

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais

Mariana Luna Lourenço

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NOVAS LIGAS CONTENDO
TITÂNIO, MOLIBDÊNIO E MANGANÊS, PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS**

Bauru (SP)

2018

Mariana Luna Lourenço

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NOVAS LIGAS CONTENDO
TITÂNIO, MOLIBDÊNIO E MANGANÊS, PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS**

Dissertação apresentada como requisito à obtenção do título de Mestre à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, área de concentração Biomateriais, sob a orientação do Prof. Dr. Carlos Roberto Grandini.

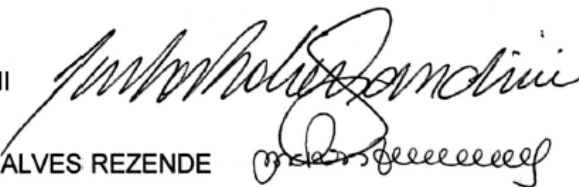
Bauru (SP)

2018

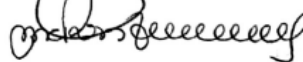
ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE MARIANA LUNA LOURENÇO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 27 dias do mês de março do ano de 2018, às 09:30 horas, no(a) Anfiteatro da Seção Técnica de Pós Graduação - Faculdade de Ciências, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. CARLOS ROBERTO GRANDINI - Orientador(a) do(a) Departamento de Física / Faculdade de Ciências de Bauru / UNESP, Profa. Dra. MARIA CRISTINA ROSIFINI ALVES REZENDE do(a) Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese / Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, Prof. Dr. VALENTIM ADELINO RICARDO BARÃO do(a) Departamento de Prótese e Periodontia / Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de MARIANA LUNA LOURENÇO, intitulada **Desenvolvimento e Caracterização de Novas Ligas contendo Titânio, Molibdênio e Manganês, para Aplicações Biomédicas**. Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: Aprovado. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

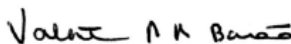
Prof. Dr. CARLOS ROBERTO GRANDINI



Profa. Dra. MARIA CRISTINA ROSIFINI ALVES REZENDE



Prof. Dr. VALENTIM ADELINO RICARDO BARÃO



Lourenço, Mariana Luna.

Desenvolvimento e caracterização de novas ligas
contendo Titânio, Molibdênio e Manganês, para
aplicações biomédicas / Mariana Luna Lourenço, 2018
62 f.: Il.

Orientador: Carlos Roberto Grandini

Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual
Paulista. Faculdade de Ciências, Bauru, 2018

1. Ligas de titânio. 2. Manganês. 3. Biomateriais.
I. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de
Ciência. II. Título.

Aos meus pais, Leo e Ana,
por todo apoio e incentivo me dedicado durante esta etapa.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo dom da vida e pelas pessoas que foram permitidas cruzarem o meu caminho, me inspirando, ajudando, desafiando e me encorajando a ser cada dia melhor.

Agradeço meus pais, Leonivaldo e Ana Maria, por se abdicarem de projetos pessoais para priorizar o estudo das filhas. Por todo amor, carinho e incentivo, que sem essa força não chegaria onde cheguei hoje. À minha irmã Beatriz, pelo apoio e companheirismo.

Aos meus amigos de laboratório por toda troca de conhecimento e momentos de descontração, fazendo com que essa jornada fosse mais leve.

A meu orientador, Prof. Dr. Carlos Roberto Grandini, pela oportunidade de ingressar na área da pesquisa, pela orientação, incentivo e confiança, desde a iniciação científica.

Ao Prof. Dr. Fenelon Martinho Lima Pontes, aos Profs. Drs. Eudes Borges de Araújo e João Carlos Silos Moraes, pela colaboração na utilização dos equipamentos, de raio-X e microdurometro. Ao Fábio Bossoi Vicente, pelas imagens de MEV realizadas no equipamento multiusuário do Departamento de Física da Faculdade de Ciências da UNESP, Bauru. À Tatiani Ayako Goto Donato e Karolyne dos Santos Jorge Sousa pela parceria nos testes de citotoxicidade. E ao técnico Willians Govedise pela eficiência e rapidez na solução dos problemas eventuais do laboratório.

Aos membros da banca pela disponibilidade e contribuição para o aprimoramento deste trabalho.

À FAPESP pela bolsa de Mestrado concedida (processo 2015/25248-0).

LOURENÇO, M. L. **Desenvolvimento e caracterização de novas ligas contendo Titânio, Molibdênio e Manganês, para aplicações biomédicas.** 2018. 62 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais), UNESP, Bauru (SP), 2018.

RESUMO

Com o aumento da população mundial, o crescimento dos acidentes de trânsito e o aumento da expectativa de vida crescem cada vez mais a necessidade do uso de implantes, dentários e ortopédicos. Pesquisadores vêm trabalhando para o aperfeiçoamento dos biomateriais utilizados, melhorando a funcionalidade e aumentando a vida útil no corpo humano. O módulo de Young das ligas já utilizadas é ainda cerca de 2 a 4 vezes maior que o do osso humano. A liga de titânio mais utilizada para aplicações biomédicas é a Ti-6Al-4V, porém, estudos anteriores mostraram que o vanádio causa reações alérgicas nos tecidos humanos e o alumínio tem sido associado com desordens neurológicas. Assim, novas ligas de titânio sem a presença desses elementos estão sendo desenvolvidas, geralmente com elementos β -estabilizadores, que diminuem o módulo de elasticidade. O manganês é um forte candidato como elemento de liga para o desenvolvimento de novas ligas de titânio do tipo β , em razão de sua abundância e baixa citotoxicidade. O objetivo deste trabalho foi preparar e caracterizar novas ligas do sistema Ti-Mo-Mn, visando aplicações biomédicas. As ligas foram projetadas utilizando as teorias do Orbital Molecular e do molibdênio equivalente, foram obtidas por fusão a arco e caracterizadas química, estrutural, microestrutural, mecânica, e citotóxicamente, com o propósito de melhor compreender a relação entre a microestrutura e propriedades da liga. As ligas estudadas Ti-10Mo-5Mn e Ti-15Mo-5Mo apresentaram valores próximos dos valores nominais, boa estequiometria e homogeneidade. A estrutura e microestrutura apresentaram apenas a fase β em todas as condições de processamento. As propriedades mecânicas apresentaram bons valores, a dureza se manteve alta e o módulo de elasticidade com valores abaixo das ligas comerciais. Tais ligas não se mostraram citotóxicas para células fibroblásticas em curto período de tempo. A associação destes bons resultados as credencia para uma possível aplicação biomédica.

Palavras chave: ligas de titânio, manganês, fase β , biomaterial.

LOURENÇO, M.L. **Development and characterization of new alloys containing Titanium, Molybdenum and Manganese for biomedical applications.** 2018. 62 p. Dissertation (Master in Materials Science and Technology) UNESP, Bauru (SP), 2018.

ABSTRACT

With the increase of the world population, the growth of traffic accidents and the increase in life expectancy, the need for the use of implants, dental and orthopaedics, is growing more and more. Researchers have been working towards the improvement of the used biomaterials, improving the functionality and increasing the useful life in the human body. Young's modulus of the alloys already used is still about 2 to 4 times larger than the human bone. The most commonly used titanium alloy for biomedical applications is Ti-6Al-4V, but previous studies have shown that vanadium causes allergic reactions in human tissues and aluminum has been associated with neurological disorders. Thus, new titanium alloys without the presence of these elements are being developed, usually with β -stabilizers, which diminish the elastic modulus. Manganese is a strong candidate as an alloy element for the development of new β -type titanium alloys, due to its abundance and low cytotoxicity. The aim of this work was to prepare and characterize new alloys of the Ti-Mo-Mn system, aiming at biomedical applications. The alloys were designed using the the molecular orbital and the equivalent molybdenum theories, were obtained by arc-melting and characterized chemical, structural, microstructural, mechanical, and cytotoxicity, with the purpose of better understanding the relationship among the microstructure and properties of the alloy. The studied alloys, Ti-10Mo-5Mn and Ti-15Mo-5Mo, presented values close to nominal values, good stoichiometry and homogeneity. The structure and microstructure presented only the β phase in all processing conditions. The mechanical properties showed good values, the hardness remained high and the modulus of elasticity with values below the commercial alloys. Such alloys did not show cytotoxicity for fibroblastic cells in a short time period. The association of these good results the make these alloys adequate for a possible biomedical application.

Keywords: Titanium alloys, manganese, β phase, biomaterial.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Causas de falhas nos implantes que levam à cirurgia de reparação, com um sistema proposto para melhorar o desempenho (Adaptado de Abdel-Hady Gepreel e Niinomi, 2013).	13
Figura 2 - Diagrama <i>Bo-Md</i> , com diversas ligas de titânio e as ligas Ti-xMo-5Mn utilizadas neste trabalho.	20
Figura 3 – Fotografia do forno de fusão a arco voltaico.	23
Figura 4 – Sistemas de tratamentos térmicos, com resfriamento lento em vácuo (a) e com resfriamento rápido em vácuo com água (b).	24
Figura 5 - Fotografia da laminadora FENN utilizada neste trabalho.	25
Figura 6 - Diagrama geral de processamento.	26
Figura 7 - Fotografia do microscópio eletrônico de varredura utilizado neste trabalho.	28
Figura 8 - Feixe de raios X incidindo sobre um conjunto de planos atômicos com índices <i>hkl</i> e fazendo um ângulo θ com eles.	30
Figura 9 - Diagrama esquemático do difratômetro de raio X.	31
Figura 10 - Fotografia do microscópio óptico Olympus BX51M utilizado neste trabalho.	33
Figura 11 – Fotografia do equipamento Sonelastic® da ATPCP Engenharia Física, utilizado para as medidas de módulo de elasticidade.	36
Figura 12 - Fotografias do forno sujo, aberto para a limpeza (a) e do vidro do forno, sem conseguir enxergar seu interior (b).	38
Figura 13 - Fotografia do interior do forno através do vidro, após a limpeza.	38
Figura 14 – Fotografia do lingote da liga Ti-10Mo-5Mn (a) e Ti-15Mo-5Mn (b), após a fusão.	39
Figura 15 - Espectros de EDS para a liga Ti-10Mo-5Mn (a) e Ti-15Mo-5Mn (b).	40
Figura 16 - Mapeamento químico por EDS para a liga Ti-10Mo-5Mn (a) Ti; (b) Mo (c) Mn e (d) Mix.	41
Figura 17 - Mapeamento químico por EDS para a liga Ti-15Mo-5Mn (a) Ti; (b) Mo (c) Mn e (d) Mix.	42
Figura 18 – Comparação da densidade das ligas estudadas com ligas comerciais.	43
Figura 19 - Difratogramas de raios X para as ligas Ti-10Mo-5Mn e Ti-15Mo-5Mn.	44

Figura 20 - Uma célula unitária, com comprimentos axiais (a,b e c) e os ângulos entre os eixos (α , β , e γ).	45
Figura 21 - Micrografias por microscopia óptica das ligas na condição bruta de fusão, Ti-10Mo-5Mn (a) e Ti-10Mo-5Mn (b), com ampliação de 200x.	46
Figura 22 - Micrografias por MEV das ligas na condição bruta de fusão, Ti-10Mo-5Mn (a) e Ti-10Mo-5Mn (b), com ampliação de 2000x.	46
Figura 23 - Difratomogramas de raios X para a liga Ti-10Mo-5Mn em todas as condições de processamento.	47
Figura 24 - Difratomogramas de raios X para a liga Ti-15Mo-5Mn, em todas as condições de processamento.	48
Figura 25 - Micrografias ópticas para a liga Ti-10Mo-5Mn nas condições (a) tratada, (b) laminada, (c) solubilizada e (d) recozida, com ampliação de 200x.	49
Figura 26 - Micrografias ópticas para a liga Ti-15Mo-5Mn nas condições (a) tratada, (b) laminada, (c) solubilizada e (d) recozida, com ampliação de 200x.	50
Figura 27 – Micrografias por MEV para a liga Ti-10Mo-5Mn nas condições (a) tratada, (b) laminada, (c) solubilizada e (d) recozida, com ampliação de 2000x.	51
Figura 28 - Micrografias por MEV para a liga Ti-15Mo-5Mn nas condições (a) tratada, (b) laminada, (c) solubilizada e (d) recozida, com ampliação de 2000x.	52
Figura 29 – Microdureza das ligas Ti-10Mo-5Mn e Ti-15Mo-5Mn, em todas as condições de processamento, comparadas com Ti-cp.	54
Figura 30 - Comparação do módulo das ligas estudadas neste trabalho, com algumas ligas comerciais.	55
Figura 31 - Módulo de elasticidade para as ligas estudadas neste trabalho, em todas as condições de processamento.	55
Figura 32 - Teste de citotoxicidade indireta, linhagem L929 cultivado por 48h. NC: controle negativo; PC: controle positivo.	56
Figura 33 - MEV indireto em células L929 cultivadas durante 48 horas, barra 100 μ m (a) Ti-10Mo-5Mn; (b) Ti-15Mo-5Mn; (c) controle negativo e (d) controle positivo.	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores B_o e M_d para os elementos de liga utilizados neste trabalho.	19
Tabela 2 - Média dos parâmetros Bo-Md.....	20
Tabela 3 - Composição química das ligas do sistema Ti-Mo-Mn por ICP-OES.	40
Tabela 4 - Composição química das ligas do sistema Ti-Mo-Mn, por EDS.	40
Tabela 5 - Análise de gases para as ligas do sistema Ti-Mo-5Mn.....	41
Tabela 6 - Comparação da densidade teórica e experimental para as ligas utilizadas neste trabalho.	43
Tabela 7 - Parâmetro de rede para as ligas Ti-10Mo-5Mn e Ti-15Mo-5Mn.	45

SUMÁRIO

1. Introdução	13
1.1. Biomateriais	13
1.2. Ligas de titânio	15
1.3. Titânio, molibdênio, manganês	16
1.4. Modelos teóricos	18
2. Objetivo	21
3. Materiais e Métodos.....	22
3.1.1. Preparação das amostras.....	22
3.1.2. Fusão a arco voltaico.....	22
3.2. Processamentos termomecânicos	23
3.2.1. Tratamentos térmicos	23
3.2.2. Laminação a quente	25
3.2.3. Nomenclatura das amostras	26
3.3. Caracterização química.....	26
3.4. Caracterização estrutural e microestrutural.....	29
3.4.1. Difração de raios X	29
3.4.2. Microscopia óptica	32
3.4.3. Microscopia eletrônica de varredura.....	32
3.5. Propriedades mecânicas	34
3.5.1. Microdureza Vickers	34
3.5.2. Módulo de elasticidade	35
3.6. Citotoxicidade.....	35

4. Resultados e Discussões.....	38
4.1. Preparação e caracterização das ligas	38
4.2. Influência dos tratamentos térmicos.....	47
4.3. Propriedades mecânicas.....	52
4.4. Citotoxicidade.....	54
5. Conclusões	58
6. Sugestões para trabalhos futuros.....	59
7. Referencias	60

1. Introdução

1.1. Biomateriais

Com o aumento da população mundial e o crescimento dos acidentes de trânsito, principalmente com jovens, a necessidade do uso de implantes, dentários e ortopédicos, está aumentando cada vez mais, e conseqüentemente as cirurgias de revisão também. Essas revisões causam dor ao paciente, são caras e apresentam uma pequena taxa de sucesso. Outro fator que faz aumentar as cirurgias de reparação é o aumento da expectativa de vida. Os implantes estão apresentando tendências a falha após o uso a longo prazo devido a várias razões, como baixa resistência à fadiga, alto módulo em comparação com ossos, baixo desgaste e resistência à corrosão e falta de biocompatibilidade (Figura 1). Para sanar essas imperfeições, biomateriais estão sendo cada vez mais estudados e estão recebendo uma melhor atenção pelos pesquisadores para que sua funcionalidade melhore e tenham uma vida longa no corpo humano (Abdel-Hady Gepreel e Niinomi, 2013).

