

CAMILA DÉBORA SANTOS SALES

**CARACTERIZAÇÃO DA LIGA TI-30Ta APÓS TRATAMENTO BIOMIMÉTICO
ASSOCIADO À INCORPORAÇÃO DE ANTIBIÓTICO**

CAMILA DÉBORA SANTOS SALES

Caracterização da liga Ti-30Ta após tratamento biomimético
associado à incorporação de antibiótico

Trabalho de Graduação apresentado ao
Conselho de Curso de Graduação em
Engenharia de Materiais da Faculdade de
Engenharia do Campus de Guaratinguetá,
Universidade Estadual Paulista, como
parte dos requisitos para obtenção do
diploma de Graduação em Engenharia de
Materiais.

Orientador: Prof. Dra. Ana Paula Rosifini Alves Claro

Guaratinguetá

2013

S163c	Sales, Camila Débora Santos Caracterização da liga Ti-30Ta após tratamento biomimético associado à incorporação de antibiótico / Camila Débora Santos Sales – Guaratinguetá, 2013. 55 f. : il. Bibliografia: f. 52-55 Trabalho de Graduação em Engenharia de Materiais – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, 2013. Orientador: Prof. Dra. Ana Paula Rosifini Alves Claro 1. Ligas de titânio 2. Antibióticos 3. Implantes artificiais I.Título CDU 669.295
-------	--

CAMILA DÉBORA SANTOS SALES

ESTE TRABALHO DE GRADUAÇÃO FOI JULGADO ADEQUADO COMO
PARTE DO REQUISITO PARA A OBTENÇÃO DO DIPLOMA DE “GRADUADO
EM ENGENHARIA DE MATERIAIS”

APROVADO EM SUA FORMA FINAL PELO CONSELHO DE CURSO DE
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MATERIAIS.

Prof. Dr. MARCOS VALÉRIO RIBEIRO
Coordenador

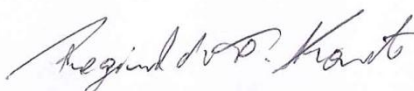
BANCA EXAMINADORA:



Profa. Dra. ANA PAULA ROSIFINI ALVES CLARO
Orientadora UNESP/FEG



Dra. PATRICIA CAPELLATO
UNESP/FEG



Eng. REGINALDO TOSHIHIRO KONATU
UNESP/FEG

DADOS CURRICULARES

CAMILA DÉBORA SANTOS SALES

NASCIMENTO	23/08/1991 – ITABUNA /BA
FILIAÇÃO	Ernando Nunes Sales Heziran Oliveira Santos
2009/2013	Curso de Graduação Engenharia de Materiais – UNESP / Guaratinguetá

De modo especial, à minha família.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, *Profa. Dra. Ana Paula Rosifini Alves Claro*, pela sua orientação e dedicação.

A meus pais, pela determinação e luta pela minha formação.

Aos meus professores e aos técnicos que durante o curso sempre se dedicaram a ensinar os alunos da melhor forma.

Ao André Rangel e Reginaldo Konatu, pela vontade de ajudar.

À FAPESP, pelo apoio financeiro.

“São as perguntas que não sabemos responder que mais nos ensinam. Elas nos ensinam a pensar. Se você dá uma resposta a um homem, tudo o que ele ganha é um fato qualquer. Mas, se você lhe der uma pergunta, ele procurará suas próprias respostas. (...) Assim, quando ele encontrar as respostas – continuei -, elas lhe serão preciosas.”

Patrick Rothfuss, *O Temor do Sábio*

SALES, C. D. S. CARACTERIZAÇÃO DA LIGA Ti-30Ta APÓS TRATAMENTO BIOMIMÉTICO ASSOCIADO À INCORPORAÇÃO DE ANTIBIÓTICO. 2013.

Trabalho de Graduação (Graduação em Engenharia de Materiais) – Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, Guaratinguetá, 2013.

RESUMO

Tratamentos de superfície têm sido utilizados para modificar a superfície de ligas de titânio. Este trabalho tem por objetivo caracterizar a superfície da liga Ti-30Ta após tratamento biomimético associado à incorporação de antibiótico. Os lingotes foram obtidos em forno a arco voltaico, tratados termicamente e forjados a frio. O tratamento superficial foi feito em duas etapas: tratamento biomimético e incorporação de antibiótico. Primeiramente, um tratamento alcalino (NaOH 1M a 60 °C) foi realizado, seguido por tratamento térmico e imersão em SBF 5x por 24 h. Para incorporação do antibiótico, as amostras foram imersas em solução de SBF 5x mais gentamicina por 48 h. As superfícies das amostras foram caracterizadas utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de energia dispersiva (EDS), medidas de ângulo de contato, microscopia de força atômica (AFM) e difração de Raios-X. A liberação do medicamento foi feita em PBS e sua concentração foi medida através de espectroscopia no UV/VIS. Resultados mostraram mudanças da superfície após a incorporação do antibiótico, que é gradualmente co-precipitado com os cristais de Ca-P, formando uma camada cerâmica rugosa na superfície do metal.

PALAVRAS-CHAVE: Liga de Ti-30Ta. Tratamento biomimético. Incorporação de antibiótico. Implantes de titânio.

SALES, C. D. S. 2013. CHARACTERIZATION OF Ti-30Ta ALLOY AFTER BIOMIMETIC SURFACE TREATMENT AND ANTIBIOTIC INCORPORATION. Graduate Work (Graduate in Materials Engineering) – Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, Guaratinguetá, 2013.

ABSTRACT

Surface treatments have been used to modify the surface of titanium alloys. The purpose of this study is to evaluate the surface of Ti-30Ta alloy after biomimetic approach associated to antibiotic incorporation. The ingots were obtained in arc melting furnace, treated and cold-worked by swaging. The surface treatment was performed in two steps: biomimetic treatment and antibiotic incorporation. For biomimetic treatment, first an alkaline treatment (NaOH 1M at 60°C) was performed, followed by heat treatment and immersion in SBFx5 (Simulated Body Fluid) for a period of 24 hours. In order to incorporate the antibiotic, samples were immersed in a solution formed by drugs plus SBFx5 for 48 hours. The sample surfaces were analyzed by scanning electron microscopy (SEM), X-Ray diffraction (XRD), atomic force microscopy (AFM) and contact angle measurements. The release of antibiotic from coated implants was measured in phosphate buffer saline at pH 7.4 by using UV/VIS spectrometry. Results have shown changes on the surface after incorporating the drug, which is gradually co-precipitated with the Ca-P crystals, forming a uniform and rough layer on the metal surface.

KEYWORDS: Ti-30Ta Alloy; Biomimetic treatment. Antibiotic incorporation. Titanium implants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Classificação dos biomateriais quanto à sua origem.....	14
Figura 2 – Estrutura cristalina das fases α (HC) e β (CCC)	18
Figura 3 – Diagrama de fase pseudo-binário do titânio e um elemento β -estabilizador	22
Figura 4 – Diagrama de fases Ti-Ta	23
Figura 5 – Esquematisação das etapas realizadas no estudo	28
Figura 6 – Forno a arco voltaico utilizado para obtenção da liga	29
Figura 7 – Forno utilizado para tratamento térmico	30
Figura 8 – Equipamento para forjamento à frio FENN	31
Figura 9 – Cortadeira de precisão Isomet 4000	32
Figura 10 – Banho termostatzado Tecnal	33
Figura 11 – Forno utilizado para tratamento térmico	33
Figura 12 – Detalhe das amostras no interior do forno	34
Figura 13 – Preparo do SBF 5x com fluxo de CO ₂	35
Figura 14 – Tubos Falcon em mesa agitadora orbital	36
Figura 15 – Micrografia obtida em MEV para a liga de Ti-30Ta lixada	38
Figura 16 – Superfície após o tratamento alcalino	39
Figura 17 – Micrografia obtida em MEV da superfície da amostra após imersão em SBF 5x por 24 h (250x)	40
Figura 18 – Micrografia obtida em MEV após imersão em SBF 5x por 24 h, em uma ampliação de 1000x (a) e 5000x (b)	40
Figura 19 – Micrografia obtida em MEV da superfície da amostra após imersão em SBF 5x por 24 h (10000x)	41
Figura 20 – Micrografia obtida em MEV da superfície da amostra após imersão em SBF 5x por 24 h (50000x)	41
Figura 21 – Micrografia obtida em MEV após tratamento biomimético e incorporação de antibiótico (250x)	42
Figura 22 – Micrografia obtida em MEV mostrando os aglomerados presentes na superfície após incorporação de antibiótico, em ampliação de 1000x (a) e 5000x (b)	43
Figura 23 – Caráter poroso dos aglomerados presentes na superfície das amostras	43
Figura 24 – Trincas presentes na camada cerâmica depositada sobre o substrato após incorporação de antibiótico	44

Figura 25 – Análise EDS das amostras de: (a) Ti-30Ta; (b) depois do tratamento alcalino e térmico; (c) após imersão em SBF 24h; e (d) após incorporação de antibiótico	45
Figura 26 – Perfil da gota de água em contato com a superfície dos discos nas seguintes condições: (a) lixado; (b) após tratamento alcalino/térmico; (c) após SBF 5x por 24 h; e (d) após incorporação de antibiótico	46
Figura 27 – Comparação entre os picos resultantes da difratometria de raios-X nas amostras (a) Ti-30Ta; (b) Ti-30Ta após imersão em SBF 5x por 24 h; e (c) após incorporação de antibiótico.	47
Figura 28 – Imagem obtida em microscópio de força atômica, mostrando o mapa topográfico da superfície da liga Ti-30Ta após imersão em SBF por 24 h.	48
Figura 29 – Imagem obtida em microscópio de força atômica, mostrando o mapa topográfico da superfície da liga Ti-30Ta após incorporação de antibiótico.	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Graus das ligas de titânio comercialmente puro	20
Tabela 2 – Composição inorgânica (mM) do plasma humano (HBP - human body plasma), SBF convencional e SBF 5x	26
Tabela 3 – Composição do SBF 5x	34
Tabela 4 – Ângulo de contato para as condições de tratamento superficial estudadas	46
Tabela 5 – Rugosidade das amostras antes e depois da incorporação de medicamento	50

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	OBJETIVOS	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	TITÂNIO E SUAS LIGAS	17
2.1.1	As ligas de titânio	19
2.1.1.1	Ligas α	19
2.1.1.2	Ligas Pseudo- α	20
2.1.1.3	Ligas $\alpha + \beta$	21
2.1.1.4	Ligas Pseudo- β e Ligas- β	21
2.1.2	Sistema Binário Ti-Ta	22
2.2	TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE	24
2.3	INCORPORAÇÃO DE ANTIBIÓTICO	27
3	MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1	OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	29
3.1.1	Obtenção dos lingotes	29
3.1.2	Tratamento térmico	30
3.1.3	Forjamento rotativo	31
3.1.4	Preparação dos discos	31
3.2	MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE	32
3.2.1	Tratamento Alcalino	32
3.2.2	Tratamento Térmico	33
3.2.3	Imersão em SBF/antibiótico	34
3.3	LIBERAÇÃO DO MEDICAMENTO	36
3.4	CARACTERIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
4.1	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	38
4.2	ESPECTROSCOPIA POR ENERGIA DISPERSIVA	44
4.3	ÂNGULO DE CONTATO	46
4.4	DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	47
4.5	MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA	48
4.6	ESPECTROSCOPIA NO UV/VIS	50

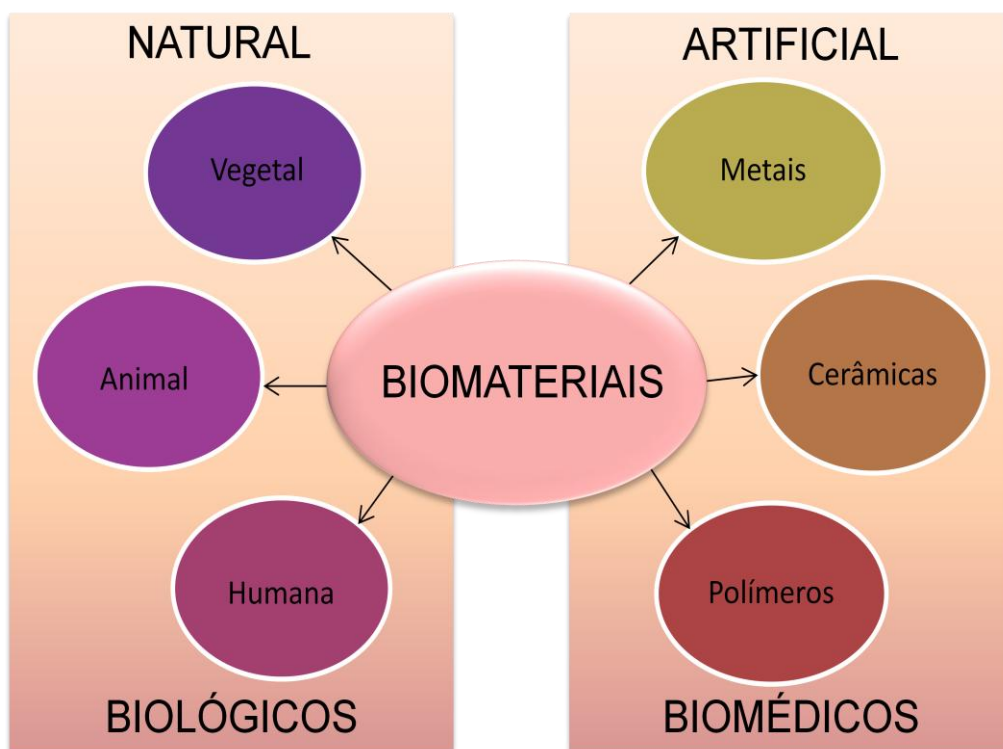
5	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

Biomateriais são materiais de origem natural ou artificial, usados na fabricação de estruturas ou implantes capazes de substituir estruturas biológicas danificadas devido a traumas ou doenças, restaurando a forma e a função. Podem ser utilizados em diferentes partes do corpo humano, como válvulas artificiais do coração, stents em vasos sanguíneos, implantes de substituição em ombros, joelhos, quadris, cotovelos e orelhas. Os biomateriais ajudam a melhorar a qualidade de vida e longevidade dos seres humanos, e o seu estudo tem mostrado um crescimento rápido devido ao aumento da expectativa de vida da população (GEETHA et al., 2009).

Quanto à sua origem, os biomateriais podem ser classificados como biomédicos ou biológicos, conforme esquematizado na Figura 1. Os biomédicos são de origem artificial (metais, cerâmicas e polímeros), e os biológicos são de origem natural (vegetal, animal ou humana) (VALLET-REGÍ; GONZALEZ-CALBET, 2004).

