

UNESP
Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá

Guaratinguetá
2012

ANA LÚCIA DO AMARAL ESCADA

**Crescimento de Nanotubos de TiO_2 na Superfície da Liga Ti-7,5Mo Empregando
Oxidação Anódica**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia do
Campus de Guaratinguetá, Universidade
Estadual Paulista, para a obtenção do título de
Doutor em Engenharia Mecânica na área de
Projetos e Materiais.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Rosifini
Alves Claro

Guaratinguetá
2012

E742c	Escada, Ana Lúcia do Amaral Crescimento de Nanotubos de TiO_2 na superfície da Liga Ti-7,5Mo empregando oxidação anódica / Ana Lúcia do Amaral Escada - Guaratinguetá : [s.n.], 2012. 110f. : il. Bibliografia: f. 102-110 Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, 2012. Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Paula Rosifini Alves Claro 1. Ligas de titânio 2. Nanotubos I. Título CDU 669.295(043)
-------	---



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE GUARATINGUETÁ

ANA LUCIA DO AMARAL ESCADA

ESTA TESE FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
“DOUTOR EM ENGENHARIA MECÂNICA”

PROGRAMA: ENGENHARIA MECÂNICA
ÁREA: MATERIAIS

APROVADA EM SUA FORMA FINAL PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. José Antonio Perrella Balestieri
Coordenador

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. ANA PAULA ROSIFINI ALVES CLARO
Orientador / Unesp-Feg

Prof. Dr. ROBERTO ZENHEI NAKAZATO
Unesp-Feg

Prof. Dr. SANDRA GIACOMINI SCHNEIDER
EEL/USP

Prof. Dr. RUBENS CARAM JUNIOR
UNICAMP

Prof. Dr. NELSON HERIBERTO ALMEIDA CAMARGO
UDESC-Univ. do Estado de Santa Catarina

Agosto de 2012

DADOS CURRICULARES**ANA LÚCIA DO AMARAL ESCADA**

NASCIMENTO	27.02.1976 – Guaratinguetá / SP
FILIAÇÃO	Arthur de Paula Santos Escada Marli Aparecida Antunes do Amaral Escada
1994/1997	Curso de Graduação em Ciências Biológicas – Modalidade Médica Universidade de Mogi das Cruzes - UMC
1998	Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP
2007/2009	Curso de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Nível de Mestrado, na Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá da Universidade Estadual Paulista/ UNESP

DEDICATÓRIA

Esta tese é dedicada a minha mãe, pelo carinho e paciência nos momentos de dificuldade.

Ao meu marido pelo apoio e compreensão ao longo de todo o trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pela minha vida e por ter me iluminado para a realização deste trabalho.

Ao meu marido Brauner e a Roberta pelo apoio e compreensão ao longo de todo o trabalho.

Ao Arthur, Elaine, Mariana e Arthur Neto pelo amor que sempre demonstraram por mim e pelo privilégio de tê-los como família.

Ao Departamento de Materiais e Tecnologia da Engenharia Mecânica da FEG-UNESP, pelas informações recebidas, apoio e incentivo, tornando possível a realização dessa tese de Doutorado, especialmente à minha orientadora Prof^a Dr^a Ana Paula Rosifini Alves Claro, pela amizade e carinho.

Aos professores e técnicos do Laboratório de Materiais e Tecnologia da FEG/UNESP, Manoel Francisco dos S. Filho, Domingos Hasmann Neto, José Manoel Bernardes, Célio José de Souza, Wilson Roberto Monteiro, pela dedicação e cooperação nos trabalhos.

Ao professor Roberto Zenhei Nakazato pelo grande auxílio na técnica de anodização.

Ao Dr. João Paulo Barros Machado do Laboratório de Sensores e Materiais - LAS – do Instituto de Pesquisa Espacial (INPE) em São José dos Campos, pelas análises de raios-X.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da FEG/UNESP, Regina Célia Galvão Faria Alves, Sidney Eustáquio Ramos Rabelo, Maria Cristina Silva de Oliva pela atenção no atendimento.

A minha amiga Kamila Amato de Campos, pelas análises de microscopia de força atômica.

Ao amigo Reginaldo Toshihiro Konatu pelo auxílio e amizade.

À secretária do Departamento de Materiais e Tecnologia Maria Aparecida R. Vasconcelos pela gentileza no atendimento.

A todas as pessoas que contribuíram para realização deste trabalho, meu agradecimento.

ESCADA, A. L. A. **Crescimento de Nanotubos de TiO_2 na Superfície da Liga Ti-7,5Mo Empregando Oxidação Anódica**. 2012, Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Faculdade de Engenharia, Campus de Guaratinguetá, São Paulo, Guaratinguetá, 2012.

RESUMO

Biomateriais metálicos são usados para reforçar a estrutura ou restaurar a função de tecidos duros, sendo aplicados como junções e ossos artificiais, placas de síntese, aparelhos ortodônticos, parafusos e implantes dentários. Estudos recentes mostraram que as células do corpo humano interagem com superfícies nanoestruturadas tais como superfícies nanorugosas, tendo nanopartículas ou óxidos metálicos nanoestruturados baseados no processo eletroquímico de auto-organização. A proposta deste estudo foi a modificação de superfície da liga Ti-7,5Mo a partir do crescimento de nanotubos de TiO_2 . Dentro desse contexto, em uma etapa inicial avaliou-se o efeito da tensão de anodização (20V e 30V) no diâmetro dos nanotubos e o tempo de anodização (24h e 48h) para calcinação a 450 °C. A superfície das amostras foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura, microscopia de força atômica, difração de raios X, espectroscopia fotoeletrônica de raio X e ângulo de contato. Nas amostras anodizadas, observou-se a formação de nanotubos de TiO_2 regulares e com diâmetro médio de 80 nm a 100 nm para a tensão 20V e de 100 nm a 120 nm para 30V. Para a temperatura de calcinação empregada (450 °C), em todos os grupos verificou-se a presença de anatásio. Para todas as condições de anodização superfícies hidrofílicas foram obtidas, no entanto, a melhor condição de molhabilidade foi observada quando o tempo de anodização de 48 horas foi empregado. Após o tratamento alcalino, observou-se um filme contínuo de titanato de sódio, seguindo a morfologia obtida na anodização, para todas as condições realizadas. A presença do titanato de sódio tornou todas as superfícies mais hidrofílicas. A imersão em SBF (Simulated Body Fluid) proporcionou o crescimento de apatita e os melhores resultados foram obtidos para as amostras imersas em SBF após o tratamento alcalino.

Palavras chave: Nanotubos TiO_2 , Titanato de sódio, Apatita

ESCADA, A. L. A. **Growth of Nanotubes on the Surface of the Ti-7, 5Mo Alloy Using Anodic Oxidation.** 2012, Thesis (Doctorate in Mechanical Engineering) – College of Engeneering, Campus of Guaratinguetá, São Paulo State University, Guaratinguetá, 2012.

ABSTRACT

Metallic biomaterials are used to reinforce the structure or restore the function of hard tissues, being used for artificial joints, artificial bones, short boards, braces, dental implants and screws. Recent studies have shown that human cells interact with nanostructured surfaces such as nanorough surfaces, and nanoparticles or nanostructured metal oxides based on the self-organization electrochemical process. The purpose of this work was surface modification of Ti-7.5Mo alloy from the growth of TiO₂ nanotubes. Within this context, at an early stage evaluated the effect of anodizing voltage in the nanotubes diameter and the anodization time. The surfaces of samples were characterized by scanning electron microscopy, atomic force microscopy, X-ray diffraction, X-ray photoelectron spectroscopy and contact angle. In anodized samples it was observed the TiO₂ nanotubes with regular formation with 80 / 100 nm average diameter 20V voltage and 100 / 120 nm for 30V. For the calcination temperature used (450 °C) there was the anatase presence in all groups. For all anodization conditions there were obtained hydrophilic surfaces, however, the best condition wetting was observed when the anodization time of 48 hours was employed. After the alkaline treatment, there was a continuous film of sodium titanate, following the morphology obtained in anodizing, for all conditions performed. The presence of the sodium titanate has all surfaces more hydrophilic. The SBF (Simulated Body Fluid) immersion afforded the apatite growth and the best results were obtained for samples immersed in SBF after alkali treatment.

Keywords: TiO₂ Nanotubes, Sodium titanate, Apatite

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1	Exemplo de aplicações de biomateriais; (a) <i>stents</i> coronários; (b) válvula cardíaca (adaptado de LIU, CHU e DING, 2004).....	21
FIGURA 1.2	Resposta do corpo humano ao implante em diferentes espaços de tempo: (a) absorção de moléculas de água sobre a superfície do implante (tempo de 10^{-9} nanosegundos); (b) absorção de proteínas sobre a superfície do implante sobre as moléculas de água (tempo de mili a micro (10^{-3} a 10^{-6}) segundos; (c) absorção de células sobre a superfície do implante sobre as proteínas (segundos a dias)(adaptado de GEETHA <i>et al.</i> , 2009).....	23
FIGURA 1.3	Dependência de várias reações com a energia de superfície (adaptado de Geetha, 2009).....	24
FIGURA 1.4	Representação esquemática do crescimento de nanotubos: (a) reação catódica; (b) reação anódica; (c) estado de transição da camada de TiO_2 (d) início da formação dos nanotubos de titania (MINAGAR <i>et al.</i> , 2012).....	25
FIGURA 1.5	Morfologia de nanotubos obtidos para Ti CP após anodização em eletrólito formado por 1 M H_3PO_4 + 0,3 %p HF (10 V) (a) vista de topo; (b) vista longitudinal (NEUPANE <i>et al.</i> , 2009).....	25
FIGURA 2.1	Representações das estruturas cristalinas das três formas alotrópicas do dióxido de titânio.....	30
FIGURA 2.2	Representação do processo de anodização eletroquímica e possíveis morfologias anódicas de uma célula eletrolítica.....	33
FIGURA 2.3	Estrutura da camada de óxido de titânio obtida pela anodização (Adaptado de CHICOV <i>et al.</i> , 2009).....	35
FIGURA 2.4	Visão esquemática do possível mecanismo de crescimento de nanotubos auto-organizados (Adaptado de JAROENWORALUCK <i>et al.</i> , 2007).....	37
FIGURA 2.5	Aspecto da apatita na superfície das amostras contendo nanotubos crescidos em eletrólito formado por Na_2SO_4 1 mol/L	

	e NaF 0,5% (m/m).....	45
FIGURA 2.6	Representação esquemática da formação do titanato de sódio sobre os nanotubos.....	46
FIGURA 3.1	Fluxograma da metodologia empregada no presente trabalho.....	47
FIGURA 3.2	Sequência empregada para a fusão da liga: (a) colocação dos materiais no cadinho; (b) fusão e (c) obtenção do lingote.....	48
FIGURA 3.3	(a) Forno tubular empregado para a realização dos tratamentos térmicos; (b) Detalhe da amostra após encapsulamento.....	49
FIGURA 3.4	(a) Equipamento para o forjamento rotativo a frio FENN modelo 3F; (b) Martelos; (c) Detalhe após o fechamento para a introdução do lingote.....	50
FIGURA 3.5	Máquina de corte empregada para obtenção dos discos após forjamento.....	50
FIGURA 3.6	Montagem da célula eletroquímica utilizada na anodização.....	52
FIGURA 3.7	Banho termostatzado mantido a 80°C por 1h.....	53
FIGURA 3.8	Forno mufla EDG com aquecimento por resistência elétrica usado para tratamento térmico das amostras.....	54
FIGURA 3.9	Preparo do SBF com inserção de CO ₂ (a) início e (b) final do preparo.....	55
FIGURA 3.10	Incubadora com agitação orbital refrigerada contendo os tubos Falcon.....	56
FIGURA 3.11	Microscópio eletrônico de varredura com filamento field emission gun (FEG).....	57
FIGURA 3.12	Microscópio de força atômica.....	58
FIGURA 3.13	Goniômetro empregado para medida do ângulo de contato.....	59
FIGURA 3.14	Difratômetro de raios X, Panalytical X'Pert empregado nas análises de raios X.....	60
FIGURA 4.1	Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas a: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	62
FIGURA 4.2	Imagens obtidas em microscópio eletrônico de força atômica	

	(AFM) da liga Ti-7,5Mo anodizadas a: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	63
FIGURA 4.3	Espectro XPS das amostras anodizadas a 20V em NH ₄ F/glicerol: (a) 24 horas; (b) 48 horas.....	65
FIGURA 4.4	Espectros obtidos após a realização de XPS na superfície das amostras (< 3nm) (a) C; (b) O; (c) titânio.....	67
FIGURA 4.5	Espectros obtidos após a realização de XPS na superfície das amostras (< 3nm) (a) C; (b) O; (c) titânio.....	68
FIGURA 4.6	Análise por difração de Raios- X para as condições de anodização de 20 V.....	69
FIGURA 4.7	Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas a: (a) e (b) 30V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 30V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	70
FIGURA 4.8	Imagens obtidas em microscópio eletrônico de força atômica (AFM) da liga Ti-7,5Mo anodizadas a: (a) e (b) 30V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 30V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	71
FIGURA 4.9	Espectro XPS das amostras anodizadas a 30V em NH ₄ F/glicerol: (a) 24 horas; (b) 48 horas.....	73
FIGURA 4.10	Espectros obtidos após a realização de XPS na superfície das amostras anodizadas a 30V por 24 horas (< 3nm) (a) C; (b) O; (c) titânio.....	75
FIGURA 4.11	Espectros obtidos após a realização de XPS na superfície das amostras anodizadas a 30V por 48 horas (< 3nm) (a) C; (b) O; (c) titânio.....	76
FIGURA 4.12	Análise por difração de Raios- X para as condições de anodização de 20 V.....	77
FIGURA 4.13	Representação esquemática correlacionando diâmetro dos nanotubos com as condições de anodização.....	78
FIGURA 4.14	Representação esquemática correlacionando a rugosidade média	

	(Ra) com o ângulo de contato.....	79
FIGURA 4.15	Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas e imersas em SBF: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	80
FIGURA 4.16	Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas a 20V e imersas em SBF por 24 horas: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	81
FIGURA 4.17	Figura 4.17 - Difrátogramas de raios X para as amostras anodizadas a 20V e imersas em SBF, e para as amostras anodizadas a 20V por 24 horas, seguidas por tratamento alcalino e térmico, com posterior imersão em SBF.....	82
FIGURA 4.18	Difrátogramas de raios X para as amostras anodizadas a 20V e imersas em SBF, e para as amostras anodizadas a 20V por 48 horas, seguidas por tratamento alcalino e térmico, com posterior imersão em SBF.....	83
FIGURA 4.19	Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas e imersas em SBF: (a) e (b) 30V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 30V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	84
FIGURA 4.20	Imagens obtidas em microscópio de força atômica (AFM) da liga Ti-7,5Mo anodizada com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5M a 80 °C e imersão em SBF: (a) e (b) 30V por 24h e calcinadas a 450 °C;(c) e (d) 30V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	85
FIGURA 4.21	Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5M a 80 °C: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	86
FIGURA 4.22	Imagens obtidas em microscópio de força atômica (AFM) da liga Ti-7,5Mo anodizada com posterior tratamento alcalino por	

	1 hora em NaOH 5M a 80 °C: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	87
FIGURA 4.23	Difratogramas de raios X das amostras anodizadas a 20V, seguidas por tratamento alcalino e térmico.....	89
FIGURA 4.24	Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5M a 80 °C: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	90
FIGURA 4.25	Imagens obtidas em microscópio de força atômica (AFM) da liga Ti-7,5Mo anodizada com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5M a 80 °C: (a) e (b) 30V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 30V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	90
FIGURA 4.26	Difratogramas de raios X das amostras anodizadas a 30V, seguidas por tratamento alcalino e térmico a 450 °C.....	91
FIGURA 4.27	Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5M a 80 °C e imersão em SBF: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	92
FIGURA 4.28	Imagens obtidas em microscópio de força atômica (AFM) da liga Ti-7,5Mo anodizada com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5M a 80 °C e imersão em SBF: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C.....	93
FIGURA 4.29	Difratogramas de raios X para as amostras anodizadas a 20V e imersas em SBF, e para as amostras anodizadas a 20V por 24 horas, seguidas por tratamento alcalino e térmico, com posterior imersão em SBF.....	95
FIGURA 4.30	Difratogramas de raios-X para as amostras anodizadas a 20V e imersas em SBF, e para as amostras anodizadas a 20V por 48	

	horas, seguidas por tratamento alcalino e térmico, com posterior imersão em SBF.....	96
FIGURA 4.31	Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5M a 80 °C e imersão em SBF: (a) e (b) 30V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 30V por 24 h e calcinadas a 450 °C.....	97
FIGURA 4.32	Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5M a 80 °C e imersão em SBF: (a) e (b) 30V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 30V por 24 h e calcinadas a 450 °C.....	98
FIGURA 4.33	Difratogramas de raios X para as amostras anodizadas a 30V e imersas em SBF, e para as amostras anodizadas a 30V por 24 horas, seguidas por tratamento alcalino e térmico, com posterior imersão em SBF.....	99
FIGURA 4.34	Difratogramas de raios X para as amostras anodizadas a 30V e imersas em SBF, e para as amostras anodizadas a 30V por 48 horas, seguidas por tratamento alcalino e térmico, com posterior imersão em SBF.....	100

LISTA DE QUADROS

QUADRO 2.1	Propriedades mecânicas do sistema binário Ti-Mo (HO <i>et al.</i> , 1999).....	28
QUADRO 2.2	Métodos de modificação de superfície empregado para o titânio e suas ligas (adaptado de LIU <i>et al.</i> , 2004).....	29
QUADRO 2.3	Propriedades físicas das formas alotrópicas do dióxido de titânio.....	31
QUADRO 2.4	Parâmetros de anodização e geometria dos nanotubos obtidos por diferentes autores.....	39
QUADRO 2.5	Temperatura de calcinação e fases do titânio obtidas por diferentes autores.....	41
QUADRO 2.6	Características das principais fases de fosfatos de cálcio.....	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1	Grupos e subgrupos de acordo com os parâmetros de anodização.....	51
TABELA 4.1	Valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 20V, obtidos através da microscopia de força atômica.....	64
TABELA 4.2	Energias de ligação e contribuição dos espectros de alta resolução para as amostras anodizadas a 20V por 24h.....	64
TABELA 4.3	Energias de ligação e contribuição dos espectros de alta resolução para as amostras anodizadas a 20V por 48h.....	65
TABELA 4.4	Energia de ligação e contribuição para Ti 2p, O 1s e C 1s para amostra anodizada a 20V por 24 horas polarizada.....	66
TABELA 4.5	Energia de ligação e contribuição para Ti 2p, O 1s e C 1s para amostra anodizada a 20V por 48 horas polarizada.....	66
TABELA 4.6	Valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 30V, obtidos através da microscopia de força atômica.....	72
TABELA 4.7	Energias de ligação e contribuição dos espectros de alta resolução para as amostras anodizadas a 30V por 24h.....	72
TABELA 4.8	Energias de ligação e contribuição dos espectros de alta resolução para as amostras anodizadas a 30V por 48h.....	73
TABELA 4.9	Energia de ligação e contribuição para Ti 2p, O 1s e C 1s para amostra anodizada a 30V por 24 horas polarizada.....	74
TABELA 4.10	Energia de ligação e contribuição para Ti 2p, O 1s e C 1s para amostra anodizada a 30V por 48 horas polarizada.....	74
TABELA 4.11	Valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 20V e imersas em SBF , obtidas através da microscopia de força atômica.....	81
TABELA 4.12	Valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 30V e imersas em SBF, obtidas através da microscopia de força atômica.....	84
TABELA 4.13	Valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as	

	amostras anodizadas a 20V, seguidas por tratamento alcalino e térmico, obtidas através da microscopia de força atômica.....	88
TABELA 4.14	Valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 30V, seguidas por tratamento alcalino e térmico, obtidas através da microscopia de força atômica.....	91
TABELA 4.15	Valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 20 V, seguidas por tratamento alcalino e térmico, e imersão em SBF obtidas através da microscopia de força atômica.....	94
TABELA 4.16	Valores de rugosidade média (Ra) após anodização a 30V, tratamento alcalino e térmico, e imersão em SBF, obtidas através da microscopia de força atômica.....	97

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.2 Objetivos.....	25
1.3 Estrutura da tese.....	25
2 REVISÃO DE LITERATURA	27
2.1 Considerações gerais.....	27
2.2 Modificação de superfície de titânio e suas ligas.....	30
2.2.1 Parâmetros que afetam a anodização.....	38
2.2.2 Efeito da temperatura de calcinação.....	40
2.3 Indução da bioatividade de nanotubos de TiO₂.....	41
3 MATERIAIS E MÉTODOS	47
3.1 Obtenção da liga.....	48
3.2 Confeção dos corpos de prova	49
3.3 Modificação da superfície.....	51
3.3.1 Anodização.....	51
3.3.2 Tratamento alcalino e térmico.....	53
3.3.3 Imersão em SBF para análise <i>in vitro</i>.....	54
3.4 Caracterização da superfície.....	57
3.4.1 Microscopia eletrônica de varredura.....	57
3.4.2 Microscopia de força atômica.....	58
3.4.3 Ângulo de contato.....	59
3.4.4 Difração de raios X.....	60
3.4.5 XPS.....	61
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
4.1 Anodização.....	62
4.2 Formação da apatita na superfície dos nanotubos.....	80
4.2.1 Imersão em SBF após crescimento dos nanotubos.....	80
4.2.2 Imersão em SBF após tratamento alcalino e térmico.....	86
5 CONCLUSÕES.....	101
6 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	102
REFERÊNCIAS.....	103

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Biomateriais metálicos são usados para reforçar a estrutura ou restaurar a função de tecidos duros, sendo aplicados para junções artificiais, ossos artificiais, placas de síntese, aparelhos ortodônticos, parafusos e implantes dentários (OH *et al.*, 2005). Nos últimos anos, estudos avaliando o emprego de titânio e suas ligas para essas aplicações foram realizados. Esses materiais exibem propriedades mecânicas que o tornam atrativos para essas aplicações, como por exemplo, elevada resistência mecânica.

No entanto, além das propriedades de volume, propriedades de superfície serão determinantes para o desempenho de um biomaterial. A resposta do osso humano ao implante para diferentes intervalos de tempo e as várias reações que ocorrem podem ser observadas na Figura 1.1 (GEETHA *et al.*, 2009). O processo que ocorrerá dependerá das propriedades da superfície tais como composição química, topografia, rugosidade de superfície e principalmente, a energia de superfície.

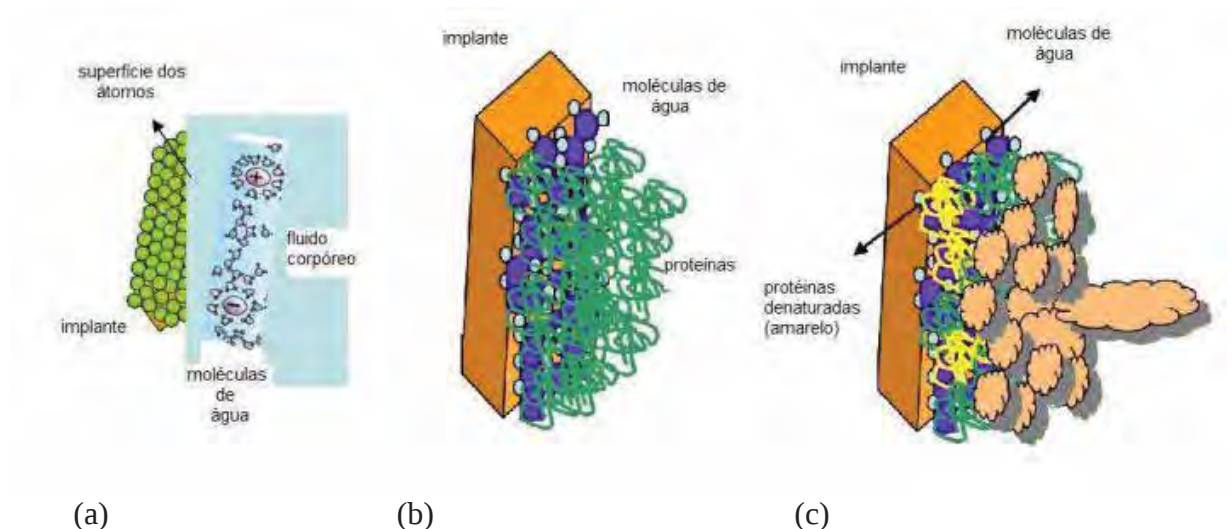


Figura 1.2 – Resposta do corpo humano ao implante em diferentes espaços de tempo: (a) absorção de moléculas de água sobre a superfície do implante (tempo de 10^{-9} nanosegundos); (b) absorção de proteínas sobre a superfície do implante sobre as moléculas de água (tempo de mili a micro (10^{-3} a 10^{-6}) segundos); (c) absorção de células sobre a superfície do implante sobre as proteínas (segundos a dias)(adaptado de GEETHA *et al.*, 2009)

A dependência das interações celulares sobre a energia de superfície é ditada pelas varias propriedades de superfície como é mostrada na Figura 1.3. Entretanto, a influência da energia de superfície sobre a diferenciação celular, produção da matriz celular e calcificação não é bem compreendida.