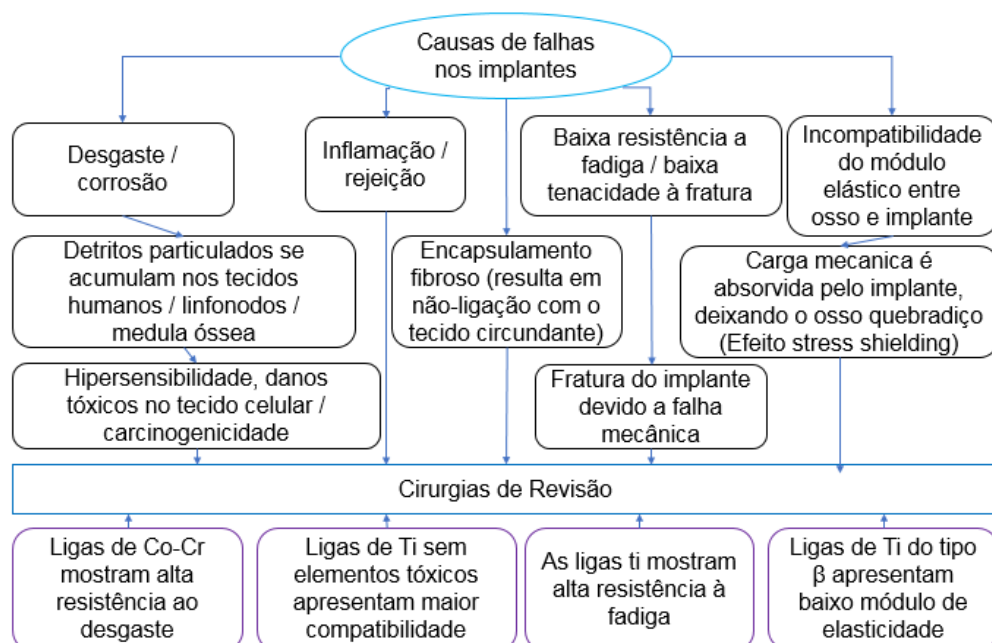


Figura 1 - Causas de falhas nos implantes que levam à cirurgia de reparação, com um sistema proposto para melhorar o desempenho (Adaptado de Abdel-Hady Gepreel e Niinomi, 2013).

De modo geral, um biomaterial pode ser definido como qualquer material utilizado para fabricar aparelhos objetivando substituir uma parte do corpo humano ou realizar uma função do corpo de uma forma segura e confiável, sendo econômico, biocompatível e biofuncional, ou seja, não deve induzir reações alérgicas, adversas e citotóxicas, além de ter propriedades mecânicas, físicas e químicas adequadas com o meio biológico. A partir da segunda metade do século XX, Per-Ingvar Branemark introduziu o conceito de osseointegração, que é a interação estável e funcional com o osso, que tem norteado o desenvolvimento de novos implantes biomédicos (Ratner, 2004; Park e Lakes, 2007; Wong, 2007).

Geralmente, os requisitos básicos dos biomateriais podem ser agrupados em quatro grandes categorias (Ratner, 2004; Geetha *et al.*, 2009):

- **Biocompatibilidade:** o material deve ter uma resposta apropriada numa aplicação específica, com o mínimo de reações alérgicas, inflamatórias ou tóxicas, quando em contato com os tecidos vivos ou fluidos orgânicos. A biocompatibilidade compreende as interações dos tecidos humanos e fluidos, incluindo sangue, com um implante ou material. As interações podem ser do meio fisiológico sobre o material ou ação do material no corpo, sendo difícil separar estas duas interações;
- **Esterilização:** o material deve ser capaz de se submeter à esterilização. Técnicas de esterilização incluem radiação gama, autoclavagem ou calor seco;
- **Funcionalidade:** a funcionalidade de um dispositivo médico depende da capacidade do material a ser preparado para atender a uma função específica. Espera-se que o material tenha propriedades químicas e mecânicas semelhantes ao tecido hospedeiro;
- **Processamento:** o material deve ser capaz de ser moldado usando processos economicamente viáveis. Esta etapa é o que frequentemente dificulta a aplicação do material e se torna um grande desafio aos pesquisadores de Ciência dos Materiais.

Os biomateriais metálicos são extensamente utilizados como pinos, placas, parafusos, agulhas e implantes (ortopédicos, dentários e cardiovasculares). Os biomateriais metálicos são divididos nos metais preciosos (como ouro e prata), os aços inoxidáveis, ligas de Co-Cr e ligas de titânio. O aço inoxidável e as ligas de Co-Cr passaram a ser muito utilizados durante o século XXI, em virtude de suas propriedades como boa resistência mecânica e à corrosão, além de baixo custo. Após a Segunda Guerra Mundial, o titânio tem despertado grande interesse por apresentar propriedades adequadas, como alta resistência mecânica, à corrosão e ao desgaste, valor adequado de módulo de elasticidade e apresenta biocompatibilidade (Long e Rack, 1998; Ratner, 2004; Geetha *et al.*, 2009; Tian *et al.*, 2010).

1.2. Ligas de titânio

O titânio comercialmente puro (Ti-cp) é atualmente o metal mais bem visto para ser utilizado na área biomédica, mas, independentemente de ele possuir excelente resistência à corrosão, ele não apresenta propriedades mecânicas adequadas para ser aplicado como prótese de quadril. Assim, diversas propriedades do Ti-cp podem ser melhoradas com a adição de elementos substitucionais e intersticiais, e por técnicas de processamentos termomecânicos, permitindo-lhe uma melhora em suas propriedades mecânicas, surgindo assim suas ligas (Niinomi, 2008; Geetha *et al.*, 2009).

As primeiras ligas de titânio utilizadas foram ligas do tipo α , desenvolvidas para aeronaves e mísseis. O titânio é tão resistente quanto o aço, mas 45% mais leve, é 60% mais pesado que o alumínio, mas duas vezes mais resistente (Lide, 2004). Em seguida, as ligas tipo $\alpha+\beta$ ganharam a atenção, em virtude de sua grande faixa de propriedades, sendo a liga Ti-6Al-4V muito utilizada até os dias de hoje. Porém, recentemente, trabalhos constataram que o vanádio é citotóxico, enquanto o alumínio tem sido associado com desordens neurológicas (como mal de Alzheimer) quando utilizado em longo prazo. A nova classe de ligas de titânio tem buscado ligas do tipo β , pois apresentam menor módulo de elasticidade. Estas novas ligas têm

sido produzidas com a adição principalmente de molibdênio, zircônio, tântalo, nióbio e manganês, que são elementos que não apresentam reações citotóxicas com o organismo (Havary-Nassab *et al.*, 2010; Niinomi *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2014).

A redução no módulo de elasticidade (ou de Young) sem prejudicar as excelentes propriedades mecânicas e químicas do titânio é um grande desafio na área de Ciência dos Materiais, uma vez que as ligas utilizadas atualmente possuem módulos de elasticidade de 3 a 4 vezes superior ao módulo do osso humano cortical (Geetha *et al.*, 2009; Havary-Nassab *et al.*, 2010; Banerjee e Williams, 2013). Uma diferença muito grande entre o valor do módulo de elasticidade do implante e o módulo de elasticidade do osso pode ocasionar dor local ao paciente e aumentar a taxa de falha do implante. Um material com alto módulo de elasticidade faz com que a carga mecânica local seja suportada pelo implante e não pelo osso, fazendo com que este perca sua densidade óssea e fique quebradiço. Esta má distribuição de tensão é denominada de efeito “*stress shielding*” (Wong e Bronzino, 2007).

1.3. Titânio, molibdênio, manganês

O titânio é um elemento que pertence ao grupo IVB na Tabela Periódica, sendo um metal de transição. Em 883 °C apresenta uma transformação alotrópica, que até essa temperatura o elemento possui uma estrutura cristalina hexagonal compacta (fase α) e acima dessa temperatura, apresenta estrutura cristalina cúbica de corpo centrado (fase β). É um metal que possui facilidade em se ligar com outros elementos, tendo assim a possibilidade de obter ligas do tipo α , $\alpha+\beta$ ou β , dependendo assim do elemento ligante que estabilizará uma ou outra fase (Lee *et al.*, 2002; Peters *et al.*, 2005).

O molibdênio é utilizado na área de energia nuclear, armamentista e aeronáutica, possuindo estrutura cristalina cúbica de corpo centrado (fase β) (Lide, 2007). É um forte β -estabilizador e pode apresentar uma grande faixa de composição onde as fases α e β do titânio podem estar presentes. A adição desse elemento em ligas de titânio proporciona baixo módulo de elasticidade, resistência à

flexão e diminuição da temperatura β -transus (Chen *et al.*, 2006; Geetha *et al.*, 2009). Ligas binárias de titânio com a adição de até 20 %p de molibdênio tem sido alvo de variados estudos, pois apresentam boas propriedades mecânicas, baixo módulo de elasticidade, e excelente resistência à corrosão (Zhao *et al.*, 2012; Cardoso *et al.*, 2014; Correa *et al.*, 2015).

O manganês possui estrutura cristalina cúbica de corpo centrado (fase β) (Lide, 2007). É um dos elementos essenciais do corpo humano. Este elemento é fundamental para o crescimento e desenvolvimento do esqueleto e é importante para enzimas envolvidas na eliminação de radicais livres (Miao e Clair, 2009). Desta forma, o manganês é menos citotóxico que o alumínio e vanádio. É um elemento que melhorou a resistência à corrosão e propriedades mecânicas de ligas de titânio para aplicações biomédicas (Tian *et al.*, 2010).

Faz parte da segunda geração de ligas de titânio, as ligas binárias Ti-Mo, para uso como biomaterial (Ho *et al.*, 1999). Foram realizados diversos testes negativos de citotoxicidade e biocompatibilidade *in vivo* e assim essas ligas foram normatizadas pela ASTM (F2066-13, 2013). Estudos recentes sobre corrosão de cobalto, cromo e molibdênio em soluções de proteínas, descobriu-se que apenas em molibdênio havia deposição de material, mostrando que este elemento tem forte interação com proteínas (Martin *et al.*, 2013).

Nas ligas binárias Ti-Mn, o manganês tem a capacidade de redução da temperatura β -transus, confirmando seu comportamento β -estabilizador. As propriedades mecânicas, tanto a dureza como o módulo de elasticidade, sofrem grande influência do manganês, reduzindo o módulo de elasticidade e aumentando os valores de dureza, desejáveis para o uso para aplicações ortopédicas (Tian *et al.*, 2010).

Levando-se em consideração as diversas condições favoráveis das ligas do sistema Ti-Mo e Ti-Mn para aplicação como biomateriais, a formação de ligas ternárias pode apresentar propriedades mais interessantes para a área biomédica. Em função disso, ligas ternárias do sistema Ti-Mo-Mn podem possibilitar a formação de ligas do tipo β , com baixo módulo de elasticidade e pequena concentração de elementos de liga.

1.4. Modelos teóricos

Quando se fala em desenvolvimento de novas ligas de titânio com baixo módulo de elasticidade, modelos teóricos estão sendo utilizados para a escolha da concentração dos elementos de liga, com o design prévio das ligas auxiliando na otimização das propriedades futuras.

Pode-se determinar a composição de ligas de titânio com base em estudos prévios, de modo que se saiba a quantidade necessária de cada elemento para que se estabilize a fase β . O molibdênio é um dos principais elementos β estabilizador e a partir de 10% em peso já obtém-se essa fase (Ho *et al.*, 1999). Com isso, foi possível chegar a uma equação que relaciona a porcentagem equivalente do molibdênio com outros elementos, indicadores da estabilização da fase β (Boyer *et al.*, 1994):

$$[Mo]_{eq} = [Mo] + [Ta]/5 + [Nb]/3,6 + [W]/2,5 + [V]/1,5 + 1,25[Cr] + 1,25[Ni] + 1,7[Mn] + 1,7[Co] + 2,25[Fe] \quad (1)$$

onde: $[x]$ é a concentração em porcentagem em peso do elemento referente.

substituindo os valores de cada elemento das ligas na equação (1) temos:

$$[Mo]_{eq} = 10[Mo] + 5,1,7[Mn] = 18,5 \%p. \quad (2)$$

$$[Mo]_{eq} = 15[Mo] + 5,1,7[Mn] = 23,5 \%p. \quad (3)$$

Portanto, pela teoria, ambas serão ligas de titânio do tipo β .

Uma outra forma recente para o design de novas ligas de titânio com baixo módulo de elasticidade tem sido realizada utilizando a Teoria do Orbital Molecular DV- $X\alpha$. Este método é construído com base na aproximação de Hartree-Fock-Slater usando o potencial $X\alpha$ de Slater (Morinaga e Yukawa, 1997; Abdel-Hady *et al.*, 2007). O método considera dois parâmetros eletrônicos, M_d e B_o . B_o representa a intensidade da força de ligação covalente entre o titânio e seus elementos de liga. M_d é relacionado com o nível de energia do orbital d do metal de transição que está sendo ligado, e este parâmetro está associado a eletronegatividade e aos raios

atômicos dos elementos envolvidos. O cálculo destes parâmetros foi realizado para diferentes tipos de elementos de liga, principalmente os metais de transição. Na Tabela 1 são apresentados os valores para os elementos de liga do sistema Ti-Mo-Mn (Abdel-Hady *et al.*, 2006; Abdel-Hady *et al.*, 2008).

Tabela 1 - Valores B_o e M_d para os elementos de liga utilizados neste trabalho.

Elemento	B_o	M_d (eV)
Ti	2,790	2,447
Mo	3,063	1,961
Mn	2,723	1,194

O valor dos parâmetros B_o e M_d para uma liga é obtido calculando-se a média destes parâmetros a partir da soma da fração atômica de cada elemento de liga com seu respectivo valor teórico (Abdel-Hady *et al.*, 2006; Abdel-Hady *et al.*, 2007):

$$\bar{B}_o = \sum_i x_i (B_o)_i \quad (2)$$

$$\bar{M}_d = \sum_i x_i (M_d)_i \quad (3)$$

onde x é a porcentagem atômica do elemento de liga.

Em seguida, os valores são colocados em um diagrama B_o - M_d , onde podem ser localizados em regiões com as diferentes fases do titânio, inclusive a região de fase $\beta+\omega$. Além disso, é possível observar no diagrama regiões de diferentes tipos de deslizamento de planos e obter uma estimativa do valor do módulo de elasticidade da liga. É possível prever também, a presença de efeito memória de forma e superelasticidade nas ligas (Abdel-Hady *et al.*, 2006; Abdel-Hady *et al.*, 2007). A Tabela 2 apresenta a média dos parâmetros e a Figura 2 mostra o diagrama B_o - M_d com a previsão de localização das ligas do sistema Ti-xMo-5Mn, que se encontram na região de fase β .

Tabela 2 - Média dos parâmetros Bo-Md.

Liga	B_o	M_d (eV)
Ti-10Mo-5Mn	2,801	2,363
Ti-15Mo-5Mn	2,209	2,348

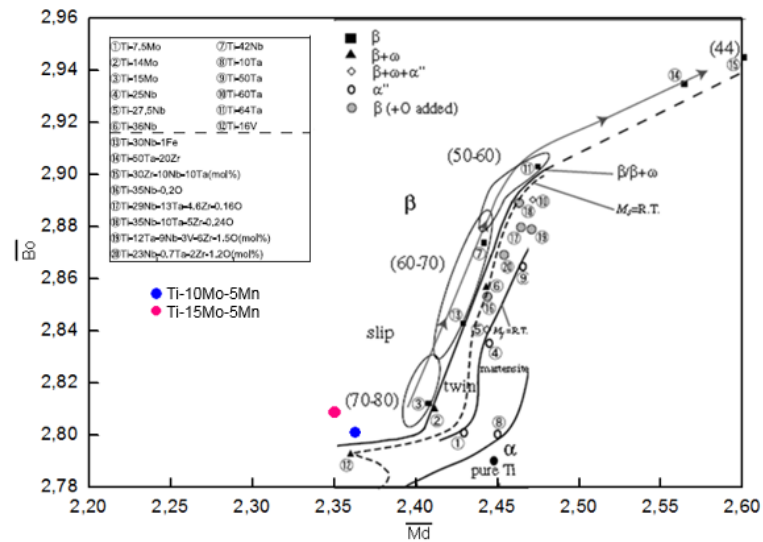


Figura 2 - Diagrama B_o - M_d , com diversas ligas de titânio e as ligas Ti-xMo-5Mn utilizadas neste trabalho.

