. Partridge, Physiological bone remodeling: Systemic regulation and growth factor involvement, *Physiology*, vol. 31, pp. 233–245, 2016.
- [27] Y. Shibata, Y. Tanimoto, A review of improved fixation methods for dental implants. Part I: Surface optimization for rapid osseointegration, *J. Prosthodont. Res.*, vol. 59, pp. 20–33, 2015.
- [28] L. Fanton, A. Cremasco, M.G. Mello, R. Caram, Anodization growth of TiO₂ nanotubes on Ti-35Nb-7Zr-5Ta alloy: effects of anodization time, strain hardening, and crystallographic texture, *J. Mater. Sci.*, vol. 54, pp. 13724–13739, 2019.
- [29] J.M. Chaves, A.L.A. Escada, A.D. Rodrigues, A.P.R. Alves Claro, Characterization of the structure, thermal stability and wettability of the TiO₂ nanotubes growth on the Ti-7.5Mo alloy surface, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 370, pp. 76–82, 2016.

- [30] H.H. Park, I.S. Park, K.S. Kim, W.Y. Jeon, B.K. Park, H.S. Kim, T.S. Bae, M.H. Lee, Bioactive and electrochemical characterization of TiO₂ nanotubes on titanium via anodic oxidation, *Electrochim. Acta*, vol. 55, pp. 6109–6114, 2010.
- [31] G.D. Sulka, J. Kapusta-Kołodziej, A. Brzózka, M. Jaskuła, Anodic growth of TiO₂ nanopore arrays at various temperatures, *Electrochim. Acta*, vol. 104, pp. 526–535, 2013.
- [32] Q. Ma, M. Li, Z. Hu, Q. Chen, W. Hu, Enhancement of the bioactivity of titanium oxide nanotubes by precalcification, *Mater. Lett.*, vol. 62, pp. 3035–3038, 2008.
- [33] V.K. Balla, J. Soderlind, S. Bose, A. Bandyopadhyay, Microstructure, mechanical and wear properties of laser surface melted Ti6Al4V alloy, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 32, pp. 335–344, 2014.
- [34] Y.S. Lee, M. Niinomi, M. Nakai, K. Narita, K. Cho, H. Liu, Wear transition of solid-solution-strengthened Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr alloys by interstitial oxygen for biomedical applications, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 51, pp. 398–408, 2015.
- [35] N.S. Manam, W.S.W. Harun, D.N.A. Shri, S.A.C. Ghani, T. Kurniawan, M.H. Ismail, M.H.I. Ibrahim, Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review, *J. Alloys Compd.*, vol. 701, pp. 698–715, 2017.
- [36] R.I.M. Asri, W.S.W. Harun, M. Samykan, N.A.C. Lah, S.A.C. Ghani, F. Tarlochan, M.R. Raza, Corrosion and surface modification on biocompatible metals: A review, *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 77, pp. 1261–1274, 2017.
- [37] Y. OSHIDA, *Bioscience and Bioengineering of Titanium Materials*, Elsevier BV., Kidlington, 2007.
- [38] P. BALAKRISHNAN, M. SREEKALA, S, S. THOMAS, *Fundamental Biomaterials: Metals*, Woodhead Publishing, Cambridge, 2018.
- [39] M. Peters, *Titanium and Titanium Alloys* Springer, New York, 2008.
- [40] M.A. Minnath, *Metals and alloys for biomedical applications*, Elsevier Ltd, Kidlington, 2018.
- [41] M.Z. Ibrahim, A.A.D. Sarhan, F. Yusuf, M. Hamdi, *Biomedical materials and*

- techniques to improve the tribological, mechanical and biomedical properties of orthopedic implants – A review article, *J. Alloys Compd*, vol. 714, pp. 636–667, 2017.
- [42] D.C. Rodrigues, P. Valderrama, T.G. Wilson, K. Palmer, A. Thomas, S. Sridhar, A. Adapalli, M. Burbano, C. Wadhvani, Titanium corrosion mechanisms in the oral environment: A retrieval study, *Materials (Basel)*, vol. 6, pp. 5258–5274, 2013.