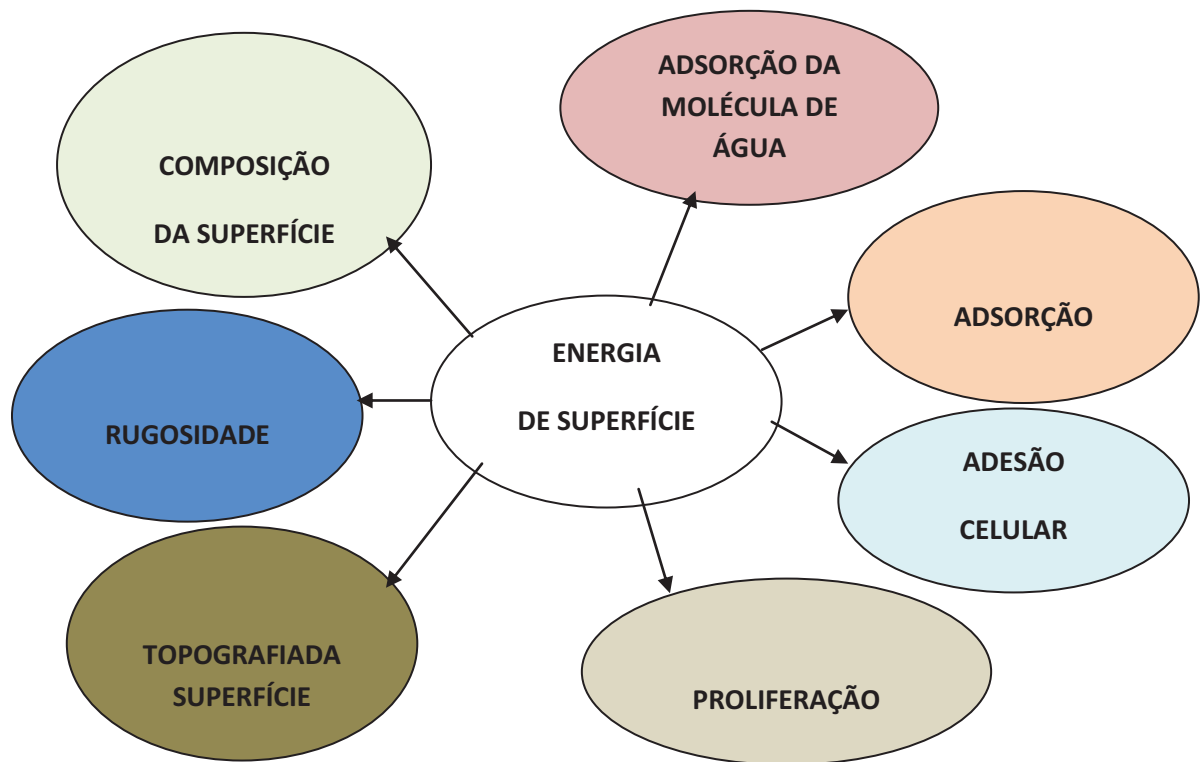


Figura 1.3 – Dependência de várias reações com a energia de superfície (adaptado de Geetha, 2009)

Estudos recentes têm demonstrado que as células do corpo humano estão predispostas a interagir com superfícies nanoestruturadas tais como superfícies nanorugosas ou contendo nanopartículas e materiais em nanoescala interagem com algumas proteínas de forma mais eficaz do que os materiais convencionais. Recentemente tem sido reportada, a possibilidade de se preparar óxidos metálicos nanoestruturados baseados no processo eletroquímico de auto-organização

Basicamente, o crescimento do filme anódico é determinado por um balanço entre a taxa de formação e taxa de dissolução do filme de óxido dada pela natureza do eletrólito, que está intimamente ligada a outros parâmetros de processamento como por exemplo,

concentração do eletrólito, potencial aplicado, densidade da corrente e pH como é mostrado na Figura 1.4 (ALBU *et al.*, 2008). A partir da otimização desses parâmetros é possível a obtenção de superfícies contendo nanotubos conforme ilustrado na Figura 1.5.

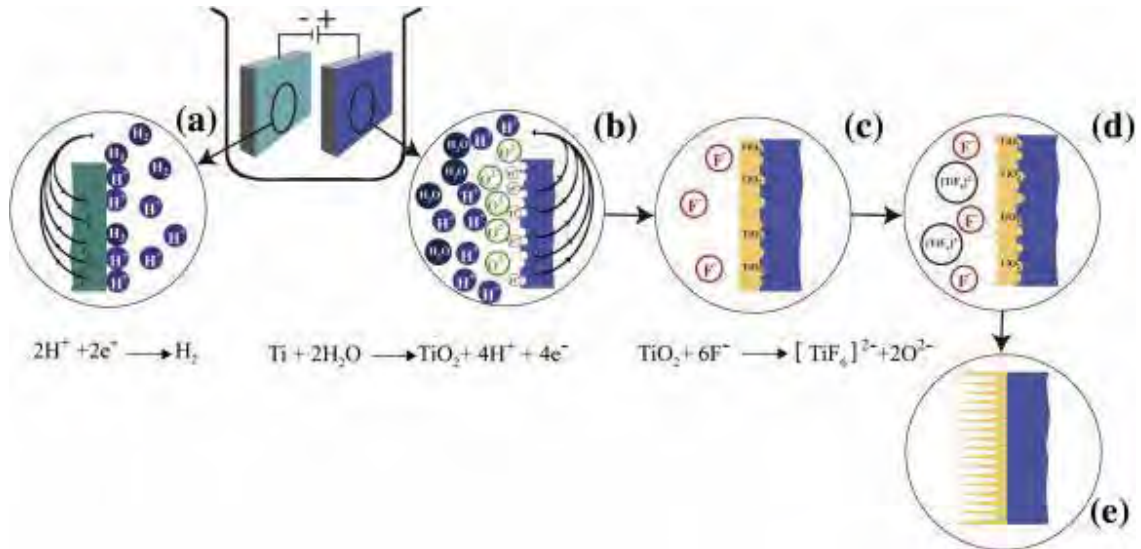


Figura 1.4 - Representação esquemática do crescimento de nanotubos: (a) reação catódica; (b) reação anódica; (c) estado de transição da camada de TiO_2 (d) início da formação dos nanotubos de titania (MINAGAR *et al.*, 2012)

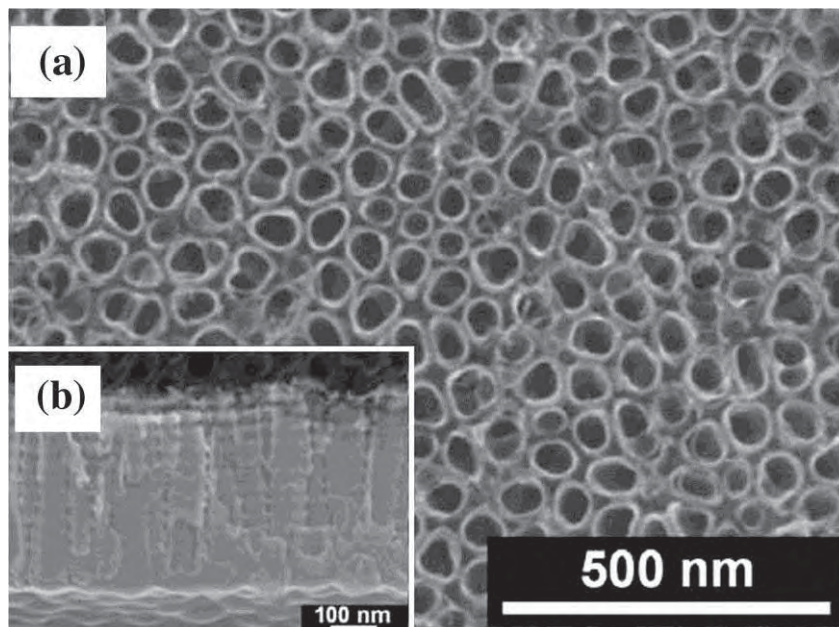


Figura 1.5 - Morfologia de nanotubos obtidos para Ti CP após anodização em eletrólito formado por H_3PO_4 1 mol/L + HF 0,3% (m/m) (10 V) (a) vista superficial; (b) vista longitudinal (BAUER *et al.*, 2006)

A partir do exposto o emprego da oxidação anódica como técnica de modificação de superfície em ligas de titânio torna-se uma alternativa viável no desenvolvimento de novos materiais para aplicações biomédicas.

1.2 Objetivos

O objetivo principal deste trabalho foi a produção de nanotubos auto-organizados de dióxido de titânio (TNT) na superfície da liga Ti-7,5Mo (% p), empregando anodização em eletrólito não aquoso (glicerol e fluoreto de amônio 0,25%) com duas diferentes tensões (20V e 30V) e diferentes tempos (24h e 48 h).

Objetivos específicos:

- Caracterizar as superfícies formadas para avaliar a influência do potencial aplicado durante o processo anódico no crescimento dos nanotubos de dióxido de titânio (TiO_2) na superfície da liga experimental Ti-7,5Mo.
- Analisar os filmes de dióxido de titânio formados na superfície para determinar a sua morfologia, composição química, rugosidade superficial e estrutura cristalina
- Analisar a bioatividade superficial do material empregando a imersão em fluido corpóreo simulado (SBF) avaliando dessa forma a formação da apatita

Esse estudo tem como meta principal a utilização da técnica preconizada na fabricação de implantes dentários da liga Ti-7,5Mo.

1.3 Estrutura da tese

Esta tese é composta por seis capítulos e pelas referências, e seu conteúdo apresenta-se distribuído da seguinte forma:

Capítulo 1, Introdução: expõe aspectos gerais sobre a tese, proposta do trabalho, objetivos e a estrutura da tese;

Capítulo 2, Revisão da Literatura: considerações gerais, anodização, modificação das superfícies de titânio e suas ligas, análise da bioatividade de nanotubos de TiO_2 ;

Capítulo 3, Materiais e Métodos: obtenção da liga, confecção dos corpos de prova, modificação de superfície e caracterização das superfícies;

Capítulo 4, Resultados: apresentação dos resultados alcançados nos experimentos realizados no trabalho e suas respectivas análises;

Capítulo 5, Conclusão: são expostas as conclusões obtidas a partir da avaliação dos resultados encontrados neste estudo;

Capítulo 6, Sugestão para Trabalhos Futuros: expõe sugestões para a continuidade da pesquisa;

Referências.

CAPÍTULO 2

REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Considerações gerais

Dentre os biomateriais metálicos utilizados em aplicações biomédicas, o titânio é o mais empregado na fabricação de implantes dentários devido as suas excelentes propriedades mecânicas e estabilidade química quando inserido no corpo humano devido à formação de uma camada passiva de TiO_2 (ELIAS *et al.*, 2008). A resistência à corrosão é resultado desse filme de óxido amorfo formado naturalmente sobre o substrato de titânio, que possui um baixo nível de condutibilidade elétrica, elevada resistência à corrosão e uma fase estável termodinamicamente em meio fisiológico (SPRIANO *et al.*, 2005).

A liga Ti-6Al-4V, inicialmente empregada na Engenharia Aeroespacial, passou a ser utilizada na área biomédica a partir da década de 1960 devido as suas propriedades como excelente resistência mecânica, apesar de sua resistência à corrosão ser inferior à do Ti CP (titânio comercialmente puro). Restrições passaram a ser feitas quanto ao emprego dessa liga, devido à presença do vanádio, que tanto no estado elementar, quanto na forma do óxido V_2O_5 é tóxico (EISENBARTH *et al.*, 2004; KOIKE *et al.*, 2005) e alumínio cuja presença tem sido associada ao mal de Alzheimer, além de outras desvantagens apresentadas são baixa resistência ao desgaste e elevado módulo de elasticidade.

Dessa forma, novas ligas de titânio sem a presença de vanádio e alumínio, como por exemplo, Ti-13Nb-13Zr (ASTM F1713) e Ti-12Mo-6Zr (ASTM F1813), foram pesquisadas nos últimos anos para essas aplicações.

Em 1999, Ho e colaboradores avaliaram as ligas do sistema binário Ti-Mo com o teores de molibdênio variando de 6 a 20% (m/m). Foram avaliadas as fases presentes, a estrutura cristalina em função da porcentagem de molibdênio e também algumas propriedades mecânicas como dureza, módulo de elasticidade e resistência à flexão. A partir dos valores encontrados após a realização dos ensaios (Quadro 2.1), os autores concluíram que a liga Ti-7,5Mo exibiu os melhores resultados com relação ao módulo de elasticidade (55 GPa). Posteriormente, os autores verificaram também excelente resistência à corrosão para essa composição comparada ao Ti C.P. (HO *et al.*, 1999).

Quadro 2.1 – Propriedades Mecânicas do sistema binário Ti-Mo (HO *et al.*,1999)

Liga (%p Mo)	Propriedades Mecânicas		
	Dureza (HV 200 g)	Mod. Elast. (GPa)	Resistência (MPa)
Ti-6Mo	270	70	1480
Ti-7,5Mo	265	55	1400
Ti-9Mo	320	78	1485
Ti-10Mo	347	97	1780
Ti-12,5Mo	348	84	1420
Ti-15Mo	310	70	1380
Ti-17Mo	310	78	1650
Ti-20Mo	305	86	1620

A osseointegração da liga Ti-7,5Mo foi avaliada por Lin e colaboradores em 2007. A partir da análise histológica de implantes cilíndricos implantados em fêmur de coelhos, verificou-se que a formação de tecido ósseo ao redor dos implantes de Ti-7,5Mo foi duas vezes superior a que ocorreu para a liga Ti- 6Al- 4V. A ótima biocompatibilidade observada para as ligas Ti-7,5Mo sugere sua aplicação para a confecção de implantes dentários.

Uma vez definidas as propriedades de volume, é importante o estudo das propriedades de superfície uma vez que, quando um material é inserido no corpo humano uma série de interações meio/superfície passam a ocorrer.

Diversas técnicas de modificações de superfície foram estudadas nos últimos anos buscando uma melhor interação osso/metal implantado. De acordo com Duan e Wang (2006) as modificações na superfície podem ser divididas em três categorias:

1. Modificação por adição de materiais com funções desejáveis, empregando técnicas como deposição física de vapor (PVD) e deposição biomimética;
2. Modificação a partir da conversão da superfície existente em composições e /ou topografias mais desejáveis, a partir da utilização de implantação iônica ou oxidação eletroquímica;

3. Remoção do material existente para criar uma topografia específica, utilizando lixamento ou ataque químico da superfície.

Outra classificação divide as técnicas de modificação de superfície de acordo com o tratamento aplicado em mecânicas, físicas e químicas (Quadro 2.2), sendo essa a classificação mais empregada (SOBIESZCZYK *et al.*, 2010).

Quadro 2.2 – Métodos de modificação de superfície empregados para titânio e suas ligas (adaptado de SOBIESZCZYK *et al.*, 2010)

MÉTODOS DE MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE	OBJETIVOS
Métodos mecânicos	Aumento da adesão a partir de topografia de superfície específica
Usinagem	
Lixamento	
Polimento	
Jateamento	
Métodos Químicos	Aumento da biocompatibilidade, bioatividade e condutividade óssea. Aumento da resistência à corrosão. Remoção de contaminação
Tratamento ácido	
Tratamento alcalino	
Tratamento com peróxido de hidrogênio	
Tratamento sol-gel	
Oxidação anódica	
Deposição química de vapor (CVD)	
Métodos bioquímicos	
Métodos físicos	Aumento da resistência ao desgaste, corrosão e biocompatibilidade.
Plasma spray, aspersão térmica	
Deposição física de vapor (PVD)	
Implantação iônica	
Plasma	

Os processos físicos, como a deposição física de vapor (Physical Vapor Deposition – PVD), envolvem as energias térmica, cinética e elétrica e não reações químicas. Um filme é depositado a partir da reação da superfície do substrato com o vapor adjacente, o que fornece o material para o revestimento na forma de átomos, íons ou moléculas gerados por um alvo. A implantação iônica e a descarga por plasma também são considerados processos de modificação física de superfície (DUAN e WANG, 2006). A partir das modificações químicas de superfície é possível se obter uma camada homogênea regular de óxido de espessura variável sobre a sua superfície (SENA *et al.*, 2001). Dentre os processos químicos podemos citar: tratamento químico, deposição por vapor químico, processo biomimético, deposição pelo método sol- gel, deposição por eletroforese e oxidação anódica (LIU *et al.*, 2004).

2.2 Modificação da superfície de titânio e suas ligas empregando oxidação anódica

O óxido de titânio (TiO_2) presente no titânio suas ligas é termodinamicamente estável e existe em três formas alotrópicas: rutilo, bruquita e anatase, como é observado na Figura 2.1. As fases anatase e rutilo são tetragonais, enquanto a bruquita possui estrutura cristalina ortorrômbica. Dentre essas três formas alotrópicas, a mais estável é o rutilo (TANG *et al.*, 1994), o qual quando comparado à anatase possui menor energia de superfície (SCHARNWEBER *et al.*, 2002). Lim *et al.*, (2001) prepararam diversas modificações na superfície do titânio puro e por meio de medidas do ângulo de contato, potencial eletroquímico da superfície e rugosidade, observaram que a superfície formada apenas por rutilo é hidrofóbica, enquanto a superfície coberta por uma mistura de rutilo e anatásio é hidrofílica. No Quadro 2.3 podem ser verificadas algumas propriedades físicas das formas alotrópicas do dióxido de titânio.

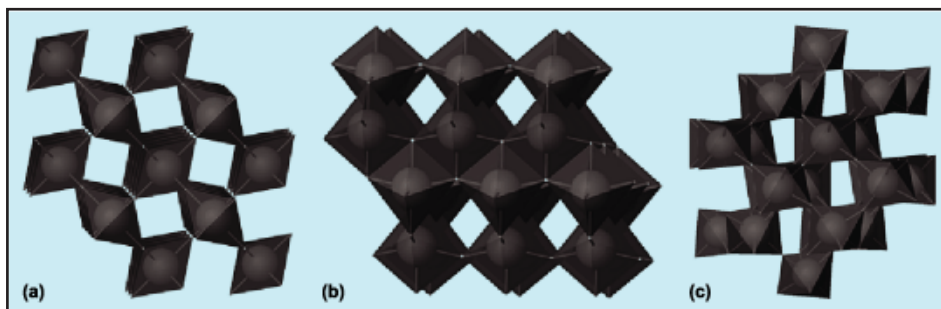


Figura 2.1 - Representações das estruturas cristalinas dos três formas alotrópicas do dióxido de titânio, TiO_2 : (a) rutilo, (b) anatase, e (c) bruquita (Adaptado de <http://www.acesscience.com/content/Titanium-oxides/801320>)

Embora uma diversidade de óxidos seja obtida quando se altera a temperatura de oxidação, as temperaturas elevadas são o principal obstáculo para uma forte adesão do óxido ao substrato. Uma fina camada de óxido (~ 32 nm) com boa adesão ao substrato é formada quando Ti CP é oxidado a 750°C , enquanto uma camada com espessura maior (~ 1 μm) e com baixa adesão se forma quando a 1000°C (HRUSKA *et al.*, 1999).

Quadro 2.3 – Propriedades físicas das formas alotrópicas do dióxido de titânio (VELTEN *et al.*, 2002)

Propriedades físicas	Rutilo	Bruquita	Anatásio
Célula unitária	Tetragonal	Ortorrômbica	Tetragonal
Parâmetros de rede (Å)	$a_0 = 4,58$ $c_0 = 2,98$	$a_0 = 9,17$ $b_0 = 5,43$ $c_0 = 5,13$	$a_0 = 3,78$ $c_0 = 9,50$
Densidade (g/cm^3)	4,245	4,119	3,893
Volume molar (cm^3/mol)	18,817	19,393	20,519
Energia de formação (kJ/mol)	945	942	939
Constante dielétrica (ϵ)	110	78	48

Um estudo detalhado da literatura permiti-nos concluir que é possível o crescimento de estruturas de óxidos organizados de TiO_2 nanotubulares de espessura considerável, (100 nm) por anodização em eletrólitos aquosos na superfície de titânio comercialmente puro. Essa formação pode afetar diretamente o comportamento celular quando esses materiais são empregados em aplicações biomédicas. Superfícies nanofibrosas são similares à estrutura da matriz extracelular, o que viabiliza o crescimento celular, levando a um aumento da adesão de osteoblastos, proliferação e crescimento ósseo tornando viável o seu estudo (Chang *et al.* 2012).

A anodização pode ser definida como um processo eletroquímico no qual, a partir da aplicação de um campo elétrico, ocorre a ligação de oxigênio na matriz metálica possibilitando a formação de um filme de óxido sobre a superfície do substrato (BRUNETTE *et al.*, 2001). Esse processo tem sido utilizado com sucesso como um tratamento de superfície em Ti CP para implantes odontológicos e ortopédicos (SUL *et al.*, 2001).

Uma célula eletroquímica, na qual ocorre a anodização, é composta por dois eletrodos: um anodo de titânio e um catodo de platina. Quando uma corrente ou tensão constante é aplicada entre o anodo e o catodo, as reações de oxidação e redução, em combinação com a difusão de íons no eletrólito, levam à formação de uma camada de óxido na superfície do anodo. Essa oxidação do anodo pode ser controlada pelo modo galvanostático, no qual é aplicada uma corrente constante; ou potencioestático, quando ocorre a aplicação de uma tensão constante (ASOH *et al.*, 2001).

Na Figura 2.2 é mostrada uma representação esquemática de uma célula eletroquímica utilizada para a anodização. Dependendo do eletrólito e dos parâmetros de anodização, três possibilidades de reações podem existir, conforme pode ser verificado na representação esquemática da Figura 2.2:

- I) os íons M^{n+} são dissolvidos no eletrólito continuamente (corrosão);
- II) os íons M^{n+} formados reagem com O^{2-} (fornecido pela água presente no eletrólito) e formam uma camada de óxido compacta (MO), não solúvel no eletrólito;
- III) sob algumas condições eletroquímicas será estabelecida uma competição entre a dissolução e a formação do óxido, levando à formação de uma camada de óxido porosa. Sob condições experimentais mais específicas ocorrerá a auto-organização dos poros durante o crescimento; Além disso, poderá também ocorrer o crescimento rápido desordenado de nanotubos (IV na Figura 2.2) ou ainda a formação de camadas auto-organizadas de mesoporos (V na Figura 2.2).

Exemplos de nanotubos altamente ordenados de TiO_2 (vista de topo) também podem ser observados na Figura 2.2.h

Para explicar o processo da formação do óxido durante a anodização, Taveira e colaboradores (2005) dividiram a camada anódica em: externa (exposta ao eletrólito e hidratada) e interna (anidra) (TAVEIRA *et al.*, 2005).