Figura 1 – Classificação dos biomateriais quanto à sua origem



Fonte: Autora.

Os materiais utilizados como implantes não devem ser tóxicos e não devem provocar quaisquer reações inflamatórias ou alérgicas no organismo humano. O sucesso dos biomateriais depende essencialmente da reação do corpo humano após a inserção do implante, o que mede a biocompatibilidade do material. Os dois principais fatores que influenciam a biocompatibilidade são a resposta do tecido circundante induzida pelo material e a degradação deste no ambiente de corpo, que é corrosivo. Assim, os biomateriais também podem ser classificados em biotolerantes, bioativos ou bioreabsorvíveis, de acordo com a resposta do corpo humano após a sua inserção (GEETHA et al., 2009).

Quadro 1 – Classificação dos biomateriais quanto à sua interação com o tecido circundante

CLASSIFICAÇÃO	RESPOSTA	EXEMPLOS	EFEITO
Materiais biotolerantes	Formação de tecido conectivo fino (0,1-10µm) e a cápsula não adere à superfície do implante	Poli-tetrafluoretileno (PTFE); poli-metilmetacrilato (PMMA), Ti, CoCr	Rejeição do implante, levando à falha do implante
Materiais Bioativos	Formação de tecido ósseo em torno do implante e fortemente integrado com a superfície do implante	Biovidro, fosfato de cálcio sintético	Aceitação do implante levando ao sucesso da implantação
Materiais biorreabsorvíveis	Substituição por tecido autólogo	Ácido polilático, e poliglicol; enxertos ósseos processados.	Aceitação do implante levando ao sucesso da implantação

Fonte: (GEETHA et al., 2009).

Dentre os biomateriais metálicos, titânio e suas ligas têm sido utilizados como biomateriais devido ao baixo módulo de elasticidade, excelente biocompatibilidade e boa resistência à corrosão quando comparados aos aços inoxidáveis convencionais e ligas à base de cobalto (LONG; RACK, 1998). Os biomateriais metálicos são considerados biotolerantes, sendo utilizados para reforçar a estrutura ou restaurar a função de tecidos duros, principalmente na fabricação de próteses e implantes ortopédicos e dentários. Contudo, apesar

de os materiais biotolerantes serem aceitos para a fabricação de implantes, os materiais bioativos são os mais indicados, por apresentarem uma alta integração com o osso circundante.

Diversas reações ocorrem na superfície do biomaterial após a implantação, através da interação com o fluido corpóreo, proteínas e células. Primeiramente, ocorre a adsorção de moléculas de água, seguida pela adsorção de proteínas e células. Frequentemente, essa sequência de reações locais conduz a uma resposta ao corpo estranho e a formação de uma cápsula de tecido fibroso em torno do implante (GEETHA et al., 2009). Tal camada de tecido fibroso que se desenvolve diminui a integridade e a estabilidade mecânica da interface implante/osso (SOUTHAM; SELWYN, 1971).

A meta do implante cirúrgico é a osseointegração, definida por Branemark (1983) como a união estável e funcional entre o osso e a superfície do material implantado sem que haja formação de tecido fibroso na interface implante/osso. Para tanto, tecnologias de modificação de superfície, como o tratamento químico, tratamento eletroquímico, deposição por vapor químico, processo biomimético, deposição sol-gel, etc, tem sido utilizadas para melhorar propriedades biológicas, químicas e mecânicas de titânio e suas ligas (LIU; CHU; DING, 2004).

Contudo, o sucesso da cirurgia não depende somente da integração osso/implante, mas também da presença de um ambiente estéril ao redor do implante, prevenindo a adesão de bactérias e evitando infecções (POPAT et al., 2007). Assim, estudos têm sido feitos visando à liberação de medicamento no local de implantação, a fim de evitar infecções associadas aos implantes, reduzindo a concentração de bactérias e impedindo a aderência de bactérias à superfície do implante (GULATI et al., 2012).

1.1 OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho é a obtenção da liga Ti-30Ta, e modificação de sua superfície através do tratamento biomimético e incorporação de antibiótico, bem como sua caracterização a fim de verificar a possibilidade de posterior aplicação em implantes dentários.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TITÂNIO E SUAS LIGAS

Em 1791, o clérigo britânico William Gregor descobriu o elemento titânio ao analisar a areia magnética proveniente de um rio local e isolar a “areia negra”, hoje conhecida como “ilmenita”. Removendo o ferro com o auxílio de um ímã e tratando a areia com ácido clorídrico, Gregor produziu o óxido impuro de um novo elemento. O nome titânio (da mitologia grega Titãs, filhos de Urano e Gaia), porém, foi atribuído apenas em 1795, pelo químico alemão Martin Heinrich Klaproth, que isolou óxido de titânio de um mineral hoje conhecido como “rutilo” (LEYENS; PETERS, 2003).

É um metal de baixa densidade (aproximadamente 60% da densidade do aço), não magnético, de baixa condutividade térmica e elétrica, alta resistência à corrosão e elevada temperatura de fusão (1668 °C) (LIU; CHU; DING, 2004). Algumas propriedades físicas e mecânicas do titânio comercialmente puro (CP) podem ser visualizadas no Quadro 2.

Quadro 2 – Propriedades físicas e mecânicas do titânio CP

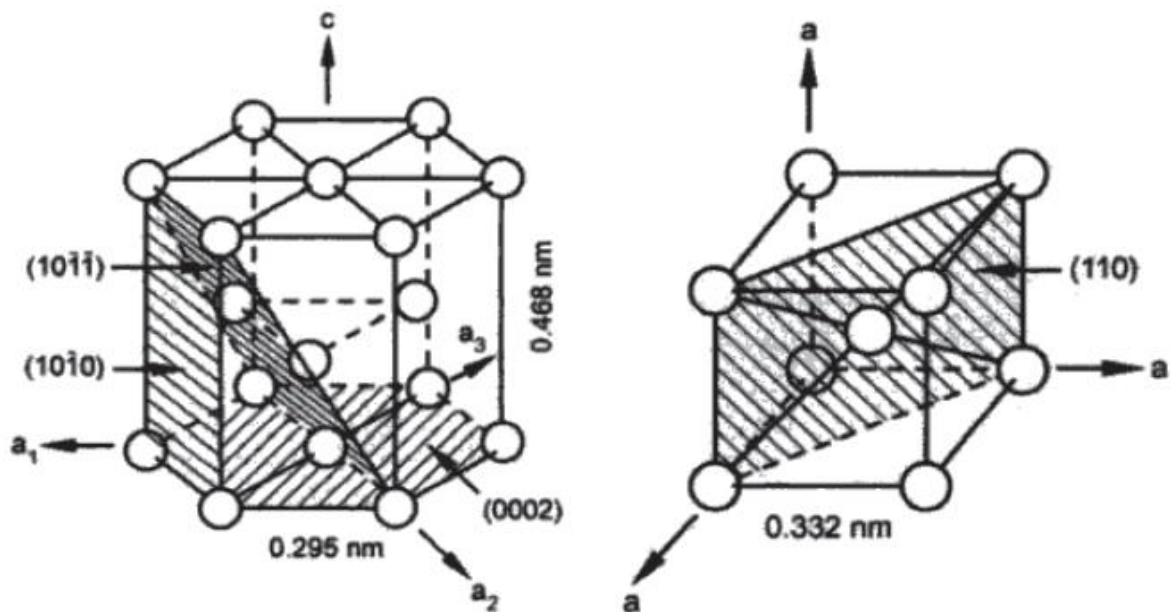
PROPRIEDADES	VALORES
Número atômico	22
Peso atômico (g/mol)	7,9
Estrutura cristalina α , HCP c (Å) a (Å)	4,6832 $\pm$ 0,0004 2,9504 $\pm$ 0,0004
Estrutura cristalina β , CCC a (Å)	3,28 $\pm$ 0,003
Densidade g/cm ³	4,54
Coefficiente de expansão térmica, α , a 20°C	8,4 x 10 ⁻⁶
Condutividade térmica (W/mK)	19,2
Temperatura de fusão (°C)	1668
Temperatura de transformação	882,5
Módulo de elasticidade, α , (GPa)	105
Tensão limite de escoamento, α , MPa	692
Limite de resistência à tração, α , MPa	785

Fonte: (LIU; CHU; DING, 2004).

O titânio (Ti) é amplamente distribuído na crosta terrestre, sendo o nono elemento mais abundante e o quarto metal mais abundante, superado apenas por alumínio, ferro e magnésio. Porém, apesar de sua ampla distribuição, é raramente encontrado em uma concentração suficientemente alta para extração metalúrgica e nunca encontrado no estado puro. O titânio é quase sempre associado com oxigênio no estado natural devido ao raio iônico do Ti^{4+} e Ti^{3+} serem similares aos de muitos outros elementos, podendo substituir ou serem substituídos por outros metais. Tal dificuldade de processamento implica no alto custo do metal (McQUILLAN; McQUILLAN, 1956).

O Ti é um elemento alotrópico, ou seja, existe em mais de uma forma cristalográfica (Figura 2). Na temperatura ambiente apresenta estrutura hexagonal compacta (fase α). Essa estrutura passa a ser cúbica de corpo centrado (fase β) a partir de 882,5 °C (LIU; CHU; DING, 2004).

Figura 2 – Estrutura cristalina das fases α (HC) e β (CCC)



Fonte: (LEYENS; PETERS, 2003).

A existência de duas estruturas cristalinas diferentes e a correspondente temperatura alotrópica é de suma importância, pois é a base para a grande variedade de propriedades das ligas de titânio (LEYENS; PETERS, 2003).

2.1.1 As ligas de titânio

Quanto à metalurgia do titânio, é comum classificar as ligas em três categorias: alfa (α), alfa mais beta ($\alpha + \beta$), e beta (β). Essas categorias descrevem a microestrutura em termos da estrutura cristalina favorecida por um elemento de liga. No entanto, alguns estudiosos definem cinco categorias de ligas de titânio, dependendo do tipo de microestrutura após o processamento. São elas: alfa (α), pseudo alfa (pseudo- α), alfa mais beta ($\alpha + \beta$), pseudo beta (pseudo- β) e beta (β) (DONACHIE, 1988).

A temperatura de transformação da fase alfa mais beta ou da fase alfa para fase inteiramente beta é conhecida como temperatura beta transus. A temperatura β -transus é definida como a menor temperatura de equilíbrio em que o material apresenta 100% de fase beta (DONACHIE, 1988).

Dependendo da sua influência na temperatura β -transus, os elementos de liga são classificados como neutros, α -estabilizadores, ou β -estabilizadores. Elementos neutros não influenciam significativamente na temperatura β -transus. Alfa estabilizadores, como alumínio e oxigênio, aumentam a temperatura na qual a fase β é estável. Por sua vez, os beta estabilizadores, como vanádio e molibdênio, resultam em estabilidade da fase β em temperaturas mais baixas (LEYENS; PETERS, 2003).

Abaixo da temperatura beta transus, o titânio é uma mistura de $\alpha + \beta$ se o material contém β -estabilizadores. Caso contrário, é apenas α se contém pouco ou nenhum β -estabilizador. A temperatura β -transus é importante, pois o processamento e tratamento térmico frequentemente fazem referência a um aumento de temperatura acima ou abaixo da temperatura β -transus (DONACHIE, 1988).

2.1.1.1 Ligas α

O titânio não ligado e as ligas α , que contém α -estabilizadores como alumínio e estanho, apresentam uma única fase cristalina na temperatura ambiente: a estrutura hexagonal compacta (WEISS; SEMIATIN, 1999).

Assim, o titânio não ligado é considerado uma liga α , em que a fase α é estabilizada através da presença de impurezas. Os elementos normalmente encontrados no titânio comercial podem ser divididos em dois grupos, de acordo a configuração da solução sólida formada. São eles: elementos substitucionais (ferro) ou intersticiais (oxigênio, nitrogênio, carbono e hidrogênio) (McQUILLAN; McQUILLAN, 1956).

Os vários graus de titânio comercialmente puro (CP) diferem principalmente quanto ao oxigênio presente na liga (Tabela 1). Ou seja, somente o oxigênio é intencionalmente ligado, enquanto os outros elementos tais como carbono e ferro são considerados impurezas presentes na liga devido ao processo de produção (LEYENS; PETERS, 2003).

Como um elemento de liga intersticial, o oxigênio aumenta drasticamente a resistência enquanto que, simultaneamente, diminui a ductilidade. A resistência mecânica do titânio CP varia de 240 (grau 1) a 740 MPa (grau 4) (LEYENS; PETERS, 2003). O titânio CP tem excelente resistência à corrosão, podendo ser utilizadas em aplicações onde não são necessários altos níveis de resistência mecânica (WEISS; SEMIATIN, 1999).

Tabela 1 – Graus das ligas de titânio comercialmente puro

Ti (%p)	Grau	C (%p)	Fe (%p)	N (%p)	O (%p)	H (%p)
99,5	1	0,08	0,20	0,03	0,18	0,015
99,2	2	0,08	0,25	0,03	0,20	0,015
99,1	3	0,08	0,25	0,05	0,30	0,015
99,0	4	0,08	0,50	0,05	0,40	0,015

Fonte: (SMITH, 1993).

As ligas α que contém alumínio, estanho e/ou zircônio são muito utilizadas em altas temperaturas ou em aplicações criogênicas. Aquelas ricas em α -estabilizadores geralmente apresentam maior resistência à fluência em altas temperaturas do que as ligas $\alpha + \beta$ ou β . As ligas com poucos elementos intersticiais, por sua vez, retêm ductilidade e tenacidade em temperaturas criogênicas (DONACHIE, 1988).

Devido à limitada capacidade de deformação da estrutura cristalina hexagonal compacta presentes nas ligas α , estas são menos dúcteis quando comparadas às ligas β , com estrutura cúbica de corpo centrado (LEYENS; PETERS, 2003). Por outro lado, têm uma boa soldabilidade, pois são insensíveis ao tratamento térmico (WEISS; SEMIATIN, 1999).

2.1.1.2 Ligas Pseudo- α

Ligas α que contém pequena quantidade (até 2% em peso) de β -estabilizadores, tais como molibdênio e vanádio, são classificadas como ligas pseudo- α . A adição de β -estabilizadores aumenta a faixa de temperatura $\alpha + \beta$ suficientemente para permitir que tanto $\alpha + \beta$ quanto β sejam trabalhadas mecanicamente a quente (WEISS; SEMIATIN, 1999).

Embora contenham pequena quantidade de fase β na microestrutura, essas ligas são constituídas principalmente de alfa e se comportam mais como as ligas α convencionais do que como as ligas $\alpha + \beta$ (DONACHIE, 1988).