- [43] T. Nakano, Mechanical properties of metallic biomaterials, in *Metals for Biomedical Devices*, Woodhead Publishing, London, UK, 2010.
- [44] J.B. Park, R.S. Lakes, *Characterization of Materials II, Biomaterials*, Woodhead Publishing, London, UK, 2012.
- [45] D. Banerjee, J.C. Williams, Perspectives on titanium science and technology, *Acta Mater*, vol. 61, pp. 844–879, 2013.
- [46] X. Liu, P.K. Chu, C. Ding, Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications, *Mater. Sci. Eng. R Reports*, vol. 47, pp. 49–121, 2004.
- [47] J.G. Li, T. Ishigaki, X. Sun, Anatase, brookite, and rutile nanocrystals via redox reactions under mild hydrothermal conditions: Phase-selective synthesis and physicochemical properties, *J. Phys. Chem. C*, vol. 111, pp. 4969–4976, 2007.
- [48] S. Pilz, D. Geissler, M. Calin, J. Eckert, M. Zimmermann, J. Freudenberger, A. Gebert, Thermomechanical processing of In-containing β -type Ti-Nb alloys, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater*, vol. 79, pp. 283–291, 2018.
- [49] P.L. Ferrandini, F.F. Cardoso, S.A. Souza, C.R. Afonso, R. Caram, Aging response of the Ti-35Nb-7Zr-5Ta and Ti-35Nb-7Ta alloys, *J. Alloys Compd*, vol. 433, pp. 207–210, 2007.
- [50] A. Reck, S. Pilz, M. Kuczyk, A. Gebert, M. Zimmermann, Cyclic deformation characteristics of the metastable β -type Ti-40Nb alloy, *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 761, pp. 875-892, 2019.
- [51] M. Abdel-Hady, K. Hinoshita, M. Morinaga, General approach to phase stability and elastic properties of β -type Ti-alloys using electronic parameters, *Scr. Mater*, vol. 55, pp. 477–480, 2006.

- [52] D. Raabe, B. Sander, M. Friák, D. Ma, J. Neugebauer, Theory-guided bottom-up design of β -titanium alloys as biomaterials based on first principles calculations: Theory and experiments, *Acta Mater*, vol. 55, pp. 4475–4487, 2007.
- [53] L.D. Zardiackas, M.J. Kraay, H.L. Freese, *Titanium, Niobium, Zirconium and Tantalum for Medical and Surgical Applications*, AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS INTERNATIONAL, West Conshohocken, 2012.
- [54] C. Nico, T. Monteiro, M.P.F. Graça, Niobium oxides and niobates physical properties: Review and prospects, *Prog. Mater. Sci*, vol. 80, pp. 1–37, 2016.
- [55] Y. Freeman, *Tantalum and Niobium-Based Capacitors*, Springer International Publishing, Gewerbestrasse, Switzerland, 2018.
- [56] B. O'Brien, J. Stinson, W. Carroll, Development of a new niobium-based alloy for vascular stent applications, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater*, vol. 1, pp. 303–312, 2008.
- [57] C.R.M. Afonso, G.T. Aleixo, A.J. Ramirez, R. Caram, Influence of cooling rate on microstructure of Ti-Nb alloy for orthopedic implants, *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 27, pp. 908–913, 2007.
- [58] J.L. Murray, Ti (Titanium) binary alloy phase diagrams, in: H. Okamoto, M.E. Schlesinger, E.M. Mueller, Eds., *Alloy Phase Diagrams, Volume 3*, ASM Handbook, 2016.
- [59] Y.H. Hon, J.Y. Wang, Y.N. Pan, Composition/phase structure and properties of titanium-niobium alloys, *Mater. Trans*, vol. 44, pp. 2384–2390, 2003.
- [60] M.G. de Mello, B.P. Dainese, R. Caram, A. Cremasco, Influence of heating rate and aging temperature on omega and alpha phase precipitation in Ti–35Nb alloy, *Mater. Charact*, vol. 145, pp. 268–276, 2018.