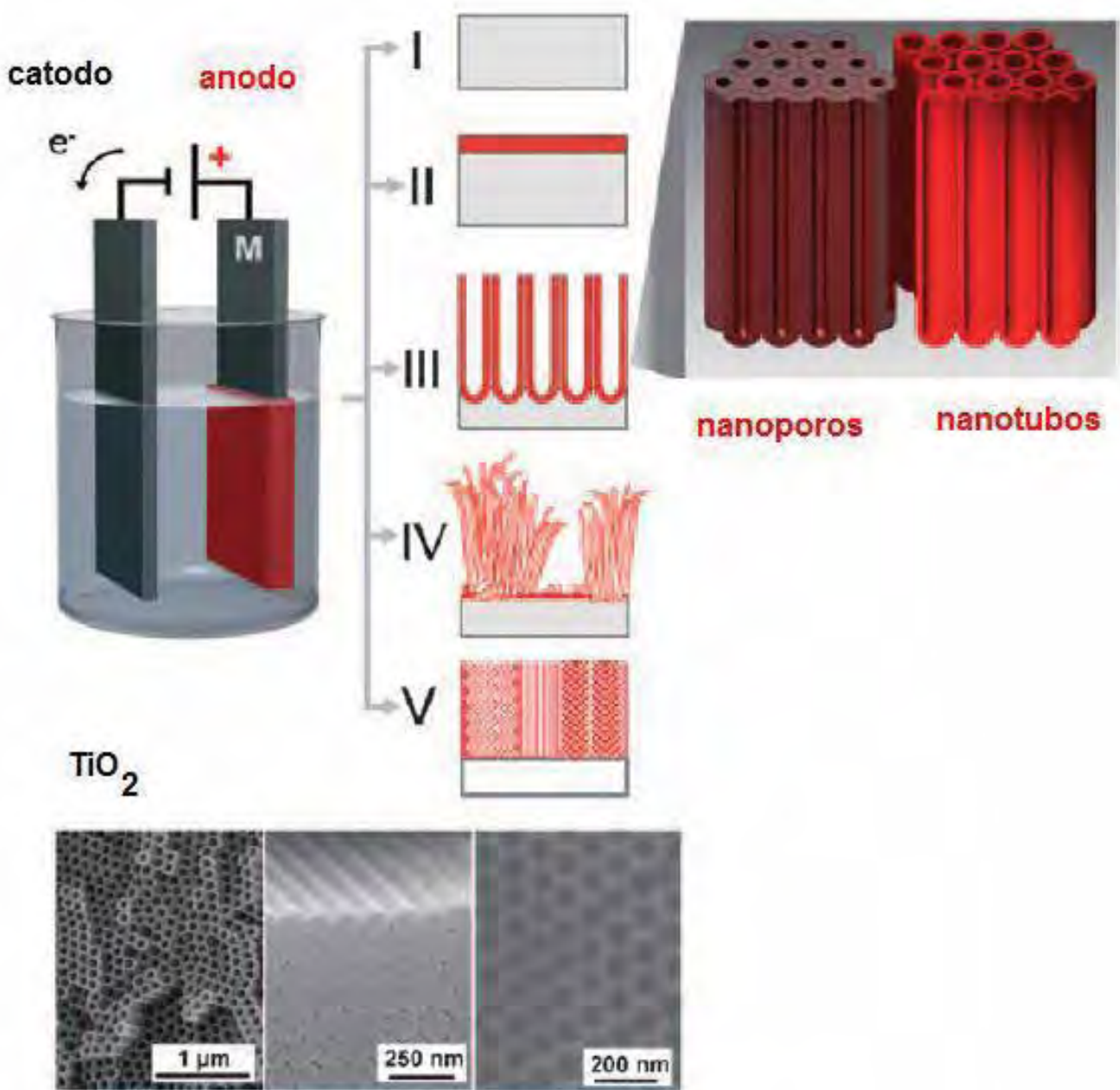


Figura 2.2 – Representação do processo de anodização eletroquímica e possíveis morfologias anódicas de uma célula eletrolítica (Adaptado de ROY *et al.*, 2011)

A camada anódica externa possui excesso de íons hidroxila quando comparada à camada interna, sendo considerada $\text{Ti}(\text{OH})_4$, enquanto a camada anódica interna, é representada por TiO_2 . As reações que ocorrem no anodo podem ser representadas de acordo com as seguintes etapas:

(I) oxidação do metal e formação de íons Ti^{4+} e elétrons de acordo com a equação (1):



(II) os íons liberados combinam com OH^- formando a camada anódica hidratada (equação (2)) e O^{2-} formando a camada de óxido (equação (3)) presentes na água. Finalizando o processo enquanto a camada hidratada formada libera água o óxido é produzido (equação (4)).



No catodo, os elétrons liberados durante a oxidação do Ti (equação (1)), reagem com íons hidrogênio (equação(5)):



Somando-se as equações de (1) a (5), o processo de formação do óxido é dado por:



Após a anodização, as propriedades resultantes do filme óxido (rugosidade superficial, morfologia, composição química), irão variar de acordo com os diferentes parâmetros de processamento como, por exemplo, composição do eletrólito, potencial aplicado, densidade da corrente, pH e temperatura. Baseado nesses parâmetros, a estrutura do óxido de Ti formado pode ser amorfa em baixas tensões (abaixo de 20 V), e cristalina em tensões maiores (SUL *et al.*, 2001(a)), e segundo Berger *et al.*, (2008), essa estrutura cristalina pode ser anatásio, uma mistura de anatásio e rutilo, ou apenas rutilo. Essa camada de óxido formado também pode ser compacta, porosa desordenada, porosa ordenada ou nanotubular altamente ordenada (CHICOV *et al.*, 2009), como é mostrado na Figura 2.3.

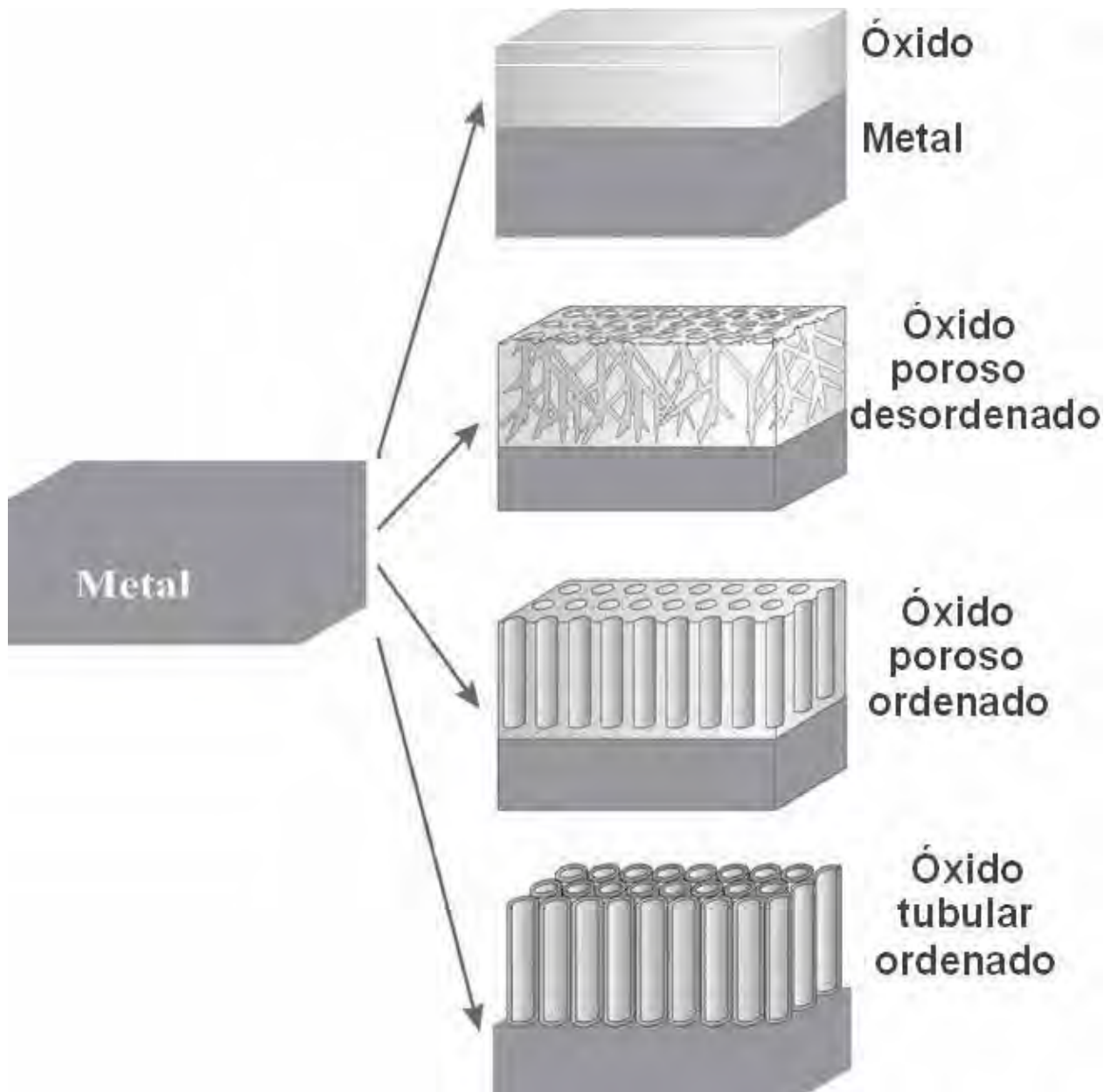


Figura 2.3 – Estrutura da camada de óxido de titânio obtida pela anodização (Adaptado de CHICOV *et al.*, 2009)

Os eletrólitos convencionais como ácidos, sais neutros e soluções alcalinas são usados para a anodização do titânio, sendo que a capacidade de formação de óxido em eletrólitos ácidos ultrapassa a de soluções de hidróxido. Para todos esses eletrólitos, as camadas de óxido obtidas são compactas e somente na presença de íons fluoreto essa situação torna-se diferente (BERGER *et al.*, 2007).

Uma característica fundamental desses íons é que eles são capazes de formar complexos de TiF_6^{2-} solúveis em água. Os íons fluoreto irão atacar a camada de óxido e a camada hidratada, como descrito nas equações (7) e (8), ou reagir com os íons Ti^{4+} , de acordo com a equação (9) (TAVEIRA *et al.*, 2005).



A partir da análise das equações apresentadas é possível concluir que a competição entre a formação do óxido e sua dissolução é um fator determinante na estrutura do óxido de titânio produzido (TAVEIRA *et al.*, 2005).

A Figura 2.4, representa uma visão esquemática do possível mecanismo de crescimento de nanotubos auto-organizados, segundo Jaroenworarluck *et al* (2007). A formação da camada anódica ocorre devido à mobilidade dos íons causada pela tensão aplicada como mostra a Figura 2.4 (a). A presença de íons fluoreto gera cavidades enquanto o óxido evolui e se torna mais espesso, como pode ser observado na Figura 2.4 (b) e 2.4 (c). Sob a ação do campo elétrico, as cavidades tendem a se orientar verticalmente à superfície do metal e associarem-se, ocorrendo a formação de vários nanotubos perpendiculares à superfície, como mostram as Figuras 2.4 (d) e (e), respectivamente. Na Figura 2.4 (f) é possível observar a perspectiva tridimensional dos nanotubos como pilhas de anéis alongados.

Alguns autores avaliaram o efeito da composição e concentração dos eletrólitos na formação dos nanotubos. Para concentrações de fluoreto de amônia variando entre 0,010 mol/L e 0,183 mol/L verificou-se a presença de nanotubos de titânia abertos na parte superior e fechado na parte inferior. O diâmetro externo dos nanotubos foi constante em todo seu comprimento, no entanto, o diâmetro interno diminuiu em direção ao substrato (XIE & BLACKWOOD 2010).

O tipo de eletrólito também pode afetar a espessura da camada de óxido de TiO_2 formada. Para os mesmos valores de tensão e tempo, espessuras de 2,5 μm podem ser obtidas para titânia anódica formada em H_2SO_4 a 1,5 mol/L, para a mistura de H_2SO_4 e H_2O_2 a espessuras de 2,8 μm , enquanto para eletrólitos contendo H_2SO_4 e H_3PO_4 essa espessura pode

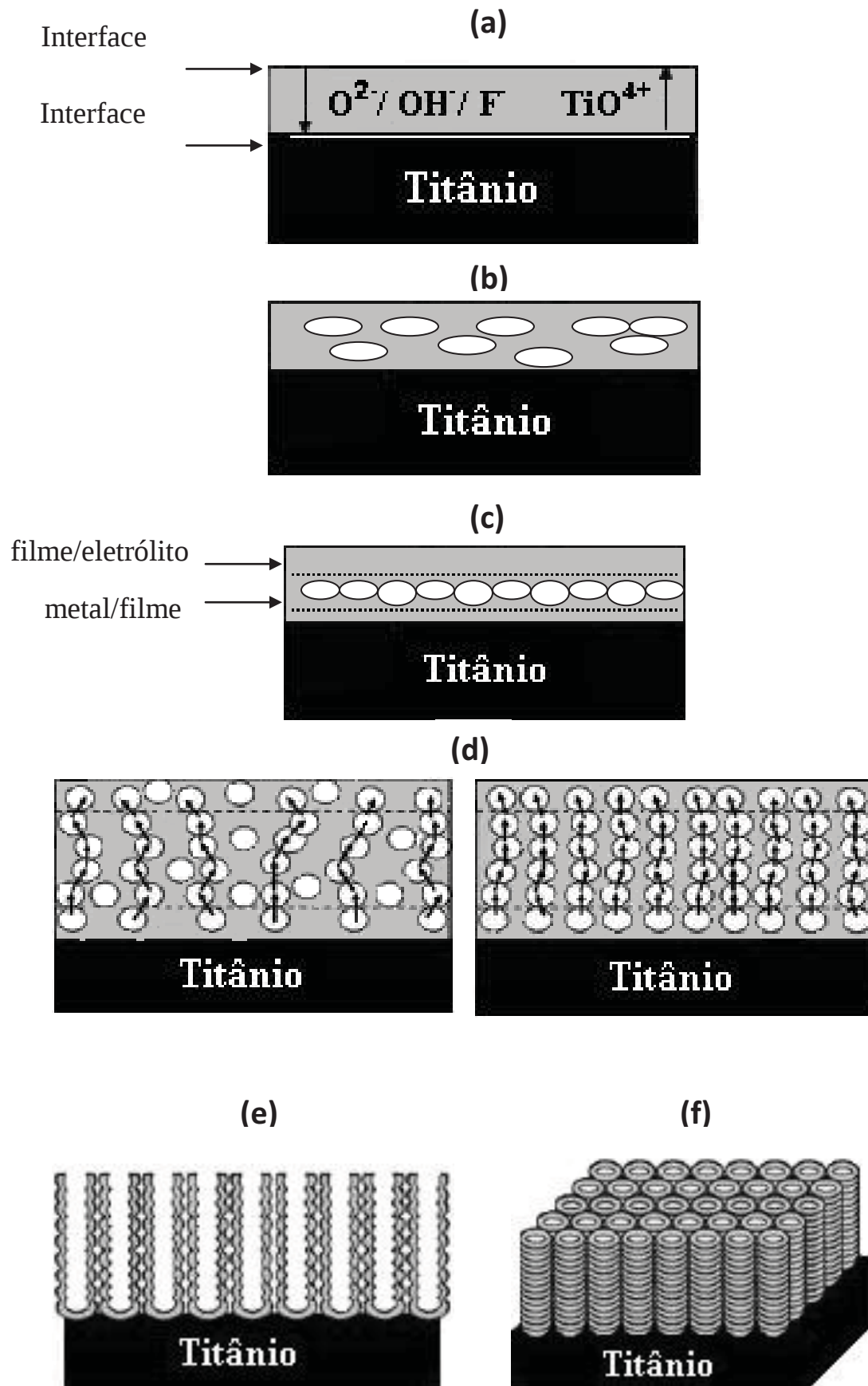


Figura 2.4 - Visão esquemática do possível mecanismo de crescimento de nanotubos auto-organizados (Adaptado de JAROENWORALUCK *et al.*, 2007)

chegar a 3,2 μm . Quando as três substâncias são misturadas, (H_2SO_4 , H_3PO_4 e H_2O_2) espessuras de 3,6 μm são observadas. Com a adição de peróxido de hidrogênio, a espessura do filme aumenta cerca de 12% (OH *et al.*, 2005).

Costuma-se dividir os eletrólitos empregados na fabricação de nanotubos de TiO_2 de acordo com o efeito na formação da camada passiva. A primeira geração de eletrólitos empregava eletrólitos à base de ácido fluorídrico (HF), resultando em camadas de óxidos com uma espessura não superior a 500-600 nm. Eletrólitos tamponados neutros contendo fluoreto de sódio (NaF) ou fluoreto de amônia (NH_4F) foram empregados na segunda geração em substituição ao ácido fluorídrico (HF) sendo possível o crescimento de nanotubos de TiO_2 com espessuras superiores a 2 μm . Na terceira geração, nanotubos foram fabricados em eletrólitos contendo pouca ou quase nenhuma água. Neste tipo de eletrólitos com glicerol foi possível crescer nanotubos com paredes retas e comprimento de mais de 7 μm , enquanto eletrólitos contendo pequenas quantidades de ácido acético produziram tubos de pequeno diâmetro (MACAK *et al.*, 2007).

2.2.1. Parâmetros que afetam a oxidação anódica

Outros parâmetros empregados no processo de anodização como potencial e tempo de anodização irão ser determinantes na geometria dos nanotubos.

De acordo com a literatura, o principal parâmetro responsável pelo tamanho do diâmetro dos nanotubos é a tensão de anodização. Diversas pesquisas realizadas mostraram que o diâmetro depende do potencial aplicado durante o crescimento dos nanotubos (BAUER *et al.*, 2006; MACAK *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2006; MACAK *et al.*, 2007; CHICOV & SCHMUKI, 2009; LEE *et al.*, 2006). Verifica-se que para os mesmos valores de tensão é comum divergência entre os estudos realizados no que diz respeito ao diâmetro e comprimento dos nanotubos.

Para valores baixos de tensão é comum a formação de nanotubos desorganizados, no entanto, Bauer *et al.*, (2006) avaliando valores de tensão de 1 a 25 V observaram o crescimento de nanotubos auto-organizados em todas as condições. Diâmetros de 15nm a 120nm, e o comprimento de 20nm a 1 μm foram obtidos. O aumento nos valores de tensão implica na formação de nanotubos com maiores diâmetros. Por exemplo, para variações de tensão de 12V, 15V e 20V, os diâmetros obtidos foram de 50nm, 70nm e 80nm respectivamente (LOCKMAN *et al.*, 2010).

É interessante observar que a influência da tensão não pode ser vista como um fator isolado, sendo necessário se considerar o tempo de anodização. Para um mesmo valor de tensão tempos maiores resultaram em maior comprimento dos nanotubos, ou seja, aumento na espessura da camada formada. Para valores de tensão de 20 V e tempo de anodização de 2 horas o comprimento dos nanotubos foi equivalente a 200 nm (DEMETRESCU *et al.*, 2010) enquanto que, para a mesma tensão de 20 V e tempo de 5h, o comprimento encontrado foi de 800 nm (JAROENWORALUCK *et al.*, 2007).

Os diferentes efeitos da tensão, tempo e eletrólito constatados por alguns autores podem ser observados no Quadro 2.4.

Quadro 2.4 – Parâmetros de anodização e geometria dos nanotubos obtidos por diferentes autores

Autores	Parâmetros			Geometria dos nanotubos	
	Tensão (V)	Tempo (h)	Eletrólito	Diâmetro (nm)	Comprimento (nm)
Demetrescu <i>et al.</i> 2010	20	2	1 mol/L Na ₂ SO ₄ e NaF 0,5%	120	200
Lockman <i>et al.</i> , (2010)	12	0,5	1 mol/L Na ₂ SO ₄ e NaF 5%	50	
	15			70	
	20			80	
Jaroenworalluck <i>et al.</i> , (2007)	20	5	1 mol/L Na ₂ SO ₄ e NaF 0,5%	100	800
Narayanan, Kwon & Kim (2009 (b))	30	0,5	Glicerol e NH ₄ F	50-65	1200
		1		60-75	1450
		2		75-85	1700
		3		110-130	1900

2.2.2. Efeito da temperatura de calcinação

Os nanotubos obtidos por oxidação anódica possuem estrutura amorfa sendo a estrutura cristalina obtida após a calcinação. Embora vários pesquisadores tenham realizado estudos sobre a estabilidade estrutural de nanotubos de TiO_2 durante a calcinação, existem controvérsias no que diz respeito à estabilidade estrutural e de transição a temperaturas elevadas.

De acordo com Varghese e colaboradores (2003) para temperaturas de calcinação entre 230 °C e 280 °C, apenas anatase está presente enquanto que, para temperaturas de 430 °C e 480 °C as fases anatase e rutilo são encontradas. Em patamares de temperaturas superiores, de 580 °C a 620 °C, rutilo e o substrato titânio estavam presentes, enquanto que para temperaturas de 680 °C a 880 °C, apenas o rutilo foi encontrado. Yu e colaboradores (2010) relataram em seus estudos a presença de anatase para temperaturas de 300 °C a 600 °C, anatase e rutilo para temperaturas entre 700 °C a 800 °C, sendo verificado apenas rutilo para 900 °C.

A estabilidade das fases anatase e rutilo para as temperaturas de 300, 400, 500, 600, 700 °C foram avaliadas por Li e colaboradores em 2009. Os autores encontraram apenas a fase anatase para temperaturas entre 300 e 500 °C, enquanto que a fase rutilo foi detectada para a temperatura de 600 °C, e coexistiram para 700 °C. Da mesma forma, Yu e Wang 2010 estudaram a estabilidade dos nanotubos TiO_2 em substrato de titânio a 300, 400, 500, 600, 700 e 800 °C durante 2 h. Verificaram que entre 300 e 500 °C, apenas a fase anatase e substrato titânio foram identificadas, enquanto a 600 °C a fase rutilo apareceu, coexistindo com a fase anatase entre 600 e 700 °C, e a 800 °C, só rutilo estava presente. Por outro lado, Regonini *et al.* (2010) relataram estabilidade muito menor, observando entre 300 e 400 °C somente anatase, e o surgimento dos primeiros picos de rutilo a 500 °C, sendo mais intensos a 600 °C.

O efeito de diferentes temperaturas de calcinação podem afetar o crescimento de nanotubos em solução aquosa (Jaroenworalluck *et al.* (2010)). Para a temperatura acima de 550 °C, os nanotubos formados inicialmente com estrutura amorfa apresentam a morfologia não mais tubular e sim na forma de anéis, com o colapso para temperaturas acima de 600 °C. Recentemente, Fang *et al.* (2011) verificaram a presença de anatase para a temperatura de 450 °C e rutilo para temperaturas superiores a 800 °C.

As diferentes temperaturas de calcinação e as fases do titânio encontradas por alguns autores podem ser observados no Quadro 2.5.

Quadro 2.5 – Temperaturas de calcinação e fases do titânio encontradas por diferentes autores

Autor	Temperatura de calcinação (°C)	Fases encontradas
Varghese <i>et al.</i> , (2003)	230 - 280	Anatase
	430 - 480	Anatase + rutilo
	580 - 620	Rutilo + fase α'
	680 - 880	Rutilo
Yang <i>et al.</i> , (2008)	400	Anatase + fase α'
Li <i>et al.</i> , (2009)	300 - 500	Anatase
	600	Rutilo
	700	Anatase + rutilo
Yu & Wang (2010)	300 - 500	Anatase + fase α'
	600	Rutilo
	600 - 700	Anatase + rutilo
	800	Rutilo
Regonini <i>et al.</i> , (2010)	300 - 400	Anatase
	500	Anatase + rutilo
	600	Rutilo
Fang <i>et al.</i> , (2011)	450	Anatase
	800	Rutilo

2.3 Indução da bioatividade em nanotubos de TiO_2

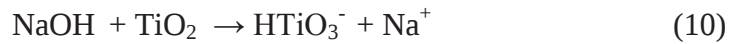
Tratamentos alcalinos e térmicos são métodos de modificação de superfície empregados para induzir bioatividade em titânio e suas ligas (KOKUBO *et al.*, 1998; 2003; LEE *et al.*, 2002; 2003; 2004).