2. Objetivo

Desenvolver e caracterizar novas ligas do sistema Ti-Mo-Mn, com baixo módulo de elasticidade, visando aplicações biomédicas. As ligas foram projetadas utilizando a Teoria do Orbital Molecular e do molibdênio equivalente, sendo obtidas por fusão a arco-voltaico. Este trabalho também objetivou analisar a influência de alguns tratamentos termomecânicos como homogeneização, laminação, solubilização e recozimento, na estrutura, microestrutura e em algumas propriedades mecânicas selecionadas (microdureza Vickers e módulo de elasticidade). Com o intuito de avaliar a biocompatibilidade das ligas, foi realizado teste de citotoxicidade, utilizando método de MTT indireto.

3. Materiais e Métodos

3.1.1. Preparação das amostras

Para a preparação das amostras utilizou-se como elementos precursores metais comercialmente puros. Os materiais foram pesados e separados na concentração nominal (Ti-10Mo-5Mn %p. e Ti-15Mo-5Mn %p.), foram decapados em uma solução de 50% de água, 25% de ácido nítrico, 15% de ácido clorídrico e 10% de ácido fluorídrico, posteriormente passando por uma lavagem ultrassônica com o objetivo de eliminar qualquer tipo de impureza superficial.

3.1.2. Fusão a arco voltaico

Com os materiais precursores devidamente limpos, eles foram fundidos em um forno de fusão a arco-voltaico (Figura 3), numa atmosfera inerte e controlada de argônio para evitar contaminações, em um cadinho de cobre refrigerado a água e eletrodo não consumível de tungstênio. A fusão foi efetuada pelas seguintes etapas: com os precursores inseridos no cadinho, foi fechado o forno, feito vácuo de aproximadamente 10^{-2} Torr por 30 minutos, seguido pelo processo de purga, adicionando argônio, que é um gás inerte, mantido por 3 minutos, e posteriormente submetido a uma nova limpeza por vácuo e mantido por 10 minutos, este procedimento foi realizado em um total de 5 vezes. Assim iniciou-se a fusão, realizando o derretimento completo dos metais. Em seguida, o lingote foi fundido de uma extremidade a outra, sendo posteriormente virado e repetido o procedimento de fusão por mais 5 vezes, para garantir uma boa homogeneidade da liga.

Os lingotes foram produzidos no Laboratório de Anelasticidade e Biomateriais, da Faculdade de Ciências de Bauru da UNESP.



Figura 3 – Fotografia do forno de fusão a arco voltaico.

3.2. Processamentos termomecânicos

3.2.1. Tratamentos térmicos

Entende-se por tratamento térmico o ato de aquecer o material a uma determinada temperatura e resfriá-lo após algum tempo, em condições estabelecidas com a finalidade de dar ao material propriedades especiais. As principais condições que devem ser levadas em conta são o aquecimento, o tempo de permanência à temperatura, o resfriamento e a atmosfera do local de aquecimento. O propósito de se fazer tratamento térmico é obter mudanças nas características mecânicas e estruturais dos materiais (Cortez *et al.*, 2007).

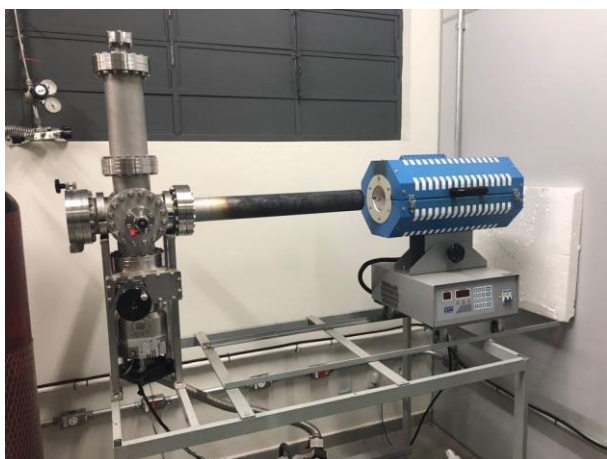
O tratamento térmico de homogeneização (Figura 4 a) foi realizado após a fusão das ligas. O objetivo desse tratamento era aliviar as tensões internas, diminuir as imperfeições adquiridas pelo gradiente de resfriamento do forno de fusão e

eliminar os possíveis segregados por meio da difusão atômica dos elementos de liga, assim homogeneizando as amostras (Martins Júnior *et al.*, 2011). O tratamento foi realizado em vácuo de 10^{-5} Torr, por 24h a 1000 °C, sendo que o resfriamento foi efetuado diminuindo a temperatura com uma taxa de 5 °C/min.

A fim de estudar a influência dos tratamentos térmicos nas ligas, dois tratamentos após a laminação a quente foram realizados, um de solubilização (Figura 4 b), com resfriamento rápido em água, com o intuito de melhorar a resistência mecânica do material (Vicente *et al.*, 2014). Este tratamento foi realizado em vácuo de 10^{-5} Torr, com taxa de aquecimento de 10 °C/min, a 900 °C por 3h, com resfriamento rápido com água.

O outro tratamento térmico foi o de recozimento (Figura 4 a), com o pressuposto de remover tensões internas devido ao processamento mecânico da laminação, alterando as propriedades mecânicas. Esse tratamento foi realizado em vácuo de 10^{-5} Torr, com taxa de aquecimento de 10 °C/min, a 900 °C por 3h, com resfriamento controlado por 10 °C/min.

Para os três tratamentos, um antes da laminação e dois após a laminação, utilizou-se os sistemas de tratamentos térmicos do Laboratório de Anelasticidade e Biomateriais da UNESP/Bauru, mostrados na Figura 4.



(a)



(b)

Figura 4 – Sistemas de tratamentos térmicos, com resfriamento lento em vácuo (a) e com resfriamento rápido em vácuo com água (b).

3.2.2. Laminação a quente

A laminação a quente foi realizada após o tratamento térmico de homogeneização, com o objetivo de se obter um material com formato regular para que se pudesse realizar medidas do módulo de elasticidade. As amostras foram aquecidas em um forno tipo mufla a uma temperatura de aproximadamente 1000 °C e depois passadas no rolo do laminador, tendo este processo sido repetido até se atingir a espessura desejada. A cada etapa de laminação, a espessura era reduzida em 1 mm, e a cada passo, as amostras eram recolocadas no forno para que o processo ocorresse em alta temperatura (Handbook, 2005). As amostras laminadas sofreram resfriamento natural ao ar. Ao fim, obteve-se 4 mm de espessura nas ligas com formato irregular.

A liga foi laminada na laminadora da marca FENN (Figura 5) pertencente ao Departamento de Materiais (DEMA), UFSCar, São Carlos (SP).



Figura 5 - Fotografia da laminadora FENN utilizada neste trabalho.

3.2.3. Nomenclatura das amostras

Na figura 6 é apresentado o diagrama de processamentos com a nomenclatura adotada.

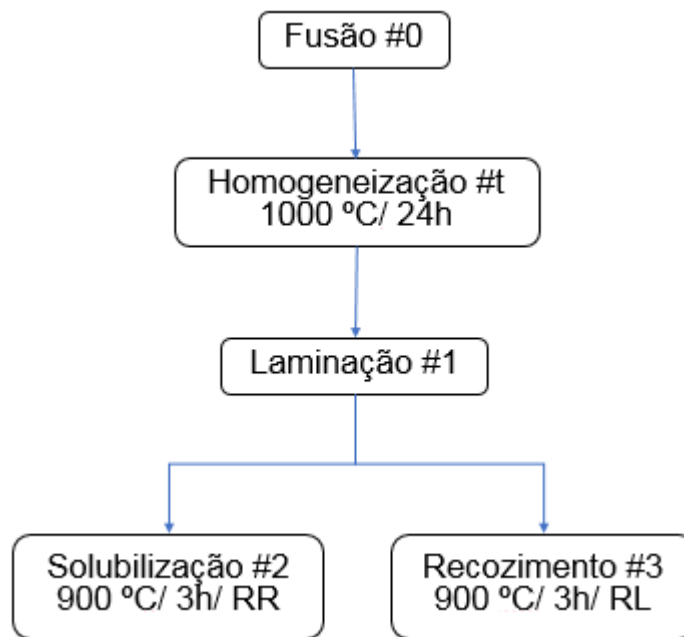


Figura 6 - Diagrama geral de processamento.

3.3. Caracterização química

Na área de processamento de materiais, é necessário realizar análises para saber a concentração química dos elementos em uma liga, para se ter certeza que no processo de preparação não houve alteração na quantidade dos elementos ou adição de impurezas, fazendo com que se altere a constituição final da liga.

Para a análise química das amostras, foi efetuada a dissolução de pequenas partes da liga em meio ácido, seguido da detecção e quantificação dos elementos de liga e impurezas metálicas, em um espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido. O equipamento utilizado foi um espectrômetro modelo Vista, da Varian. Para a realização da análise de composição química, foi retirado um pedaço do

lingote e picotado entre 2g a 3g. A análise da composição química dos elementos metálicos foi realizada no Centro de Caracterização e Desenvolvimento de Materiais (CCDM) na Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), em São Carlos.

A Espectroscopia por Dispersão de Energia de Raios X (EDS), que também é um método para analisar a composição química, é um acessório essencial no estudo de caracterização microscópica de materiais metálicos e cerâmicos. Por EDS podem ser caracterizados elementos com número atômico superior a 11. Quando o feixe de elétrons incide sobre um material, os elétrons mais externos dos átomos e os íons constituintes são excitados, mudando de níveis energéticos. Ao retornarem para sua posição inicial, liberam a energia adquirida a qual é emitida em comprimento de onda no espectro de raios X. Um detector instalado na câmara de vácuo do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) mede a energia associada a esse elétron. Como os elétrons de um determinado átomo possuem energias distintas, é possível, no ponto de incidência do feixe, determinar quais os elementos químicos que estão presentes naquele local e assim identificar em instantes que material está sendo observado (Devavid *et al.*, 2007).

A análise química por EDS e o mapeamento foram realizados em um detector da OXFORD, modelo INCA X-Act, acoplado a um microscópio eletrônico de varredura EVO LS15 da Carl Zeiss, com filamento de tungstênio (Figura 7). Para as medidas de mapeamento dos elementos de liga foi realizada uma média de 3 medidas em regiões diferentes, avaliando a distribuição e homogeneidade no lingote, sendo mapeados os elementos da liga (Ti, Mo e Mn) na ampliação de 1000x, durante 60 s, utilizando o feixe de elétrons secundários. O equipamento multiusuário pertence à Faculdade de Ciências da UNESP de Bauru.

Os diferentes níveis de pureza do titânio comercial são determinados pelo teor de oxigênio. As propriedades mecânicas, como resistência mecânica e módulo de elasticidade podem ser aprimoradas com o aumento do oxigênio. Porém, nesse trabalho, não foi analisado a influência desse elemento nas ligas, portanto não se espera que tenha oxigênio nas amostras produzidas.



Figura 7 - Fotografia do microscópio eletrônico de varredura utilizado neste trabalho.

O teor de oxigênio na amostra foi determinado utilizando o método de fusão sob gás inerte e detecção por absorção de radiação infravermelha, em um equipamento LECO modelo TC400. A análise foi realizada no Laboratório de Metalurgia Física e Solidificação, Faculdade de Engenharia Mecânica, UNICAMP.

A densidade é um quesito importante para a avaliação de um biomaterial, pois um implante com densidade inadequada pode ocasionar uma tensão extra na região óssea, que pode causar desconforto ao paciente. As densidades experimentais das ligas foram medidas por intermédio do princípio de Arquimedes, que pode ser enunciado como: “todo corpo mergulhado num fluido em repouso sofre, por parte do fluido, uma força vertical para cima chamado de empuxo, cuja intensidade é igual ao peso do fluido deslocado pelo corpo”. A partir deste princípio, podemos obter a densidade utilizando a seguinte equação (HALLIDAY, RESNICK e MERRIL, 1992):

$$\rho_{amostra} = \frac{m_{ar}}{m_{ar} - m_{fluido}} \rho_{fluido} \quad (4)$$

onde: $\rho_{amostra}$ é a densidade do material a ser medido, m_{ar} a massa do corpo medida no ar, m_{fluido} a massa do corpo imersa no fluido e ρ_{fluido} a densidade do fluido utilizado.

Por meio desta expressão é possível obter a densidade experimental de um material. Após encontrar os valores experimentais, eles foram comparados com o valor da densidade teórica, que pode ser encontrada por intermédio da expressão (Callister Jr., 2016):

$$\rho = \frac{\frac{m_{Ti}}{M_{Ti}} \rho_{Ti} + \frac{m_{Zr}}{M_{Zr}} \rho_{Zr} + \frac{m_{Mo}}{M_{Mo}} \rho_{Mo}}{\frac{m_{Ti}}{M_{Ti}} + \frac{m_{Zr}}{M_{Zr}} + \frac{m_{Mo}}{M_{Mo}}} \quad (5)$$

onde: m é a massa, M é a massa atômica e ρ é a densidade do elemento.

Foi utilizada uma balança analítica Explorer da Ohaus Corporation, junto com um kit de determinação de densidade. Para isso foi utilizada água destilada como fluido, com densidade de 0,9988 g/cm³ na temperatura ambiente (27 °C) (Lide, 2007). As medidas de massa foram repetidas 5 vezes em cada condição.

3.4. Caracterização estrutural e microestrutural

As propriedades mecânicas das ligas de titânio são fortemente dependentes da sua microestrutura. Após cada condição de processamento foram efetuadas análises estruturais e microestruturais, por meio de difração de raios X e microscopias óptica e eletrônica de varredura.

3.4.1. Difração de raios X

Os raios X foram descobertos em 1895 por Wilhelm Conrad Roentgen (1845-1923), Professor na Universidade Wuerzburg, Alemanha. Enquanto trabalhava com um tubo catódico no seu laboratório, observou um brilho fluorescente de cristais numa mesa próxima do tubo. Esse tubo consistia de um invólucro de vidro com eletrodos positivo e negativo encapsulados. O ar do tubo tinha sido evacuado e quando uma alta voltagem era aplicada, produzia um brilho fluorescente. Roentgen protegeu o tubo com papel pesado e negro e descobriu um tipo de radiação emitida

pelo tubo, sendo capaz de atravessar a proteção de papel pesado e excitando os materiais fosforescentes na sala. Descobriu que esta nova radiação conseguia atravessar a maior parte das substâncias e projetar sombras de objetos sólidos. A descoberta de Roentgen foi uma bomba para a Ciência, tendo sido recebida com extraordinário interesse. A Ciência ficou também fascinada com a demonstração de um comprimento de onda desta radiação menor que o da luz, uma vez que gerou novas possibilidades na física e para a investigação da estrutura da matéria (Cullity, 1978).

Os raios X são ondas eletromagnéticas assim como a luz, porém com comprimento de onda muito curto (aproximadamente entre 0,5-2,5 Å) que ocupam a região entre os raios gama e ultravioleta. A geração de raios X ocorre quando uma partícula carregada com alta energia é desacelerada rapidamente. Quando um feixe de raios X incide sobre um átomo isolado, os elétrons do mesmo serão excitados e vibrarão com a mesma frequência do feixe incidente, o que ocasionará um espalhamento do feixe incidente em todas as direções. Contudo, quando os átomos estão organizados em um reticulado cristalino e como o feixe de raios X tem um comprimento de onda da ordem do espaçamento entre estes átomos, ocorrerá interferência construtiva ou destrutiva, dependendo do ângulo de incidência (Callister Jr., 2016). A Figura 8 mostra um diagrama mostrando a difração de raios X.

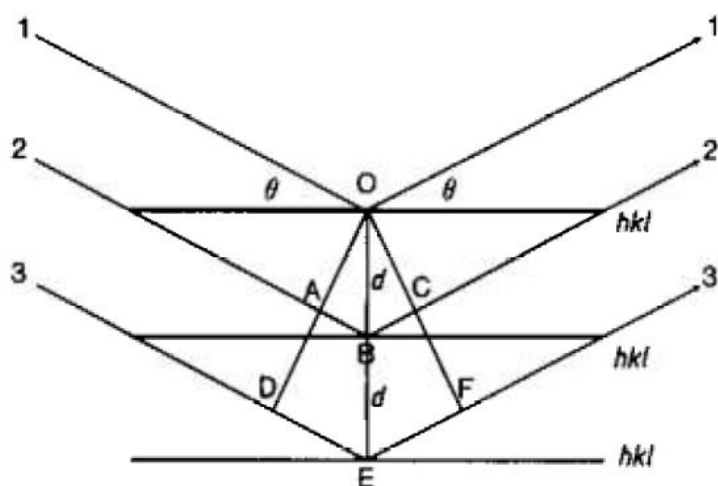


Figura 8 - Feixe de raios X incidindo sobre um conjunto de planos atômicos com índices hkl e fazendo um ângulo θ com eles.