- [61] A. Reck, S. Pilz, M. Calin, A. Gebert, M. Zimmermann, Fatigue properties of a new generation β -type Ti-Nb alloy for osteosynthesis with an industrial standard surface condition, *Int. J. Fatigue*, vol. 103, pp. 147–156, 2017.
- [62] K. Zhuravleva, M. Bönisch, S. Scudino, M. Calin, L. Schultz, J. Eckert, A.

- Gebert, Phase transformations in ball-milled Ti-40Nb and Ti-45Nb powders upon quenching from the β -phase region, *Powder Technol*, vol. 253, pp. 166–171, 2014.
- [63] A. Gebert, D. Eigel, P.F. Gostin, V. Hoffmann, M. Uhlemann, A. Helth, S. Pilz, R. Schmidt, M. Calin, M. Göttlicher, M. Rohnke, J. Janek, Oxidation treatments of beta-type Ti-40Nb for biomedical use, *Surf. Coatings Technol*, vol. 302, pp. 88–99, 2016.
- [64] R.A. de Araujo-Silva, A.M. Jorge, L.E.R. Vega, R.M. Leal Neto, D.R. Leiva, W.J. Botta, Hydrogen desorption/absorption properties of the extensively cold rolled β Ti-40Nb alloy, *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 44, pp. 20133–20144, 2019.
- [65] R.A. Gittens, T. McLachlan, R. Olivares-Navarrete, Y. Cai, S. Berner, R. Tannenbaum, Z. Schwartz, K.H. Sandhage, B.D. Boyan, The effects of combined micron-/submicron-scale surface roughness and nanoscale features on cell proliferation and differentiation, *Biomaterials*, vol. 32, pp. 3395–3403, 2011.
- [66] N. Hu, N. Gao, M.J. Starink, The influence of surface roughness and high pressure torsion on the growth of anodic titania nanotubes on pure titanium, *Appl. Surf. Sci*, vol. 387, pp. 1010–1020, 2016.
- [67] D.H. Shin, T. Shokuhfar, C.K. Choi, S.H. Lee, C. Friedrich, Wettability changes of TiO₂ nanotube surfaces, *Nanotechnology*, vol. 22, pp. 784-805, 2011.
- [68] J.I. Rosales-Leal, M.A. Rodríguez-Valverde, G. Mazzaglia, P.J. Ramón-Torregrosa, L. Díaz-Rodríguez, O. García-Martínez, M. Vallecillo-Capilla, C. Ruiz, M.A. Cabrerizo-Vílchez, Effect of roughness, wettability and morphology of engineered titanium surfaces on osteoblast-like cell adhesion, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp*, vol. 365, pp. 222–229, 2010.
- [69] A. Arsiwala, P. Desai, V. Patravale, Recent advances in micro/nanoscale biomedical implants, *J. Control. Release*, vol. 189, pp. 25–45, 2014.
- [70] L. LE GUÉHENNEC, A. SOUEIDAN, P. LAYROLLE, Y. AMOURIQ, Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration,

- Dent. Mater, vol. 23, pp. 844–854, 2007.
- [71] M.M. Hatamleh, X. Wu, A. Alnazzawi, J. Watson, D. Watts, Surface characteristics and biocompatibility of cranioplasty titanium implants following different surface treatments, Dent. Mater, vol. 34, pp. 676–683, 2018.
- [72] S.R. Paital, N.B. Dahotre, Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and methodologies, Mater. Sci. Eng. R Reports, vol. 66, pp. 1–70, 2009.
- [73] A.W. Tan, B. Pinguan-Murphy, R. Ahmad, S.A. Akbar, Review of titania nanotubes: Fabrication and cellular response, Ceram. Int, vol. 38, pp. 4421–4435, 2012.
- [74] P. Pesode, S. Barve, Surface modification of titanium and titanium alloy by plasma electrolytic oxidation process for biomedical applications: A review, Mater. Today Proc. 2020.
- [75] R.A. Gittens, L. Scheideler, F. Rupp, S.L. Hyzy, J. Geis-Gerstorfer, Z. Schwartz, B.D. Boyan, A review on the wettability of dental implant surfaces II: Biological and clinical aspects, Acta Biomater, vol. 10, pp. 2907–2918, 2014.