Os óxidos bioativos, tais como titanato de sódio ($\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$ ou $\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$), podem ser obtidos a partir do emprego desses tratamentos em titânio comercialmente puro, sendo formada uma superfície porosa nanoestruturada com média de poros de 150-200 nm (KOKUBO *et al.*, 2003).

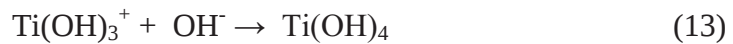
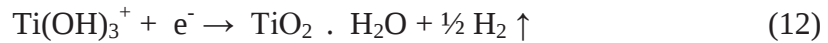
Há relatos na literatura do emprego dessas técnicas em ligas de titânio Ti-6Al-4V, Ti-6Al-2Nb-1Ta, Ti-In-Nb-Ta, e Ti-15Mo-5Zr-3Al, com a formação de apatita semelhante a hidroxiapatita na superfície após imersão em SBF (Lee et al. (2003)). Elas foram empregadas pela primeira vez por Kim *et al.* (1996) para melhorar a bioatividade de titânio comercialmente puro. Após a imersão das amostras em uma solução de NaOH 5 mol/L a 60°C, durante 24 horas, seguido de um tratamento térmico a 600°C por 1 hora, os autores observaram a formação de uma camada de titanato de sódio microporosa.

Segundo Lee *et al.* (2008), as reações químicas envolvidas no método alcalino podem ser expressas da seguinte forma:

a) Durante o tratamento alcalino, a camada de TiO₂ parcialmente dissolve na solução alcalina por causa dos ataques de grupos hidroxila:



b) Esta reação ocorre simultaneamente, com a hidratação do titânio,



c) Um ataque à hidroxila do TiO₂ ainda mais hidratado produz hidratos carregados negativamente sobre as superfícies do substrato da seguinte forma:



Estas amostras carregadas negativamente incorporam íons Na⁺ e produzem uma camada de hidrogel de titanato de sódio. Durante o tratamento térmico, a camada de hidrogel é desidratada e densificada para formar uma camada estável titanato de sódio.



De acordo com Muller e Muller (2006) na década de 90, Abe *et al.* (1990), desenvolveram um procedimento que permite recobrir praticamente qualquer substrato com uma camada uniforme de apatita biológica. Inicialmente esse procedimento foi empregado sobre Ti, ligas de Ti (Ti-6Al-4V) e aço inoxidável SUS 316. Essa técnica consiste em colocar o substrato a ser recoberto em uma solução sintética (SBF) de composição iônica semelhante a do plasma sanguíneo. Junto ao substrato coloca-se uma placa de vidro bioativo distante cerca de 0,5 mm do substrato. Após 7 dias de imersão à 36,5°C forma-se uma camada contínua e homogênea de 1 µm de espessura composta por cristalitos de hidroxiapatita biológica muito finos e de aparência fibrosa e alongada. Por meio de uma nova imersão, por mais 7 dias, em uma solução 1,5 vezes mais concentrada do que a primeira, obteve-se um aumento na espessura da camada de até 15 µm (MULLER & MULLER, 2006).

Após a imersão em SBF verifica-se que a superfície do titanato de sódio é carregada negativamente e, conseqüentemente, combina seletivamente com os íons Ca^{2+} carregados positivamente no fluido, formando assim titanato de cálcio (KOKUBO *et al.*, 2003). Como os íons cálcio se acumulam na superfície, esta se torna carregada positivamente e como resultado, esses íons combinam-se com os íons fosfato carregados negativamente, formando assim fosfato de cálcio amorfo. O fosfato de cálcio se transforma espontaneamente em apatita, pois é a fase mais estável no corpo humano (TUNG, 1998). Os fosfatos têm sido identificados como as principais fases que se precipitam durante os testes de bioatividade realizados *in vitro* (DOROZHKIN; EPPLE, 2002). Muitas fases químicas do fosfato de cálcio estão presentes nos tecidos humanos, como nos dentes e ossos, o que justifica o uso de alguns fosfatos de cálcio como biomateriais. A parte inorgânica do tecido ósseo consiste em uma fase amorfa e uma fase cristalina, a primeira sendo fosfato tricálcio enquanto que a última é hidroxiapatita. A fase amorfa predomina em ossos novos e é parcialmente transformada em fase cristalina com a idade (BRANEMARK, 1985).

No Quadro 2.6 destacam-se as principais fases de fosfatos de cálcio que se precipitam durante os testes de bioatividade realizados *in vitro*, com algumas características importantes. A razão cálcio/fósforo (Ca /P) é um parâmetro importante, pois através desta é possível determinar a fase de fosfato presente e a sua solubilidade. O tipo de fase de fosfato formado vai depender das condições do meio, tais como: temperatura, pH, concentração de íons e razão molar Ca/P. Solubilidade alta, requer razão Ca/P inferior a 1,0 enquanto razão próxima de 1,67 significa solubilidade baixa (VALLET-REGI; GONZALEZ-CALBET, 2004).

Quadro 2.6 – Características das principais fases de fosfato de cálcio (DOROZHKIN; EPPLÉ, 2002)

Nome	Fórmula	Razão molar Ca/P	Solubilidade a 37°C -log(Kps)
Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	117,2
Hidroxiapatita deficiente em cálcio (CDHA)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ($0 < x < 1$)	1,5 - 1,67	85,1
Fosfato de Cálcio amorfo (ACP)	$\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,2 - 2,2	-
α -Fosfato tricálcio (α -TCP)	$\alpha - \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	25,5
β -Fosfato tricálcio (β -TCP)	$\beta - \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	29,5
Fosfato octacálcio (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	95,9
Hidrogenofosfato de cálcio dihidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0	6,63
Hidrogenofosfato de cálcio anidro (DCPA)	CaHPO_4	1,0	7,02

Em 2011, Narayan e colaboradores avaliaram a formação de apatita após imersão de amostras contendo nanotubos de TiO_2 em solução SBF. Após o crescimento dos nanotubos de TiO_2 em eletrólito formado por Na_2SO_4 1mol/L e NaF 0,5% (m/m), com posterior tratamento térmico, as amostras foram imersas em solução SBF. Os autores detectaram a presença de apatita após longos períodos de imersão sendo que apenas após 504 h houve o total recobrimento da superfície, como mostra a Figura 2.5 (NARAYAN et al., 2011).

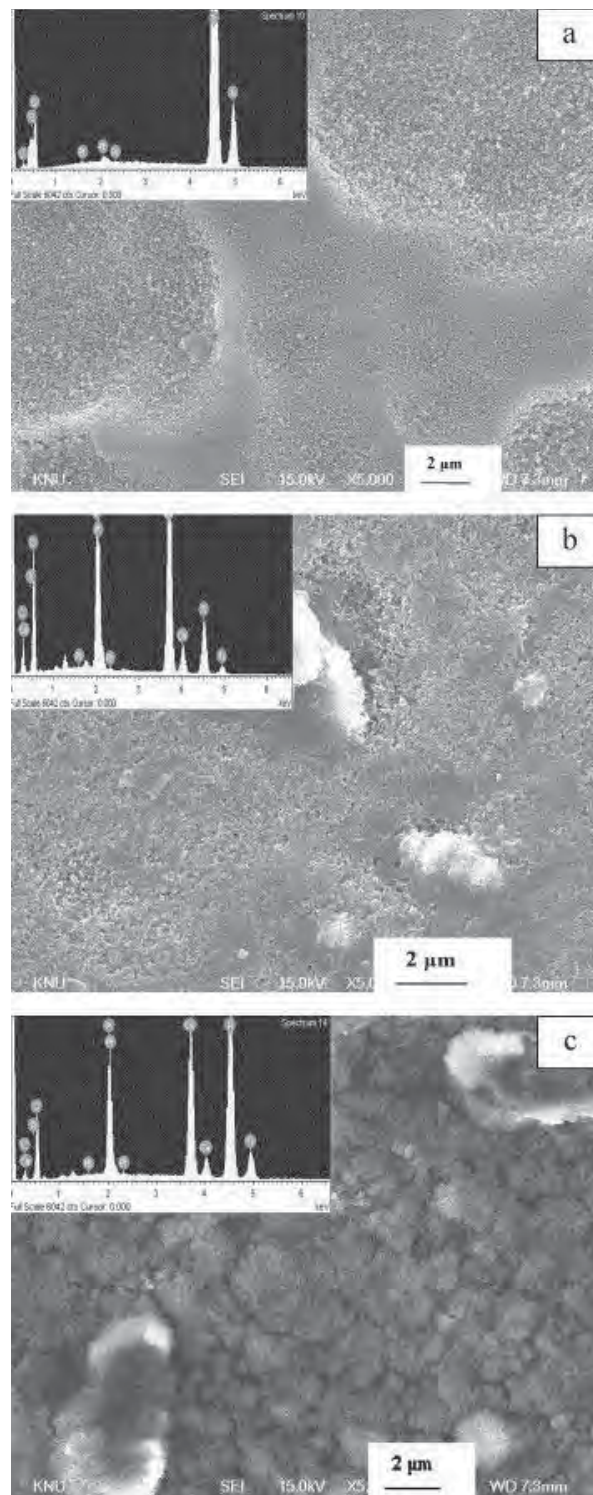


Figura 2.5 - Aspecto da apatita na superfície das amostras contendo nanotubos crescidos em eletrólito formado por Na_2SO_4 1 mol/L e NaF 0,5% (m/m) (com agitação magnética) após imersão em SBF: (a) 5h; (b) 168 h ; (c) 504 h. Observa-se que o recobrimento total da superfície só foi possível após 504 h

Poucos estudos avaliando a formação de apatita após tratamento alcalino de nanotubos de TiO_2 obtidos por oxidação anódica foram encontrados. A bioatividade de nanotubos de TiO_2 obtidos a partir de anodização em HF (0,1 a 1,0% m/m) mais solução aquosa de HF 0,5% e em HF 0,5% contendo 5 ou 10 g/L de Na_2HPO_4 , com potencial de 20V durante 20 min foi avaliada Xiao, Liu, Tian em 2008. Apenas as amostras anodizadas em HF 0,5% contendo de Na_2HPO_4 apresentaram a formação de apatita na superfície, o que foi justificado pela presença de HPO_4^{2-} incorporado ao interior do nanotubo. Segundo os autores, a incorporação de HPO_4^{2-} ocorreu por difusão e esses íons foram aderidos à parede dos tubos por adsorção física. Na solução SBF, os íons HPO_4^{2-} foram trocados pelos íons PO_4^{3-} , migraram para a superfície do nanotubo onde absorveram os ânions Ca^{2+} por atração eletrostática e induziram a nucleação de fosfato de cálcio.

De acordo com Oh e colaboradores (2006) o ar contido no interior dos nanotubos pode ser prejudicial à formação do titanato de sódio e a sua adesão. A partir da retirada do ar contido nos nanotubos é possível uma melhor adesão do titanato de sódio como mostra a Figura 2.6 e consequentemente melhores resultados (OH *et al.*, 2006).

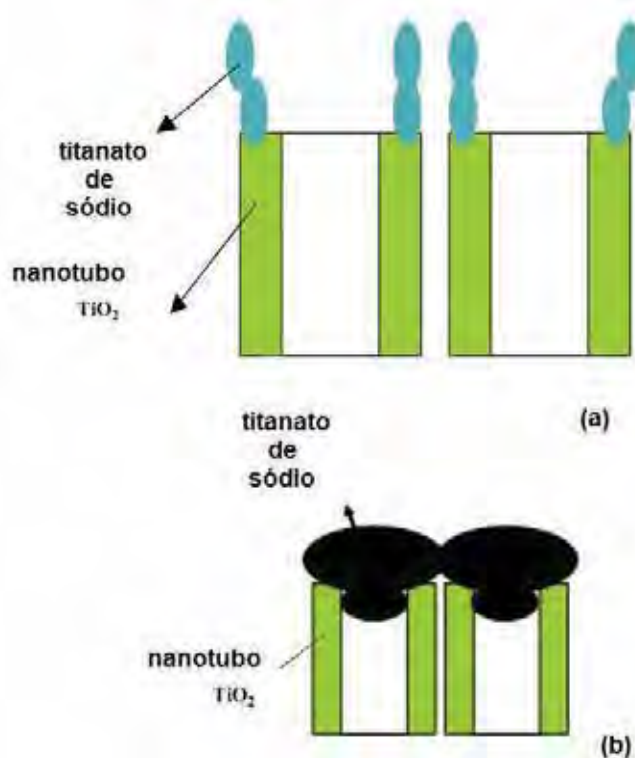


Figura 2.6– Representação esquemática da formação do titanato de sódio sobre os nanotubos

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

Na figura 3.1 é possível observar a metodologia empregada para o desenvolvimento do presente trabalho.

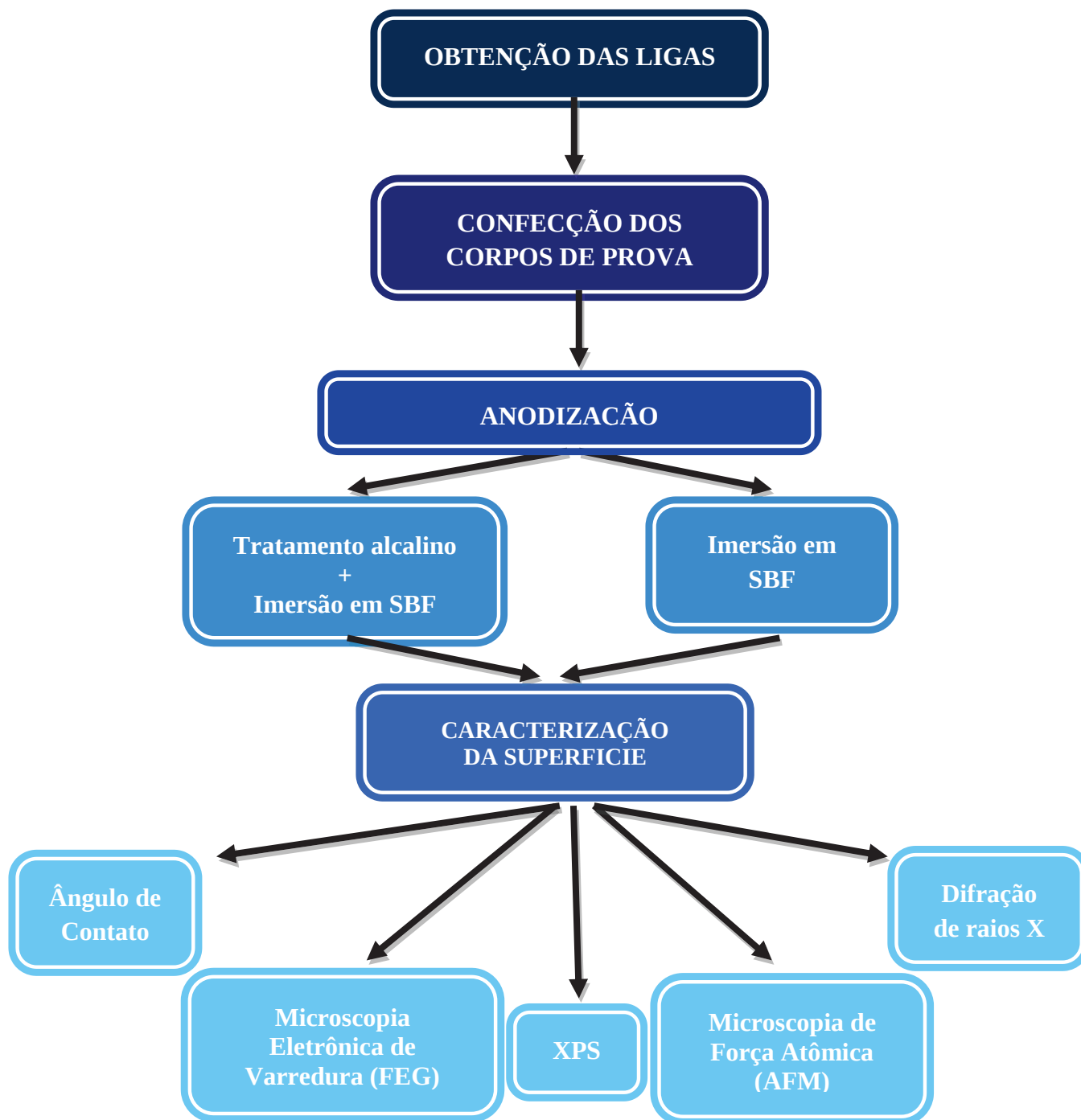


Figura 3.1 - Fluxograma de metodologia empregada no presente trabalho

3.1 Obtenção da liga

Os lingotes da liga Ti-7,5Mo foram obtidos a partir de titânio CP (Sandinox) e molibdênio, 99,99% (Aldrich) na forma de chapas sendo a fusão realizada em forno a arco voltaico com atmosfera inerte (gás argônio), e cadinho de cobre refrigerado com água. A pesagem dos elementos foi realizada em uma balança analítica de acordo com a composição escolhida: Ti-7,5Mo. Na Figura 3.2 é possível observar a sequência empregada no preparo das amostras.

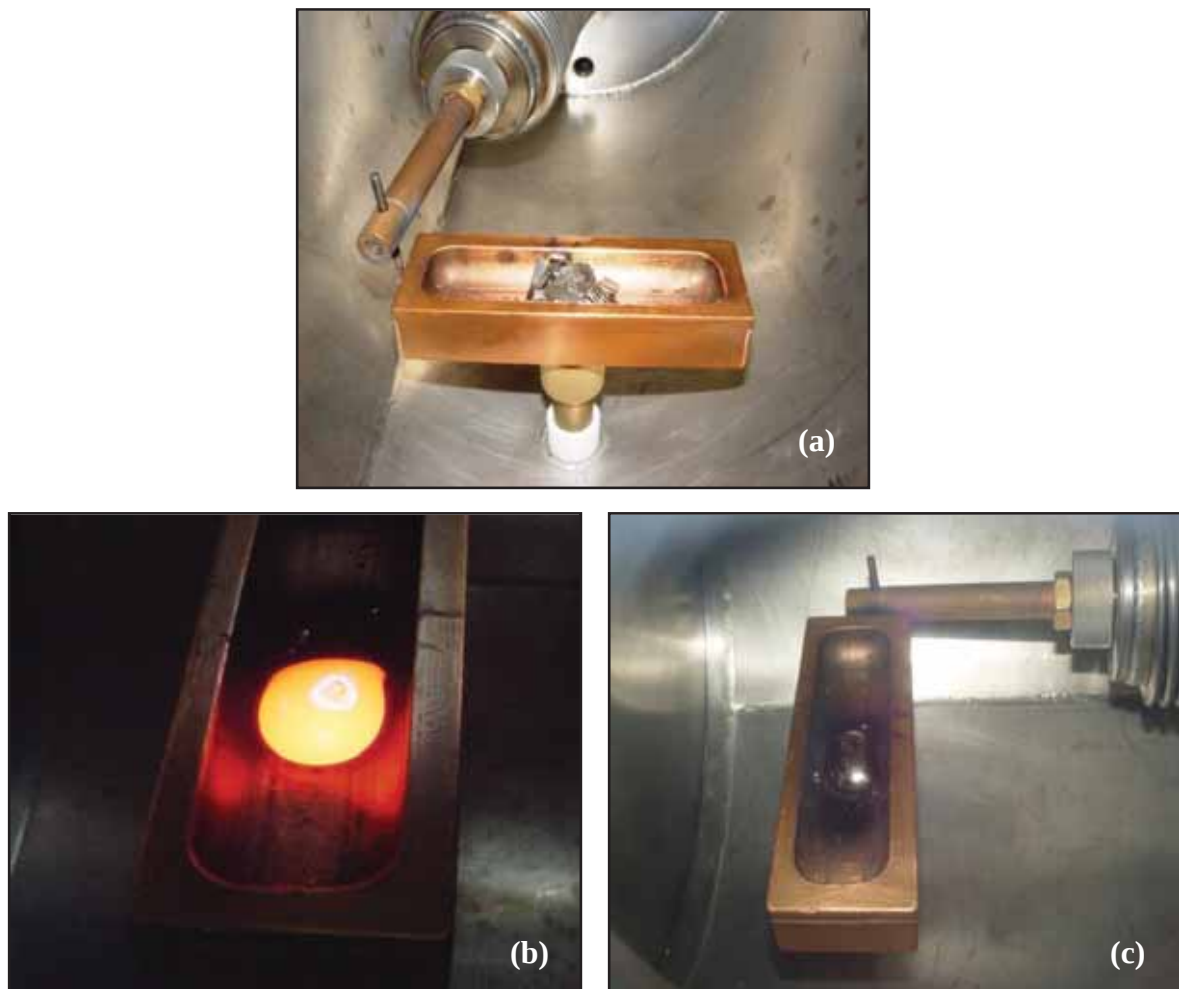


Figura 3.2– Sequência empregada para a fusão da liga: (a) colocação dos materiais no cadinho; (b) fusão e (c) obtenção do lingote

Os materiais foram colocados no cadinho de cobre refrigerado e após o fechamento da câmara foi empregada uma técnica, conhecida como “purga”, para retirada do oxigênio e injeção do argônio. As amostras foram refundidas cinco vezes para garantir a homogeneização da liga Ti-7,5Mo.

3.2. Confecção dos corpos de prova

Os lingotes foram encapsulados a vácuo, em tubo de sílica e submetidos a tratamento térmico de homogeneização a 1100°C em forno tubular (Departamento de Engenharia de Materiais da Escola de Engenharia de Lorena, USP) como mostra a Figura 3.3.

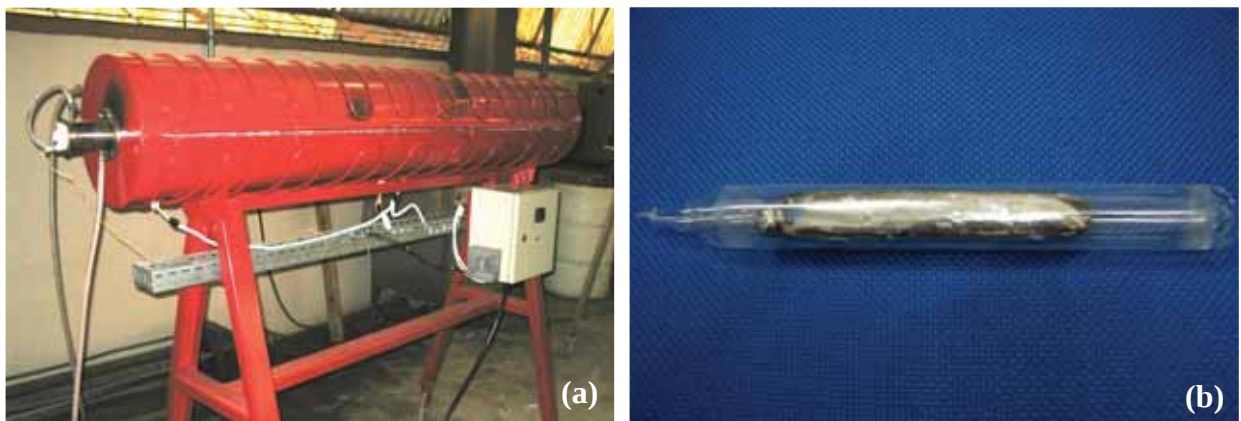


Figura 3.3 - (a) Forno tubular empregado para a realização dos tratamentos térmicos; (b) Detalhe da amostra após encapsulamento

Para a obtenção dos tarugos foi empregado o forjamento rotativo a frio (*swaging*) realizado no Instituto Tecnológico de Aeronáutica, em equipamento FENN modelos 6F (2" até 3/8") e 3F (1/2" até 1/8"), com potência de aproximadamente 30 CV (HP) e velocidade de 1700 rpm. A cada passe ocorreu a troca de matrizes (martelos), resultando em uma redução da ordem de 20% no diâmetro das amostras, o que corresponde a 13 mm de diâmetro como mostra a Figura 3.4.