Os principais equipamentos utilizados para as medidas de difração de raios X são a câmara de Debye-Scherrer e o difratômetro, eles são compostos por uma fonte e um detector em uma circunferência centrada na amostra. O feixe de raios X é gerado pela fonte S e passa pelo colimador A para que o feixe se torne coerente. Depois ele é incidido sobre a amostra C, fixada em um suporte H. A amostra é então rotacionada em torno do eixo O, perpendicular ao plano do papel. O feixe espalhado passa pelos colimadores B e F e chega ao detector G, preso ao suporte E. Os suportes são acoplados de tal forma que uma rotação de um ângulo θ na amostra é acompanhada de uma rotação de 2θ no detector (Cullity, 1978), conforme mostra a Figura 9.

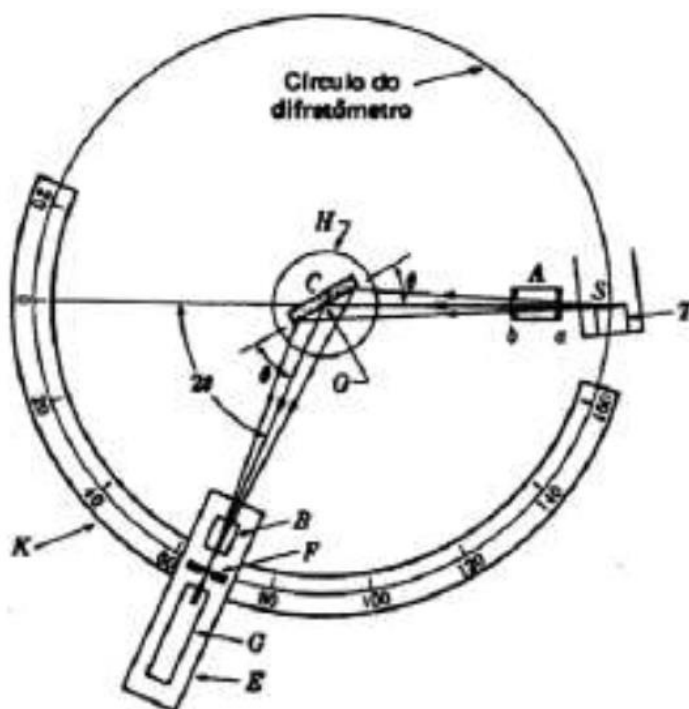


Figura 9 - Diagrama esquemático do difratômetro de raio X.

A análise estrutural foi realizada por intermédio de medidas de difração de raios X, foi utilizado o método do pó. Para isso, as amostras foram lixadas com auxílio de uma lima e um ímã para retirar quaisquer resquícios provenientes da lima. Foi utilizado um difratômetro Rigaku modelo miniflex 600, com radiação Cu-K α ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$), pertencente ao Laboratório de Nanotecnologia da Faculdade de

Ciências de Bauru da UNESP, coordenado pelo Prof. Dr. Fenelon Martinho Lima Pontes. Os dados foram coletados utilizando-se modo de tempo fixo, com passo de 0,04°, variando entre 20° a 80°, e tempo de coleta de 10 °/min.

3.4.2. Microscopia óptica

A microscopia óptica, proporciona imagens com contrastes que resultam das diferenças de refletividade das várias regiões microscópicas e é utilizada para observar as fases existentes e suas distribuições, a qualidade da estrutura, e o tamanho do grão em materiais policristalinos. Foi utilizado um microscópio Olympus BX51M conectado a um microcomputador (Figura 10), pertencente ao Laboratório de Anelasticidade e Biomateriais da Faculdade de Ciências da UNESP/Bauru.

Para a análise microestrutural as amostras passaram por um processo de preparação, onde foram cortadas (cortadora de metais IsoMet marca Buehler) e embutidas para que depois pudessem ser lixadas e polidas, assim ficando prontas para serem levadas aos microscópios. O lixamento e polimento foram realizado em uma politriz da marca Arotec, com lixas d'água (de granulação 300, 400, 500, 600, 800, 1200 e 1500) e pano autoadesivo com solução coloidal de alumina (1 µm) por ± 10 min até ficar espelhado, após o polimento as amostras foram atacadas em meio ácido com solução Keller (50 ml água, 25 ml de ácido nítrico, 15 ml de ácido clorídrico e 10 ml de ácido fluorídrico), por ± 20 segundos até revelar a estrutura do material.

3.4.3. Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura é amplamente utilizada na área de Ciência e Engenharia de Materiais, pelo fato de permitir a visualização em dimensões nanométricas, detalhes que não são possíveis observar com a microscopia óptica (Zhou *et al.*, 2006). É um equipamento versátil que permite a

obtenção de informações estruturais e químicas de amostras diversas. Um feixe fino de elétrons de alta energia incide na superfície da amostra onde, ocorrendo uma interação, parte do feixe é refletida e coletada por um detector que converte este sinal em imagem de BSE (ou ERE) – imagem de elétrons retroespalhados – ou nesta interação a amostra emite elétrons produzindo a chamada imagem de SE (ou ES) - elétrons secundários. Ocorre também a emissão de raios X que fornece a composição química de um ponto ou região da superfície, possibilitando a identificação de praticamente qualquer elemento presente. O MEV é um equipamento capaz de produzir imagens de alta ampliação (até 300.000x) e resolução (Clarke e Eberhardt, 2002; Callister Jr., 2016).



Figura 10 - Fotografia do microscópio óptico Olympus BX51M utilizado neste trabalho.

As imagens foram obtidas em aumentos de 2000x, 3000x e 4000x, por meio do feixe de elétrons secundários e retroespalhados. O microscópio eletrônico de varredura utilizado foi do tipo EVO LS15 da Carl Zeiss, com filamento de tungstênio,

sendo um equipamento multiusuário que pertence à Faculdade de Ciências da UNESP-Bauru.

3.5. Propriedades mecânicas

3.5.1. Microdureza Vickers

A dureza de um material está relacionada com a resistência que ele opõe à penetração em sua superfície. O método para obter a microdureza Vickers é aplicar uma carga em um penetrador que vai ficar em contato com a superfície da amostra por um determinado tempo, deixando uma marca de penetração na superfície. Essa marca é dependente da resistência, da dureza do material, então quanto menor for a indentação maior será a dureza.

O penetrador é talhado em diamante, tem forma de uma pirâmide quadrangular, sendo o ângulo entre as faces opostas de 136°. Por ter esta forma, o indentador incide numa região muito pequena, restringindo a áreas muito pequenas no material, sendo assim designado microdureza.

A medida da dureza Vickers (HV) é obtida pela razão entre a força aplicada (F) pela área (d) da impressão deixada na amostra (Van Vlack, 1977; Collings, 1984):

$$HV = \frac{F}{\frac{d^2}{2 \sin 68^\circ}} = \frac{1,8544F}{d^2} \quad (6)$$

Para essa medida, foi utilizado o microdurômetro Shimadzu HVM-2, com uma carga de 0,200 kgf (1,961 N) pelo tempo de 60 segundos. Em cada amostra foram realizadas cinco identações em regiões distintas seguindo as normas técnicas para este ensaio (E92-16, 2016; E384-16, 2016). As medidas foram realizadas na UNESP - Câmpus de Ilha Solteira em colaboração com o Prof. Dr. João Carlos Silos Moraes.

3.5.2. Módulo de elasticidade

O módulo de elasticidade (ou de Young) é um quesito importante para a confecção de um implante. Uma diferença muito grande no valor do módulo entre o implante e o osso pode ocasionar dor local ao paciente e aumentar a taxa de falha do implante. Um material com alto módulo de elasticidade faz com que a carga mecânica local seja suportada pelo implante e não pelo osso, fazendo com que este perca sua densidade óssea e fique quebradiço. Esta má distribuição de tensão é denominada de efeito “*stress shielding*” (Li *et al.*, 2003; Wong, 2007)

Para realizar essa medida, foi utilizado o método dinâmico de excitação por impulso, de acordo com a norma ISO E1876-15 (E1876-15, 2015). Este método consiste em calcular o módulo elástico a partir das frequências naturais de vibração do corpo de prova e de seus parâmetros geométricos.

A amostra foi apoiada por fios em seus pontos nodais e em seguida sofreu uma leve pancada na superfície central, causando uma vibração. Um microfone capta a frequência de vibração da amostra, e envia os dados para que um software, utilizando os parâmetros geométricos, calculando o módulo de elasticidade por intermédio de ferramentas matemáticas.

O módulo de elasticidade foi obtido utilizando o equipamento Sonelastic® (Figura 11), pertencente ao Laboratório de Anelasticidade e Biomateriais da UNESP em Bauru (SP).

3.6. Citotoxicidade

O teste de MTT (3- (4,5-dimetil-2-tiazolil) -2,5-difenil-2H-tetrazolol) (Sigma) é um método colorimétrico rápido, que é mediado pela enzima succinato desidrogenase (presente nas mitocôndrias de células viáveis). Foi utilizada uma modificação do método de Mosmann para o ensaio de citotoxicidade e esses testes têm um caráter quantitativo e podem ser analisados de forma direta ou indireta, que

é feita através da leitura da absorbância (Mosmann, 1983; Donato *et al.*, 2009). A citotoxicidade das ligas foi determinada pelo teste de MTT indireto pelo motivo de otimização do experimento, as amostras estavam em um formato quadrado e não em formato redondo com diâmetro de 6 mm, tamanho do controle que é usado para realizar o experimento de forma direta.



Figura 11 – Fotografia do equipamento Sonelastic® da ATCP Engenharia Física, utilizado para as medidas de módulo de elasticidade.

A linhagem L929 (fibroblastos de camundongo, ATCC) provenientes de tecido conjuntivo subcutâneo, obtidos de camundongos machos com idade de 100 dias, que são indicadas para testes de biocompatibilidade, estavam na passagem 20, foram mantidas em meio de Eagle modificado por Dulbeccos (DMEM) suplementado com FBS a 10% e 1% de antibiótico. As células foram incubadas sob condições de cultura de células padrão (37°C, 95% de umidade e 5% de CO₂) e o meio foi trocado a cada 2-3 dias.

O extrato das ligas foi preparado a partir de 1 g de liga / 1 mL de DMEM a 37 °C durante 48 horas, seguindo a norma ISO 10993-5(10993, 2005).

As células foram cultivadas em microplacas de 96 poços e incubadas a uma densidade de 110 células / mm². A base média utilizada como controle negativo (sem citotoxicidade) e foi substituída pelo extrato obtido de ligas, enquanto uma solução de DMEM, 10% de FBS e 1% de fenol foi o controle positivo (citotóxica). A

densidade óptica dos poços foi determinada usando um leitor de placas com um comprimento de onda de teste de 640 nm em um leitor de microplacas SpectraMax Plus (Dispositivos Moleculares).

Na análise de MEV, as células de fibroblasto estavam na lamínula de vidro e o meio de cultura foi substituído pelos extratos obtidos da liga. Após 48 horas, as células foram fixadas e foram então rotineiramente processadas para microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Donato *et al.*, 2014). As amostras foram montadas sobre substratos de alumínio, pulverizados com ouro e examinados em um microscópio eletrônico de varredura EVO LS-15 (Figura 6). O poliestireno foi utilizado como controle negativo (sem citotoxicidade), enquanto uma solução de α -MEM, 10% de FBS e 1% de fenol foi o controle positivo (citotóxica).

4. Resultados e Discussões

4.1. Preparação e caracterização das ligas

Durante o processo de fusão a liga vai soltando uma fumaça preta proveniente do manganês e faz com que o forno fique completamente sujo (Figura 12), tendo que ser aberto, limpo e recomeçar novamente o processo, fazendo vácuo e purga por 5x para poder limpar a atmosfera. Na Figura 13 é apresentado o forno após a limpeza e preparado para continuar a fusão.



Figura 12 - Fotografias do forno sujo, aberto para a limpeza (a) e do vidro do forno, sem conseguir enxergar seu interior (b).



Figura 13 - Fotografia do interior do forno através do vidro, após a limpeza.

A Figura 14 apresenta os lingotes obtidos após o processo de fusão. Ambos apresentam um aspecto prateado indicando baixa concentração de impurezas.

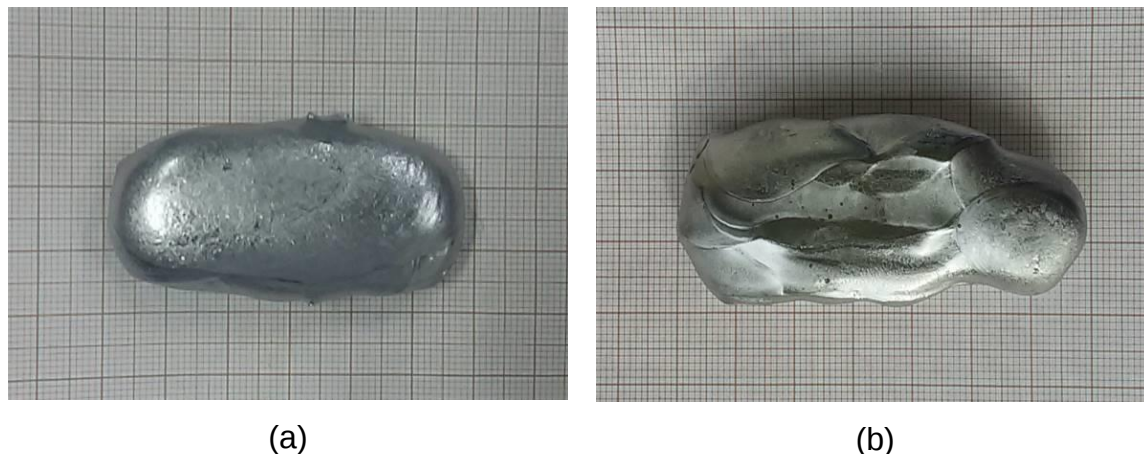


Figura 14 – Fotografia do lingote da liga Ti-10Mo-5Mn (a) e Ti-15Mo-5Mn (b), após a fusão.

As análises da composição química por ICP-OES e EDS são apresentadas nas Tabelas 3 e 4, respectivamente. As técnicas apresentam resultados próximos, com os elementos das ligas do sistema Ti-Mo-Mn próximos dos valores nominais, não apresentando contaminação com outros elementos metálicos, o que corrobora com os espectros dos elementos mostrados na Figura 15, que apenas apresentaram picos dos elementos de liga. Levando em consideração a norma ASTM F 2066-08 que rege a liga Ti-15Mo, que estabelece que a concentração tem que estar ± 1 %p da concentração nominal, as ligas desse estudo estão dentro desse parâmetro estabelecido.

Na Tabela 5 são mostrados os valores da análise de gases, que indicou baixo teor de oxigênio e nitrogênio presente nas ligas. Essas concentrações são relativamente baixas, e estão dentro do valor aceito pela norma F2066-13 (F2066-13, 2013), que é tolerado o teor máximo de $(0,20 \pm 0,02)$ %p para o oxigênio e $(0,05 \pm 0,02)$ %p para o nitrogênio. Portanto, os gases presentes nas amostras, que estão dissolvidos intersticialmente e são oriundos do processo de fusão, se estivessem acima do percentual aceito pela norma, as ligas deveriam ser refeitas, para assim dar continuidade no trabalho.

Tabela 3 - Composição química das ligas do sistema Ti-Mo-Mn por ICP-OES.

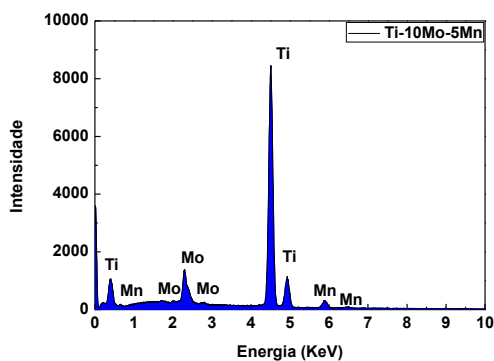
Elemento*	Ti-10Mo-5Mn	Ti-15Mo-5Mn
Al	0,03	0,04
Cr	0,03	0,008
Cu	0,007	0,003
Fe	0,09	0,09
Hf	0,08	0,13
Mn	5,0	4,2
Mo	9,5	14,3
Ni	0,01	0,004
Si	0,03	0,013
Ti	Balanço	Balanço

* Os valores estão apresentados em %p.