- [76] F. Rupp, L. Liang, J. Geis-Gerstorfer, L. Scheideler, F. Hüttig, Surface characteristics of dental implants: A review, Dent. Mater, vol. 34, pp. 40–57, 2018.
- [77] A.R. Luz, L.S. Santos, C.M. Lepienski, P.B. Kuroda, N.K. Kuromoto, Characterization of the morphology, structure and wettability of phase dependent lamellar and nanotube oxides on anodized Ti-10Nb alloy, Appl. Surf. Sci, vol. 448, pp. 30–40, 2018.
- [78] Y. Fu, A. Mo, A Review on the Electrochemically Self-organized Titania Nanotube Arrays: Synthesis, Modifications, and Biomedical Applications, Nanoscale Res. Lett, vol. 13, pp. 40-44, 2018.
- [79] D. Regonini, C.R. Bowen, A. Jaroenworarluck, R. Stevens, A review of growth mechanism, structure and crystallinity of anodized TiO₂ nanotubes, Mater. Sci. Eng. R Reports, vol. 74, pp. 377–406, 2013.
- [80] J.M. Jang, H.C. Choe, Evaluation of bone formation on ultra-fine structures

- in simulated body fluid, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 477, pp. 271–279, 2019.
- [81] V. Zwillling, E. Darque-Ceretti, A. Boutry-Forveille, D. David, M.Y. Perrin, M. Aucouturier, Structure and Physicochemistry of Anodic Oxide Films on Titanium and TA6V Alloy, *Surf. Interface Anal.*, vol. 27, pp. 629–637, 1999.
- [82] D. Regonini, C.R. Bowen, R. Stevens, D. Allsopp, A. Jaroenworarluck, Anodised TiO₂ nano-tubes: Voltage ramp influence on the nano-structured oxide and investigation of phase changes promoted by thermal treatments, *Phys. Status Solidi Appl. Mater. Sci.*, vol. 204, pp. 1814–1819, 2007.
- [83] J.M. Macak, H. Hildebrand, U. Marten-Jahns, P. Schmuki, Mechanistic aspects and growth of large diameter self-organized TiO₂ nanotubes, *J. Electroanal. Chem.*, vol. 621, pp. 254–266, 2008.
- [84] K. Lee, A. Mazare, P. Schmuki, One-dimensional titanium dioxide nanomaterials: Nanotubes, *Chem. Rev.*, vol. 114, pp. 9385–9454, 2014.
- [85] A. Mazzarolo, M. Curioni, A. Vincenzo, P. Skeldon, G.E. Thompson, Anodic growth of titanium oxide: Electrochemical behaviour and morphological evolution, *Electrochim. Acta*, vol. 75, pp. 288–295, 2012.
- [86] D. Regonini, A. Satka, A. Jaroenworarluck, D.W.E. Allsopp, C.R. Bowen, R. Stevens, Factors influencing surface morphology of anodized TiO₂ nanotubes, *Electrochim. Acta*, vol. 74, pp. 244–253, 2012.
- [87] A.J. SUNIJA, Biomaterials and biotechnological schemes utilizing TiO₂ nanotube arrays—A review, Elsevier Ltd, Kidlington 2018.
- [88] D. Regonini, A. Satka, D.W.E. Allsopp, A. Jaroenworarluck, R. Stevens, C.R. Bowen, Anodised titania nanotubes prepared in a glycerol/NaF electrolyte, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 9, pp. 4410–4416, 2009.
- [89] L. Yin, S. Ji, G. Liu, G. Xu, C. Ye, Understanding the growth behavior of titania nanotubes, *Electrochem. Commun.*, vol. 13, pp. 454–457, 2011.
- [90] J.M. Macák, H. Tsuchiya, P. Schmuki, High-aspect-ratio TiO₂ nanotubes by anodization of titanium, *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 44, pp. 2100–2102, 2005.
- [91] J.M. Macak, H. Tsuchiya, A. Ghicov, K. Yasuda, R. Hahn, S. Bauer, P. Schmuki, TiO₂ nanotubes: Self-organized electrochemical formation, properties and applications, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.*, vol. 11, pp.