Figura 3.4 – (a) Equipamento para o forjamento rotativo a frio FENN modelo 3F; (b) Martelos; (c) Detalhe após o fechamento para a introdução do lingote (Realizado no ITA)

Após o forjamento, os tarugos foram levados a uma máquina de corte (Isomet 4000, Buehler) sendo seccionados discos com 4mm de espessura e 13mm de diâmetro como mostra a Figura 3.5.



Figura 3.5– Máquina de corte empregada para obtenção dos discos após forjamento

3.3 Modificação da superfície

3.3.1 Anodização

As amostras foram divididas em dois grupos de acordo com o potencial de anodização, 20V ou 30V. Cada grupo foi dividido em dois subgrupos, levando-se em conta o tempo de anodização 24h e 48h e uma última variável avaliada foi a temperatura de calcinação 450 °C. Na Tabela 3.1 é possível visualizar os parâmetros avaliados nessa pesquisa.

Tabela 3.1-Grupos e subgrupos de acordo com os parâmetros de anodização

Potencial Anodização / V	Tempo / h	Temperatura de Calcinação / °C
20	24	450
	48	
30	24	450
	48	

Antes da realização da anodização, as amostras foram lixadas com granulometrias de 200, 300, 400, 800 e 1200 e polidas com sílica coloidal contendo ácido oxálico a 5% . Posteriormente, foram limpas durante 20 minutos em acetona, álcool isopropílico e água destilada, respectivamente em banho de ultrassom e secas com secador.

Após este procedimento, as amostras foram levadas para a célula eletroquímica e conectadas a uma fonte de alimentação (anodo) e uma rede de platina (catodo), em

um eletrólito contendo glicerol e NH_4F 0,25%. Vale ressaltar, que o porta-amostra possibilita uma área de 1 cm^2 de exposição ao eletrólito. Os ensaios foram realizados de acordo com os parâmetros estabelecidos na Tabela 3.1. O potencial aplicado sofreu um aumento gradual de 1 em 1 minuto. Após o término da anodização, as amostras foram lavadas com água deionizada, secas, e calcinadas a $450\text{ }^\circ\text{C}$, com uma taxa de aquecimento de $5\text{ }^\circ\text{C}$ por minuto, permanência de 1h, e resfriadas no interior do forno. A figura 3.6 mostra a montagem da célula eletroquímica utilizada na anodização.



Figura 3.6 – Montagem da célula eletroquímica utilizada na anodização

Após a calcinação a $450\text{ }^\circ\text{C}$ as amostras foram submetidas ao tratamento alcalino e térmico seguido por imersão em SBF, ou apenas imersas em SBF.

3.3.2. Tratamento alcalino e térmico

O tratamento alcalino foi realizado com o objetivo de tornar a superfície da liga bioativa. As amostras permaneceram em solução de NaOH a 5 mol/L, em banho termostatzado, Tecnal como é observado na Figura 3.7, a 80°C por 1h. Depois foram lavadas em água destilada e secas em estufa por 24h a 40°C conforme metodologia proposta por Arvidson *et al.* (2007).



Figura 3.7 – Banho termostatzado mantido a 80°C por 1h.

Após o tratamento alcalino, as amostras foram tratadas termicamente em um forno mufla EDG como pode ser visto na Figura 3.8, com uma taxa de aquecimento de 5°C/min, mantidas a 450°C por 1 hora, de acordo com seus respectivos grupos, e em seguida resfriadas até temperatura ambiente, conforme proposto por Wei *et al.* (2002).



Figura 3.8 – Forno mufla EDG com aquecimento por resistência elétrica usado para tratamento térmico das amostras

3.3.3 Imersão em SBF para análise *in vitro*

Após a realização dos tratamentos citados nos itens 3.3.1 e 3.3.2, para cada grupo as amostras foram imersas em solução SBF (*Simulated Body Fluid*), durante 24 horas a 36,5°C. A composição escolhida para o SBF foi a proposta por Barrère *et al.* (2002), cuja concentração dos componentes é cinco vezes maior que a solução original proposta por Kokubo (2006) e tem como objetivo diminuir o tempo de imersão nesta. Na Tabela 3.2 é possível verificar as quantidades empregadas.

Tabela 3.2 - Composição do SBF x5 (*Simulated Body Fluid*)

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

Os reagentes foram dissolvidos um a um em água deionizada (900 mL), mantida a 36,5°C com auxílio de uma chapa aquecedora, com agitação magnética. Um fluxo constante de CO₂ foi empregado durante a adição dos reagentes, com o objetivo de baixar o pH da solução. Esse fluxo de CO₂ foi mantido por 20 minutos, até que a solução final ficasse transparente, com pH em torno de 6,0 como mostra a Figura 3.9. A solução foi colocada em um balão volumétrico e seu volume completado com água destilada até 1000 mL.



Figura 3.9 - Preparo do SBF com inserção de CO₂ (a) início e (b) final do preparo

As amostras foram imersas em 30 mL de SBF, de acordo com o grupo, em tubo Falcon, com a superfície tratada paralela ao fundo do tubo. Os tubos foram colocados em uma incubadora com agitação orbital refrigerada, modelo 430/RDB, Nova ética a 36,5 °C com rotação de 200 rpm durante 24 horas como mostra a Figura 3.10. Após esse período as amostras foram retiradas, lavadas em banho de ultrassom com água destilada por 10 minutos e secas em estufa a 40°C por 24 horas.



Figura 3.10 – Incubadora com agitação orbital refrigerada contendo os tubos Falcon

3.4 Caracterização da superfície

3.4.1 Microscopia eletrônica de varredura

Para avaliar a morfologia da superfície das amostras, foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura Marca Philips, Modelo XL 30 FEG, com filamento field emission gun (FEG), do Laboratório de Caracterização Estrutural – LCE, da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar como mostra a Figura 3.11.



Figura 3.11- Microscópio eletrônico de varredura com filamento field emission gun (FEG)

3.4.2 Microscopia de força atômica

A microscopia de força atômica foi realizada no Laboratório de Imagens de Materiais – Laboratório de Análise de Superfícies (LAIMat - LAS), da Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá (FEG/UNESP) utilizando um microscópio de força atômica, marca Shimadzu, modelo SPM-9600 como mostra a Figura 3.12. A varredura foi realizada em modo intermitente, com uma frequência de 0,5Hz, em uma área de 2,0 x 2,0 μm . A microscopia de força atômica também foi utilizada para obter a rugosidade da superfície de cada amostra.



Figura 3.12- Microscópio de força atômica do Laboratório de Imagens de Materiais – Laboratório de Análise de Superfícies (LAIMat - LAS), da Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá (FEG/UNESP)

3.4.3 Medições de Ângulo de Contato

Estudos do ângulo de contato (θ) foram realizados no Laboratório de Sensores e Materiais - LAS - do Instituto de Pesquisa Espacial (INPE) em São José dos Campos, utilizando um goniômetro automatizado (Ramé-Hard Instrument Co. – modelo-Advanced Goniometer model nº 300-F1, Serial nº 709262) como mostra a Figura 3.13. O equipamento possui uma câmera, que captura a imagem da gota sendo depositada sobre a amostra, através de uma seringa de vidro. O perfil desta gota é determinado por um programa de computador que calcula o ângulo de contato das superfícies.

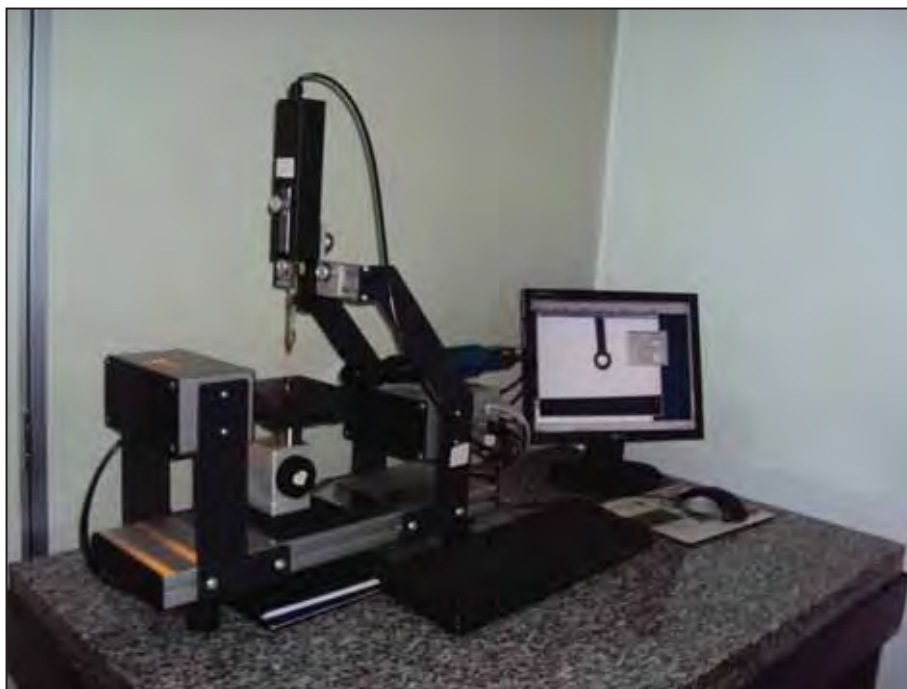


Figura 3.13– Goniômetro empregado para medida do ângulo de contato

Quando este ângulo é menor que 90° , diz-se que o material possui uma característica hidrofílica; quando é maior que 90° , esse possui uma característica hidrofóbica. Essa propriedade é denominada molhabilidade do material, e está ligada com a energia de superfície do material.

3.4.4 Difração de raios X

Este método faz uso dos raios X de comprimentos de onda conhecidos para determinar os espaçamentos dos planos cristalinos desconhecidos. Os raios X são ondas eletromagnéticas de alta energia e pequeno comprimento de onda. Quando o feixe de raios X atinge os átomos do material a ser analisado, seus elétrons são acelerados e passam a reemitir radiação com a mesma energia (mesmo comprimento de onda), porém em todas as direções. Se os átomos estiverem num arranjo periódico, as ondas sofrerão interferência, ou seja, ocorre uma reflexão apenas em certos ângulos de incidência e reflexão.

Para a identificação das fases presentes na liga Ti-7,5Mo e das fases formadas após a reação da liga com NaOH e imersão em SBF foi utilizada a técnica de difratometria de raios com incidência rasante (equipamento Panalytical X'Pert com radiação Cu K α e um detector X'Celerator) como mostra a Figura 3.14. Esta técnica permite que o feixe de raios X interaja com finas camadas de material que podem ser de alguns nanômetros a poucos micrometros. As amostras foram analisadas em 2θ na faixa de 3,5-90 °, com tamanho do passo de 0,02 ° e tempo de contagem de 10 s.



Figura 3.14 – Difratorômetro de raios X, Panalytical X'Pert empregado nas análises de raios X

3.4.5 XPS

A análise de XPS foi realizada utilizando-se um espectrômetro (UNI-SPECS UHV) para analisar a composição e estrutura dos filmes TiO_2 . A pressão base do sistema foi menor de 10^{-7} Pa. A linha Mg Ka foi usada ($h\nu = 1253.6$ eV) e a energia de passo do analisador foi ajustada para 10 eV. O ruído inelástico dos espectros de caroço C 1s, O 1s, e Ti 2p foi subtraído utilizando o método de Shirley. A composição da camada da superfície foi determinada pelas proporções das áreas de picos relativas corrigidas pelos fatores de sensibilidade (Scofield) dos elementos correspondentes. Os espectros foram deconvoluídos utilizando uma função do tipo Voigtiana, com combinações Gaussianas (70%) e Lorentzianas (30%). A largura à meia altura variou entre 1,1 e 2.0 eV, a precisão da análise quantitativa é $\pm 10\%$, e a posição dos picos foi determinada uma precisão de ± 0.1 eV.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Anodização

Na primeira etapa do trabalho as condições de anodização foram avaliadas variando-se tensão (20V e 30V), tempo (24h e 48 h) e temperatura de calcinação (450 °C). Na figura 4.1 é possível observar as micrografias com o aspecto da superfície das amostras anodizadas a 20 V com tempos de 24 h e 48 h, calcinadas a 450 °C.

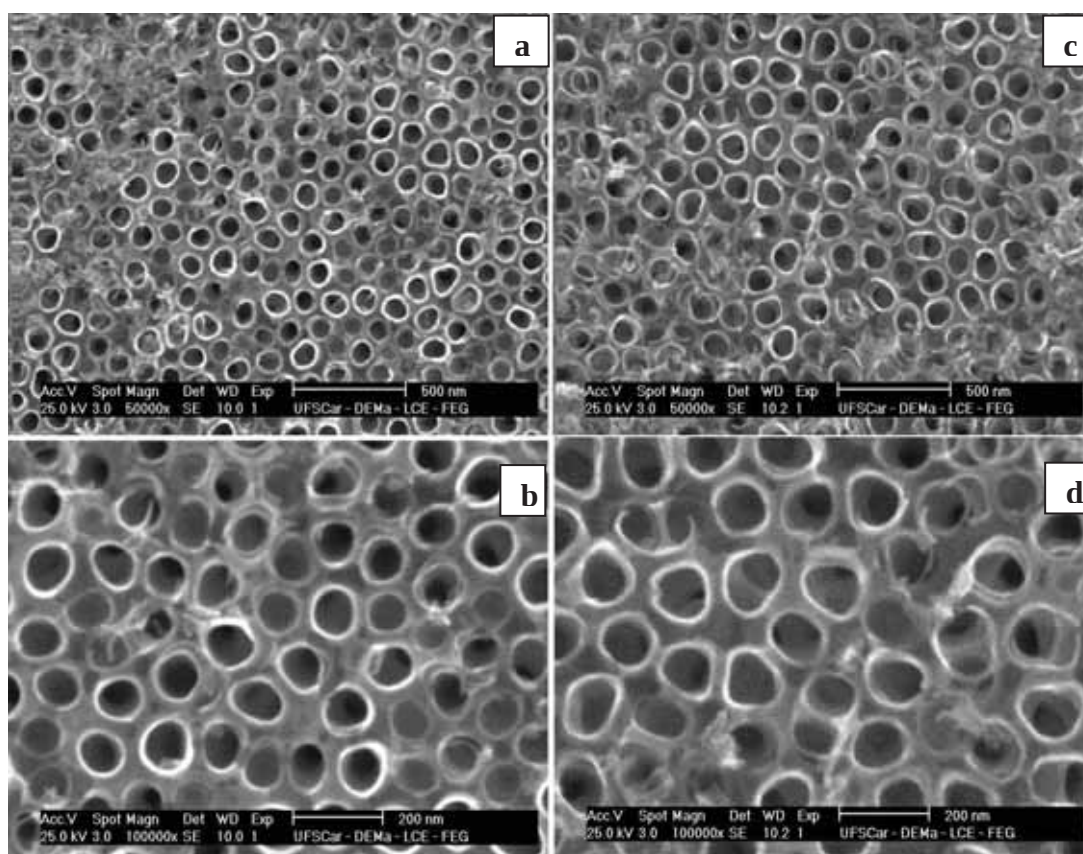


Figura 4.1 – Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas a: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C.

Para os tempos de anodização de 24h e 48 h uma formação organizada e regular dos nanotubos ocorreu para a temperatura de calcinação de 450 °C como pode ser visto na Figura 4.1. Com o auxílio do programa Image J foi possível obter o diâmetro médio dos nanotubos,

encontrando-se um diâmetro médio de 80 nm e 120 nm, para os tempos de 24 h e 48 h, respectivamente.

A topografia da superfície foi observada empregando-se a microscopia de força atômica (AFM). Os dados foram processados com o software Shimadzu SPM (Scanning Probe Microscopy) off-line V.3.31. Os valores de rugosidade média (R_a), obtidos após análise das amostras anodizadas em AFM, são apresentados na Tabela 4.1. Observa-se que não houve diferença nos valores de rugosidade para as condições avaliadas, ou seja, para a mesma tensão, os diferentes tempos de anodização não influenciaram os valores de rugosidade média. Nas imagens 3D, como mostra a Figura 4.2 a e Figura 4.2 b, verifica-se que as superfícies foram totalmente recobertas com o filme, no entanto, uma superfície mais uniforme foi verificada para o tempo de 24 horas, o que também foi observado nas imagens em 2D como mostra a Figura 4.2a e 4.2c.

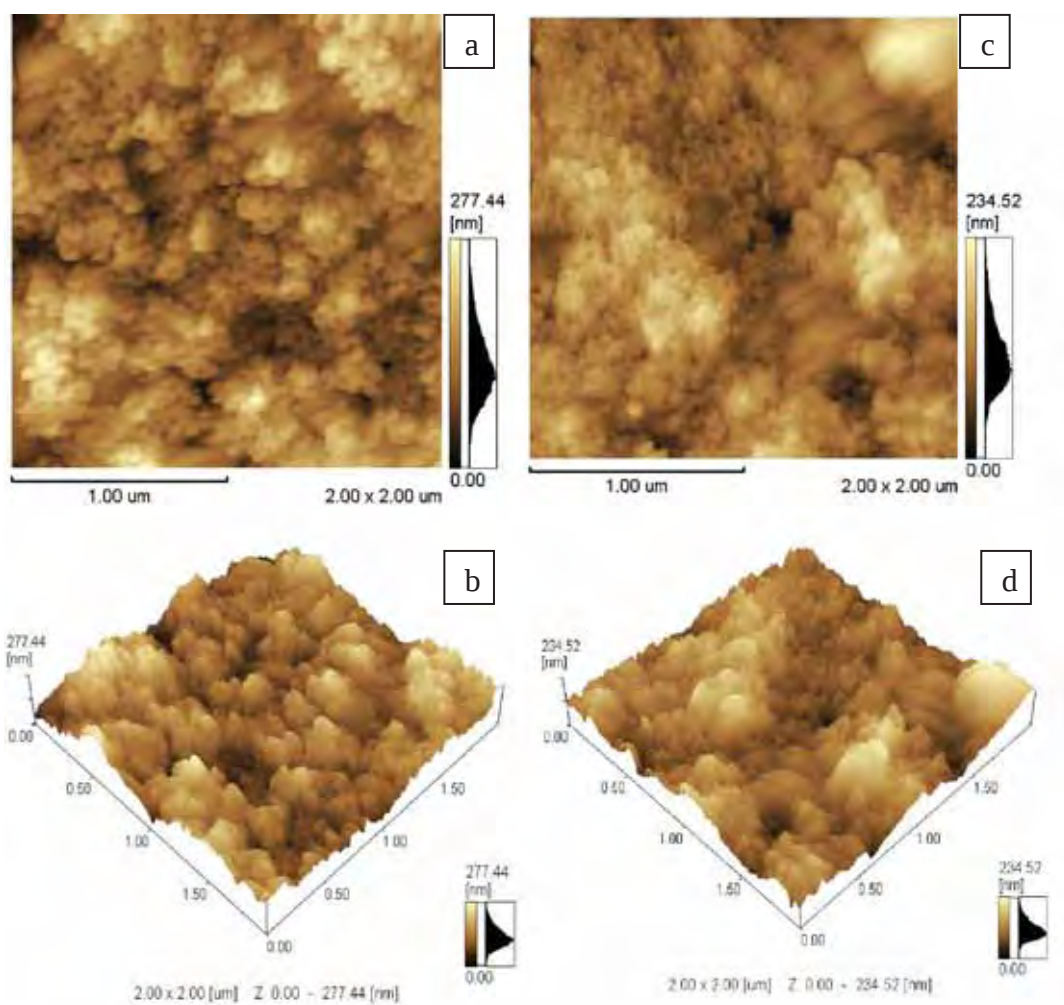


Figura 4.2- – Imagens obtidas em microscópio eletrônico de força atômica (AFM) da liga Ti-7,5Mo anodizadas a: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C.

Medidas de ângulo de contato foram avaliadas buscando relacionar esses valores com a hidrofilicidade proporcionada pela topografia de superfície. A hidrofilicidade é importante em aplicações biomédicas, pois superfícies hidrofílicas promovem uma melhor interação celular. Para a tensão de anodização os dois valores obtidos foram hidrofílicos ($< 90^\circ$) sendo o menor valor encontrado para o tempo de anodização de 48 horas.

Tabela 4.1 – Valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 20V.

Amostras	Valores de rugosidade média (Ra) (nm)	Ângulo de contato ($^\circ$)
20V - 24h - 450 $^\circ$ C	84,79	37,7
20V - 48h - 450 $^\circ$ C	86,86	17,2

Com a análise XPS como pode ser visto na Figura 4.3 foi possível verificar a composição das amostras anodizadas a 20 V, tempos de 24h (Figura 4.3(a)) e 48 h (Figura 4.3(b)), e temperatura de calcinação de 450 $^\circ$ C. Na Tabela 4.2 (24h) e Tabela 4.3 (48h) observa-se que a concentração na superfície foi muito próxima para esses dois subgrupos, com relação aos elementos Ti, O, C (contaminação com eletrólito). Também foram detectados traços de flúor, nitrogênio e silício, sendo o ultimo resultante do ataque a cuba eletrolítica pelo eletrólito.

Tabela 4.2 – Energias de ligação e contribuição dos espectros de alta resolução para as amostras anodizadas a 20V por 24h.

Amostras	Energia de ligação (eV)	Contribuição (%)
Ti 2p	794,90	21,69
Si 2p	151,65	0,40
O 1s	723,65	53,27
C 1s	968,65	23,42
N 1s	854,15	0,35
F 1s	569,15	0,88

Tabela 4.3 – Energias de ligação e contribuição dos espectros de alta resolução para as amostras anodizadas a 20V por 48h.

Amostras	Energia de ligação (eV)	Contribuição (%)
Ti 2p	794,80	22,47
Si 2p	152,30	0,30
O 1s	723,55	53,55
C 1s	968,55	22,61
N 1s	854,30	0,46
F 1s	569,05	0,60

Para os dois subgrupos avaliados os espectros foram parecidos, sem correlação entre a estrutura e os parâmetros de síntese. No entanto, comparando-se os valores obtidos com os de Regonini et al. (2012) para nanotubos não calcinados, verifica-se que em nosso estudo a porcentagem atômica de oxigênio e titânio foi duas vezes superior enquanto a de carbono se reduziu a metade devido à temperatura de calcinação de 450 °C (Tabela 4.2 e Tabela 4.3).

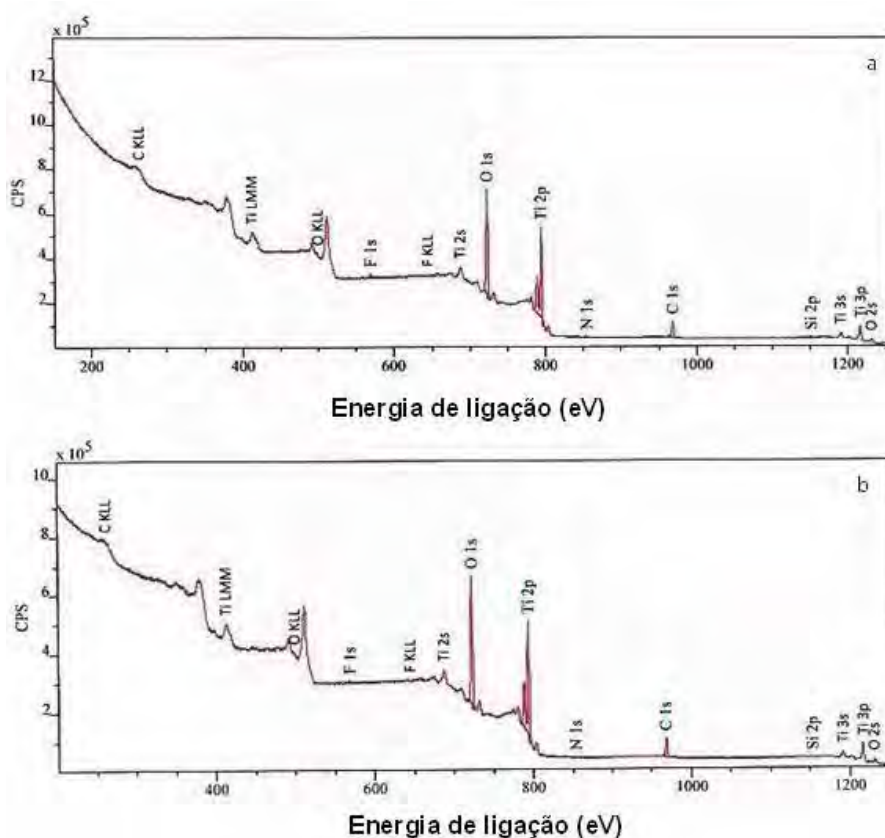


Figura 4.3 - Espectros XPS das amostras anodizadas a 20V em NH_4F /glicerol : (a) 24 horas; (b) 48 horas

Com relação aos espectros polarizados para as amostras anodizadas a 20V por 24 horas, a largura do pico OH sugere que os nanotubos ficam hidratados efetivamente quando crescidos em glicerol. O espectro Ti é o componente principal de todas amostras, localizado a $458,8 \pm 0,2$ eV e está relacionado com a fase TiO_2 . O espectro O mostram a fase O-Ti (O^{2-}) como componente a 530,13 eV e grupos Ti-OH da superfície localizados a 531,45 eV. As outras componentes menos intensas detectadas na calda de alta energia de ligação são relacionados com os grupos da camada contaminadora de carbono: C-O e O-C=O. Os espectros C são a componente principal da camada contaminadora da superfície são os hidrocarbonetos, C-H a 285,0 eV, os grupos éter (C-O a 286,5 eV). As componentes na alta energia de ligação estão relacionadas com grupos carboxílicos (289,0 eV). É interessante observar que o elemento molibdênio não foi encontrado em nossas análises (Tabela 4.4 e Figura 4.4). O mesmo pode ser visto para o grupo das amostras anodizadas a 20V por 48 horas como mostra a Tabela 4.5 e Figura 4.5.