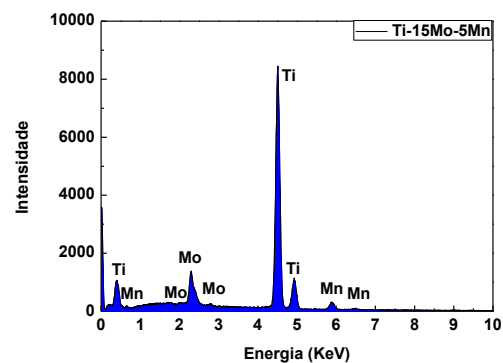
Tabela 4 - Composição química das ligas do sistema Ti-Mo-Mn, por EDS.

Elemento*	Ti-10Mo-5Mn	Ti-15Mo-5Mn
Ti	83,41	79,78
Mo	11,01	15,57
Mn	5,22	4,65

* Os valores estão apresentados em %p.



(a)



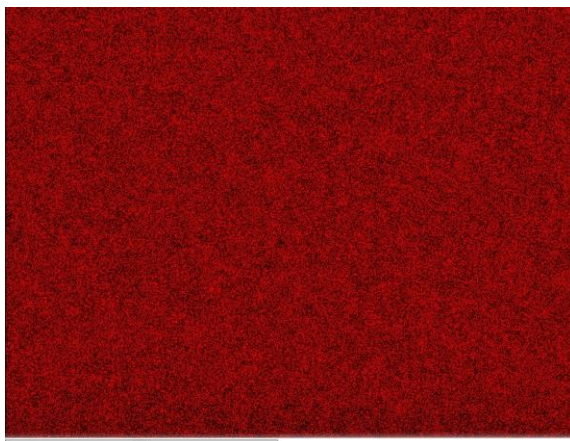
(b)

Figura 15 - Espectros de EDS para a liga Ti-10Mo-5Mn (a) e Ti-15Mo-5Mn (b).

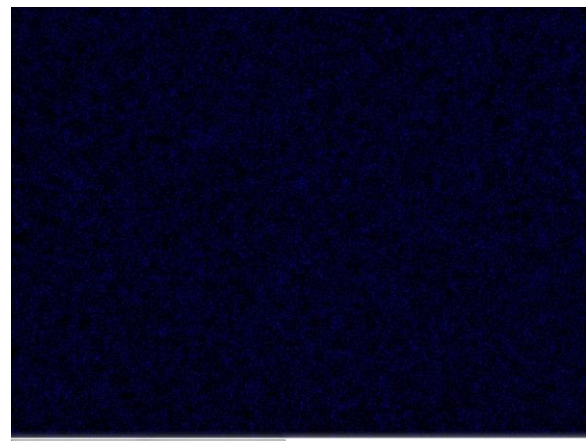
Tabela 5 - Análise de gases para as ligas do sistema Ti-Mo-5Mn.

Ti-10Mo-5Mn		Ti-15Mo-5Mn	
Oxigênio (%p)	Nitrogênio (%p)	Oxigênio (%p)	Nitrogênio (%p)
0,178 ± 0,002	0,0057 ± 0,0003	0,162 ± 0,004	0,0086 ± 0,0003

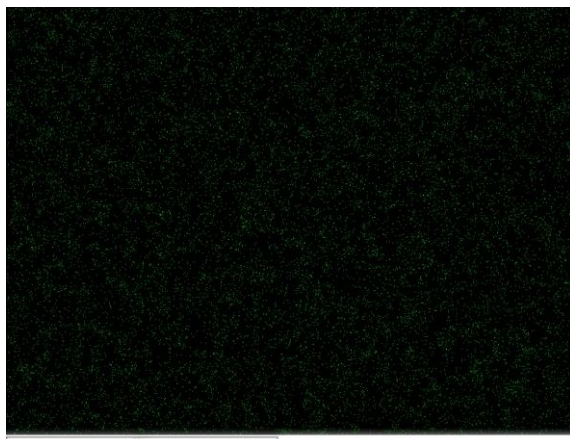
Com objetivo de avaliar a distribuição dos elementos de liga na amostra foi realizado o monitoramento utilizando EDS. Os pontos em vermelho, azul e verde representam os elementos titânio, molibdênio e manganês, respectivamente (Figura 16 e 17). Observa-se uma boa distribuição dos elementos, indicando uma boa homogeneidade em ambas as amostras, não se observando precipitados ou aglomerados.



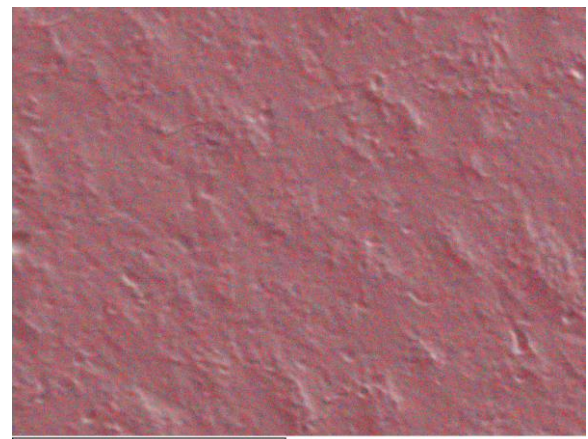
(a) Ti



(b) Mo



(c) Mn



(d) Mix

Figura 16 - Mapeamento químico por EDS para a liga Ti-10Mo-5Mn (a) Ti; (b) Mo (c) Mn e (d) Mix.

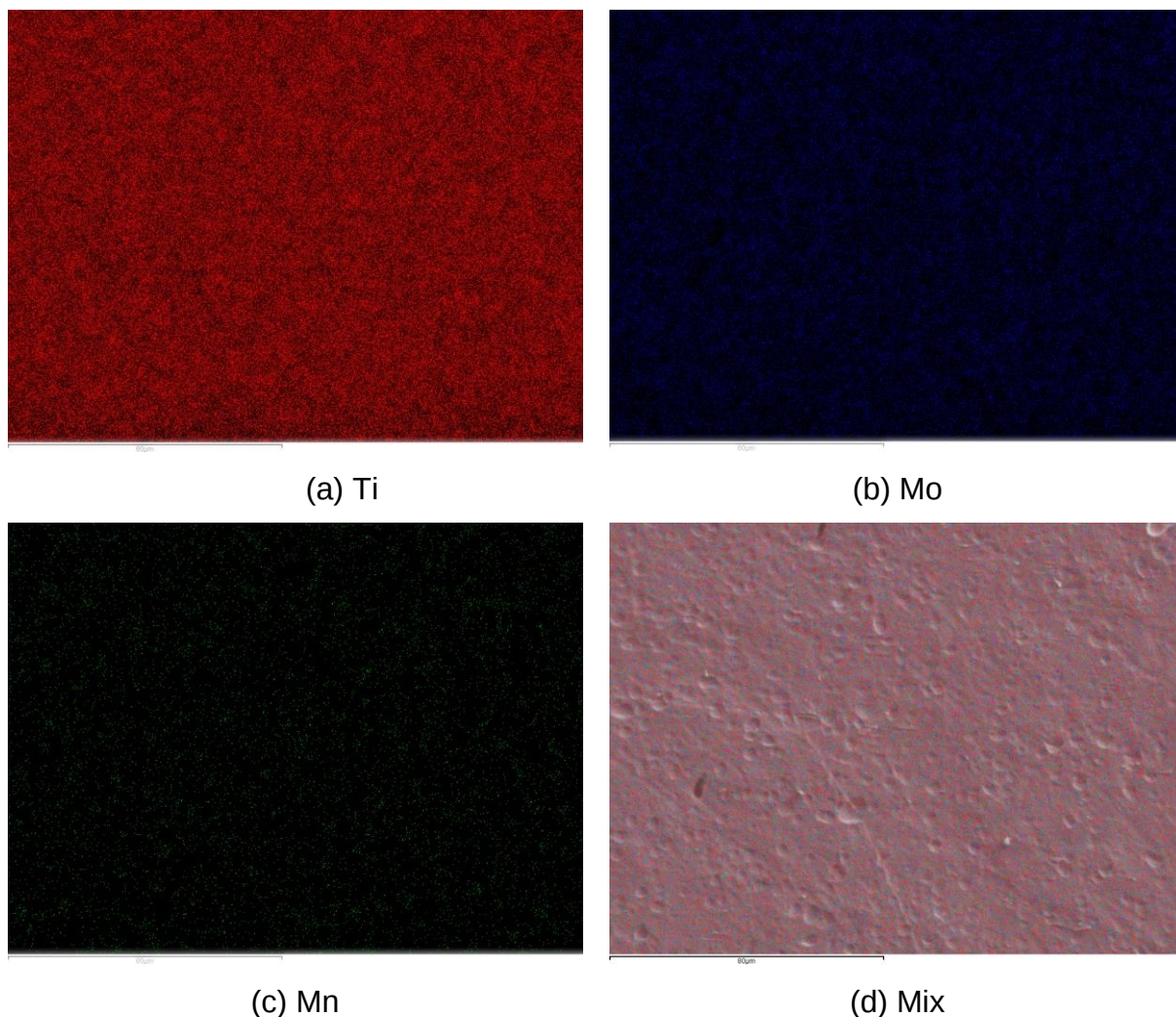


Figura 17 - Mapeamento químico por EDS para a liga Ti-15Mo-5Mn (a) Ti; (b) Mo (c) Mn e (d) Mix.

As densidades teóricas das amostras foram comparadas com as densidades obtidas pelo princípio de Arquimedes e estão apresentadas na Tabela 6. Os valores experimentais estão próximos dos valores teóricos, indicando uma boa estequiometria das amostras. O aumento da densidade entre as ligas é relacionado com a densidade dos elementos, a densidade do Mo ($10,28 \text{ g/cm}^3$) é maior que a dos outros elementos de liga, Ti ($4,54 \text{ g/cm}^3$) e Mn ($7,44 \text{ g/cm}^3$) (Callister Jr., 2016).

Uma comparação da densidade entre as ligas estudadas e ligas comerciais utilizadas na área biomédica está sendo apresentado na Figura 18. Observa-se que as ligas desse trabalho permaneceram dentro da faixa de valores, sendo um quesito

importante para implantes metálicos, pois um implante com elevada densidade pode provocar uma tensão extra na região óssea, causando desconforto ao paciente.

Tabela 6 - Comparação da densidade teórica e experimental para as ligas utilizadas neste trabalho.

Ligas	Densidade teórica (g/cm ³)	Densidade experimental (g/cm ³)
Ti-10Mo-5Mn	5,0080	4,9387 ± 0,0003
Ti-15Mo-5Mn	5,0486	5,0766 ± 0,0006

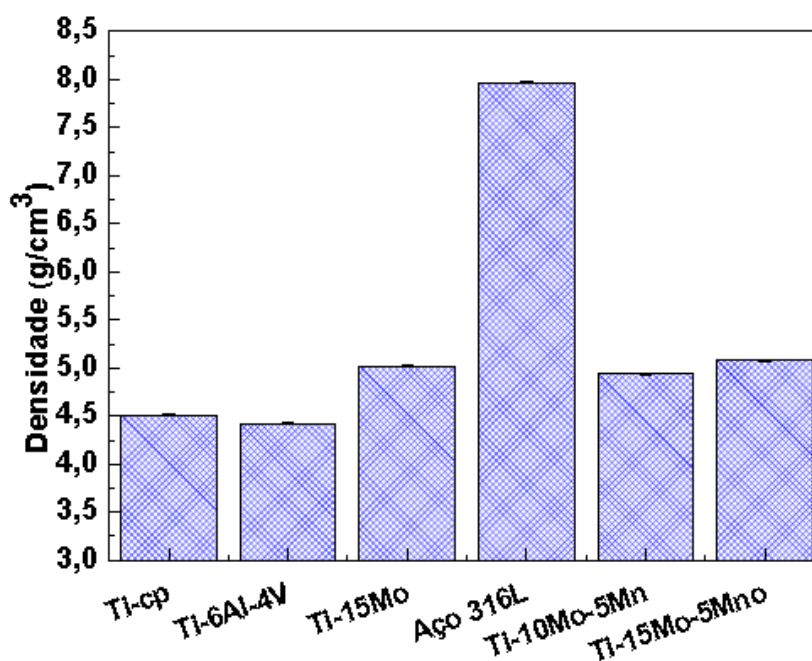


Figura 18 – Comparação da densidade das ligas estudadas com ligas comerciais.

Os resultados da análise química das amostras produzidas apresentaram valores da composição química próximos dos valores nominais, a presença de baixa concentração de gases, um teor de impureza metálica não significativo e boa homogeneidade, indicando a boa qualidade das ligas produzidas.

Os difratogramas de raios X das ligas Ti-10Mo-5Mn e Ti-15Mo-5Mn são apresentados na Figura 19. Pode-se observar que apenas os picos correspondentes

à fase β do Ti são exibidos. Os dois elementos (Mo e Mn) adicionados ao Ti são considerados β -estabilizadores. Pela teoria do molibdênio equivalente é necessário ter pelo menos 10% em peso de Mo para que tenha predominância da fase β à temperatura ambiente (Bania, 1994). Os difratogramas de raios X corroboram com essa teoria. Outros estudos também mostraram que entre 15 e 20% p. de molibdênio em ligas Ti-xMo apresentam apenas a fase β (Oliveira *et al.*, 2007; Martins Júnior *et al.*, 2011; Correa *et al.*, 2014).

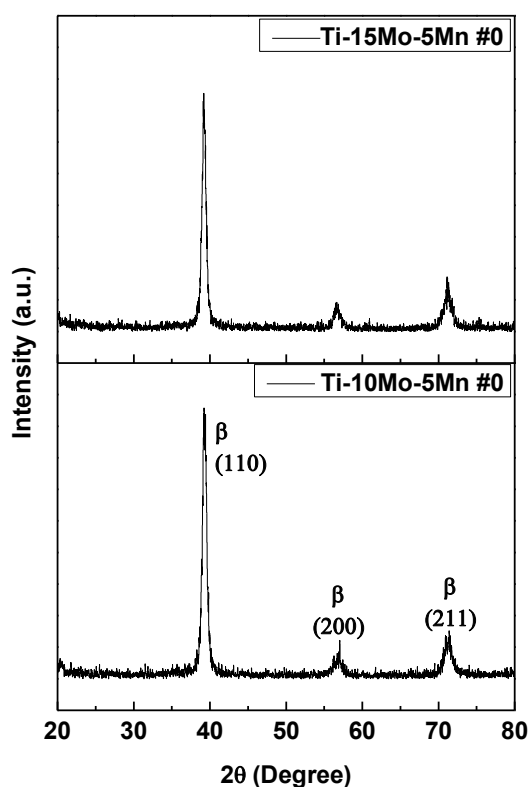


Figura 19 - Difratogramas de raios X para as ligas Ti-10Mo-5Mn e Ti-15Mo-5Mn.

O parâmetro de rede é a combinação dos comprimentos das arestas da célula unitária e dos ângulos interaxiais que define a geometria da célula unitária, representado na Figura 20. Para o sistema cúbico $a=b=c$ e os ângulos $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$.

Como só foram observados picos da fase β , cúbica de corpo centrado, foi possível calcular o parâmetro de rede das ligas, utilizou-se a equação (7) adaptada

da Lei de Bragg e indicado os valores na Tabela 7 (Callister Jr., 2016). Não é observada uma diferença significativa entre as duas ligas.

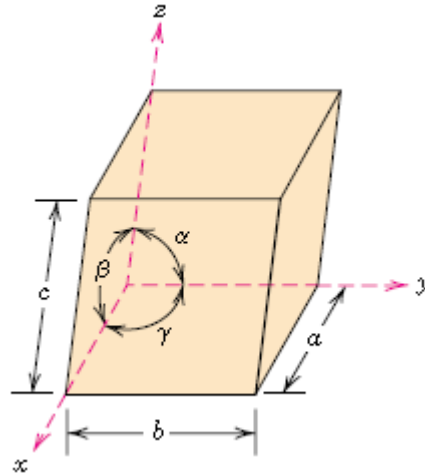


Figura 20 - Uma célula unitária, com comprimentos axiais (a,b e c) e os ângulos entre os eixos (α, β, e γ).

$$a = \frac{n\lambda\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}}{2.\text{sen}\left(\frac{\theta}{2}\right)} \quad (7)$$

onde: n é a ordem da reflexão (número inteiro), λ é o comprimento de onda dos raios X, (h,k,l) são os índices de Miller e θ é o ângulo onde ocorre a interferência construtiva.