Ligas pseudo- α são ideais para altas temperaturas, pois combinam a excelente resistência à fluência das ligas α com a elevada resistência mecânica das ligas $\alpha + \beta$ (LEYENS; PETERS, 2003). A maior resistência destas ligas em comparação com as ligas α decorre, principalmente, da formação da fase α' (martensita) ou das fases α e α' durante o tratamento térmico (WEISS; SEMIATIN, 1999).

2.1.1.3 Ligas $\alpha + \beta$

As ligas $\alpha + \beta$ contêm um ou mais α -estabilizadores e um ou mais β -estabilizadores. Essas ligas retêm mais fase beta depois do tratamento de solubilização do que as ligas pseudo- α , sendo que a quantidade específica depende dos estabilizadores- β presentes e do tratamento térmico (DONACHIE, 1988).

Através de tratamentos de solubilização e envelhecimento, pode-se aumentar a resistência mecânica das ligas $\alpha + \beta$. O tratamento de solubilização é geralmente feito em alta temperatura na faixa $\alpha + \beta$, seguido de resfriamento rápido (têmpera) em água ou óleo. A fase beta presente pode ficar retida ou ser parcialmente transformada durante o resfriamento (transformação martensítica ou nucleação e crescimento), dependendo da composição da liga, temperatura do tratamento de solubilização, taxa de resfriamento e tamanho da seção. O tratamento de solubilização é seguido por envelhecimento, em temperaturas que variam de 480 °C a 650 °C, para que a fase α seja precipitada e forme uma mistura de alfa e beta na fase β retida ou transformada (DONACHIE, 1988).

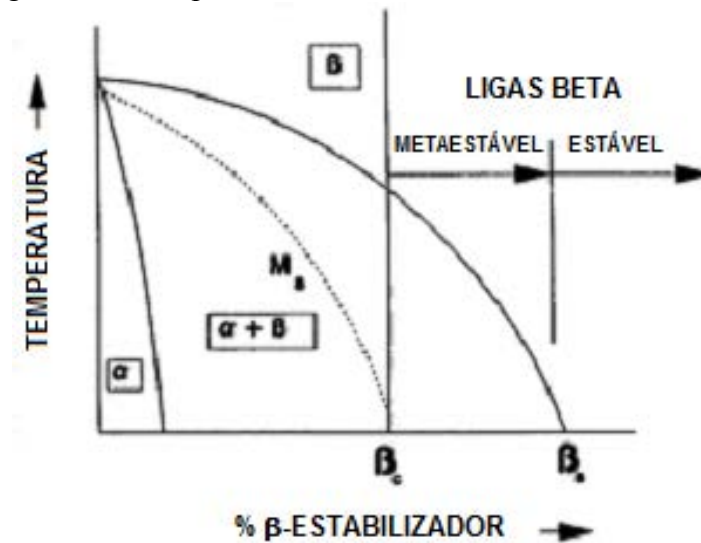
Entre as ligas de titânio $\alpha + \beta$, a Ti-6Al-4V é a mais utilizada, representando mais de 50% das ligas em uso (LEYENS; PETERS, 2003).

2.1.1.4 Ligas Pseudo- β e Ligas- β

As ligas beta são ligas de titânio com quantidade de β -estabilizadores suficiente para que, durante têmpera até a temperatura ambiente, não haja transformação martensítica, resultando em uma microestrutura contendo 100% de fase beta retida (LEYENS; PETERS, 2003). Os elementos β -estabilizadores podem ser divididos em isomorfos (Mo, V, W, Nb, Ta) e eutetóides (Fe, Cr, Cu, Ni, Co, Mn, Si) (BANIA, 1994).

A Figura 3 mostra o diagrama de fase pseudo-binário do titânio e um elemento β -estabilizador. A concentração mínima dos elementos beta estabilizadores (β_s) define a composição mínima para que a liga β seja estável, e também a composição limite para as ligas metaestáveis. Embora estas possam reter 100% da fase beta após a têmpera, a fase β é metaestável e irá precipitar durante o envelhecimento abaixo da temperatura β -transus (WEISS; SEMIATIN, 1998).

Figura 3 – Diagrama de fase pseudo-binário do titânio e um elemento β -estabilizador



Fonte: (BANIA, 1994).

O processamento das ligas β incluem trabalho mecânico e tratamento térmico. O tratamento térmico consiste em solubilização em temperaturas acima da β -transus, seguido por têmpera e tratamento de envelhecimento (LEYENS; PETERS, 2003). As ligas beta metaestáveis são envelhecidas em temperatura de 450 °C a 650 °C para que a fase beta seja parcialmente transformada em fase alfa, se apresentando em partículas dispersas na fase beta retida. Tal tratamento confere a essas ligas níveis de resistência comparáveis ou superiores àqueles das ligas $\alpha + \beta$ envelhecidas (DONACHIE, 1988). As ligas β estáveis, no entanto, não podem ser endurecidas por envelhecimento (WEISS; SEMIATIN, 1998).

2.1.2 Sistema Binário Ti-Ta

Elementos não-tóxicos têm sido estudados a fim de se desenvolver novas composições de ligas de titânio para aplicações biomédicas, devido a preocupações relativas à toxicidade dos íons presentes em algumas ligas utilizadas para a fabricação de implantes. Por exemplo, a

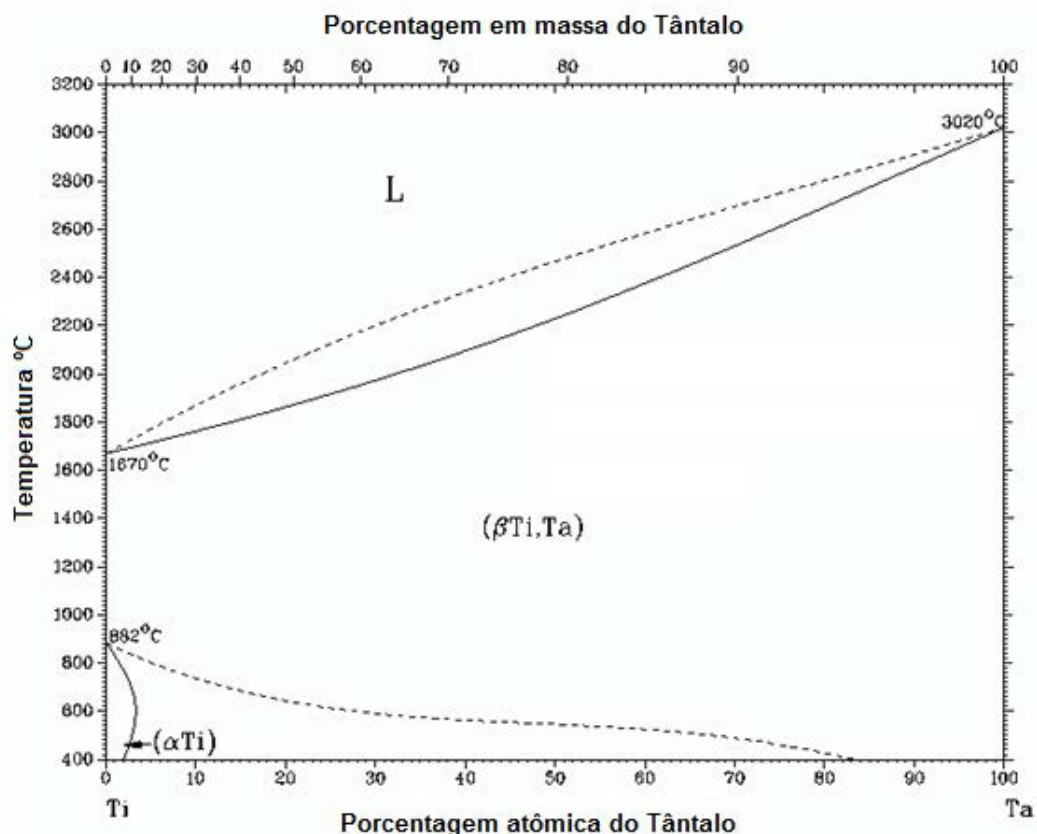
liga Ti-6Al-4V, apesar de ainda muito utilizada, apresenta íons de vanádio que podem gerar citotoxicidade e reação adversa com os tecidos do corpo, ao passo que o alumínio pode causar osteólise e distúrbios neurais (LONG; RACK, 1998).

Investigações realizadas por Zhou e seus colaboradores (2005) indicam a viabilidade da utilização das ligas de Ti-Ta devido à sua melhor biocompatibilidade mecânica quando comparadas ao Ti puro e Ti-6Al-4V usados como biomateriais padrão, ou seja, seu menor módulo e maior relação resistência-módulo do que os dos materiais de implante mais frequentemente utilizados.

As fases de equilíbrio do sistema Ti-Ta (Figura 4) são: líquida; solução sólida hexagonal compacta (α), próxima ao lado rico em titânio do diagrama; e solução sólida cúbica de corpo centrado (β), em que há solubilidade mútua completa em temperaturas acima da temperatura de transição α - β do titânio puro (882 °C) (MURRAY, 1981).

Este sistema é caracterizado por um campo de fase beta isomorfa (ccc) que se estende a partir do Ti puro em temperaturas elevadas ao Ta puro. Abaixo da β transus, que corresponde ao limite $(\alpha + \beta)/\beta$, ambas fases α (HC) e β estão em equilíbrio, com solubilidades mútuas limitadas (COTTON, 1994).

Figura 4 – Diagrama de fases Ti-Ta



Fonte: (MURRAY, 1981).

Estudos realizados por Zhou, Niinomi e Akahori (2004) revelaram que o módulo de elasticidade dinâmico das liga binárias Ti-Ta dependem do teor de tântalo, e que as ligas Ti-30%Ta e Ti-70%Ta têm a melhor combinação de elevada resistência e de baixo módulo, entre todas as composições de Ti-Ta estudadas.

2.2 TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE

A biocompatibilidade está relacionada com o comportamento das células em contato com o biomaterial e a adesão celular à sua superfície (ANSELME et al., 2000), sendo que tal fixação biológica é um pré-requisito para o sucesso a longo prazo de próteses implantossuportadas (LE GUÉHENNEC et al., 2007). Quanto maior o grau de osseointegração, maior é a estabilidade mecânica, e menor é a probabilidade de afrouxamento do implante (GEETHA et al., 2009).

A composição química e morfologia da superfície de um material são quase sempre diferentes do material volumétrico. O arranjo molecular, reações na superfície, contaminação e deformação plástica resultantes do processo de fabricação dos implantes implicam em uma superfície mal definida e desuniforme (KOHN; DUCHEYNE, 1992). Tratamentos de superfície devem então ser realizados para que a superfície se torne apropriada para a implantação. Tais técnicas podem melhorar a bioatividade, biocompatibilidade, compatibilidade com o sangue, resistência ao desgaste e à corrosão do titânio e suas ligas. Esses métodos são classificados em métodos mecânicos, químicos e físicos, de acordo com o mecanismo de formação da camada modificada na superfície do material (LIU; CHU; DING, 2004).

Para que haja uma boa interação implante-osso em implantes dentários de titânio, acelerando a osseointegração, algumas propriedades de superfície são de suma importância, tais como: composição, hidrofiliabilidade e rugosidade (LE GUÉHENNEC et al., 2007).

Estudos realizados por Cochran e seus colaboradores (1999) indicam que superfícies de implantes rugosas implicam em maior contato osso-implante e exigem maiores forças para quebrar essa interface comparado com superfícies mais lisas, favorecendo assim a ancoragem óssea e estabilidade biomecânica. Existem diferentes métodos utilizados para modificação da topografia e aumento da rugosidade: jateamento de partículas, ataque ácido, anodização, implantação iônica, aspersão a plasma e recobrimento com fosfato de cálcio (LE GUÉHENNEC et al., 2007).

Biomateriais metálicos têm baixa osteocondutividade devido à sua natureza bioinerte. Como alternativa para melhorar a resposta dos tecidos na interface de contato entre o osso e o implante dentário, revestimentos de fosfato de cálcio osteocondutores têm sido introduzidos na superfície de substratos metálicos (KELLER, 2003), para que haja melhor fixação bioativa após a cirurgia, promovendo a cicatrização e aposição óssea (LE GUÉHENNEC et al., 2007).

A formação de cerâmica bioativa em metais e polímeros orgânicos pode ser reproduzida em fluido corporal simulado através de tratamento biomimético (KOKUBO, 1998). Uma camada de fosfato de cálcio (Ca-P) é obtida na superfície do substrato quando este é imerso em solução cujas concentrações dos íons, pH e temperatura simulam o plasma sanguíneo humano (simulated body fluid – SBF) (LU; LENG, 2005).

Kokubo e Takadama (2006) demonstraram que a análise da formação de apatita sobre a superfície de um material em SBF é útil para prever a bioatividade *in vivo* do material, não apenas qualitativamente como também quantitativamente. Kim e seus colaboradores (1996, 1997, 1999) avaliaram implantes de titânio e suas ligas em SBF e concluíram que um pré-tratamento químico e térmico favorece a obtenção de uma superfície bioativa no material.

Diversos tipos de materiais bioativos com diferentes propriedades mecânicas podem ser obtidos por tratamento alcalino e térmico, devido à existência de grupos funcionais (como Si-OH, Ti-OH, Zr-OH, Nb-OH e Ta-OH) que induzem a formação de apatita bioativa dentro do corpo humano (KOKUBO, 2005; KOKUBO et al., 2009; KOKUBO; MATSUSHITA; TAKADAMA, 2007). Por exemplo, uma camada fina de titanato de sódio ($\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$ ou $\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$) é formada quando a liga Ti-6Al-4V é submetida a tratamento alcalino seguido de tratamento térmico (LEE et al., 2002).

Miyazaki et al. (2000, 2001) estudaram o tântalo puro em SBF e concluíram que o tempo necessário para a formação de apatita pode ser reduzido quando o metal é previamente imerso solução aquosa de NaOH a 60 °C por 24 h, com posterior tratamento térmico a 300 °C por 1 h. O tantalato de sódio amorfo formado libera o íon Na^+ em SBF e, como resultado, uma grande quantidade de grupos Ta-OH é formada na superfície. Os grupos Ta-OH induzem a nucleação apatita e os íons Na^+ a aceleram, aumentando o produto de atividade iônica da apatita no fluido.

Sabe-se que através do método biomimético, é possível cobrir materiais de formato complexo, tais como implantes porosos, além de permitir o revestimento de implantes com novas fases de Ca-P que não poderiam ser produzidas em temperaturas elevadas. Porém, longos períodos de imersão (cerca de 7 a 14 dias) são necessários para obtenção de camadas de Ca-P uniformes sobre diversos substratos (BARRÈRE, 2002b).