Tabela 4.4 – Energia de ligação e contribuição para Ti 2p, O 1s e C 1s para amostra anodizada a 20V por 24 horas polarizada

Amostras	Energia de ligação (eV)	Contribuição (%)	Composição
Ti 2p	458,88	100	TiO_2
O 1s	530,13	85,11	O-T
	531,45	10,48	-OH
	532,44	4,42	C-O
C 1s	285,00	76,30	C-H
	286,50	17,46	C-O
	289,00	6,24	O-C=O

Tabela 4.5 – Energia de ligação e contribuição para Ti 2p, O 1s e C 1s para amostra anodizada a 20V por 48 horas polarizada

Amostras	Energia de ligação (eV)	Contribuição (%)	Composição
Ti 2p	458,91	100	TiO_2
O 1s	530,16	85,75	O-T
	531,52	10,12	-OH
	532,55	4,13	C-O
C 1s	285,00	75,79	C-H
	286,47	18,23	C-O
	289,97	5,98	O-C=O

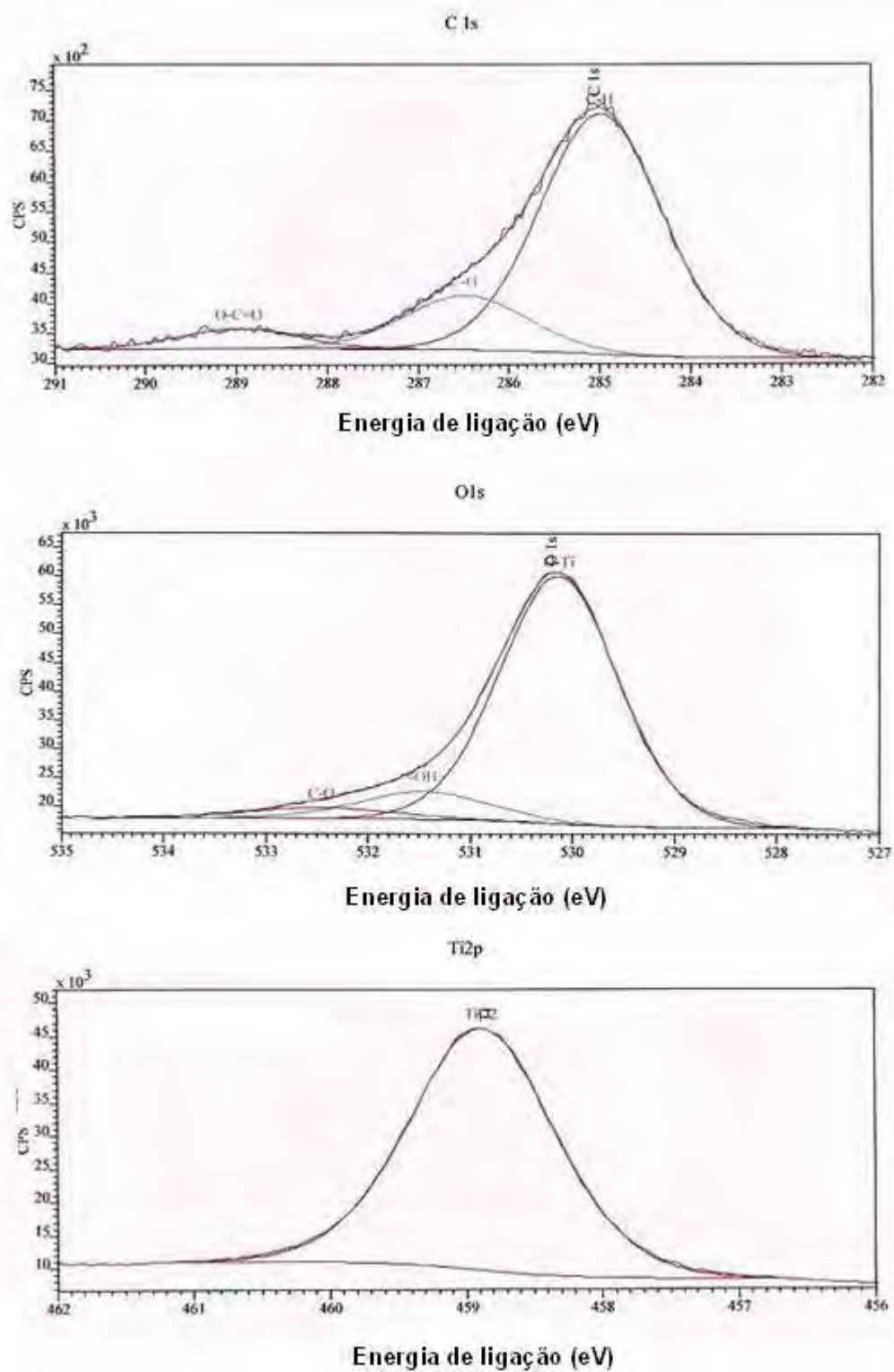


Figura 4.4 – Espectros obtidos após a realização de XPS na superfície das amostras anodizadas a 20V por 24 horas ($< 3\text{nm}$) (a) C; (b) O; (c) titânio

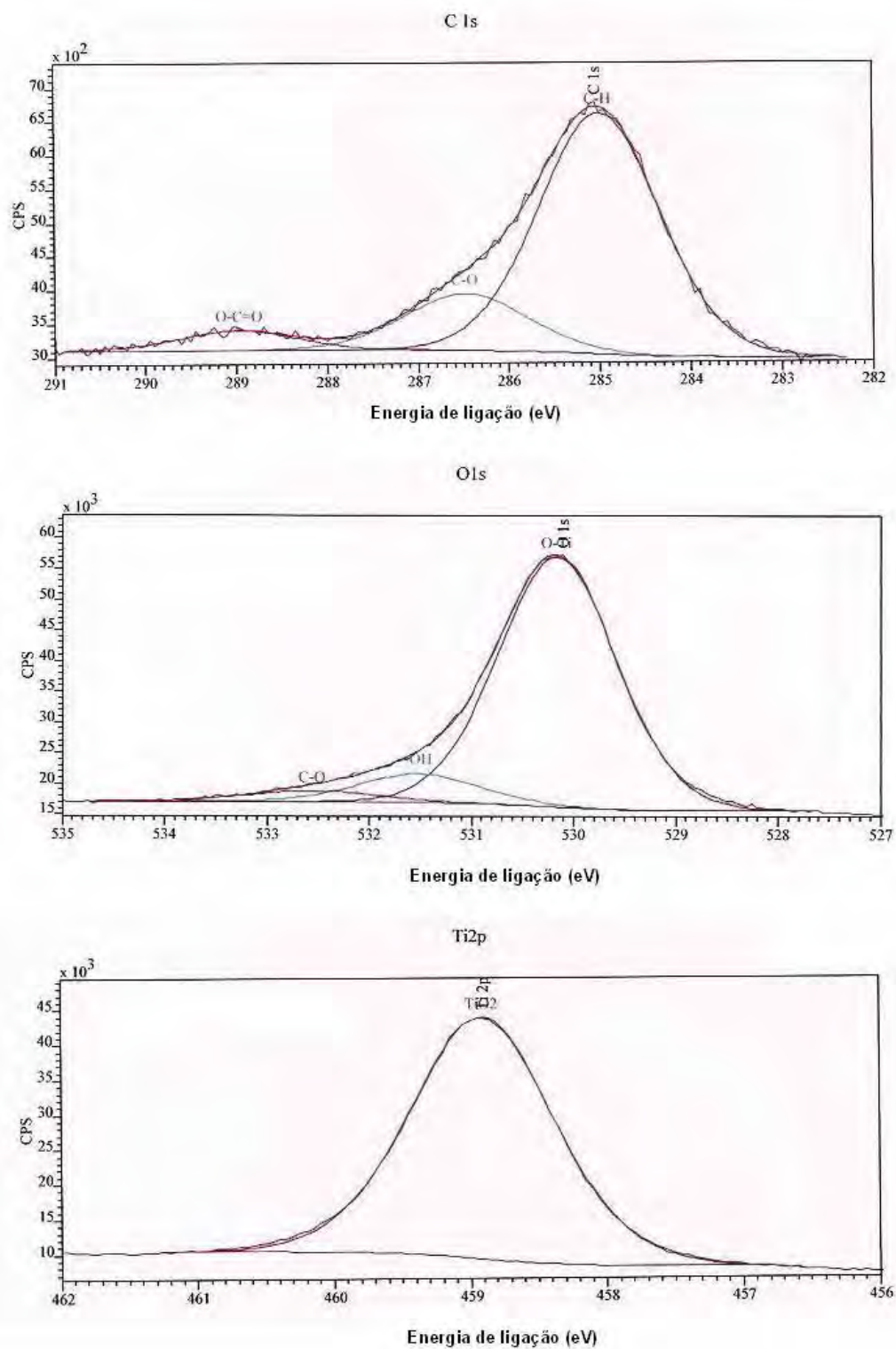


Figura 4.5 – Espectros obtidos após a realização de XPS na superfície das amostras anodizadas a 20V por 48 horas ($< 3\text{nm}$) (a) C; (b) O; (c) titânio

Como a análise com XPS não permitiu distinguir entre as fases anatásio e rutilo as mudanças de fases ocorridas foram avaliadas empregando-se análise por difração de raios X. Pode ser observado na Figura 4.6 que, picos de anatásio foram identificados após tratamento térmico a 450 °C, tanto para 24 h como para 48 h. Os resultados diferem dos encontrados por Varghese *et al.*, 2003, que obtiveram anatásio e rutilo para amostras calcinadas a 430 °C. No entanto, estão de acordo com os encontrados por Yu *et al.* 2006 e Yu e Wang 2010 que observaram a presença de anatásio para temperaturas entre 300 °C e 600 °C e com Regonini *et al.* 2010 que obtiveram rutilo com temperatura de calcinação de 500 °C. Essa cristalinidade é importante porque superfícies amorfas podem ser dissolvidas facilmente em fluidos corpóreos. Além disso, a presença de anatásio pode induzir a formação de apatita, o que não ocorre na presença de rutilo, conforme verificado por Uchida *et al.* (2003).

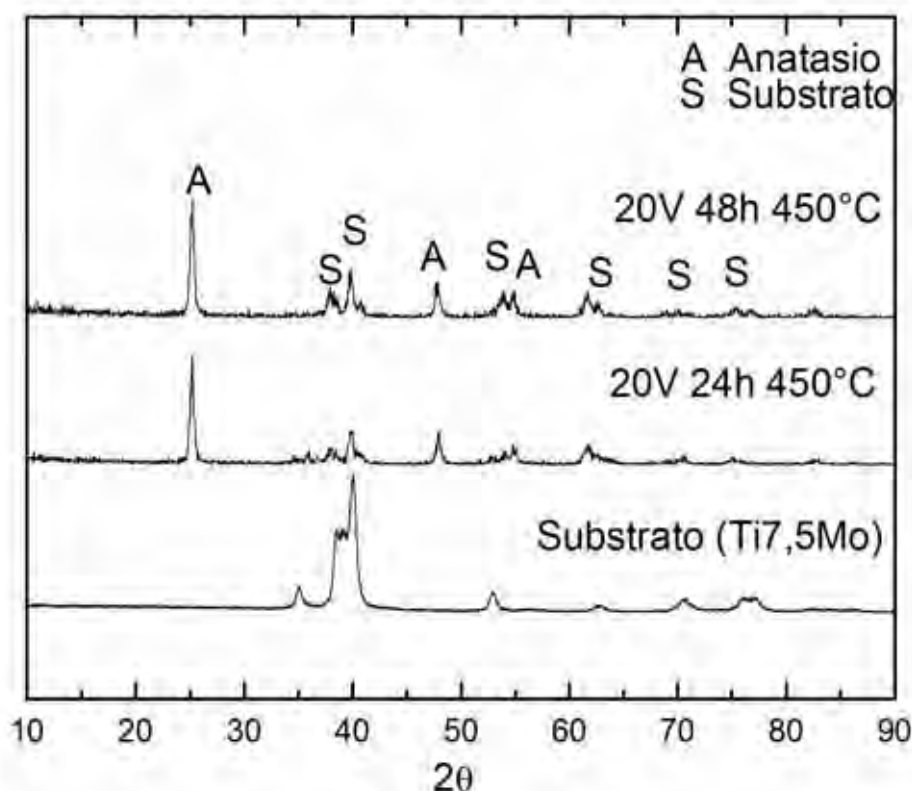


Figura 4.6 – Análise por difração de raios X para as condições de anodização de 20 V

Na figura 4.7 é possível observar as micrografias com o aspecto da superfície das amostras anodizadas a 30 V com tempos de 24 h e 48 h, calcinadas a 450 °C.

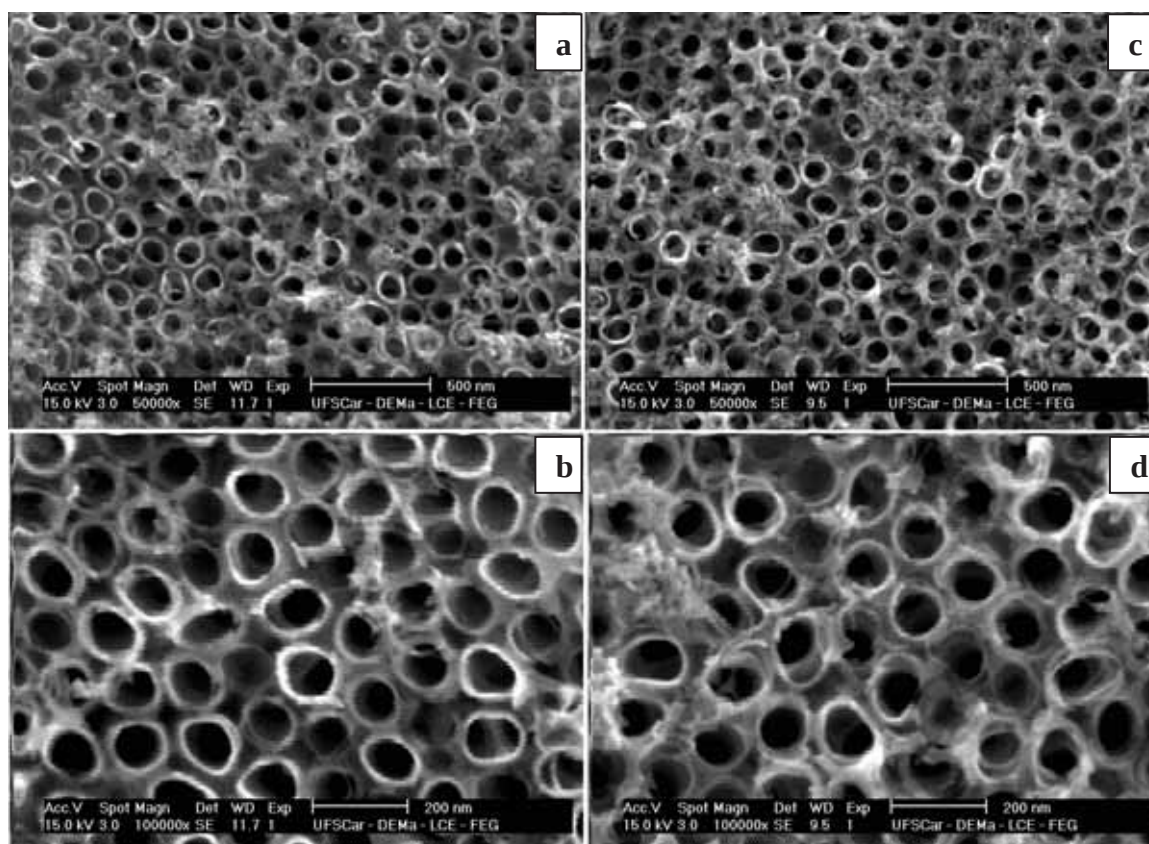


Figura 4.7 - Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas a: (a) e (b) 30V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 30V por 48 h e calcinadas a 450 °C.

Da mesma forma que ocorreu para o grupo anodizado com tensão de 20 V, uma formação organizada e regular dos nanotubos ocorreu para a temperatura de calcinação de 450 °C , para os tempos de anodização de 24h (Figura 4.7(a) e 48 h (Figura 4.7(b) . Para as amostras anodizadas a 30V o diâmetro médio dos nanotubos foi 100 nm e 120 nm, para os tempos de 24 h e 48 h, respectivamente.

Na Tabela 4.2 são apresentados os valores de rugosidade média (R_a) para as amostras anodizadas a 30V obtidos após análise em AFM. Observa-se que não houve diferença nos valores de rugosidade para as condições avaliadas nesse grupo, ou seja, para a mesma tensão, os diferentes tempos de anodização não influenciaram os valores de rugosidade média.

Nas imagens 3D como mostra a Figura 4.8(a) e (b) e Figura 4.8(c) e (d), verifica-se que as superfícies foram totalmente recobertas com o filme. Entre as propriedades de superfície, a rugosidade superficial é considerada um importante parâmetro na alteração da atividade celular (CAI *et al.*, 2006), desempenhando um papel fundamental na regulação do

comportamento celular, incluindo a forma, orientação e a adesão celular (ANSELME *et al.*, 2000). Um aspecto importante em um sistema de nanotubos de TiO_2 é a sua nanotopografia que devido à maior rugosidade pode melhorar a atividade celular proporcionando uma interface apropriada para a ligação do tecido ósseo (ROGUSKA *et al.*, 2011).

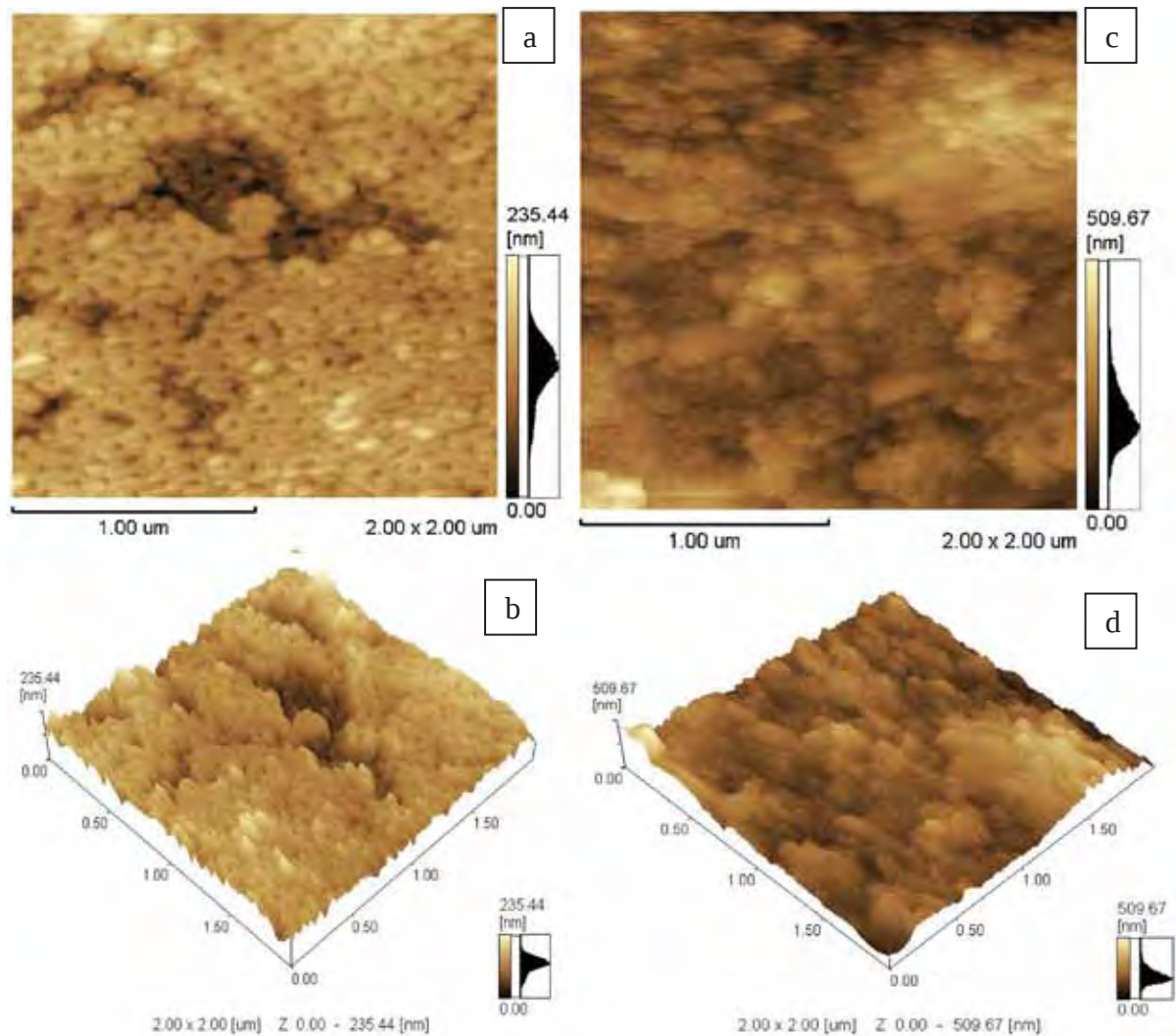


Figura 4.8 – Imagens obtidas em microscópio eletrônico de força atômica (AFM) da liga Ti-7,5Mo anodizadas a: (a) e (b) 30V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 30V por 48 h e calcinadas a 450 °C.

Para a anodização a 30V, os dois valores obtidos foram hidrofílicos ($< 90^\circ$) sendo o menor valor encontrado para o tempo de anodização de 48 horas (Tabela 4.6).

Tabela 4.6 - Valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 30V, obtidos através da microscopia de força atômica.

Amostras	Valores de rugosidade média (Ra) (nm)	Ângulo de contato (°)
30V - 24h - 450 °C	53,03	30,2
30V - 48h - 450 °C	56,80	15,3

Também para esse grupo foi empregada a análise com XPS (Figura 4.9) o que permitiu verificar a composição das amostras anodizadas a 30 V, com tempos de 24h (Figura 4.9(a) e 48 h (Figura 4.9(b)), e temperatura de calcinação de 450 °C. Os resultados foram similares aos verificados para o grupo com tensão de anodização de 20 V. A concentração na superfície foi muito próximo para esses dois subgrupos, com relação aos elementos Ti, O, C (contaminação com eletrólito). Na Tabela 4.7 (24h) e Tabela 4.8 (48h) observa-se que a concentração na superfície foi muito próxima para esses dois subgrupos, com relação aos elementos Ti, O, C (contaminação com eletrólito). Também foram detectados traços de flúor, nitrogênio e silício, sendo o ultimo resultante do ataque a cuba eletrolítica pelo eletrólito conforme já havia sido detectado (Figura 4.9). Novamente, comparando-se os valores obtidos com os de Regonini *et al.* (2012), a porcentagem atômica de oxigênio e titânio foi duas vezes superior enquanto a de carbono se reduziu a metade devido a temperatura de calcinação de 450 °C. O mesmo pode ser visto para o grupo das amostras anodizadas a 20V por 48 horas como mostra a Tabela 4.8 e Figura 4.9.