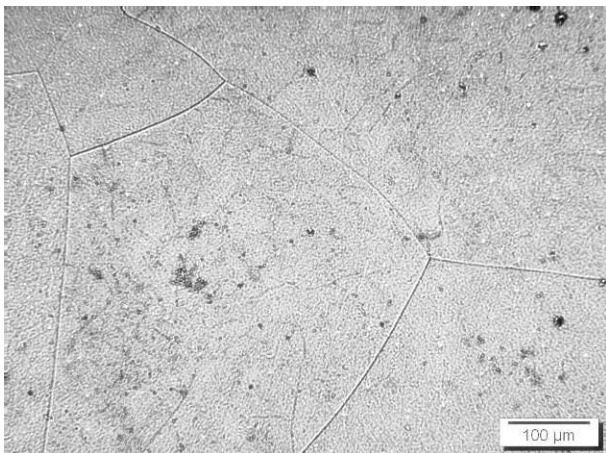
Tabela 7 - Parâmetro de rede para as ligas Ti-10Mo-5Mn e Ti-15Mo-5Mn.

Ligas	a=b=c (Å)
Ti-10Mo-5Mn	3,247470
Ti-15Mo-5Mn	3,243753

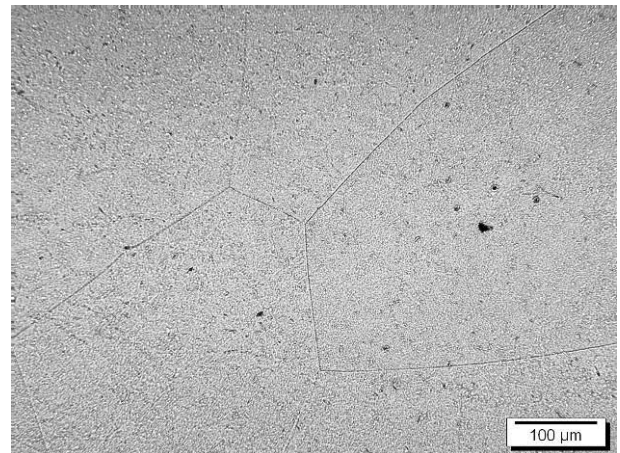
Na Figura 21, são apresentadas as micrografias ópticas para as amostras das ligas Ti-10Mo-5Mn e Ti-15Mo-5Mn, na condição bruta de fusão. E em ambas as amostras, se observa contornos de grãos provenientes da fase β. Na Figura 22 são

apresentadas as micrografias por MEV para as mesmas amostras, que corroboram com os resultados dos difratogramas de raios X e das micrografias ópticas, onde é possível observar picos e grãos oriundos da fase β , respectivamente.

Esses resultados confirmam a teoria do orbital molecular e do Mo equivalente, onde foi previsto que a liga teria apenas fase β .

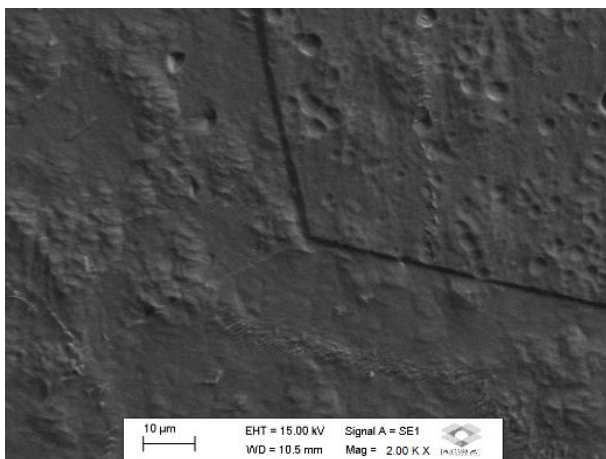


(a)

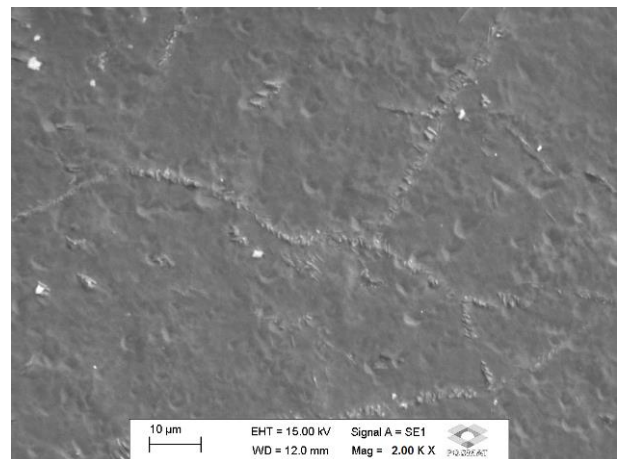


(b)

Figura 21 - Micrografias por microscopia óptica das ligas na condição bruta de fusão, Ti-10Mo-5Mn (a) e Ti-10Mo-5Mn (b), com ampliação de 200x.



(a)



(b)

Figura 22 - Micrografias por MEV das ligas na condição bruta de fusão, Ti-10Mo-5Mn (a) e Ti-10Mo-5Mn (b), com ampliação de 2000x.

4.2. Influência dos tratamentos térmicos

Nos difratogramas de raios X, que são apresentados nas Figuras 23 e 24, são observados apenas picos da fase β , para todas as condições de processamento. A estrutura das ligas não foi alterada com os processamentos termomecânicos.

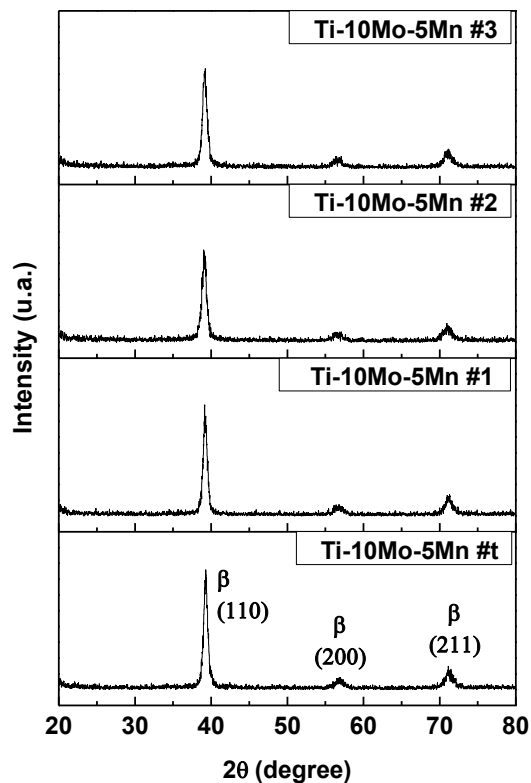


Figura 23 - Difratogramas de raios X para a liga Ti-10Mo-5Mn em todas as condições de processamento.

Nas Figuras 25 e 26 são apresentadas as micrografias ópticas das ligas, em todas as condições de processamento. A parte (a) das Figuras 25 e 26, apresentam grãos equiaxiais e com um aumento no tamanho dos grãos em relação à bruta de fusão. Esse aumento se deu em virtude do tratamento térmico de homogeneização. Após a laminação à quente (parte (b) das Figuras 25 e 26), observa-se que houve uma diminuição no tamanho dos grãos e eles ficaram com uma orientação

preferencial, no sentido em que ocorreu a deformação mecânica. O tratamento de solubilização (parte (c) das Figuras 25 e 26) promoveu um novo crescimento dos grãos e o recozimento (parte (d) das Figuras 25 e 26) promoveu uma organização dos grãos.

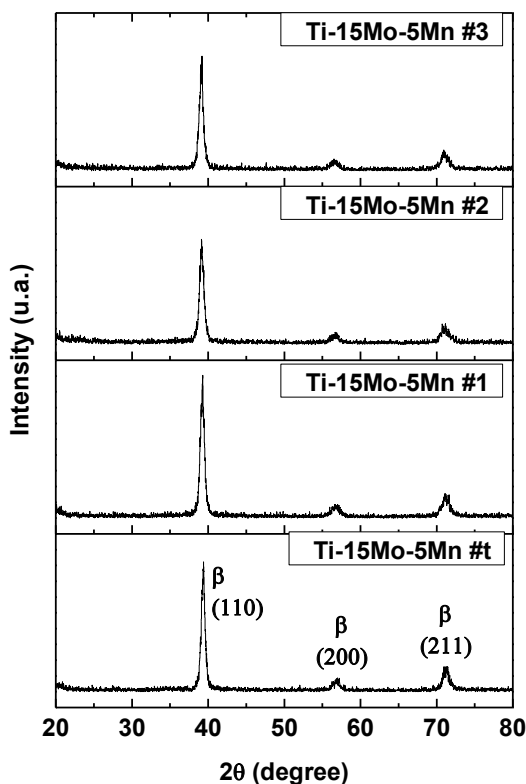
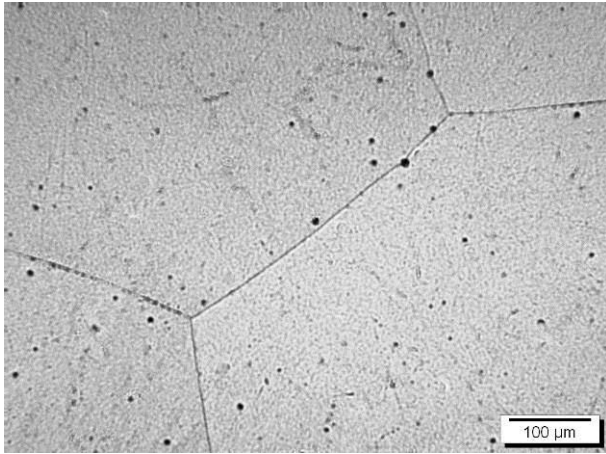


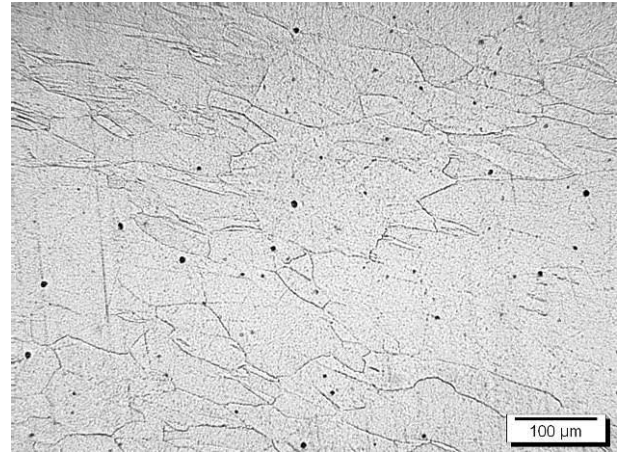
Figura 24 - Difratogramas de raios X para a liga Ti-15Mo-5Mn, em todas as condições de processamento.

Nas Figuras 27 e 28, são apresentadas as micrografias obtidas por MEV para as ligas estudadas, em todas as condições de processamento. Pode ser observado que as micrografias corroboram os resultados das micrografias ópticas, onde é possível observar grãos oriundos da fase β. Na bruta de fusão os grãos são menores comparado com a condição tratada termicamente. Esse aumento está relacionado com o fornecimento de energia ao material. Na condição laminada, os grãos têm uma orientação preferencial, ocasionado pelo processo mecânico em alta

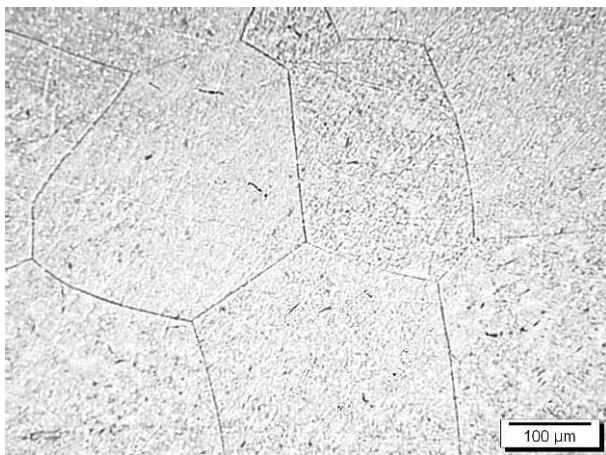
temperatura sem atmosfera e taxa de resfriamento controlado. Na amostra solubilizada os grãos aumentaram e na recozida o material foi recristalizado.



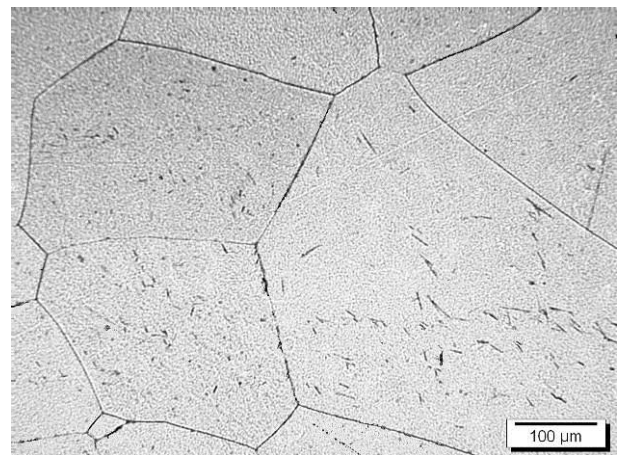
(a)



(b)

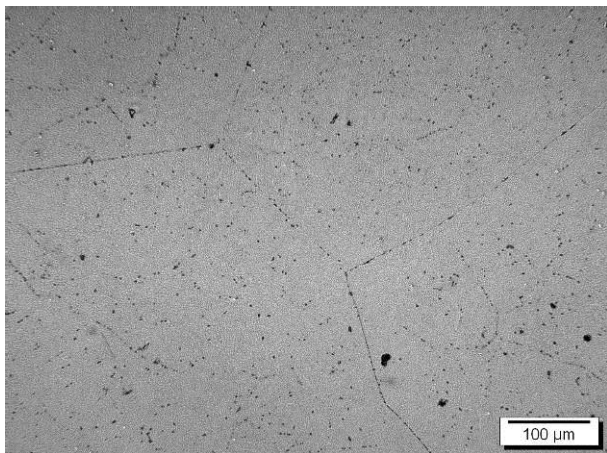


(c)

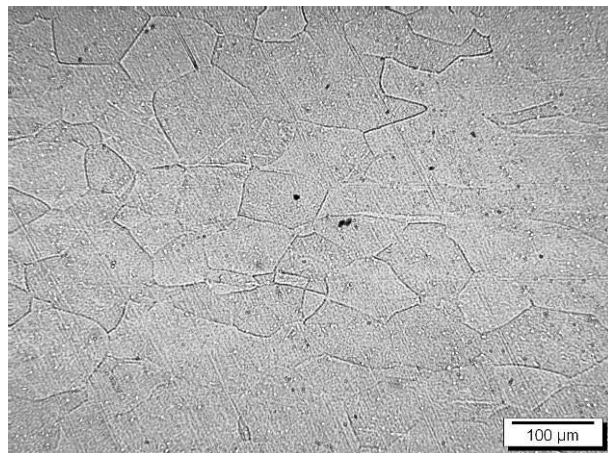


(d)

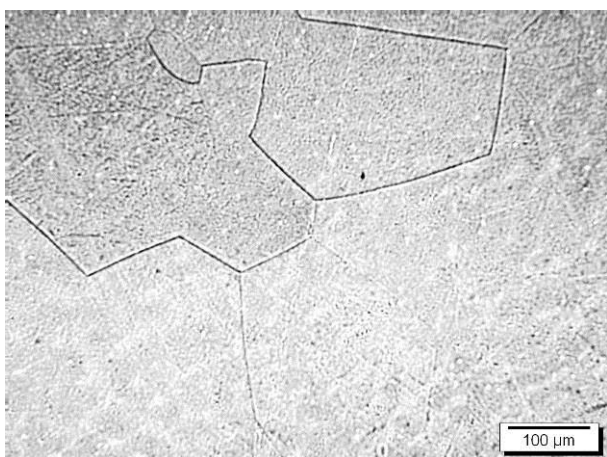
Figura 25 - Micrografias ópticas para a liga Ti-10Mo-5Mn nas condições (a) tratada, (b) laminada, (c) solubilizada e (d) recozida, com ampliação de 200x.