Um aumento na concentração do SBF foi estudado por Barrère e seus colaboradores (1999) a fim de acelerar o processo de revestimento. O procedimento consiste em utilizar um gás levemente ácido, CO_2 , para diminuir o pH da solução e aumentar a solubilidade do fosfato de cálcio. À medida que o gás carbônico é naturalmente liberado, o pH e a saturação aumentam lentamente. Ocorre, então, a precipitação gradativa do Ca-P na superfície do implante de maneira uniforme.

Barrère et al. (2002a) concluíram que a utilização de SBF com concentração iônica cinco vezes superior à solução convencional (SBF 5x) permite a deposição de um revestimento de Ca-P em um período de 24 h. A composição do plasma humano, SBF, e SBF 5x é mostrada na Tabela 2.

Tabela 2 – Composição inorgânica (mM) do plasma humano (HBP - human body plasma), SBF convencional e SBF 5x

	NaCl	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	NaHCO_3
HBP	146,7	1,5	2,5	1,0	27,0
SBF	146,7	1,5	2,5	1,0	4,2
SBF 5x	733,5	7,5	12,5	5	21,0

Fonte: Adaptado de (BARRÈRE et al., 2002a).

Os autores observaram que a presença do Mg^{2+} no SBF é necessária para a formação e adesão do revestimento na superfície do substrato. Ele é um inibidor de crescimento de cristal e favorece a nucleação heterogênea de Ca-P devido à sua alta concentração na interface revestimento/substrato (BARRÈRE et al., 2002a).

De acordo com Habibovic e seus colaboradores (2002), a evolução do pH durante o processo de revestimento é dependente da força iônica da solução (ou seja, a quantidade de cloreto de sódio - NaCl), e da quantidade de íons HCO_3^- (hidrogenocarbonato). Barrère et al. (2002b) constataram que uma alta força iônica adia a precipitação e favorece a nucleação heterogênea de Ca-P. A presença de hidrogenocarbonato, por sua vez, aumenta o pH da solução e influencia na taxa de liberação do CO_2 dissolvido. Os íons HCO_3^- afetam a supersaturação e estrutura do fosfato de cálcio, diminuindo o tamanho dos cristais e resultando numa melhor fixação do revestimento no substrato.

2.3 INCORPORAÇÃO DE ANTIBIÓTICO

Um dos problemas mais comuns após a cirurgia de implante é a infecção bacteriana, que pode resultar em complicações graves, como a osteomielite. Assim, os pacientes são frequentemente submetidos a antibioticoterapia durante 6 a 8 semanas após a cirurgia inicial. Porém, para que o medicamento seja eficaz no local da implantação, são necessárias doses elevadas, o que pode resultar em efeitos secundários indesejáveis nos pacientes (POPAT et al., 2007). Como alternativa, um sistema de liberação local de antibióticos a partir de implantes de titânio revestidos de apatita pode ser utilizado para prevenir infecções pós-cirúrgicas (BOSE; TARAFDER, 2012).

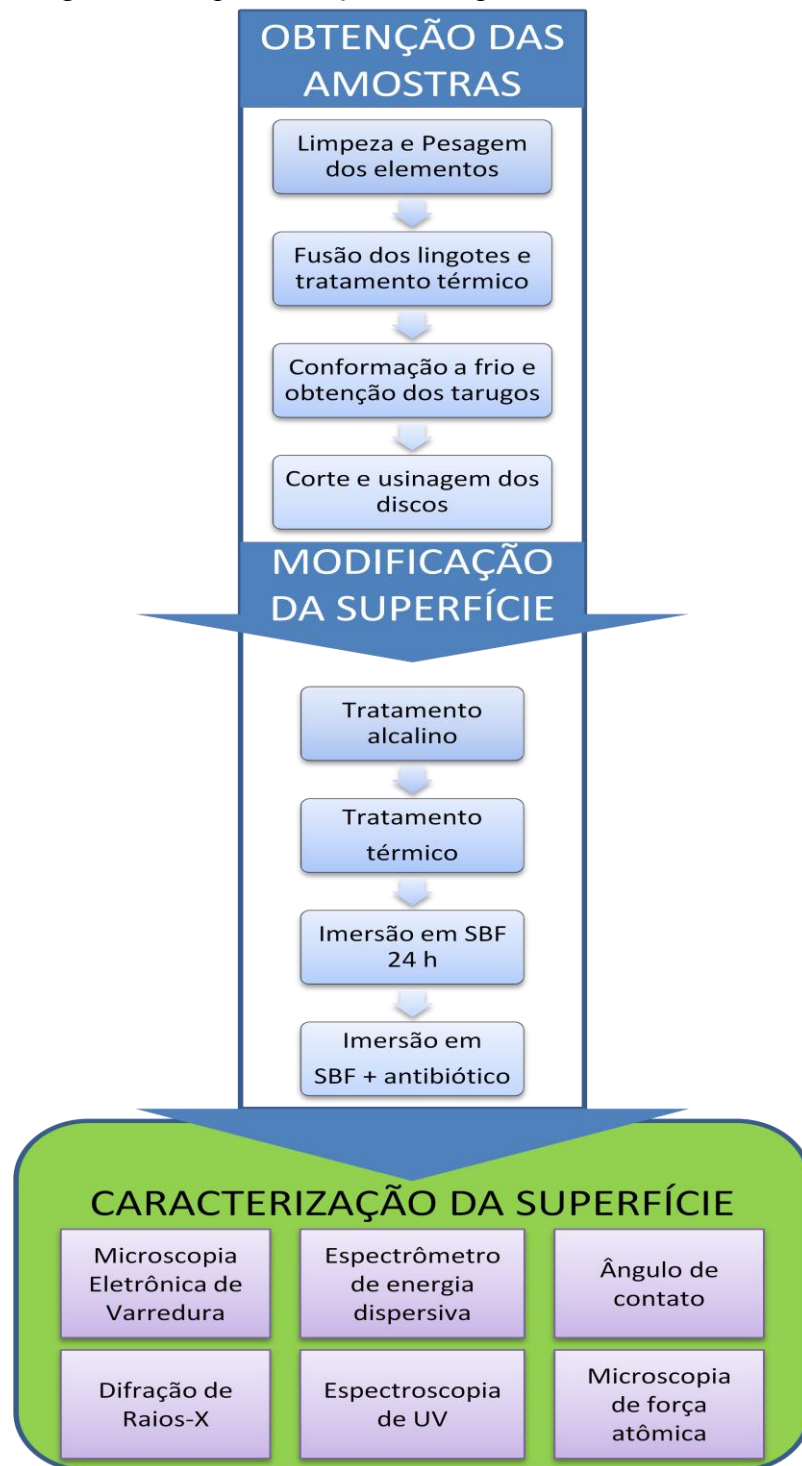
Stigter e seus colaboradores (2004) verificaram a possibilidade de associar o tratamento biomimético com a incorporação de diferentes antibióticos. Quando os antibióticos são adicionados à solução de revestimento, ocorre uma co-precipitação gradual com os cristais de fosfato de cálcio, formando uma camada densa, uniforme e espessa de biocerâmica em cima do substrato. A liberação do medicamento dependerá da porosidade e permeabilidade do biofilme formado.

Neste trabalho, utilizou-se a gentamicina, um medicamento normalmente usado para prevenir a infecção bacteriana ao redor do implante. A gentamicina é um antibiótico aminoglicosídeo, e pode tratar vários tipos de infecções bacterianas para impedir a adesão bacteriana e mantendo as propriedades de osseointegração na superfície nanoestruturada (POPAT et al., 2007).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As etapas desenvolvidas na metodologia experimental para obtenção dos resultados do trabalho foram esquematizadas na Figura 5.

Figura 5 – Esquematização das etapas realizadas no estudo



Fonte: Autora.

3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

3.1.1 Obtenção dos lingotes

A liga Ti-30Ta foi obtida a partir do titânio comercialmente puro e tântalo comercialmente puro, na forma de pedaços de chapas laminadas. A quantidade de cada componente foi determinada com a seguinte proporção: 70% em massa de titânio e 30% em massa de tântalo. A limpeza dos materiais foi realizada utilizando acetona, e a pesagem foi então realizada em balança analítica. A fusão dos elementos foi feita em um forno a arco voltaico com eletrodo não consumível, atmosfera inerte de gás argônio e cadinho de cobre refrigerado (Figura 6).

Figura 6 – Forno a arco voltaico utilizado para obtenção da liga



Fonte: Autora.

No equipamento utilizado, o funcionamento é o mesmo do processo de soldagem TIG (Tungsten Inert Gas), que se caracteriza por um arco voltaico entre o eletrodo de tungstênio (catodo) e o cadinho de cobre (anodo) refrigerado à água. Com o acionamento do pedal ligado a uma fonte retificadora, ocorre a abertura do arco elétrico, que atinge temperaturas suficientemente elevadas para a fusão do material depositado no interior do cadinho.

Após a câmara estar devidamente fechada, a atmosfera inerte do forno é obtida através do processo de lavagem. Nesse procedimento, a bomba de vácuo é acionada e, após atingida a pressão desejada, o vácuo é então quebrado com a injeção de gás argônio. Esse procedimento é repetido três vezes para garantir que não haja contaminação da atmosfera do forno por gases que reagem e têm efeito sobre a composição química dos metais fundidos.

Para a obtenção de uma liga mais homogênea, a disposição dos pedaços de metal no cadinho deve ser feita de maneira que o material de maior densidade esteja sobre o material de menor densidade. Após a formação da poça líquida e sua solidificação, o lingote deve ser virado com o auxílio do eletrodo. Esse processo é repetido pelo menos três vezes para garantir uma melhor homogeneização da liga.

3.1.2 Tratamento térmico

Após a fusão, os lingotes foram posicionados no cadinho de alumina e tratados termicamente em forno com atmosfera inerte (Figura 7) conseguida através de vácuo e injeção de argônio. A homogeneização foi feita através do aquecimento a 1000 °C por vinte e quatro horas, e resfriamento lento dentro do forno.

Depois de homogeneizados, os lingotes foram solubilizados a 950 °C durante 2 h, com resfriamento rápido em água.

Figura 7 – Forno utilizado para tratamento térmico



Fonte: Autora.

3.1.3 Forjamento rotativo

Posteriormente ao tratamento térmico, os lingotes foram forjados no Departamento de Engenharia de Materiais da Escola de Engenharia de Lorena, USP. Para obtenção de tarugos cilíndricos com 6 mm de diâmetro, o forjamento foi realizado em uma forja do tipo swaging (forjamento rotativo), modelo 3F – FENN (Figura 8). Uma troca dos martelos foi feita a cada passe, causando redução da ordem de 20% no diâmetro dos lingotes, até o diâmetro final desejado.

Figura 8 - Equipamento para forjamento à frio FENN



Fonte: Autora.

Os lingotes obtidos com 6 mm de diâmetro foram novamente solubilizados a 950 °C durante 2 h. Após esse tempo, foi feito o resfriamento rápido em água (têmpera).

3.1.4 Preparação dos discos

Depois de tratados, os lingotes foram cortados em discos de 2 mm de espessura na cortadeira de precisão Buehler Isomet 4000 (Figura 9). Os discos foram então lixados em granulação 100, a fim de aumentar a rugosidade da superfície.

Figura 9 – Cortadeira de precisão Isomet 4000



Fonte: Autora.

3.2 MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE

A modificação de superfície foi realizada em três etapas, empregando-se: tratamento alcalino, tratamento térmico, imersão em SBF/antibiótico.

3.2.1 Tratamento Alcalino

Previamente, foi feita a limpeza dos discos, que foram imersos em um béquer com acetona colocado em um aparelho de ultrassom por 30 min. Após a secagem, as amostras foram submetidas ao tratamento alcalino, permanecendo imersas com a superfície lixada para cima em solução aquosa de NaOH 1M em banho-maria, Tecnal (Figura 10), a 60°C por 24 h. Passado esse período, os discos foram cuidadosamente lavados em água deionizada e secas em estufa por 24 h a 40°C, conforme metodologia proposta por Miyazaki et al. (2002).

Figura 10 - Banho termostático, Tecnal



Fonte: Autora.

3.2.2 Tratamento Térmico

As amostras foram aquecidas a 300 °C a uma taxa de 5 °C/min, e permaneceram nessa temperatura por 1 hora. Em seguida, foram resfriadas lentamente dentro do forno (Figura 11 e Figura 12) até a temperatura ambiente.

Figura 11 - Forno utilizado para tratamento térmico



Fonte: Autora

Figura 12 - Detalhe das amostras no interior do forno



Fonte: Autora.

3.2.3 Imersão em SBF/antibiótico

A camada de fosfato de cálcio foi obtida utilizando SBF 5x concentrado proposto por Barrere et al. (2002a). A composição empregada é mostrada na Tabela 3. O uso do SBF 5x possibilita a deposição de uma cobertura uniforme de Ca-P em um período de 24 h.

Tabela 3 - Composição do SBF 5x

SBF 5x	
Reagentes	Quantidade (g/L)
NaCl	40
CaCl ₂ . 2H ₂ O	1,84
MgCl ₂ . 6H ₂ O	1,52
NaHCO ₃	1,76
Na ₂ HPO ₄ . 2H ₂ O	0,89

Fonte: (BARRERE et al., 2002a).

A solução foi preparada dissolvendo-se os sais em água deionizada mantida a uma temperatura de 37 °C com o auxílio de um agitador magnético com aquecimento (Figura 13).

Para a completa dissolução dos sais, foi empregado um fluxo de gás CO_2 por 20 min, até a solução ficar transparente. Ao final desse período, mediu-se o pH, que foi de 6,5.

Figura 13 - Preparo do SBF 5x com fluxo de CO_2



Fonte: Autora.

As amostras foram então imersas em 30 mL de SBF em tubo Falcon, com a superfície lixada para cima. Os tubos foram mantidos em agitação constante a 200 rpm e 37 °C por um período de 24 horas (Figura 14). Em seguida, foram cuidadosamente retiradas, lavadas com água deionizada e secas em estufa a 40°C por 24 horas.

Para a incorporação do antibiótico, os discos foram imersos em solução de gentamicina dissolvida em SBF a uma concentração de 1 g/L a 37°C por 48 h, mantidas a uma agitação contante de 50 rpm. Após esse período, as amostras foram lavadas com água destilada e secas em forno a 50 °C por 10 min (STIGTER et al., 2004).

Figura 14 - Tubos Falcon em mesa agitadora orbital



Fonte: Autora.

3.3 LIBERAÇÃO DO MEDICAMENTO

Para avaliar a liberação do antibiótico incorporado na superfície das amostras, os discos foram imersos em tubo Falcon contendo 3 mL de Phosphate Buffered Saline (PBS, pH = 7,4) e submetidos a agitação orbital de 100 rpm a 37 °C . A solução foi coletada e substituída por novo PBS depois de 15, 30 min, 1, 2, 3 e 4 h. A concentração da gentamicina em PBS foi medida através do espectrofotômetro no ultravioleta visível (UV/VIS) na faixa de comprimentos de onda entre 200 nm a 210 nm, com uma velocidade de 15 nm/min.