- 3–18, 2007.
- [92] S.H. An, R. Narayanan, T. Matsumoto, H.J. Lee, T.Y. Kwon, K.H. Kim, Crystallinity of anodic TiO₂ nanotubes and bioactivity, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 11, pp. 4910–4918, 2011.
- [93] I. Çaha, A.C. Alves, C. Chirico, A.M.P. Pinto, S. Tsiapas, E. Gordo, F. Toptan, A promising method to develop TiO₂-based nanotubular surfaces on Ti-40Nb alloy with enhanced adhesion and improved tribocorrosion resistance, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 542, pp. 148-158, 2021.
- [94] S.A. Alves, A.L. Rossi, A.R. Ribeiro, F. Toptan, A.M. Pinto, J.P. Celis, T. Shokuhfar, L.A. Rocha, Tribo-electrochemical behavior of bio-functionalized TiO₂ nanotubes in artificial saliva: Understanding of degradation mechanisms, *Wear*, vol. 384–385, pp. 28–42, 2017.
- [95] T.D.T. Nguyen, I.S. Park, M.H. Lee, T.S. Bae, Enhanced biocompatibility of a pre-calcified nanotubular TiO₂ layer on Ti-6Al-7Nb alloy, *Surf. Coatings Technol.*, vol. 236, pp. 127–134, 2013.
- [96] L.L. De Sousa, V.P. Ricci, D.G. Prado, R.C. Apolinario, L.C. De Oliveira Vercik, E.C. Da Silva Rigo, M.C. Dos Santos Fernandes, N.A. Mariano, Titanium coating with hydroxyapatite and chitosan doped with silver nitrate, *Mater. Res.*, vol. 20, pp. 863–868, 2017.
- [97] C. Xie, P. Li, Y. Liu, F. Luo, X. Xiao, Preparation of TiO₂ nanotubes/mesoporous calcium silicate composites with controllable drug release, *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 67, pp. 433–439, 2016.
- [98] A. Kodama, S. Bauer, A. Komatsu, H. Asoh, S. Ono, P. Schmuki, Bioactivation of titanium surfaces using coatings of TiO₂ nanotubes rapidly pre-loaded with synthetic hydroxyapatite, *Acta Biomater.*, vol. 5, pp. 2322–2330, 2009.
- [99] L. Li, C. Xie, X. Xiao, Polydopamine modified TiO₂ nanotube arrays as a local drug delivery system for ibuprofen, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 56, pp. 1245-126, 2020.
- [100] V. Gentil, *Corrosão*, 3^a edição, LTC - Livros técnicos e científicos Editora S.A., Rio de Janeiro, 1991.
- [101] B.N. Popov, *Corrosion Engineering: Principles and Solved Problems*,

- Elsevier Ltd, Kidlington, 2015.
- [102] M.T. Mohammed, Z.A. Khan, A.N. Siddiquee, Surface Modifications of Titanium Materials for developing Corrosion Behavior in Human Body Environment: A Review, *Procedia Mater. Sci*, vol. 6, pp. 1610–1618, 2014.
- [103] M. Atapour, A.L. Pilchak, G.S. Frankel, J.C. Williams, Corrosion behavior of β titanium alloys for biomedical applications, *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 31, pp. 885–891, 2011.
- [104] S. Wolyneec, *Técnicas eletroquímicas em corrosão*, EDUSP, São Paulo, 2003.
- [105] F. Hilario, D. Tio, *applications biomédicales : propriétés électrochimiques et bioactivité* To cite this version: HAL Id: tel-01812557 *Synthèse et caractérisations de nanotubes de TiO₂ pour applications biomédicales : propriétés électrochimiques et bioactivité*, 2018.
- [106] M. Roknian, A. Fattah-alhosseini, S.O. Gashti, M.K. Keshavarz, Study of the effect of ZnO nanoparticles addition to PEO coatings on pure titanium substrate: Microstructural analysis, antibacterial effect and corrosion behavior of coatings in Ringer's physiological solution, *J. Alloys Compd*, vol. 740, pp. 330–345, 2018.