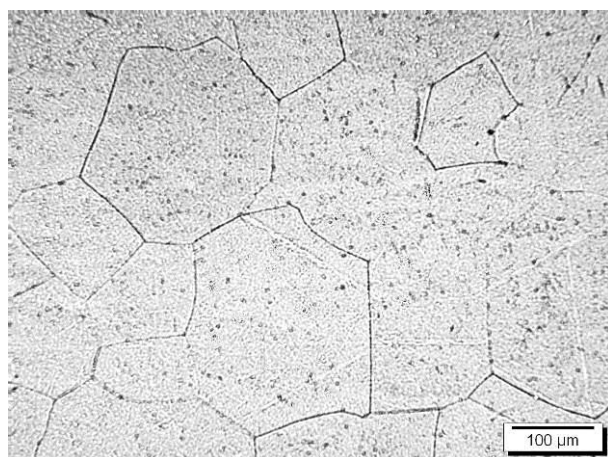
(a)



(b)

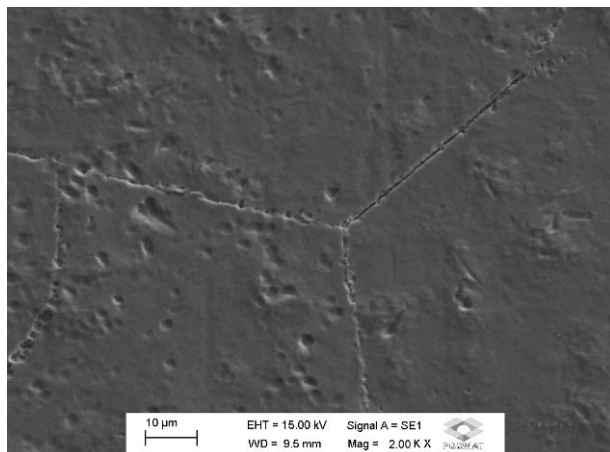


(c)

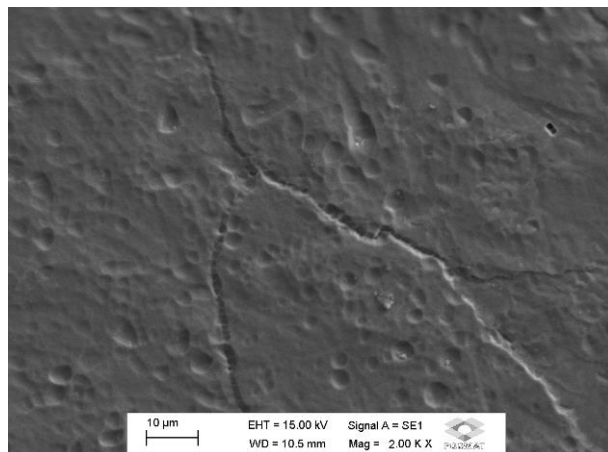


(d)

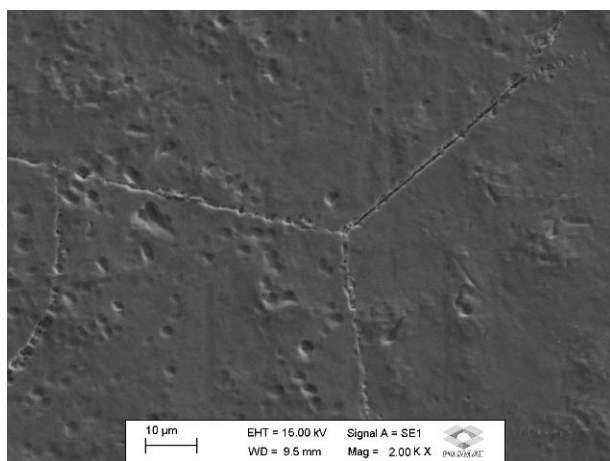
Figura 26 - Micrografias ópticas para a liga Ti-15Mo-5Mn nas condições (a) tratada, (b) laminada, (c) solubilizada e (d) recozida, com ampliação de 200x.



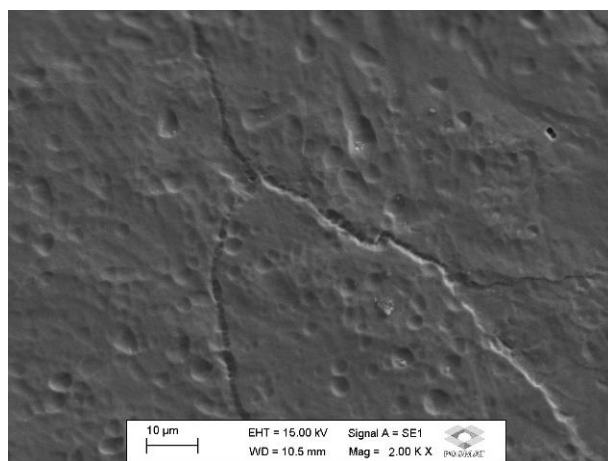
(a)



(b)

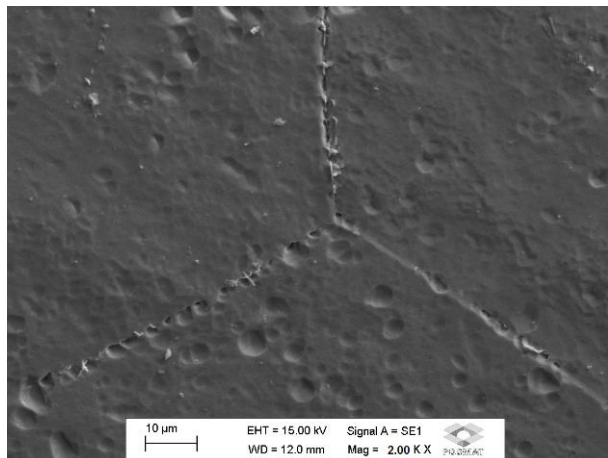


(c)

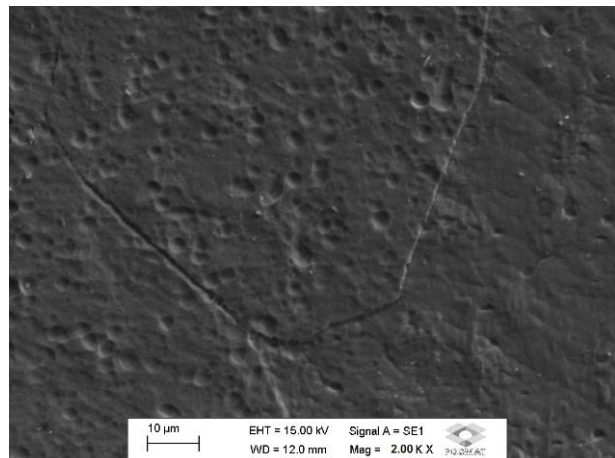


(d)

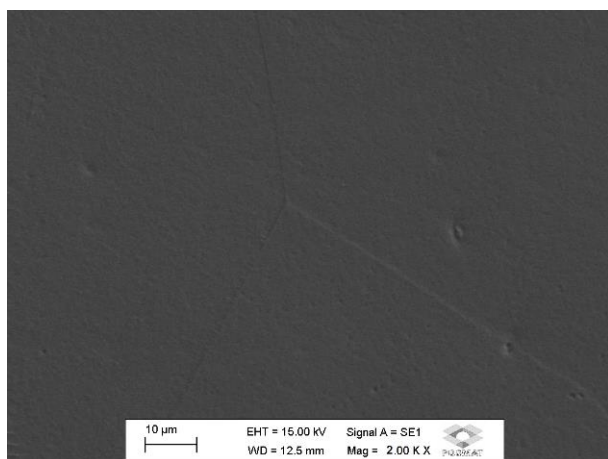
Figura 27 – Micrografias por MEV para a liga Ti-10Mo-5Mn nas condições (a) tratada, (b) laminada, (c) solubilizada e (d) recozida, com ampliação de 2000x.



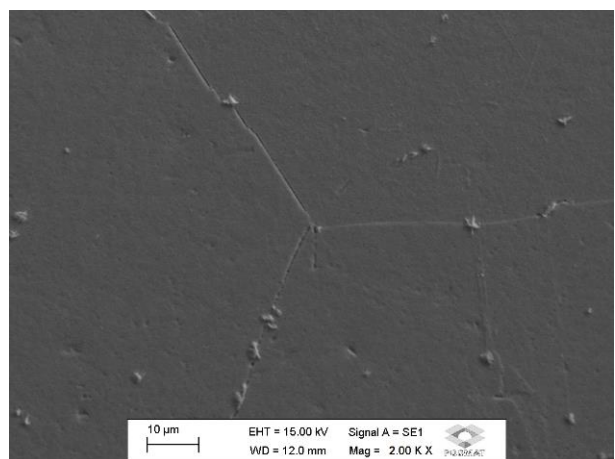
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 28 - Micrografias por MEV para a liga Ti-15Mo-5Mn nas condições (a) tratada, (b) laminada, (c) solubilizada e (d) recozida, com ampliação de 2000x.

4.3. Propriedades mecânicas

Os resultados de microdureza para as ligas utilizadas neste estudo são apresentadas na Figura 29, para todas as condições de processamento. Para a liga Ti-10Mo-5Mn: na condição homogeneizada, houve um aumento na microdureza comparando com a bruta de fusão, pois com o tratamento térmico de homogeneização houve a estabilização da fase β , contribuindo para a formação de

uma solução sólida fortalecida, aumentando assim a dureza do material. Na condição laminada, a dureza se manteve alta, decorrente das tensões internas adquiridas pela deformação mecânica na laminação a quente. Já na solubilizada houve a diminuição no valor da dureza pois com o resfriamento rápido realizado aumenta a instabilidade da fase β , diminuindo a dureza da liga. O recozimento diminuiu as tensões internas decorrentes no processo de laminação, diminuindo o valor da dureza da liga. Para a liga Ti-15Mo-5Mn não houve uma variação significativa entre os processamentos.

Todas as amostras apresentaram valores acima do Ti-cp devido ao endurecimento por solução sólida (Correa *et al.*, 2015). Quanto mais elementos substitucionais são adicionados, em comparação com o elemento puro, a dureza aumenta, e isso ocorre devido a variação do parâmetro de rede na célula unitária, causando distorções na estrutura cristalina que dificultam a movimentação das discordâncias (Ho *et al.*, 2008).

Comparando as ligas entre si, a composição Ti-10Mo-5Mn foi mais sensível aos tratamentos térmicos do que a Ti-15Mo-5Mn. Como o Mn está fixo nas ligas (ponto de fusão de 1246 °C) e se está variando a quantidade de Ti (ponto de fusão de 1668 °C) e Mo (ponto de fusão de 2623 °C) (Lide, 2007), o ponto de fusão da liga Ti-10Mo-5Mn é menor que a Ti-15Mo-5Mn.

O módulo de elasticidade é uma propriedade que depende da força de ligação entre os átomos do material. O módulo então, está relacionado com a estrutura cristalina e espaçamentos interatômicos dos átomos, podendo ser afetados pela adição de elementos de liga, tratamentos térmicos e deformação plástica (Zhou e Niinomi, 2008). Quando mais próximo do valor do módulo do osso, melhor para aplicações biomédicas.

Uma comparação entre o módulo das ligas estudadas junto com algumas ligas comerciais está apresentada na Figura 30. Os valores de módulo das ligas Ti-10Mo-5Mn e Ti-15Mo-5Mn estão abaixo dos valores de módulos de algumas ligas já usadas comercialmente como biomaterial. Os valores de módulo diminuíram comparado com o Ti-cp pela adição dos elementos de ligas, Mo e Mn, que são

agentes β -estabilizadores, apresentando, portanto, valores adequados de módulo de elasticidade para a aplicação como biomaterial.

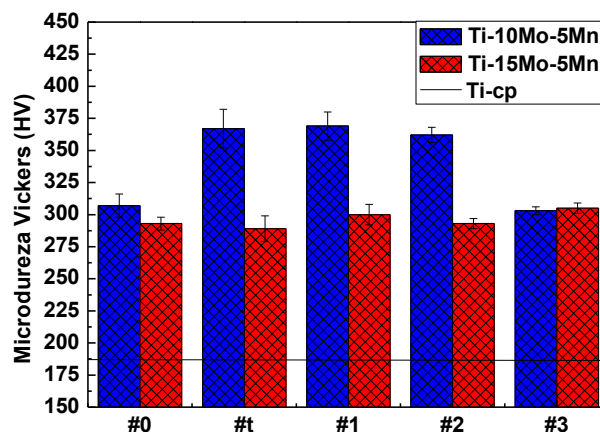


Figura 29 – Microdureza das ligas Ti-10Mo-5Mn e Ti-15Mo-5Mn, em todas as condições de processamento, comparadas com Ti-cp.

O módulo de elasticidade tem relação com a rigidez do material. Quanto maior é o módulo, mais rígido é o material e menor será a deformação elástica. Na condição solubilizada, o módulo diminuiu, pois, com o resfriamento rápido diminuiu a força de ligação interatômica dos átomos das ligas. Já na condição recozida houve um aumento no módulo, pois com o resfriamento lento houve tempo para que os átomos se reorganizassem e aumentasse a força de ligação interatômica entre eles. Tais resultados são apresentados na Figura 31.

4.4. Citotoxicidade

Os resultados do teste de citotoxicidade indireta (Figura 32) mostraram que os extratos das ligas Ti-10Mo-5Mn e Ti-15Mo-5Mn, não inibem a proliferação de células de fibroblastos e o número de células viáveis foram semelhantes ao controle negativo (sem citotoxicidade) e maior ao controle positivo (citotoxicidade - solução de

fenol). Essas diferenças foram não estatisticamente significativas com o controle negativo.

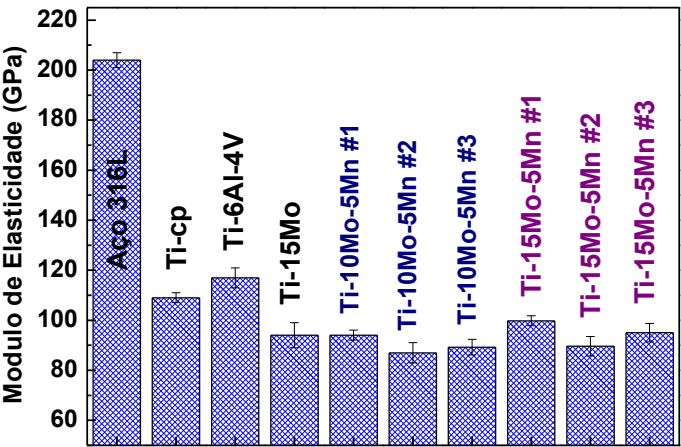


Figura 30 - Comparação do módulo das ligas estudadas neste trabalho, com algumas ligas comerciais.

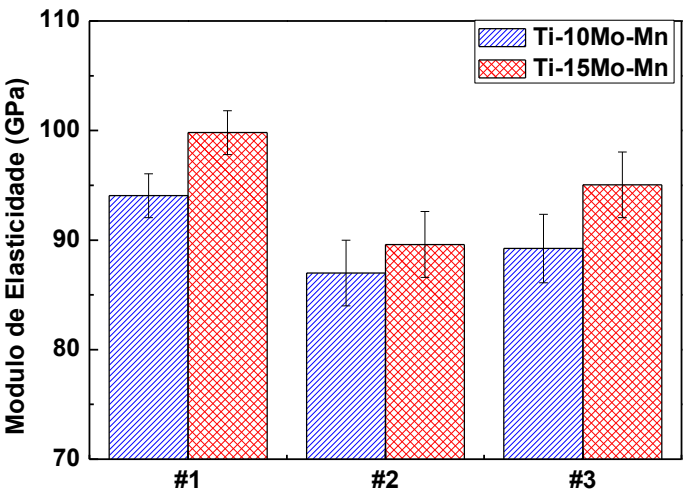


Figura 31 - Módulo de elasticidade para as ligas estudadas neste trabalho, em todas as condições de processamento.