3.4 CARACTERIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE

A superfície das amostras foi caracterizada utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de energia dispersiva (EDS), medidas de ângulo de contato, e microscopia de força atômica (AFM), no Departamento de Materiais e Tecnologia da UNESP de Guaratinguetá. Foram feitas também micrografias em microscópio eletrônico de

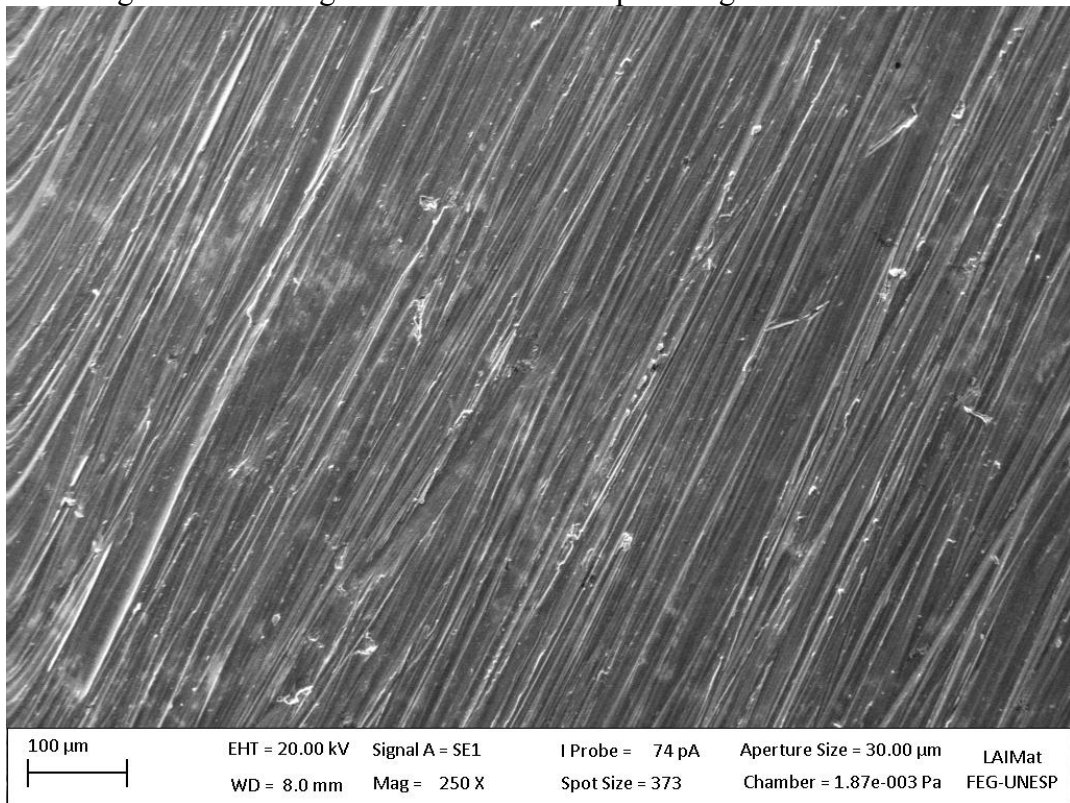
varredura MEV-FEG FEI Magellan 400L pertencente ao Laboratório de Caracterização Estrutural do Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). A análise por difração de Raios-X foi realizada em difratômetro pertencente ao Departamento de Engenharia de Materiais (DEMAR) da Escola de Engenharia de Lorena (EEL/USP).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Através da micrografia obtida em microscópio eletrônico de varredura (MEV) com ampliação de 250x, podem ser observadas as ranhuras da superfície da liga Ti-30Ta obtidas através do lixamento em lixa de granulação 100 para obtenção da rugosidade necessária para o tratamento biomimético (Figura 15).

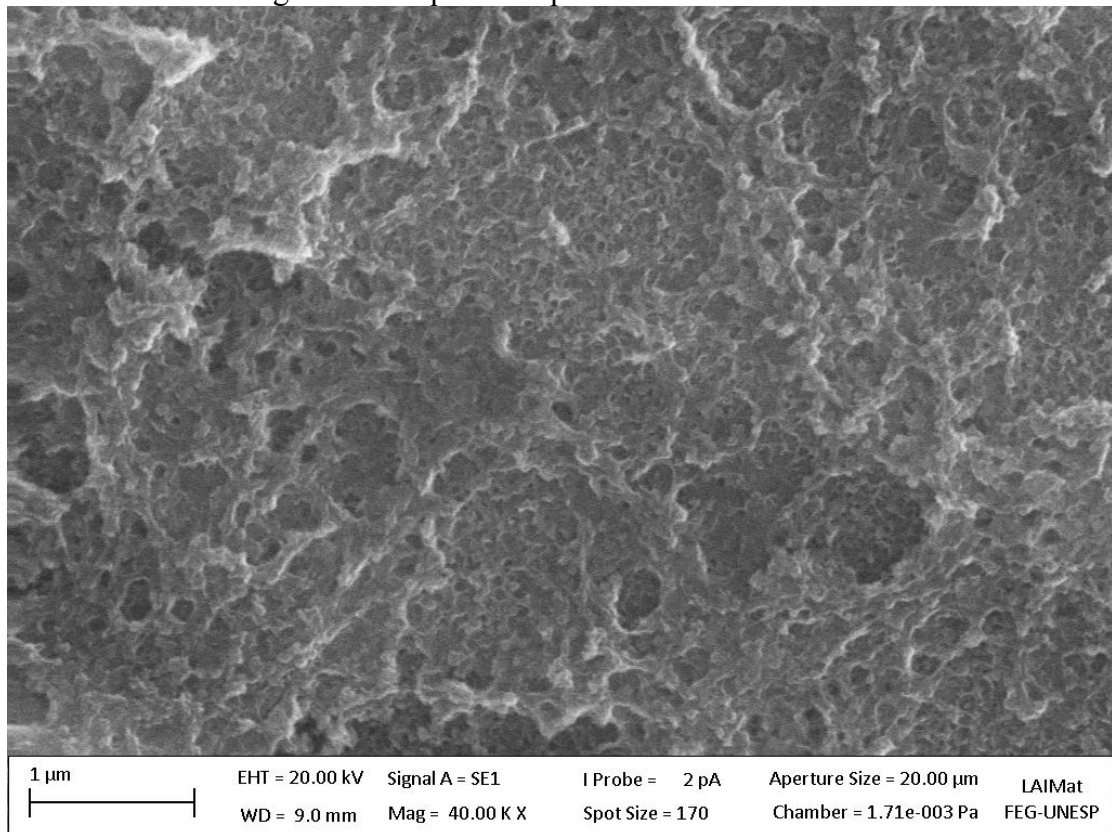
Figura 15 - Micrografia obtida em MEV para a liga de Ti-30Ta lixada



Fonte: Autora.

Com o tratamento alcalino e tratamento térmico, uma camada de tantalato de sódio é formada na superfície da liga (Figura 16). O nanofilme tantalato de sódio é capaz de acelerar o crescimento de apatita em SBF. De acordo com Miyazaki et al. (2002), a nucleação heterogênea da apatita é induzida pelo Ta-OH existente na superfície, que posteriormente se combina com uma pequena quantidade de íons Ca^{2+} , formando uma espécie de tantalato de cálcio. O tantalato de cálcio, então, reage com íon fosfato. Finalmente, uma grande quantidade de íons Ca^{2+} e íons fosfato é absorvida na superfície para a formação da apatita.

Figura 16 - Superfície após o tratamento alcalino

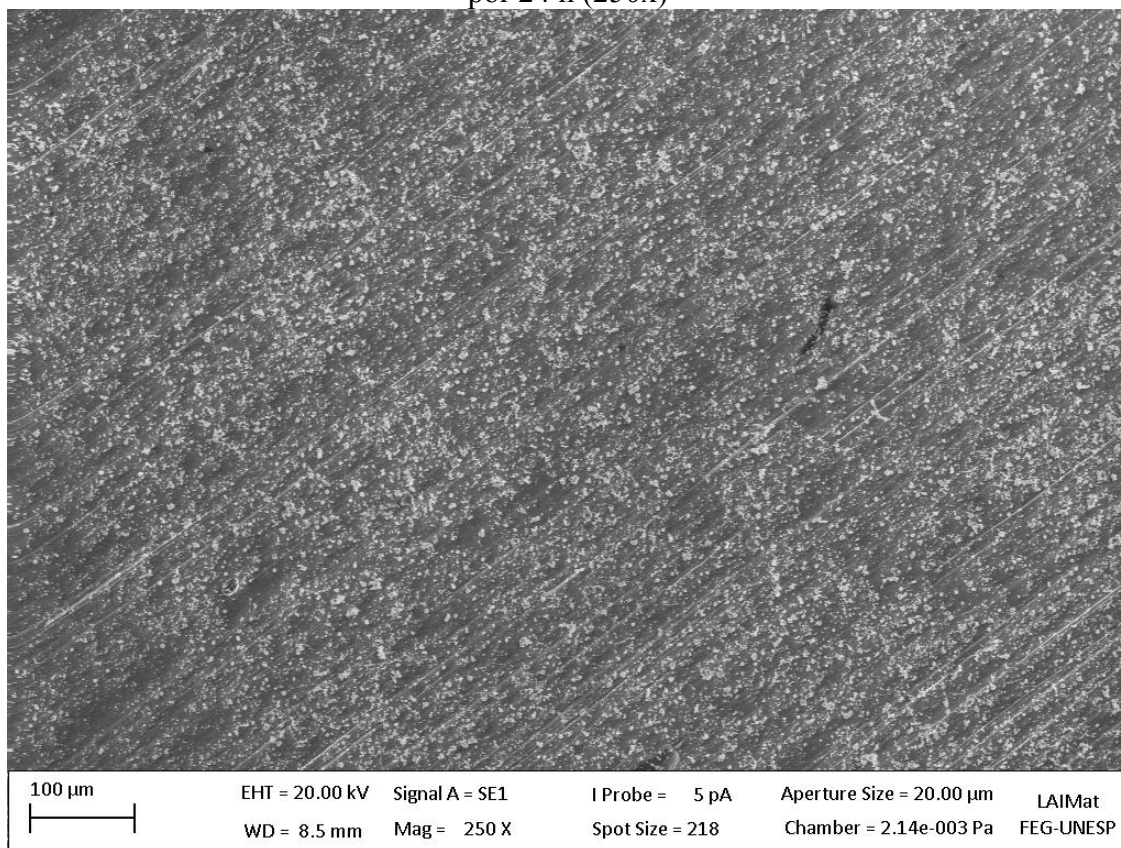


Fonte: Autora.

Como demonstrado por Barrere et al (2002), a utilização de CO_2 em uma solução SBF 5x concentrada possibilitou a formação de uma camada uniforme de fosfato de cálcio já nas primeiras 24 horas, o que pode ser observado na Figura 17. Essa camada é formada à medida que o gás CO_2 é liberado da solução, o que induz um aumento no pH do meio. Um maior pH provoca um aumento na supersaturação do SBF 5x, levando à nucleação do Ca-P na solução e na superfície do substrato.

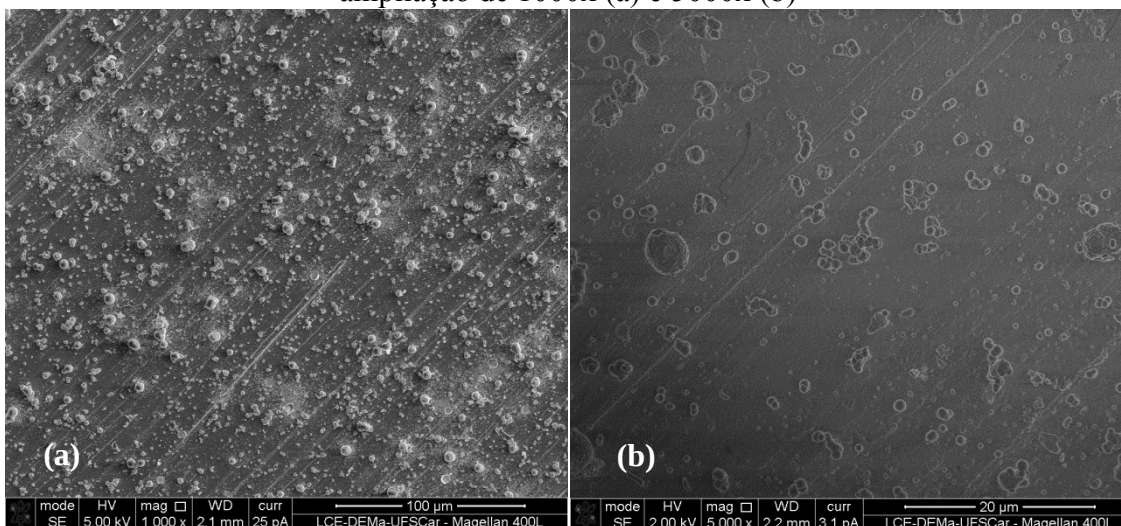
Em maiores ampliações (Figuras 18, 19 e 20), pode ser visualizado o filme denso que cobre uniformemente a superfície da amostra. Esse filme é composto por numerosas esferas nanométricas, bem como alguns aglomerados maiores compostos de esferas de Ca-P de tamanho nanométrico.