- [107] A. Mazare, G. Totea, C. Burnei, P. Schmuki, I. Demetrescu, D. Ionita, Corrosion, antibacterial activity and haemocompatibility of TiO₂ nanotubes as a function of their annealing temperature, *Corros. Sci*, vol. 103, pp. 215–222, 2016.
- [108] A.C. Alves, F. Wenger, P. Ponthiaux, J.P. Celis, A.M. Pinto, L.A. Rocha, J.C.S. Fernandes, Corrosion mechanisms in titanium oxide-based films produced by anodic treatment, *Electrochim. Acta*, vol. 234, pp. 16–27, 2017.
- [109] P. Córdoba-Torres, N.T.C. Oliveira, C. Bolfarini, V. Roche, R.P. Nogueira, Electrochemical impedance analysis of TiO₂ nanotube porous layers based on an alternative representation of impedance data, *J. Electroanal. Chem*, vol. 737, pp. 54–64, 2015.
- [110] M.E. Orazem, B. Tribollet, An integrated approach to electrochemical impedance spectroscopy, *Electrochim. Acta*, vol. 53, pp. 7360–7366, 2008.

- [111] M.E. Orazem, I. Frateur, B. Tribollet, V. Vivier, S. Marcelin, N. Pébère, A.L. Bunge, E.A. White, D.P. Riemer, M. Musiani, Dielectric Properties of Materials Showing Constant-Phase-Element (CPE) Impedance Response, *J. Electrochem. Soc.*, vol. 160, pp. C215–C225, 2013.
- [112] B. Hirschorn, M.E. Orazem, B. Tribollet, V. Vivier, I. Frateur, M. Musiani, Determination of effective capacitance and film thickness from constant-phase-element parameters, *Electrochim. Acta*, vol. 55, pp. 6218–6227, 2010.
- [113] F.H. Jones, Teeth and bones: Applications of surface science to dental materials and related biomaterials, *Surf. Sci. Rep.*, vol. 42, pp. 75–205, 2001.
- [114] H. Liu, T.J. Webster, Nanomedicine for implants: A review of studies and necessary experimental tools, *Biomaterials*, vol. 28, pp. 354–369, 2007.
- [115] K.X. Michalakis, P. Calvani, H. Hirayama, Biomechanical considerations on tooth-implant supported fixed partial dentures, *J. Dent. Biomech.*, vol. 3, pp. 1–16, 2012.
- [116] W.A. Camargo, S. Takemoto, J.W. Hoekstra, S.C.G. Leeuwenburgh, J.A. Jansen, J.J.J.P. van den Beucken, H.S. Alghamdi, Effect of surface alkali-based treatment of titanium implants on ability to promote in vitro mineralization and in vivo bone formation, *Acta Biomater.*, vol. 57, pp. 511–523, 2017.
- [117] T. Kokubo, H. Takadama, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials*, vol. 27, pp. 2907–2915, 2006.
- [118] Y. tong Yao, S. Liu, M. V. Swain, X. ping Zhang, K. Zhao, Y. tao Jian, Effects of acid-alkali treatment on bioactivity and osteoinduction of porous titanium: An in vitro study, *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 94, pp. 200–210, 2019.
- [119] H.C. Hsu, S.C. Wu, S.K. Hsu, Y.C. Chang, W.F. Ho, Fabrication of nanotube arrays on commercially pure titanium and their apatite-forming ability in a simulated body fluid, *Mater. Charact.*, vol. 100, pp. 170–177, 2015.
- [120] A. Santos-Coquillat, E. Martínez-Campos, M. Mohedano, R. Martínez-Corriá, V. Ramos, R. Arrabal, E. Matykina, In vitro and in vivo evaluation of

- PEO-modified titanium for bone implant applications, *Surf. Coatings Technol*, vol. 347, pp. 358–368, 2018.
- [121] V.P. Parkhutik, V.I. Shershulsky, Theoretical Modelling of Porous Oxide Growth on Aluminium, *J. Phys. D. Appl. Phys*, vol. 25, pp. 1258–1263, 1992.