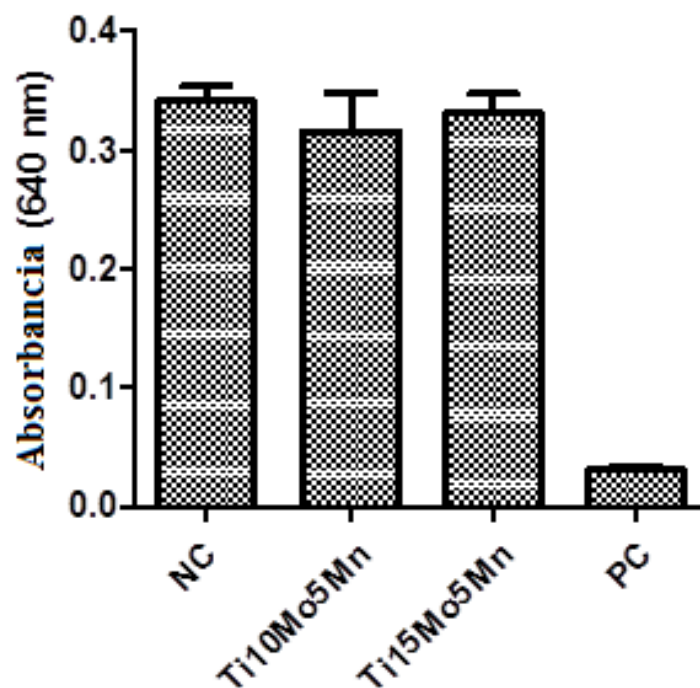


Figura 32 - Teste de citotoxicidade indireta, linhagem L929 cultivado por 48h. NC: controle negativo; PC: controle positivo.

Todos os extratos das ligas estudadas não alteraram a morfologia das células, que mostraram ser semelhantes ao controle negativo. As células foram observadas bem aderidas, bem como às células tratadas com base média (controle negativo). Todos, independentemente do extrato, mostraram um corpo celular central e achatado e processos numerosos e longos, conforme mostrado na Figura 33.

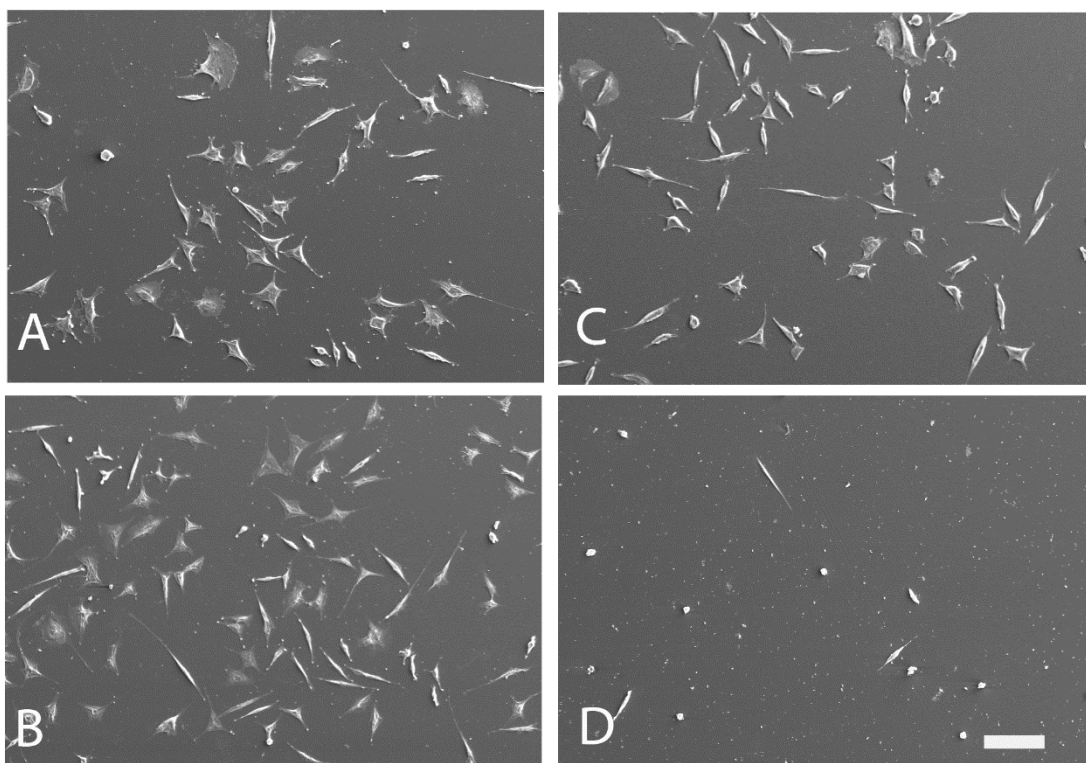


Figura 33 - MEV indireto em células L929 cultivadas durante 48 horas, barra 100 μ m
(a) Ti-10Mo-5Mn; (b) Ti-15Mo-5Mn; (c) controle negativo e (d) controle positivo.

5. Conclusões

Em função dos resultados obtidos, é possível concluir que:

- A composição química das amostras ficou com os valores próximos dos valores nominais, sem a presença de outros elementos metálicos e com baixo teor de gases. As densidades confirmam a boa estequiometria dos lingotes.
- A estrutura e microestrutura apresentaram apenas fase β na forma de grãos equiaxiais.
- A dureza do material se manteve alta e maior que a do Ti-cp, o aumento da dureza diminui a incidência do desgaste do material do implante.
- O módulo de elasticidade das ligas se mostrou abaixo das ligas comerciais.
- O resultado de citotoxicidade mostrou que os extratos das ligas estudadas não são citotóxicos para células fibroblásticas em curto período de tempo.
- As propriedades mecânicas, associadas com os testes de citotoxicidade, mostram-se com valores adequados para uma possível aplicação biomédica.

6. Sugestões para trabalhos futuros

Algumas sugestões para trabalhos futuros são:

- Fazer ensaios de corrosão, pois implantes metálicos em contato com fluidos corpóreos estão sujeitos à corrosão, podendo assim diminuir a vida útil do implante.
- Realizar outros tipos de ensaios biológicos para analisar se o material não é citotóxico no organismo humano.

7. Referencias

10993, I. **Biological evaluation of medical devices. Part 5: Test for cytotoxicity: in vitro methods**, International Organization for Standardization. Genebra (Sweden) 2005.

ABDEL-HADY GEPREEL, M.; NIINOMI, M. Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation. **J Mech Behav Biomed Mater**, v. 20, p. 407-15, Apr 2013. ISSN 1878-0180 (Electronic)

1878-0180 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23507261> >.

ABDEL-HADY, M. et al. Phase stability change with Zr content in β -type Ti–Nb alloys. **Scripta Materialia**, v. 57, n. 11, p. 1000-1003, 12// 2007. ISSN 1359-6462.

_____. Change in anisotropy of mechanical properties with β -phase stability in high Zr-containing Ti-based alloys. **Materials Science and Engineering: A**, v. 480, n. 1-2, p. 167-174, 2008. ISSN 09215093.

ABDEL-HADY, M.; HINOSHITA, K.; MORINAGA, M. General approach to phase stability and elastic properties of β -type Ti-alloys using electronic parameters. **Scripta Materialia**, v. 55, n. 5, p. 477-480, 2006. ISSN 13596462.

BANERJEE, D.; WILLIAMS, J. Perspectives on titanium science and technology. **Acta Materialia**, v. 61, n. 3, p. 844-879, 2013. ISSN 1359-6454.

BANIA, P. Beta titanium alloys and their role in the titanium industry. **JOM**, v. 46, n. 7, p. 16-19, 1994/07/01 1994. ISSN 1047-4838.

BOYER, R.; WELSCH, G.; COLLINGS, E. W. **Materials properties handbook: titanium alloys**, ASM International. Materials Park, OH, USA: 1994.

CALLISTER JR., W. D. **Ciência e Engenharia de Materiais: uma introdução**. 9ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2016.

CARDOSO, F. F. et al. Ti-Mo alloys employed as biomaterials: effects of composition and aging heat treatment on microstructure and mechanical behavior. **J Mech Behav Biomed Mater**, v. 32, p. 31-8, Apr 2014. ISSN 1878-0180 (Electronic)

1878-0180 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24394773> >.

CHEN, Y.-Y. et al. Microstructures and properties of titanium alloys Ti-Mo for dental use. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, v. 16, p. s824-s828, 2006. ISSN 10036326.

CLARKE, A. R.; EBERHARDT, C. N. **Microscopy techniques for materials science**. Woodhead Publishing, 2002. ISBN 1855735873.

COLLINGS, E. W. **The Physical Metallurgy of Titanium Alloys**. ASM, Ohio: 1984.

CORREA, D. R. N.; KURODA, P. A. B.; GRANDINI, C. R. Structure, Microstructure, and Selected Mechanical Properties of Ti-Zr-Mo Alloys for Biomedical Applications. **Advanced Materials Research**, v. 922, p. 75-80, 2014. ISSN 1662-8985.

CORREA, D. R. N. et al. Effect of the substitutional elements on the microstructure of the Ti-15Mo-Zr and Ti-15Zr-Mo systems alloys. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 4, n. 2, p. 180-185, 4// 2015. ISSN 2238-7854. CORTEZ, L. D. et al. C. Tratamentos Térmicos da Liga Ti-6Al-4V para Realização de Ensaio de Fluência. **XIII ENCITA, Anais**, 2007.

CULLITY, B. Elements of X-ray Diffraction. Addison and Wesley Publishing Company Inc. **Reading, USA**, p. 32-106, 1978.

DEVAVID, B.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA: Aplicações e preparação de amostras. **EDIPUCRS, Porto Alegre**, p. 9-11, 2007.

DONATO, T. et al. In Vitro Cytotoxicity of a Ti-35Nb-7Zr-5Ta Alloy Doped with Different Oxygen Contents. **Materials**, v. 7, n. 3, p. 2183, 2014. ISSN 1996-1944.

DONATO, T. A. G. et al. Cytotoxicity study of some Ti alloys used as biomaterial. **Materials Science and Engineering: C**, v. 29, n. 4, p. 1365-1369, 5/5/ 2009. ISSN 0928-4931.

E92-16, A. D. **Standard Test Methods for Vickers Hardness and Knoop Hardness of Metallic Materials**: ASTM International 2016.

E384-16, A. D. **Standard Test Method for Microindentation Hardness of Materials**: ASTM International 2016.

E1876-15, A. D. **Standard Test Method for Dynamic Young's Modulus, Shear Modulus, and Poisson's Ratio by Impulse Excitation of Vibration**: ASTM International 2015.

F2066-13, A. D. **Standard Specification for Wrought Titanium-15 Molybdenum Alloy for Surgical Implant Applications (UNS R58150)**: 6 p. 2013.

GEETHA, M. et al. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. **Progress in Materials Science**, v. 54, n. 3, p. 397-425, 2009. ISSN 00796425.

HANDBOOK, A. Forming and forging. **ASM International: EUA**, v. 14, 2005.

HAVARY-NASSAB, V.; HASSAN, S.; VALAEE, S. Compressive detection for wide-band spectrum sensing. *Acoustics Speech and Signal Processing (ICASSP)*, 2010 IEEE International Conference on, 2010, IEEE. p.3094-3097.

HO, W. F. et al. Structure, mechanical properties, and grindability of dental Ti-Zr alloys. **J Mater Sci Mater Med**, v. 19, n. 10, p. 3179-86, Oct 2008. ISSN 0957-4530 (Print)

0957-4530 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18437533> >.

HO, W. F.; JU, C. P.; CHERN LIN, J. H. Structure and properties of cast binary Ti-Mo alloys. **Biomaterials**, v. 20, n. 22, p. 2115-2122, 11// 1999. ISSN 0142-9612.

LEE, C. M.; JU, C. P.; CHERN LIN, J. H. Structure–property relationship of cast Ti-Nb alloys. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 29, n. 4, p. 314-322, 2002. ISSN 1365-2842.

LI, S.; PARK, J.; BRONZINO, J. *Biomaterials: Principles and Applications*. Eds. **JB Park, JOS Bronzino**.—Boca Raton (Florida, USA): **SRC Press LLC**, p. 115-139, 2003.

LI, Y. et al. New developments of Ti-based alloys for biomedical applications. **Materials**, v. 7, n. 3, p. 1709-1800, 2014.

LIDE, D. R. *Handbook of Chemistry and Physics*. v. 84, 2004.

_____. *Handbook of Chemistry and Physics*. In: (Ed.). 87 ed. CRC Press: New York (USA), 2007.

LONG, M.; RACK, H. J. Titanium alloys in total joint replacement—a materials science perspective. **Biomaterials**, v. 19, n. 18, p. 1621-1639, 1998/09/01 1998. ISSN 0142-9612.

MARTIN, E. J. et al. Dominant role of molybdenum in the electrochemical deposition of biological macromolecules on metallic surfaces. **Langmuir**, v. 29, n. 15, p. 4813-4822, 2013. ISSN 0743-7463.

MARTINS JÚNIOR, J. R. S. et al. Preparation and characterization of Ti-15Mo alloy used as biomaterial. **Materials Research**, v. 14, n. 1, p. 107-112, 2011. ISSN 1516-1439.

MIAO, L.; CLAIR, D. K. S. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 47, n. 4, p. 344-356, 2009. ISSN 0891-5849.

MORINAGA, M.; YUKAWA, H. Alloy design with the aid of molecular orbital method. **Bulletin of Materials Science**, v. 20, n. 6, p. 805-815, 1997. ISSN 0973-7669.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1, p. 55-63, 1983/12/16 1983. ISSN 0022-1759.

NIINOMI, M. Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications. **J Mech Behav Biomed Mater**, v. 1, n. 1, p. 30-42, Jan 2008. ISSN 1878-0180 (Electronic)

1878-0180 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19627769> >.

NIINOMI, M.; NAKAI, M.; HIEDA, J. Development of new metallic alloys for biomedical applications. **Acta Biomaterialia**, v. 8, n. 11, p. 3888-3903, 2012. ISSN 1742-7061.

NOGUEIRA, R. A.; GRANDINI, C. R. Oxygen Diffusion in Ti-20Mo Alloys, Used as Biomaterial, Measured by Mechanical Spectroscopy. **Defect and Diffusion Forum**, v. 326-328, p. 702-707, 2012.

OLIVEIRA, N. T. C. et al. Development of Ti–Mo alloys for biomedical applications: Microstructure and electrochemical characterization. **Materials Science and Engineering: A**, v. 452–453, p. 727-731, 4/15/ 2007. ISSN 0921-5093.

PARK, J.; LAKES, R. S. Biomaterials An Introduction - Metallic Implant Materials. In: (Ed.). **Biomaterials**. New York, NY: Springer New York, 2007. p.99-137. ISBN 978-0-387-37880-0.

PETERS, M. et al. Structure and Properties of Titanium and Titanium Alloys. In: (Ed.). **Titanium and Titanium Alloys**: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005. p.1-36. ISBN 9783527602117.

RATNER, B. D. E. A. **Biomaterial Science: An Introduction to Materials in Medicine**. 2º ed. Elsevier Academic Press: Londres: 2004.

TIAN, X. et al. Effect of annealing temperature on the notch impact toughness of a laser melting deposited titanium alloy Ti–4Al–1.5 Mn. **Materials Science and Engineering: A**, v. 527, n. 7, p. 1821-1827, 2010. ISSN 0921-5093.

VAN VLACK, L. H. **Princípios de Ciência dos Materiais**. 3º ed. São Paulo: Edgard Blücher: 1977.

VICENTE, F. et al. The Influence of Small Quantities of Oxygen in the Structure, Microstructure, Hardness, Elasticity Modulus and Cytocompatibility of Ti-Zr Alloys for Dental Applications. **Materials**, v. 7, n. 1, p. 542, 2014. ISSN 1996-1944.

WONG, J. Y.; BRONZINO, J. D. **BIOMATERIALS**. CRC Press: New York: 2007.

WONG, J. Y. B., J. D. **BIOMATERIALS**. CRC Press: New York: 2007.

ZHAO, X. et al. Beta type Ti-Mo alloys with changeable Young's modulus for spinal fixation applications. **Acta Biomater**, v. 8, n. 5, p. 1990-7, May 2012. ISSN 1878-7568 (Electronic)

1742-7061 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22326686> >.

ZHOU, W. et al. Fundamentals of scanning electron microscopy (SEM). In: (Ed.). **Scanning microscopy for nanotechnology**: Springer, 2006. p.1-40.

ZHOU, Y.-L.; NIINOMI, M. Microstructures and mechanical properties of Ti–50 mass% Ta alloy for biomedical applications. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 466, n. 1–2, p. 535-542, 10/20/ 2008. ISSN 0925-8388.