Figura 17 - Micrografia obtida em MEV da superfície da amostra após imersão em SBF 5x por 24 h (250x)



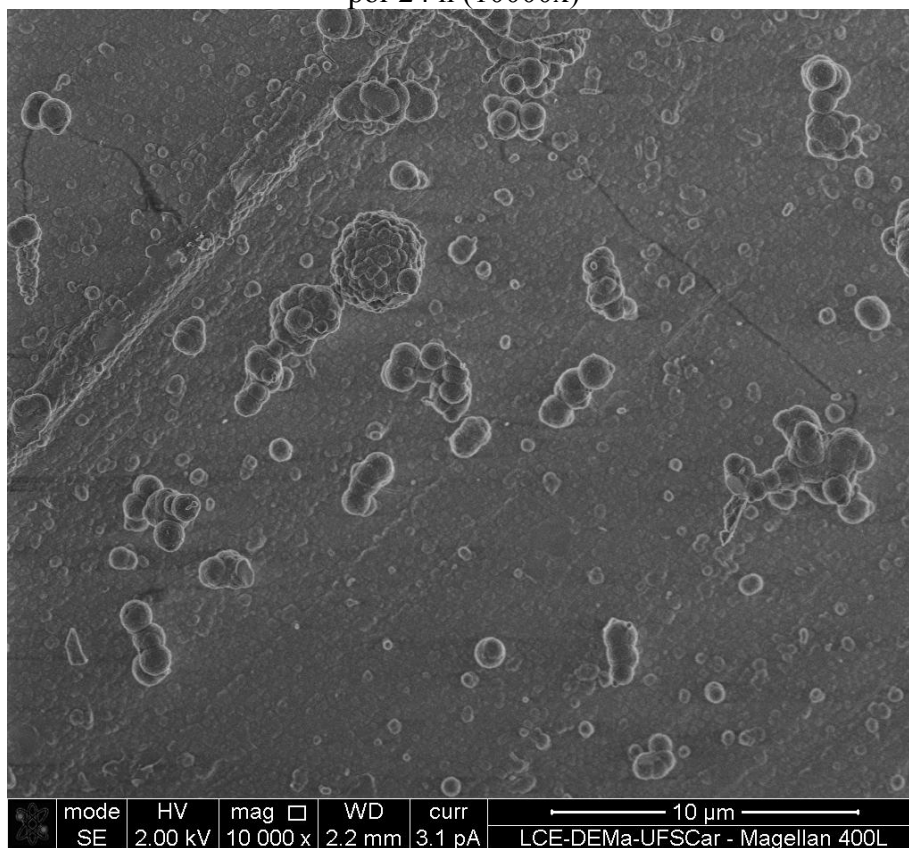
Fonte: Autora.

Figura 18- Micrografia obtida em MEV após imersão em SBF 5x por 24 h, em uma ampliação de 1000x (a) e 5000x (b)



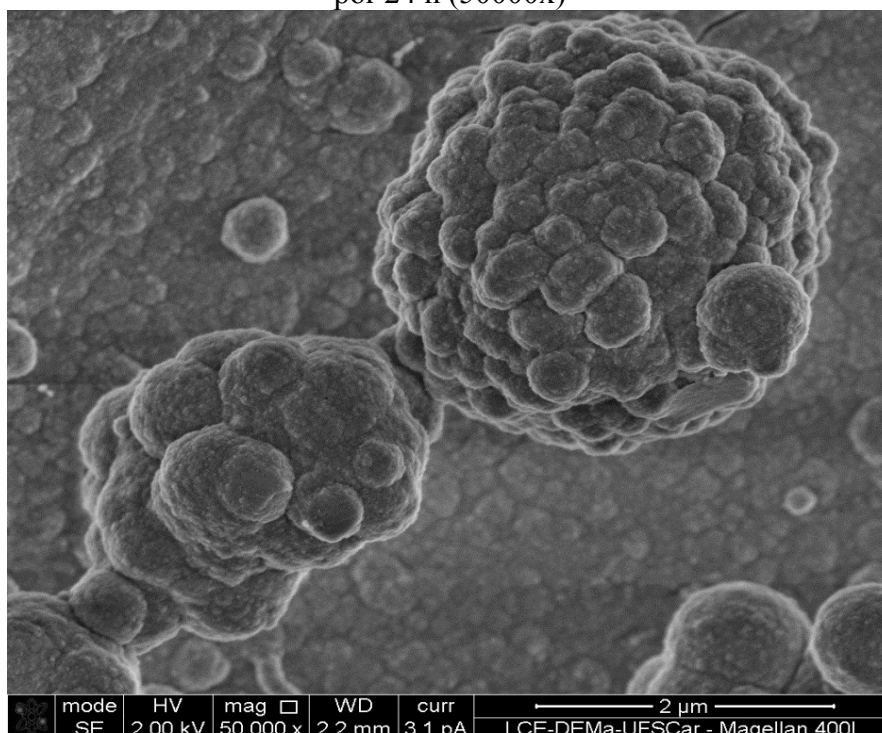
Fonte: Autora.

Figura 19 - Micrografia obtida em MEV da superfície da amostra após imersão em SBF 5x por 24 h (10000x)



Fonte: Autora.

Figura 20 - Micrografia obtida em MEV da superfície da amostra após imersão em SBF 5x por 24 h (50000x)

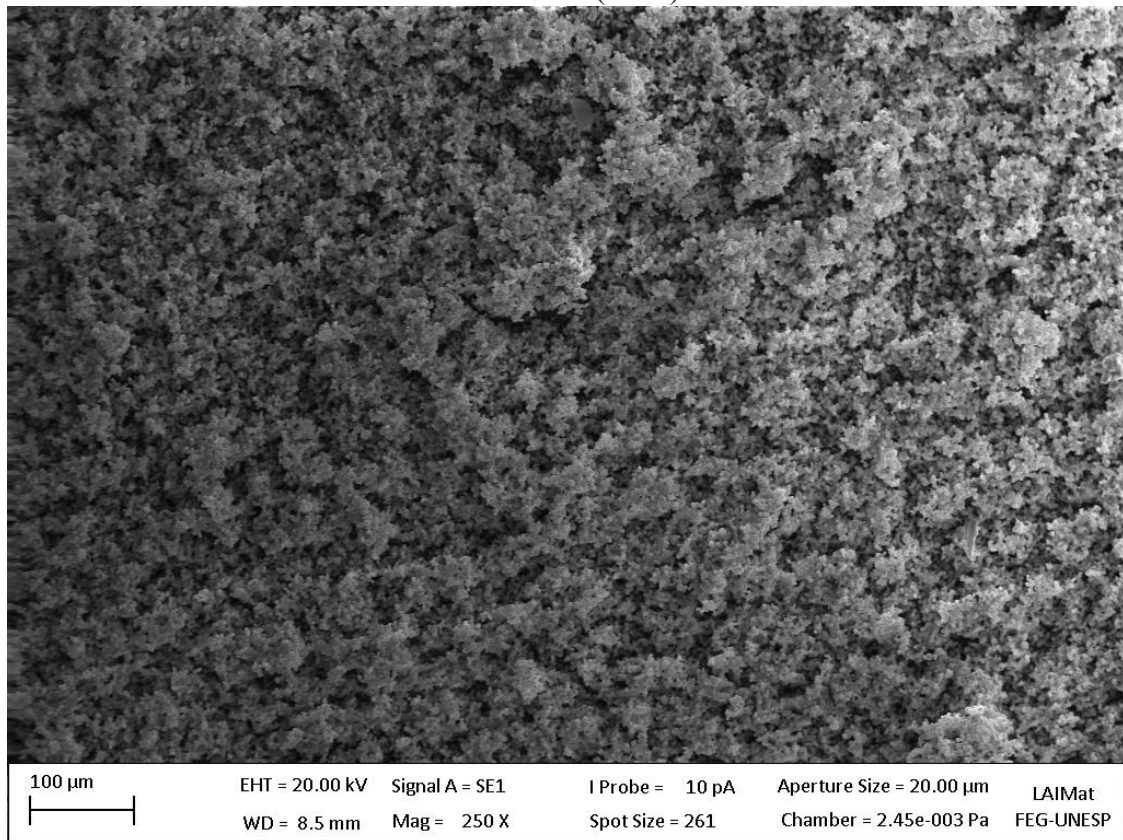


Fonte: Autora.

Após formada a camada de fosfato de cálcio na superfície, as amostras foram imersas em solução de SBF mais gentamicina (1 g/L) por 48 h. Após a incorporação do antibiótico, as amostras foram caracterizadas novamente em microscópio eletrônico de varredura a fim de observar o maior crescimento de fosfato de cálcio na superfície.

Na Figura 21 pode ser visualizada a grande quantidade de aglomerados de Ca-P dispostos em toda superfície da liga Ti-30Ta.

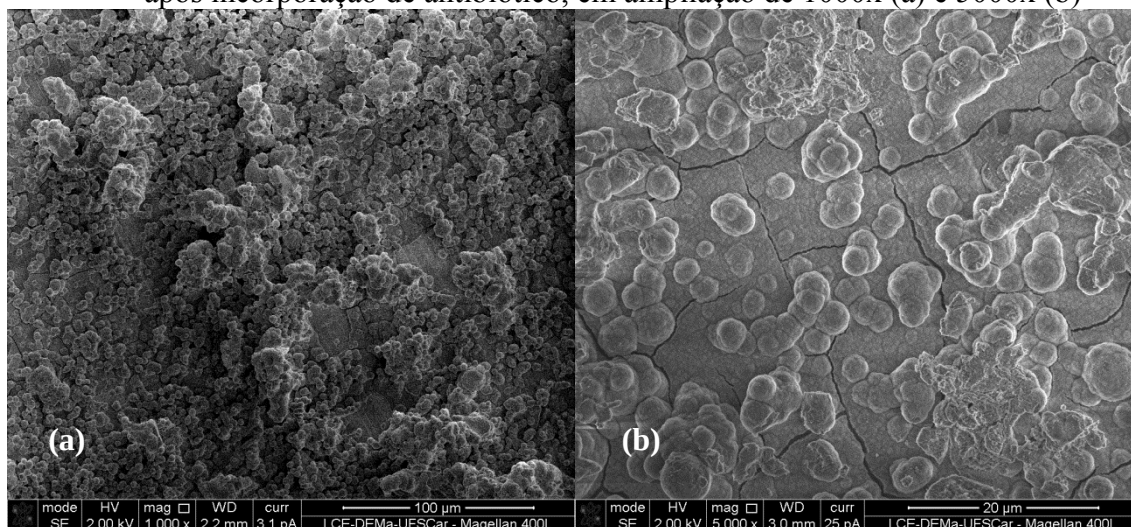
Figura 21 – Micrografia obtida em MEV após tratamento biomimético e incorporação de antibiótico (250x)



Fonte: Autora.

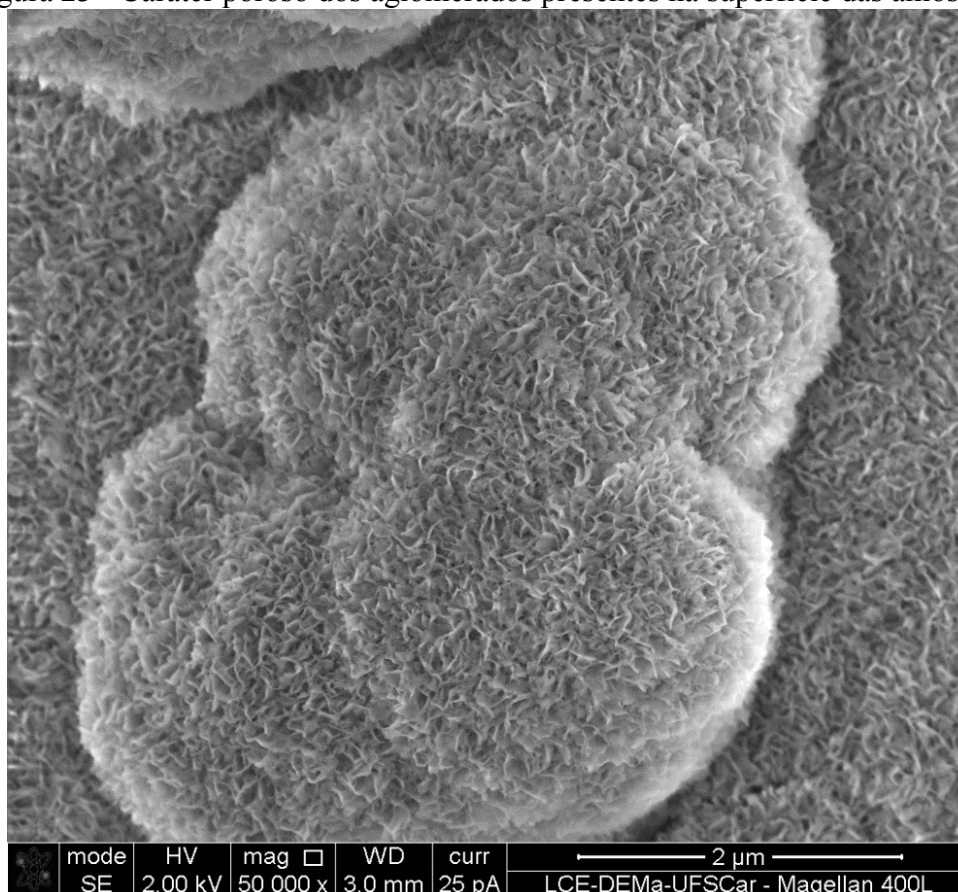
Em maiores ampliações, pode-se visualizar o caráter poroso da camada de Ca-P aderida ao substrato, bem como das esferas que compõe os aglomerados (Figura 22 e 23). Observa-se ainda que o filme final apresentou-se denso e com algumas trincas (Figura 24).

Figura 22- Micrografia obtida em MEV mostrando os aglomerados presentes na superfície após incorporação de antibiótico, em ampliação de 1000x (a) e 5000x (b)



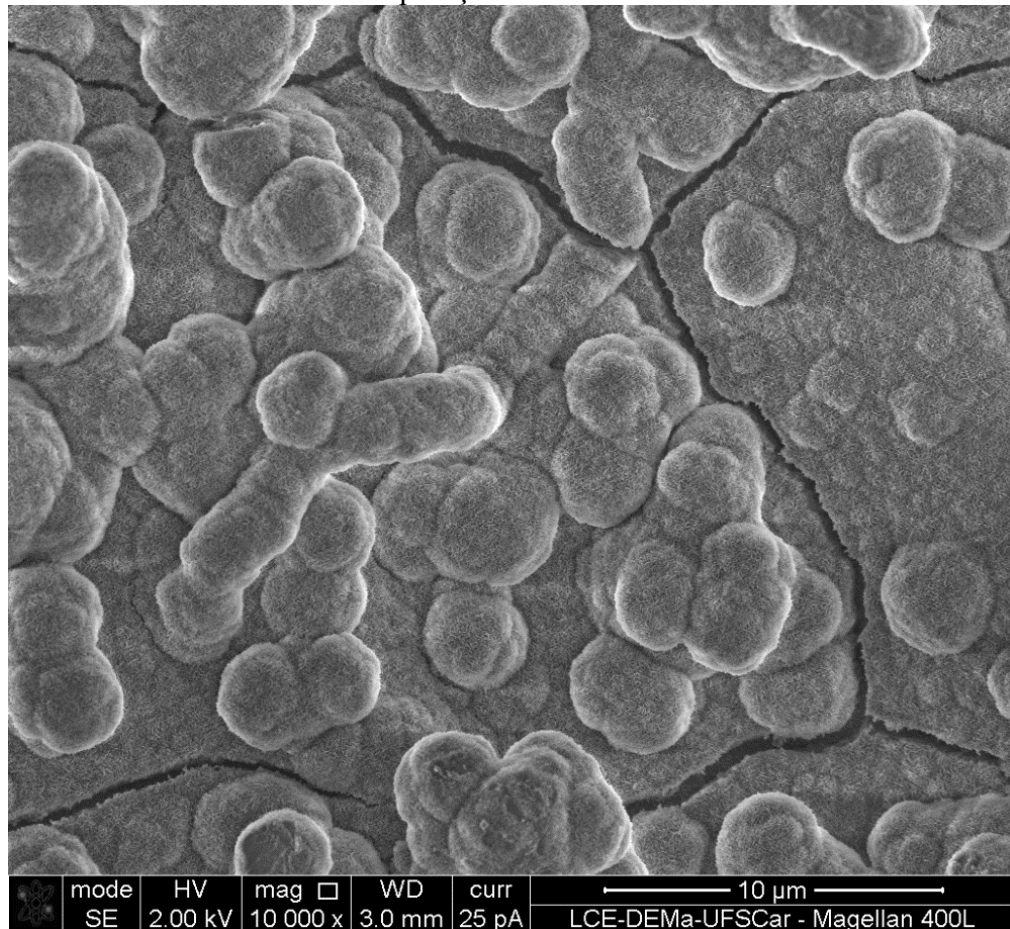
Fonte: Autora.