Tabela 4.7 – Energias de ligação e contribuição dos espectros de alta resolução para as amostras anodizadas a 30V por 24h.

Amostras	Energia de ligação (eV)	Contribuição (%)
Ti 2p	458,65	20,20
Si 2p	102,40	0,60
O 1s	529,90	49,91
C 1s	285,15	28,26
N 1s	399,40	0,75
F 1s	684,90	0,29

Tabela 4.8 – Energias de ligação e contribuição dos espectros de alta resolução para as amostras anodizadas a 30V por 48h.

Amostras	Energia de ligação (eV)	Contribuição (%)
Ti 2p	794,80	21,45
Si 2p	152,30	0,58
O 1s	723,55	52,17
C 1s	968,55	24,46
N 1s	854,05	0,55
F 1s	569,55	0,79

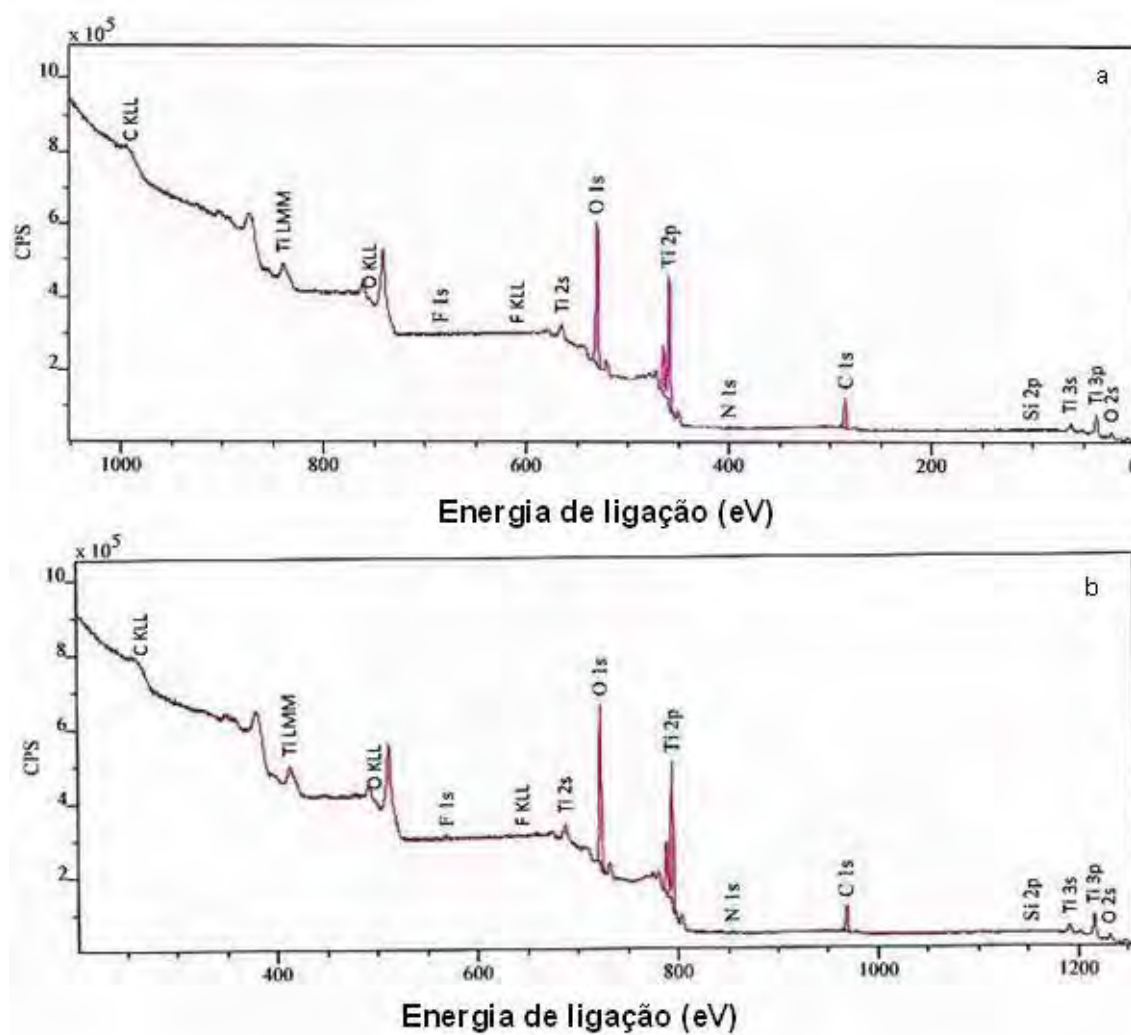


Figura 4.9 - Espectro XPS das amostras anodizadas a 30V em NH₄F/glicerol : (a) 24 horas; (b) 48 horas.

Os espectros também foram similares ao do grupo I, ou seja, para as amostras anodizadas a 30V por 24 horas a largura do pico OH sugere que os nanotubos ficam hidratados quando crescidos em glicerol. O espectro Ti está localizado a $458,90 \pm 0,2$ eV e está relacionado com a fase TiO_2 . Os espectros O mostram a fase O-Ti como componente a 530,15 eV e grupos Ti-OH da superfície localizados a 531,39 eV. As outras componentes menos intensas detectadas na calda de alta energia de ligação são relacionados com os grupos da camada contaminadora de carbono: C-O e O-C=O. Os espectros C são a componente principal da camada contaminadora da superfície são os hidrocarbonetos, C-H a 284,97 eV, os grupos éter (C-O a 286,41 eV). As componentes na alta energia de ligação estão relacionadas com grupos carboxílicos (288,98 eV) (Tabela 4.9 e Figura 4.10). O mesmo pode ser visto para o grupo das amostras anodizadas a 30V por 48 horas como mostra a Tabela 4.10 e Figura 4.11.

Tabela 4.9 – Energia de ligação e contribuição para Ti 2p, O 1s e C 1s para amostra anodizada a 30V por 24 horas polarizada

Amostras	Energia de ligação (eV)	Contribuição (%)	Composição
Ti 2p	458,90	100	TiO_2
O 1s	530,15	85,65	O-T
	531,39	8,42	-OH
	532,30	5,93	C-O
C 1s	284,97	76,35	C-H
	286,41	17,84	C-O
	288,98	5,81	O-C=O

Tabela 4.10 – Energia de ligação e contribuição para Ti 2p, O 1s e C 1s para amostra anodizada a 30V por 48 horas polarizada

Amostras	Energia de ligação (eV)	Contribuição (%)	Composição
Ti 2p	458,89	100	TiO_2
O 1s	530,12	83,59	O-T
	531,40	8,05	-OH
	532,23	8,36	C-O
C 1s	285,03	79,05	C-H
	286,49	16,13	C-O
	289,03	4,82	O-C=O

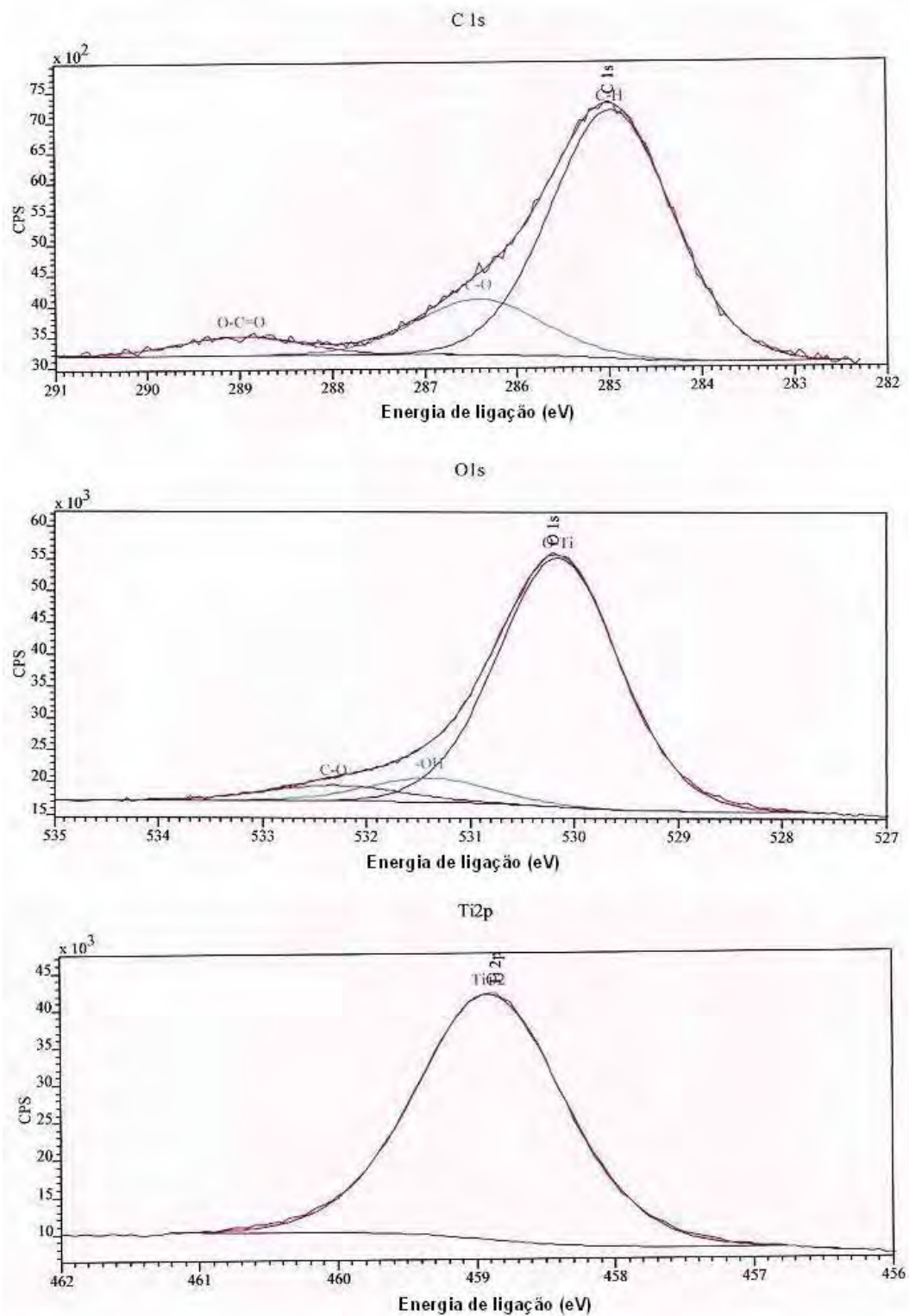


Figura 4.10 – Espectros obtidos após a realização de XPS na superfície das amostras anodizadas a 30V por 24 horas ($< 3\text{nm}$) (a) C; (b) O; (c) titânio.

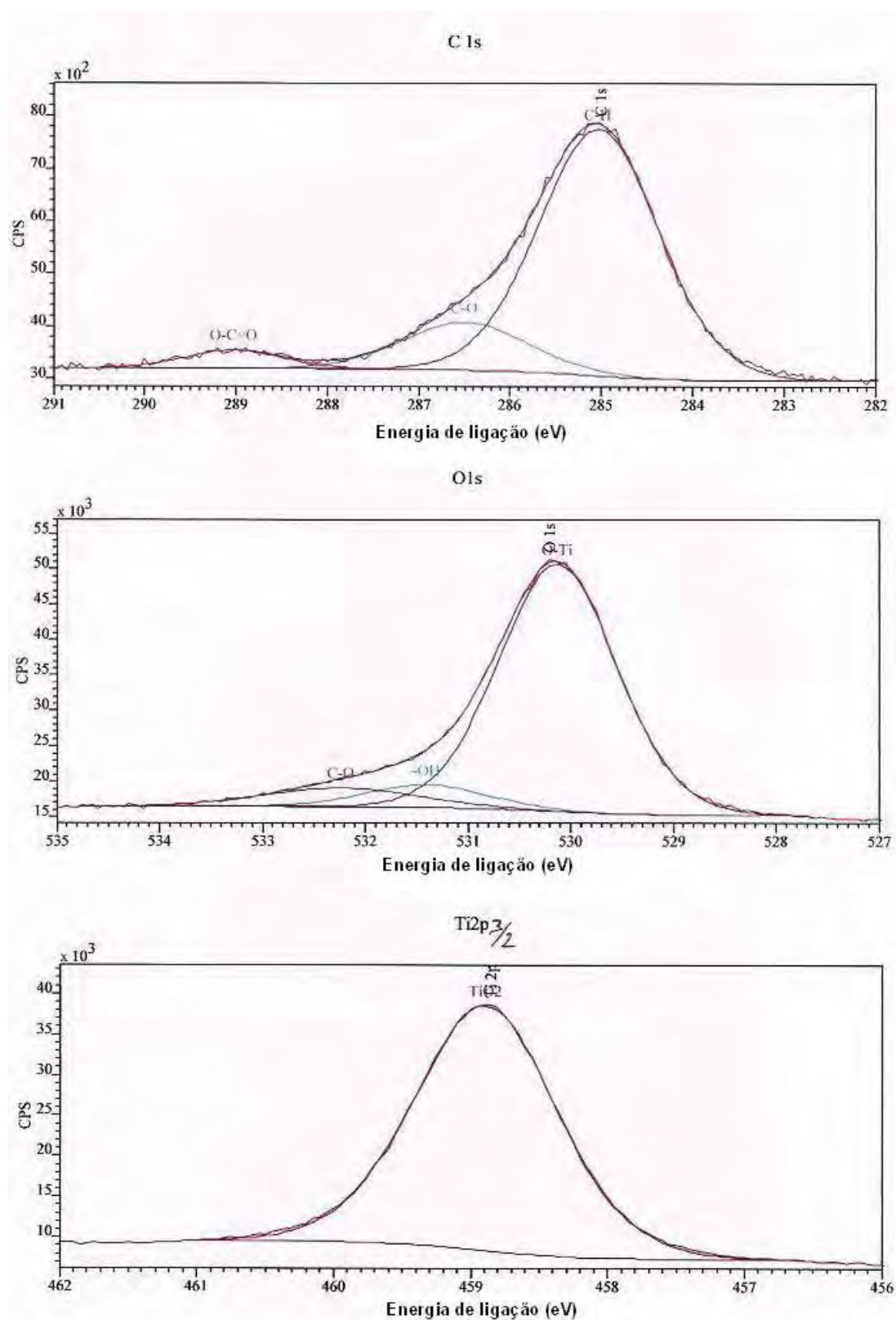


Figura 4.11 – Espectros obtidos após a realização de XPS na superfície das amostras anodizadas a 30V por 48 horas ($< 3\text{nm}$) (a) C; (b) O; (c) titânio.

Como a análise com XPS não permitiu distinguir entre as fases anatásio e rutilo, as mudanças de fases ocorridas foram avaliadas empregando-se análise por difração de raios X. Pode ser observado na Figura 4.12 que a mudança na tensão de anodização não influenciou as fases formadas após a calcinação a 450 °C, sendo novamente identificados picos de anatásio tanto para 24 h como para 48 h. A fase anatásio é indicada para aplicações biomédicas devido ao seu caráter hidrofílico.

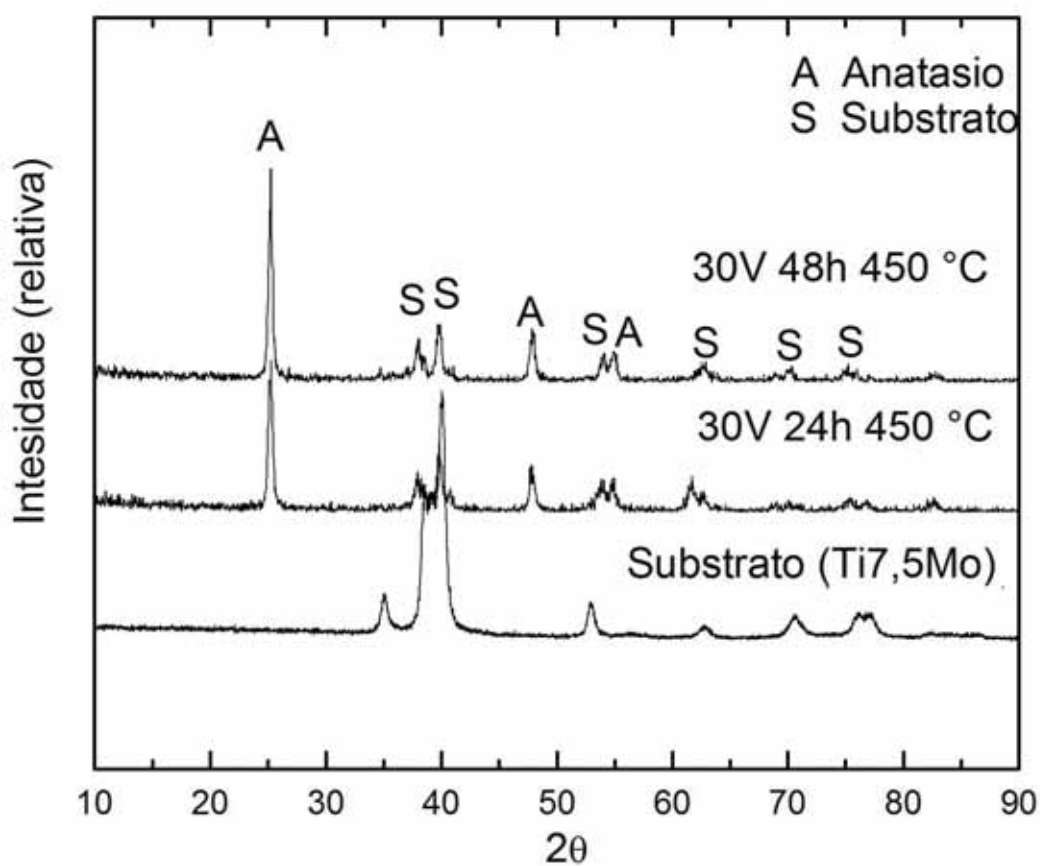


Figura 4.12 - Análise por difração de raios X para as condições de anodização de 30 V

A partir da análise de todos os parâmetros de anodização avaliados, verificou-se que, para as amostras anodizadas a 20 V e 30 V, o diâmetro médio dos nanotubos foi de 80 nm a 120 nm. Portanto, um aumento da tensão de anodização levou ao aumento do diâmetro de

poro como mostra a Figura 4.13. Esses achados estão de acordo com Lockman *et al.* (2010), que concluíram que o diâmetro do nanotubo é dependente do potencial aplicado durante o crescimento dos nanotubos.

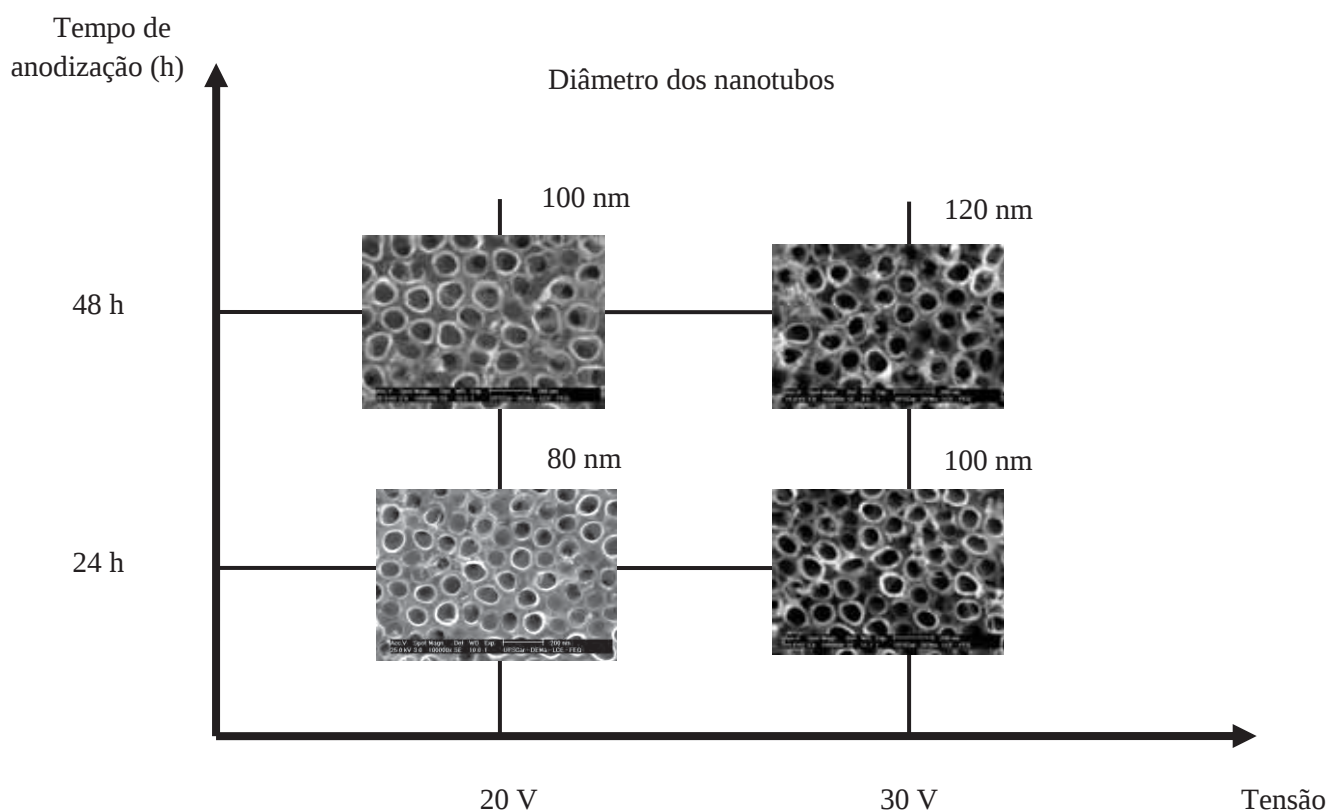


Figura 4.13 - Representação esquemática correlacionando diâmetro dos nanotubos com as condições de anodização.

Comparando-se os valores de rugosidade média e molhabilidade para todas as condições avaliadas (Figura 4.14), verifica-se que não foi possível obter uma relação direta entre eles, ou seja, para o Grupo I (20V) os valores de rugosidade média foram próximos para os diferentes tempos avaliados, no entanto, a superfície submetida a um tempo de anodização de 48 h apresentou maior molhabilidade. Essa mesma situação foi verificada para o Grupo II (30V).

Superfícies com nano-rugosidade são desejadas pois apresentam influência positiva sobre o crescimento, adesão e maturação das células, devido à semelhança entre a nanoestrutura do material e a nanoarquitetura dos tecidos (BACAKOVA *et al.* 2008).

Também diversas pesquisas têm apontado a importância da hidrofiliicidade no sucesso de um material biomédico, estando diretamente relacionada com a adesão e proliferação celular (BACAKOVA *et al.* 2011). Superfícies hidrofílicas produzem respostas celulares melhores que superfícies hidrofóbicas, conforme verificado por Lang *et al.* (2011) em estudos *in vitro* realizados em animais. Os resultados mostraram maior osseointegração após 2 e 4 semanas com o implante com superfície hidrofílica do que no implante com superfície hidrofóbica.

É interessante observar que, de acordo com os dados obtidos, todas as superfícies são hidrofílicas ($< 90^\circ$) podendo ser representados do menor ângulo para o maior como segue: 30V-48 h (15,3 $^\circ$), 20V- 48 h (17,2 $^\circ$), 30V- 24 h (30,2 $^\circ$), 20 V- 24 h (37,7 $^\circ$).