- [122] J.S. a W. Store, INTERNATIONAL STANDARD evaluation for apatite-forming ability, 2014.
- [123] C. Specimens, G. Frits, F.C. Whiteware, S. Modulus, S. Resonance, Dynamic Young's Modulus, Shear Modulus, and Poisson's Ratio by Impulse Excitation of Vibration, *ASTM Int. i*, pp. 1–16, 2012.
- [124] J. Kujawa, A. Rozicka, S. Cerneaux, W. Kujawski, The influence of surface modification on the physicochemical properties of ceramic membranes, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp*, vol. 443, pp. 567–575, 2014.
- [125] M. Calin, A. Helth, J.J. Gutierrez Moreno, M. Bönisch, V. Brackmann, L. Giebeler, T. Gemming, C.E. Lekka, A. Gebert, R. Schnettler, J. Eckert, Elastic softening of β -type Ti-Nb alloys by indium (In) additions, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater*, vol. 39, pp. 162–174, 2014.
- [126] R. Schmidt, V. Hoffmann, A. Helth, P.F. Gostin, M. Calin, J. Eckert, A. Gebert, Electrochemical deposition of hydroxyapatite on beta-Ti-40Nb, *Surf. Coatings Technol*, vol. 294, pp. 186–193, 2016.
- [127] Y. Chen, P. Han, A. Dehghan-Manshadi, D. Kent, S. Ehtemam-Haghighi, C. Jowers, M. Bermingham, T. Li, J. Cooper-White, M.S. Dargusch, Sintering and biocompatibility of blended elemental Ti-xNb alloys, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater*, vol. 104, pp. 103-131, 2020.
- [128] R. Hazan, S. Sreekantan, I. Mat, Crystal structure of TiO₂ nanotube arrays anodized at different voltage for cell-metal interaction, *Mater. Sci. Forum*, vol 888, pp. 262–266, 2017.
- [129] H.E. Prakasam, K. Shankar, M. Paulose, O.K. Varghese, C.A. Grimes, A new benchmark for TiO₂ nanotube array growth by anodization, *J. Phys. Chem. C*, vol. 111, pp. 7235–7241, 2007.
- [130] Z. Lockman, S. Sreekantan, S. Ismail, L. Schmidt-Mende, J.L. MacManus-Driscoll, Influence of anodisation voltage on the dimension of titania

- nanotubes, *J. Alloys Compd*, vol. 503, pp. 359–364, 2010.
- [131] P. Roy, S.P. Albu, P. Schmuki, TiO₂ nanotubes in dye-sensitized solar cells: Higher efficiencies by well-defined tube tops, *Electrochem. Commun.*, vol. 12, pp. 949–951, 2010.
- [132] Q. Gui, D. Yu, D. Li, Y. Song, X. Zhu, L. Cao, S. Zhang, W. Ma, S. You, Efficient suppression of nanograss during porous anodic TiO₂ nanotubes growth, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 314, pp. 505–509, 2014.
- [133] D.A.G. Pérez, A.M. Jorge Junior, V. Roche, J.C. Lepretre, C.R.M. Afonso, D.N. Travessa, G.H. Asato, C. Bolfarini, W.J. Botta, Severe plastic deformation and different surface treatments on the biocompatible Ti₁₃Nb₁₃Zr and Ti₃₅Nb₇Zr₅Ta alloys: Microstructural and phase evolutions, mechanical properties, and bioactivity analysis, *J. Alloys Compd*, vol. 812, pp. 2145–2155, 2020.
- [134] J. Zhao, X. Wang, T. Sun, L. Li, In situ templated synthesis of anatase single-crystal nanotube arrays, *Nanotechnology*, vol. 16, pp. 2450–2454, 2005.
- [135] A. Roguska, M. Pisarek, A. Belcarz, L. Marcon, M. Holdynski, M. Andrzejczuk, M. Janik-Czachor, Improvement of the bio-functional properties of TiO₂ nanotubes, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 388, pp. 775–785, 2016.