Figura 23 - Caráter poroso dos aglomerados presentes na superfície das amostras



Fonte: Autora.

Figura 24- Trincas presentes na camada cerâmica depositada sobre o substrato após incorporação de antibiótico



Fonte: Autora.

4.2 ESPECTROSCOPIA POR ENERGIA DISPERSIVA

Os espectros obtidos após análise em EDS das amostras em cada etapa do trabalho, podem ser observados na Figura 25.

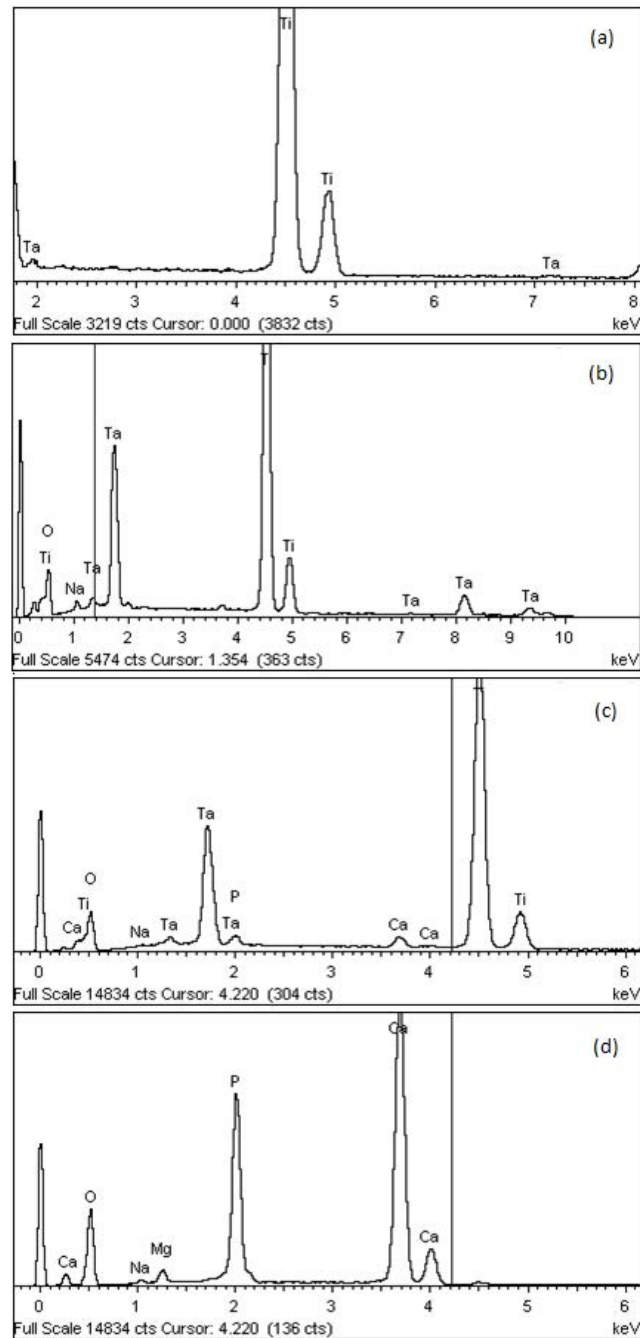
Como foi utilizada a liga Ti-30Ta, uma proporção próxima a 70% de titânio e 30% de tântalo era esperada.

Para a amostra submetida a tratamento alcalino e térmico, podem ser identificados os picos de sódio e oxigênio presentes no tantalato de sódio.

Após imersão em SBF 5x por 24 h, observam-se os picos referentes ao fósforo e cálcio, devido à formação da camada fina de fosfato de cálcio.

Depois da imersão em SBF 5x e antibiótico por 48 h, a camada de fosfato de cálcio presente no substrato é densa o suficiente para que não ocorram os picos característicos da liga Ti-30Ta. Aparecem ainda picos dos elementos sódio e magnésio referentes aos sais utilizados na composição do SBF.

Figura 25 - Análise EDS das amostras de: (a) Ti-30Ta; (b) depois do tratamento alcalino e térmico; (c) após imersão em SBF 24h; e (d) após incorporação de antibiótico



Fonte: Autora.

Assim, os gráficos obtidos são compatíveis com a composição esperada para cada amostra.

4.3 ÂNGULO DE CONTATO

Uma superfície é dita hidrofílica quando o ângulo de contato entre a gota e a superfície é menor do que 90°. Para estudo da molhabilidade das amostras em cada fase do trabalho, as medidas do ângulo de contato foram feitas em goniômetro utilizando água deionizada, e os resultados obtidos estão relacionados na Tabela 4 abaixo.

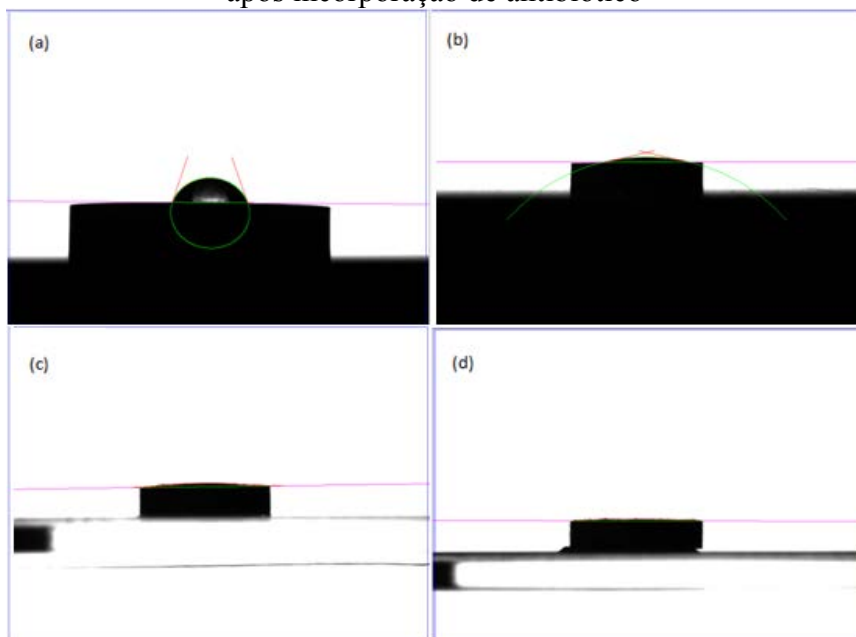
Tabela 4 - Ângulo de contato para as condições de tratamento superficial estudadas

Condição	Ângulo de contato
Superfície liga Ti-30Ta lixada	70,9
Após tratamento alcalino/térmico	12,7
SBF 5x 24 h	1,9
SBF 5x + gentamicina	0

Fonte: Autora.

Observa-se que todas as amostras apresentaram superfície hidrofílica, e que o ângulo de contato diminuiu consideravelmente com o tratamento biomimético. Os valores mais baixos do ângulo de contato para as amostras imersas em SBF são devido à formação da camada porosa de fosfato de cálcio. Na Figura 26, pode-se visualizar o perfil da gota de água em contato com a superfície dos discos.

Figura 26 - Perfil da gota de água em contato com a superfície dos discos nas seguintes condições: (a) lixada; (b) após tratamento alcalino/térmico; (c) após SBF 5x por 24 h; e (d) após incorporação de antibiótico



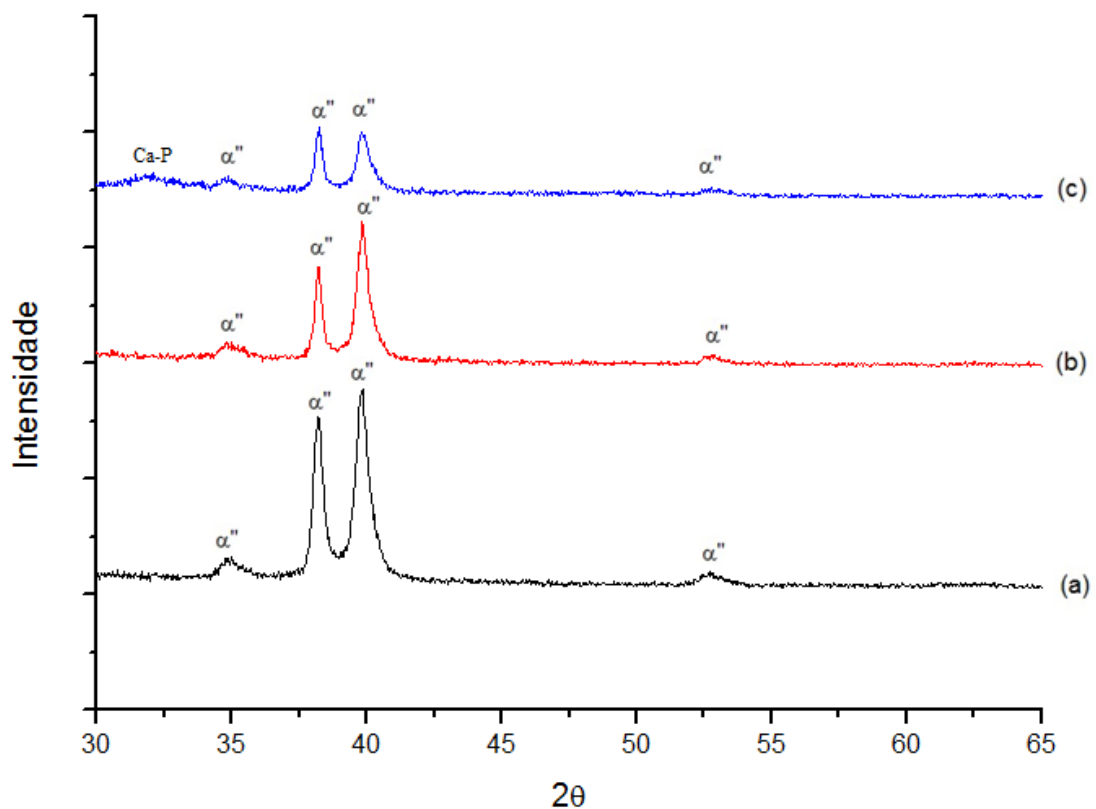
Fonte: Autora.

4.4 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

A difração de raios-X foi feita com ângulo de incidência rasante de 5° , e através dos resultados obtidos foi possível identificar as fases α'' presentes na liga de Ti-30Ta utilizada. Apesar de o tântalo ser um elemento β estabilizador, a quantidade presente na liga (30%) é suficiente para a formação da fase α'' devido aos tratamentos de solubilização e têmpera (ZHOU, 2005).

Na figura 27 podem ser comparados os difratogramas de raios-X obtidos para as amostras antes e após imersão em SBF e incorporação de antibiótico. Observa-se que a intensidade dos picos referentes ao substrato diminui conforme ocorre a formação da camada de fosfato de cálcio na superfície da amostra. Como o filme de Ca-P após a imersão em SBF 24 h é muito fino, não foi possível identificar o pico referente ao fosfato de cálcio, que nessas condições deve estar próximo à linha base. Após a imersão em SBF + medicamento por 48 h o filme se torna suficientemente denso, sendo observado na curva (c).

Figura 27 - Comparação entre os picos resultantes da difratometria de raios-X nas amostras (a) Ti-30Ta; (b) Ti-30Ta após imersão em SBF 5x por 24 h; e (c) após incorporação de antibiótico

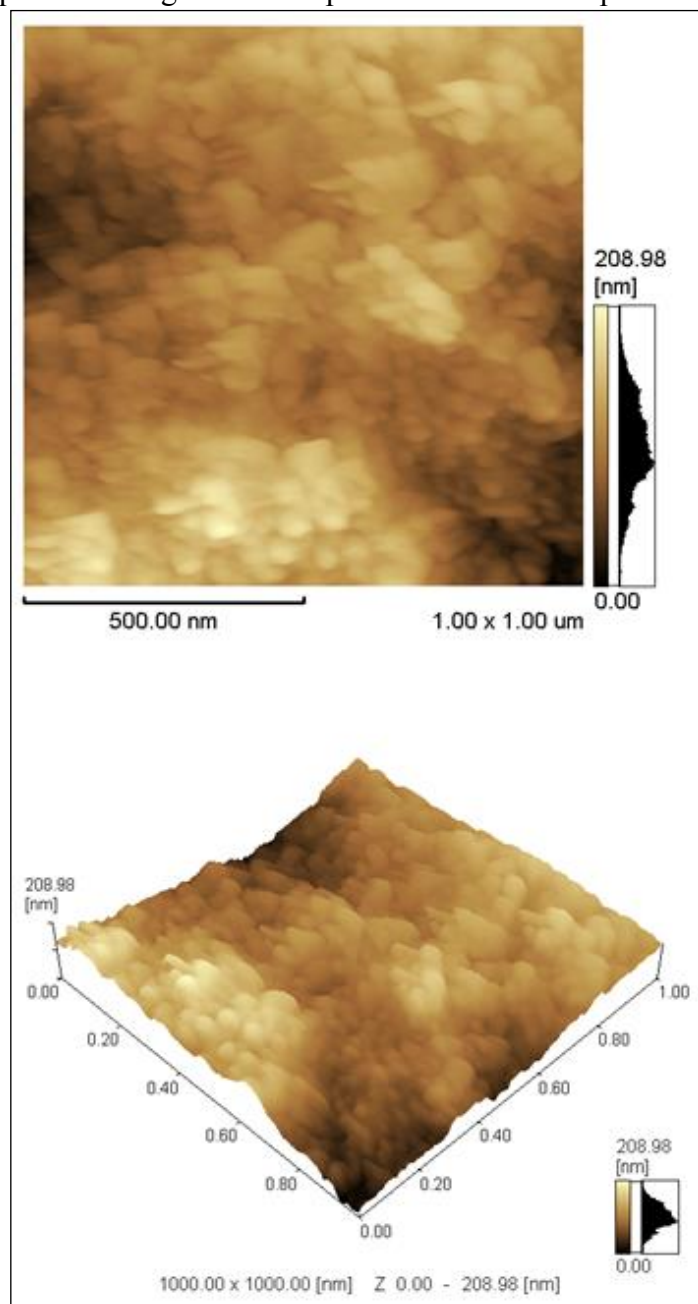


Fonte: Autora.

4.5 MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA

Para avaliar a rugosidade superficial das amostras após a imersão em SBF 5x por 24 h e solução de SBF 5x mais gentamicina, foi utilizado um microscópio de força atômica pertencente ao DMT da UNESP de Guaratinguetá. O resultado obtido está relacionado na as Figuras 28 e 29, sendo mostrado o mapa topográfico da superfície e sua rugosidade em ordem nanométrica para cada condição.

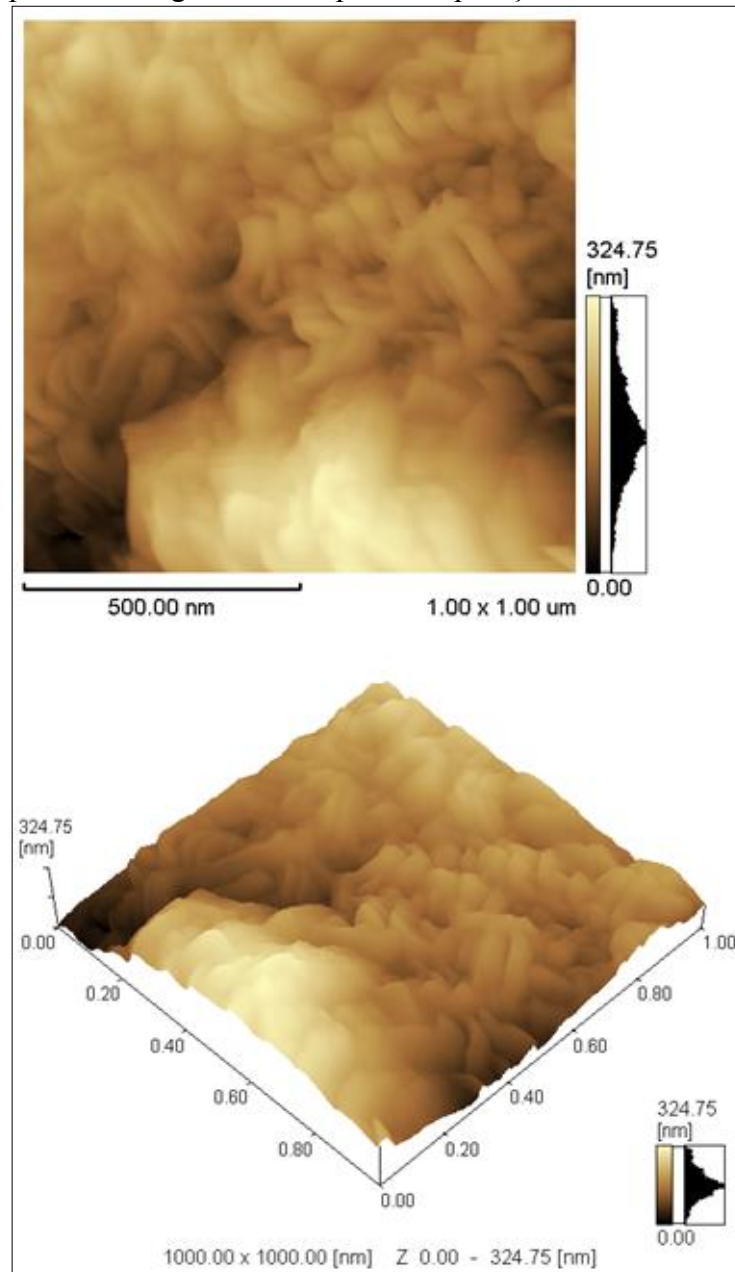
Figura 28 - Imagem obtida em microscópio de força atômica, mostrando o mapa topográfico da superfície da liga Ti-30Ta após imersão em SBF por 24 h



Fonte: Autora.

Observa-se uma topografia irregular da superfície, devido não somente às ranhuras provenientes do lixamento, como também pela nucleação heterogênea do Ca-P no substrato e formação de alguns aglomerados.

Figura 29 - Imagem obtida em microscópio de força atômica, mostrando o mapa topográfico da superfície da liga Ti-30Ta após incorporação de antibiótico



Fonte: Autora.

Após a imersão em solução SBF 5x mais medicamento por 48 horas, houve um crescimento da camada de apatita presente no substrato. A topografia tornou-se mais irregular

devido à grande quantidade de aglomerados formados na superfície, e rugosidade aumentou consideravelmente, conforme relacionado no Tabela 5.

Tabela 5 - Rugosidade das amostras antes e depois da incorporação de medicamento

	Rugosidade [nm]	
	SBF 24h	SBF + antibiótico
Ra	27,339	45,101
z	209,418	324,964
Rzjis	103,139	161,26
Rq	33,768	57,848
Rp	103,104	156,217
Rv	106,314	168,748

Fonte: Autora.

4.6 ESPECTROSCOPIA NO UV/VIS

A análise da liberação de antibiótico através da espectroscopia de UV não foi satisfatória, talvez devido ao pico de absorção da gentamicina ser muito próximo à região do visível. Alíquotas do medicamento liberado em PBS foram coletadas após 15, 30 min, 1, 2, 3 e 4 horas e analisadas na faixa de 200 a 210 nm, a uma velocidade de 15 nm/min e 3 ciclos de repetição. Porém, possivelmente devido à pequena quantidade de antibiótico incorporado na superfície, as curvas apresentaram pico próximo a zero, e a alta quantidade de ruído existente no espectrômetro nessa faixa de comprimento de onda impossibilitou uma análise quantitativa.

Uma possível alternativa para o estudo da liberação da gentamicina seria a proposta por Stigter (2004), em que a quantificação é realizada através do imunoensaio de fluorescência polarizada. Para verificar a presença ou não do medicamento e a eficiência do método de incorporação, poderia também ser feito um estudo da adesão de bactérias na superfície das amostras, conforme trabalho realizado por Popat et al (2007).

5 CONCLUSÃO

A partir da realização desse trabalho, pode-se concluir que:

- Foi possível a formação de uma camada fina de fosfato de cálcio na superfície da liga de Ti-30Ta em menos de 24 h, devido à utilização de CO₂ em uma solução SBF 5x concentrada.
- A co-precipitação do Ca-P com o antibiótico por 48 h possibilitou uma camada mais densa de fosfato de cálcio no substrato.
- Possivelmente devido à pequena quantidade de medicamento incorporada e limitações presentes no aparelho utilizado, não foi possível quantificar a liberação de gentamicina incorporada nas amostras através de espectroscopia no UV/VIS.

Os resultados indicam melhora superfície das amostras após tratamento biomimético, devido ao aumento da rugosidade e molhabilidade como consequência da formação do nanofilme cerâmico sobre o substrato. Assim, a formação de uma camada de fosfato de cálcio na liga Ti-30Ta tem potencial para fornecer uma interface de sucesso para implantes.

REFERÊNCIAS

- ANSELME, K. Osteoblast adhesion on biomaterials. **Biomaterials**, v. 21, n. 7, p. 667-681, 2000.
- BANIA, P. J. Beta titanium alloys and their role in the titanium industry. **JOM**, v. 46, n. 7, p. 16-19, July 1994.
- BARRÈRE, F. et al. Fast formation of biomimetic Ca-P coatings on Ti6Al4V. In: **MRS Proceedings**. Cambridge University Press, p. 135, 1999.
- BARRÈRE, F. et al. Influence of ionic strength and carbonate on the Ca-P coating formation from SBF× 5 solution. **Biomaterials**, v. 23, n. 9, p. 1921-1930, 2002a.
- BARRÈRE, F. et al. Nucleation of biomimetic Ca-P coatings on Ti6Al4V from a SBF× 5 solution: influence of magnesium. **Biomaterials**, v. 23, n. 10, p. 2211-2220, 2002b.
- BOSE, S; TARAFDER, S. Calcium phosphate ceramic systems in growth factor and drug delivery for bone tissue engineering: a review. **Acta biomaterialia**, v. 8, n. 4, p. 1401-1421, 2012.
- BRANEMARK, P. I. Osseointegration and its experimental background. **The Journal of prosthetic dentistry**, v. 50, n. 3, p. 399-410, 1983.
- COCHRAN, D. L. et al. The use of reduced healing times on ITI® implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface. **Clinical oral implants research**, v. 13, n. 2, p. 144-153, 2002.
- COTTON, J. D. et al. Microstructure and mechanical properties of Ti-40 wt pct Ta (Ti-15 at. pct Ta). **Metallurgical and materials transactions A**, v. 25, n. 3, p. 461-472, Mar. 1994.
- DONACHIE Jr, M. J. **Titanium: a technical guide**. Metals Park: ASM International, 1988. 469 p.
- 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.

GULATI et al. Biocompatible polymer coating of titania nanotube arrays for improved drug elution and osteoblast adhesion. **Acta Biomaterialia**, v.8, p. 449-456, jan. 2013.

HABIBOVIC, P. et al. Biomimetic hydroxyapatite coating on metal implants. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 85, n. 3, p. 517-522, 2002.

KELLER, J. C. Dental Implants: The Relationship of Materials Characteristics to Biological Properties. In: PARK, J. B.; BRONZINO, J. D. (Ed.). **Biomaterials: principles and applications**. Boca Raton: CRC, 2003. cap. 8.2, p. 195-206.

KIM, H. M. et al. Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surface treatment. **Journal of biomedical materials research**, v. 32, n. 3, p. 409-417, 1996.

KIM, H. M. et al. Effect of heat treatment on apatite-forming ability of Ti metal induced by alkali treatment. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 8, n. 6, p. 341-347, 1997.

KIM, H. M. et al. Graded surface structure of bioactive titanium prepared by chemical treatment. **Journal of biomedical materials research**, v. 45, n. 2, p. 100-107, 1999.

KOHN, D. H.; DUCHEYNE, P. Materials for Bone and Joint Replacement. In: CAHN, R. W.; HAASEN, P.; KRAMER, E. J. (Ed.). **Materials Science and Technology: A Comprehensive Treatment**. Cambridge: VCH, 1992. v. 14, cap. 2, p. 29-109.

KOKUBO, T. Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment. **Acta Materialia**, v. 46, n. 7, p. 2519-2527, 1998.

KOKUBO, T. Design of bioactive bone substitutes based on biomineralization process. **Materials Science and Engineering: C**, v. 25, n. 2, p. 97-104, 2005.

KOKUBO, T. et al. Development of bioactive materials based on surface chemistry. **Journal of the European ceramic society**, v. 29, n. 7, p. 1267-1274, 2009.

KOKUBO, T.; MATSUSHITA, T.; TAKADAMA, H. Titania-based bioactive materials. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 27, n. 2, p. 1553-1558, 2007.

KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. **Biomaterials**, v. 27, n. 15, p. 2907-2915, 2006.

LEE, B. H. et al. Surface modification by alkali and heat treatments in titanium alloys. **Journal of biomedical materials research**, v. 61, n. 3, p. 466-473, May 2002.

LE GUÉHENNEC, L. et al. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. **Dental materials**, v. 23, n. 7, p. 844-854, 2007.

LEYENS, C; PETERS, M. **Titanium and Titanium Alloys**: Fundamentals and applications. WILEY-VCH, 2003. 513 p.

LIU, X.; CHU, P.K.; DING, C. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. **Materials Science and Engineering R**, Nova York, v.47, n.3-4, p. 49-121, Dec. 2004.

LONG, M.; RACK, H. J. Titanium alloys in total joint replacement - a materials science perspective. **Biomaterials**, Bruxelas, v. 19, p. 1621–1639, 1998.

LU, X.; LENG, Y. Theoretical analysis of calcium phosphate precipitation in simulated body fluid. **Biomaterials**, v. 26, n. 10, p. 1097-1108, 2005.

McQUILLAN, A. D.; McQUILLAN, M. K. **Titanium**. London: Butterworths Scientific Publications, 1956. 466 p.

MIYAZAKI, T. et al. Bioactive tantalum metal prepared by NaOH treatment. **Journal of biomedical materials research**, v. 50, n. 1, p. 35-42, 2000.

MIYAZAKI, T. et al. Induction and acceleration of bonelike apatite formation on tantalum oxide gel in simulated body fluid. **Journal of sol-gel science and technology**, v. 21, n. 1-2, p. 83-88, 2001.

MURRAY, J. L. The Ta– Ti (Tantalum-Titanium) system. **Bulletin of Alloy Phase Diagrams**, v. 2, n. 1, p. 62-66, June 1981.

POPAT K. C. et al., Decreased *Staphylococcus epidermis* adhesion and increased osteoblast functionality on antibiotic-loaded titania nanotubes. **Biomaterials**, v. 28, p 4880-4888, Nov. 2007.

SMITH, F. W. **Structure and Properties of Engineering Alloys**. McGraw-Hill, Inc., p. 433-486, 1993.

SOUTHAM, J. C.; SELWYN, R. Structural changes around screws used in the treatment of fractured human mandibles. **Br J Oral Surg**, v. 8, 211–221, 1971.

STIGTER, M. et al. Incorporation of different antibiotics into carbonated hydroxyapatite coatings on titanium implants, release and antibiotic efficacy. **Journal of controlled release**, v. 99, n. 1, p. 127-137, Sep. 2004.

VALLET-REGI, M., GONZALEZ-CALBET, J.M. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. **Progress in Solid State Chemistry**, v. 32, n. 1-2, p.1-31, 2004.

WEISS, I.; SEMIATIN, S. L. Thermomechanical processing of beta titanium alloys—an overview. **Materials Science and Engineering: A**, v. 243, n. 1, p. 46-65, Mar. 1998.

WEISS, I.; SEMIATIN, S. L. Thermomechanical processing of alpha titanium alloys—An overview. **Materials Science and Engineering: A**, v. 263, n. 2, p. 243-256, May 1999.

ZHOU, Y. L.; NIINOMI, M.; AKAHORI, T. Decomposition of martensite α'' during aging treatments and resulting mechanical properties of Ti–Ta alloys. **Materials Science and Engineering: A**, v. 384, n. 1, p. 92-101, Oct. 2004.

ZHOU, Y. L. et al. Corrosion resistance and biocompatibility of Ti–Ta alloys for biomedical applications. **Materials Science and Engineering: A**, v. 398, n. 1, p. 28-36, May 2005.