- [136] Y. Yang, X. Wang, L. Li, Crystallization and phase transition of titanium oxide nanotube arrays, *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 91, pp. 632–635, 2008.
- [137] A. Ghicov, S. Aldabergenova, H. Tsuchiya, P. Schmuki, TiO₂-Nb₂O₅ nanotubes with electrochemically tunable morphologies, *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 45, pp. 6993–6996, 2006.
- [138] W. Wang, X. Zhang, W. Mei, J. Sun, Role of omega phase evolution in plastic deformation of twinning-induced plasticity β Ti–12V–2Fe–1Al alloy, *Mater. Des.*, vol. 186, pp. 108–282, 2020.
- [139] P.A.B. Kuroda, F. de F. Quadros, C.R.M. Afonso, C.R. Grandini, The Effect of Solution Heat Treatment Temperature on Phase Transformations, Microstructure and Properties of Ti-25Ta-xZr Alloys Used as a Biomaterial, *J. Mater. Eng. Perform.*, vol. 29, pp. 2410–2417, 2020.
- [140] B. Munirathinam, H. Pydimukkala, N. Ramaswamy, L. Neelakantan,

- Influence of crystallite size and surface morphology on electrochemical properties of annealed TiO₂ nanotubes, *Appl. Surf. Sci.*, vol 355, pp. 1245–1253, 2015.
- [141] M. Jin, X. Lu, Y. Qiao, L.N. Wang, A.A. Volinsky, Fabrication and characterization of anodic oxide nanotubes on TiNb alloys, *Rare Met.*, vol 35, pp. 140–148, 2016.
- [142] M. Kulkarni, I. Junkar, P. Humpolíček, Z. Capáková, K.A. Radaszkiewicz, N. Mikušová, J. Pacherník, M. Lehocký, A. Iglič, M. Hanáčková, M. Mozetič, Interaction of nanostructured TiO₂ biointerfaces with stem cells and biofilm-forming bacteria, *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 77, pp. 500–507, 2017.
- [143] S. Saber-Samandari, K. Alamara, S. Saber-Samandari, Calcium phosphate coatings: Morphology, micro-structure and mechanical properties, *Ceram. Int.*, vol. 40, pp. 563–572, 2014.
- [144] F. Hilario, V. Roche, A.M. Jorge, R.P. Nogueira, Application of the transmission line model for porous electrodes to analyse the impedance response of TiO₂ nanotubes in physiological environment, *Electrochim. Acta*, vol. 253, pp. 599–608, 2017.
- [145] J. Li, S.J. Li, Y.L. Hao, H.H. Huang, Y. Bai, Y.Q. Hao, Z. Guo, J.Q. Xue, R. Yang, Electrochemical and surface analyses of nanostructured Ti-24Nb-4Zr-8Sn alloys in simulated body solution, *Acta Biomater.*, vol. 10, pp. 2866–2875, 2014.
- [146] H. Liu, J. Yang, X. Zhao, Y. Sheng, W. Li, C.L. Chang, Q. Zhang, Z. Yu, X. Wang, Microstructure, mechanical properties and corrosion behaviors of biomedical Ti-Zr-Mo-xMn alloys for dental application, *Corros. Sci.*, vol. 161, pp. 108-195, 2019.
- [147] M. Todea, A. Vulpoi, C. Popa, P. Berce, S. Simon, Effect of different surface treatments on bioactivity of porous titanium implants, *J. Mater. Sci. Technol.*, vol. 35, pp. 418–426, 2019.
- [148] J. Ureña, S. Tsipas, A. Jiménez-Morales, E. Gordo, R. Detsch, A.R. Boccaccini, In-vitro study of the bioactivity and cytotoxicity response of Ti surfaces modified by Nb and Mo diffusion treatments, *Surf. Coatings Technol.*, vol. 335, pp. 148–158, 2018.

- [149] J. Kunze, L. Müller, J.M. Macak, P. Greil, P. Schmuki, F.A. Müller, Time-dependent growth of biomimetic apatite on anodic TiO₂ nanotubes, *Electrochim. Acta*, vol. 53, pp. 6995–7003, 2008.