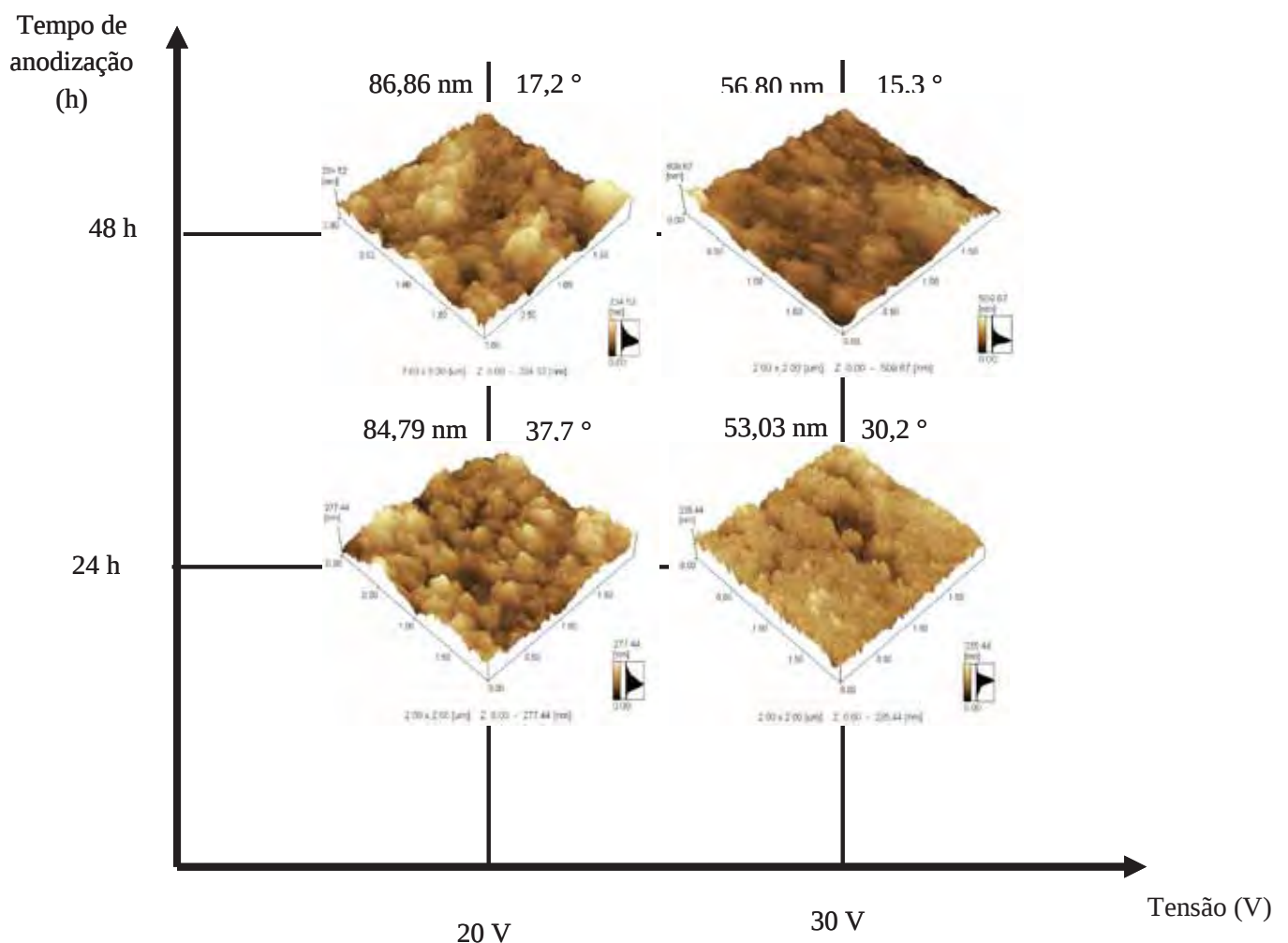


Figura 4.14 - Representação esquemática correlacionando a rugosidade média (Ra) com o ângulo de contato

4.2 Formação da apatita na superfície dos nanotubos

Após a avaliação dos parâmetros de anodização, um estudo *in vitro* foi realizado para avaliar a formação da apatita na superfície das amostras. As superfícies foram avaliadas em duas condições: (i) imersão em SBF (Simultaneous Body fluid) após crescimento dos nanotubos; (ii) imersão em SBF (Simulated Body Fluid) após a ativação da superfície contendo nanotubos com tratamento alcalino e térmico, conforme exposto a seguir.

4.2.1 Imersão em SBF após crescimento dos nanotubos

Na figura 4.15 é possível observar o aspecto das superfícies das amostras anodizadas a 20 V, com tempos de 24 horas e 48 horas, após a imersão em SBF 5x. O recobrimento das amostras foi maior para a condição de 20 V e 24 horas, o que foi confirmado nas análises em AFM 3D (Figura 4.16 (b) e (d)).

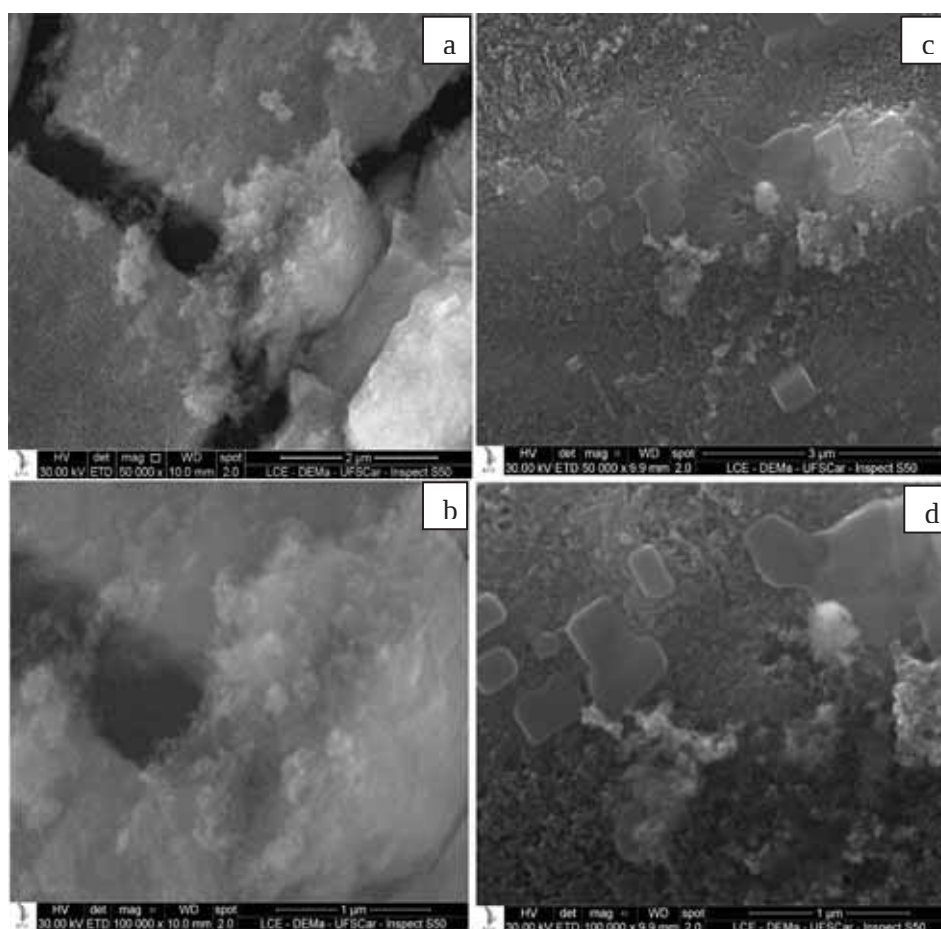


Figura 4.15 - Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas e imersas em SBF: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C

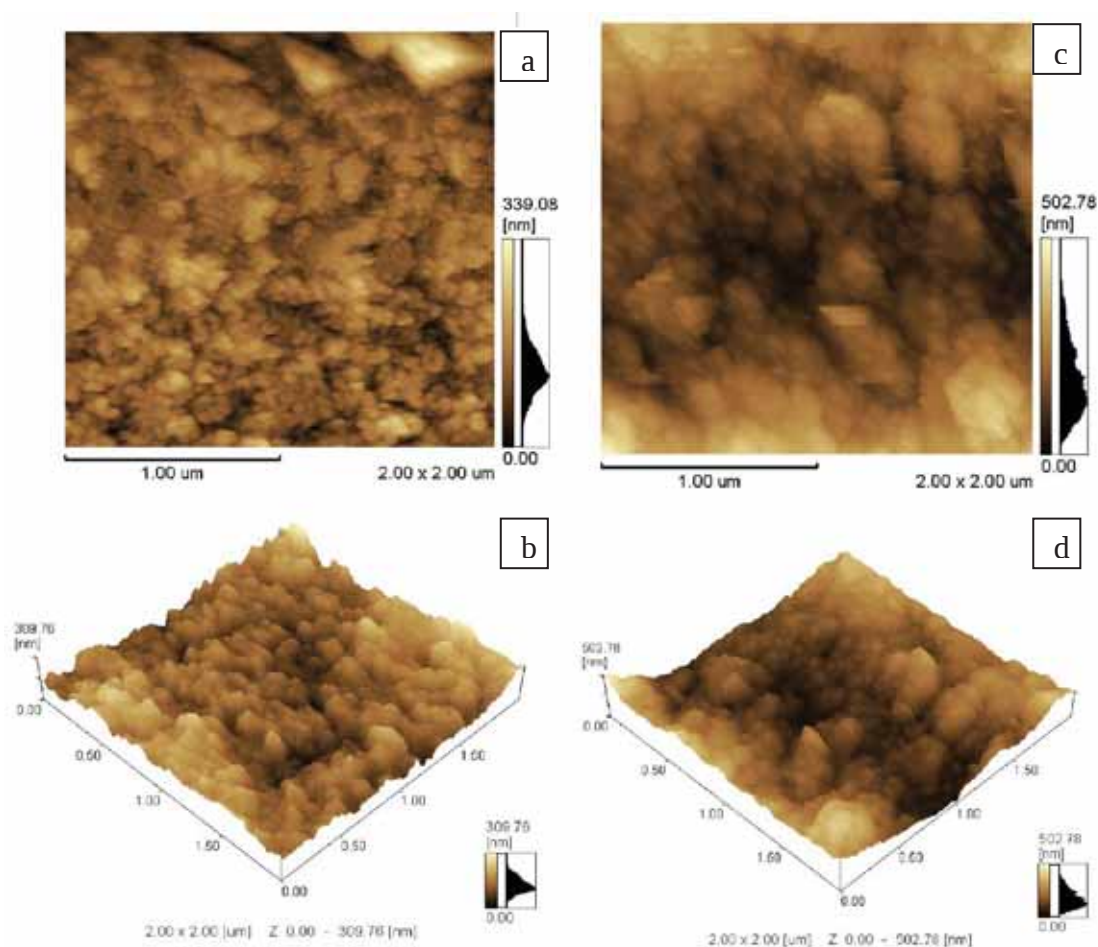


Figura 4.16 - Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas a 20V e imersas em SBF por 24 horas: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C.

A tabela 4.11 mostra os valores de rugosidade média (R_a) e o ângulo de contato para as amostras anodizadas a 20V com posterior imersão em SBF, obtidas através da microscopia de força atômica.

Tabela 4.11 - Valores de rugosidade média (R_a) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 20V e imersas em SBF, obtidas através da microscopia de força atômica.

Imersão em SBF	Valores de rugosidade média (R_a) (nm)	Ângulo de contato (°)
20V - 24h - 450 °C	79,50	42,3
20V - 48h - 450°C	68,54	28,6

A figura 4.17 e 4.18 mostra os difratogramas de raios X para as amostras anodizadas a 20V e imersas em SBF por 24 horas, e para as amostras anodizadas a 20V, seguidas por tratamento alcalino e térmico e imersas em SBF por 24 horas. É possível observar a presença de picos apatita em todas as amostras imersas em SBF.

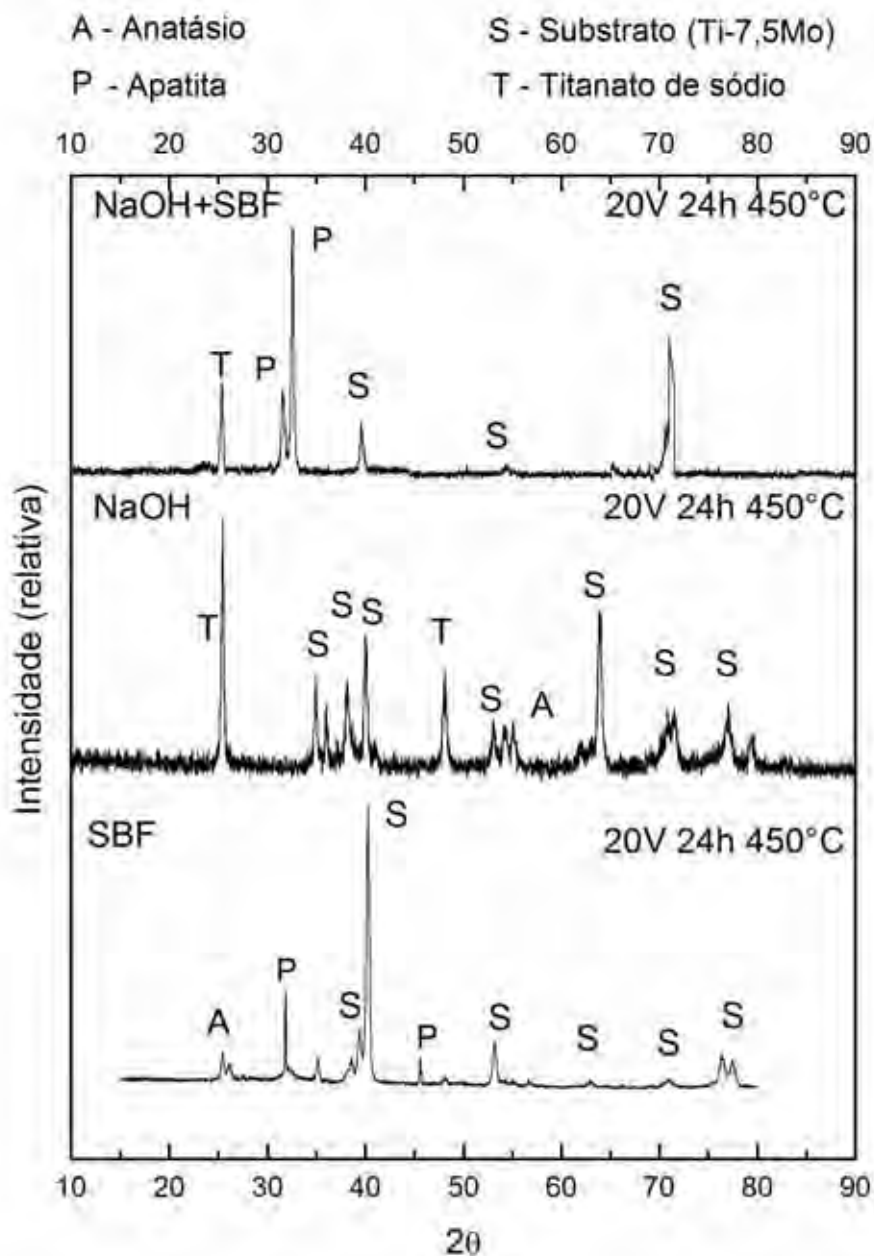


Figura 4.17 - Difratogramas de raios X para as amostras anodizadas a 20V e imersas em SBF, e para as amostras anodizadas a 20V por 24 horas, seguidas por tratamento alcalino e térmico, com posterior imersão em SBF

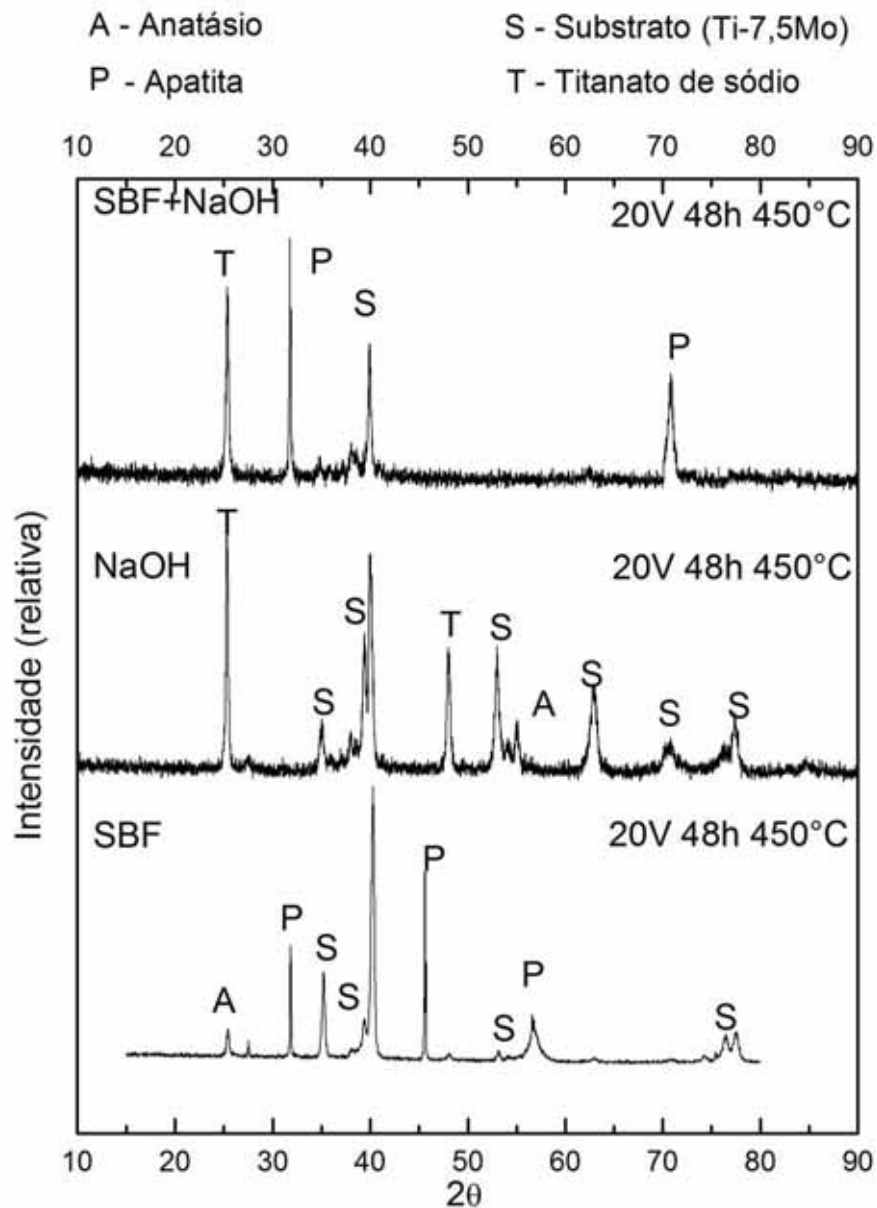


Figura 4.18 - Difrátogramas de raios X para as amostras anodizadas a 20V e imersas em SBF, e para as amostras anodizadas a 20V por 48 horas, seguidas por tratamento alcalino e térmico, com posterior imersão em SBF

Por outro lado, para as amostras anodizadas a 30V e imersas em SBF por 24 horas as superfícies foram totalmente recobertas. As Figuras 4.19(a) e 4.19(c) são referentes às amostras anodizadas por 24 horas, e as Figuras 4.19(b) e 4.19(d) são referentes às amostras anodizadas por 48 horas, respectivamente. Esse recobrimento também foi confirmado pelas imagens AFM 3D como mostram as Figuras 4.20(b) e (d). Narayan et al. (2011) verificaram em seus estudos que o aumento da área superficial dos nanotubos é útil para acelerar a bioatividade.

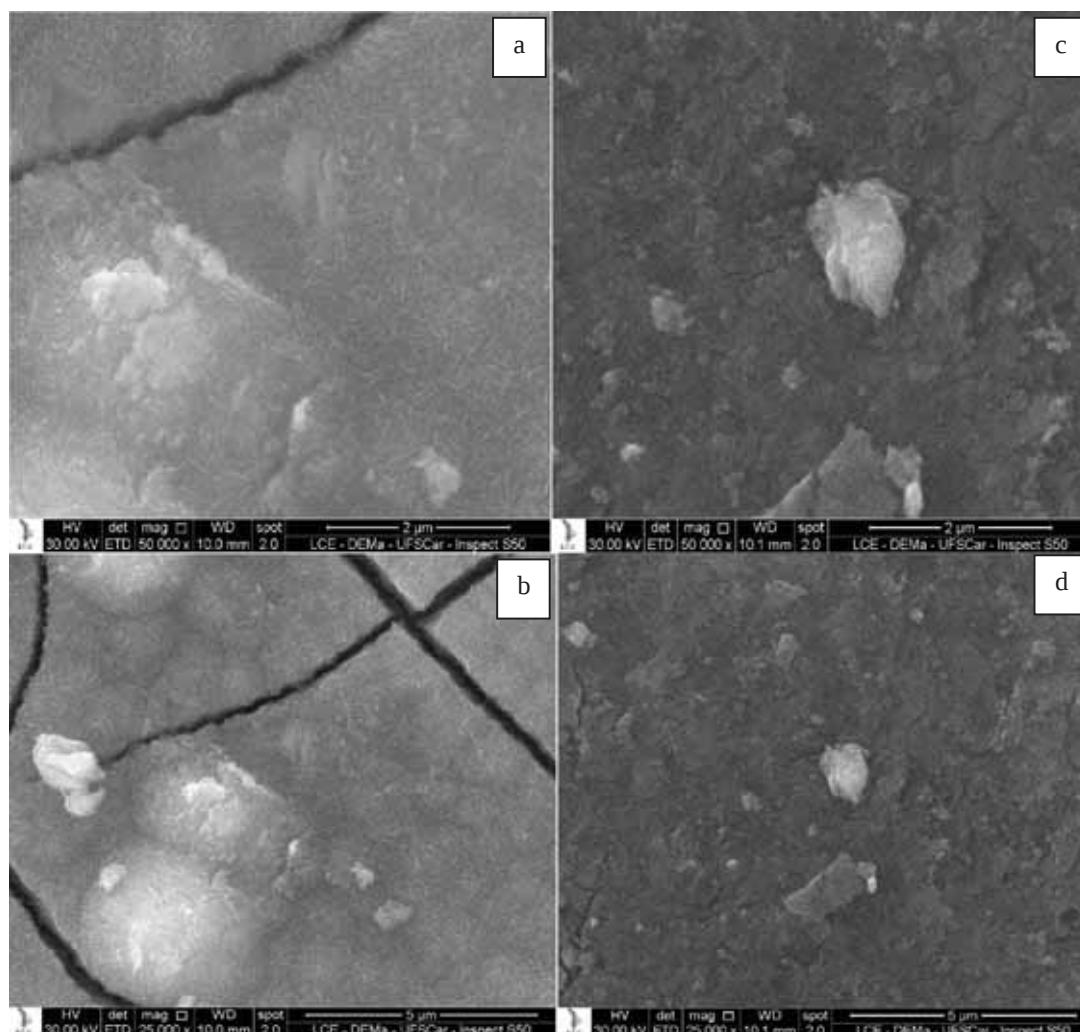


Figura 4.19 - Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas e imersas em SBF: (a) e (b) 30V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 30V por 48 h e calcinadas a 450 °C

A tabela 4.12 mostra os valores de rugosidade média (Ra) após anodização a 30V, tratamento alcalino e térmico, e imersão em SBF, obtidas através da microscopia de força atômica.

Tabela 4.12 - Valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 30V e imersas em SBF, obtidas através da microscopia de força atômica.

Imersão em SBF	Valores de rugosidade média (Ra) (nm)	Ângulo de contato (°)
30V - 24h - 450 °C	48,29	35,0
30V - 48h - 450°C	52,10	29,3

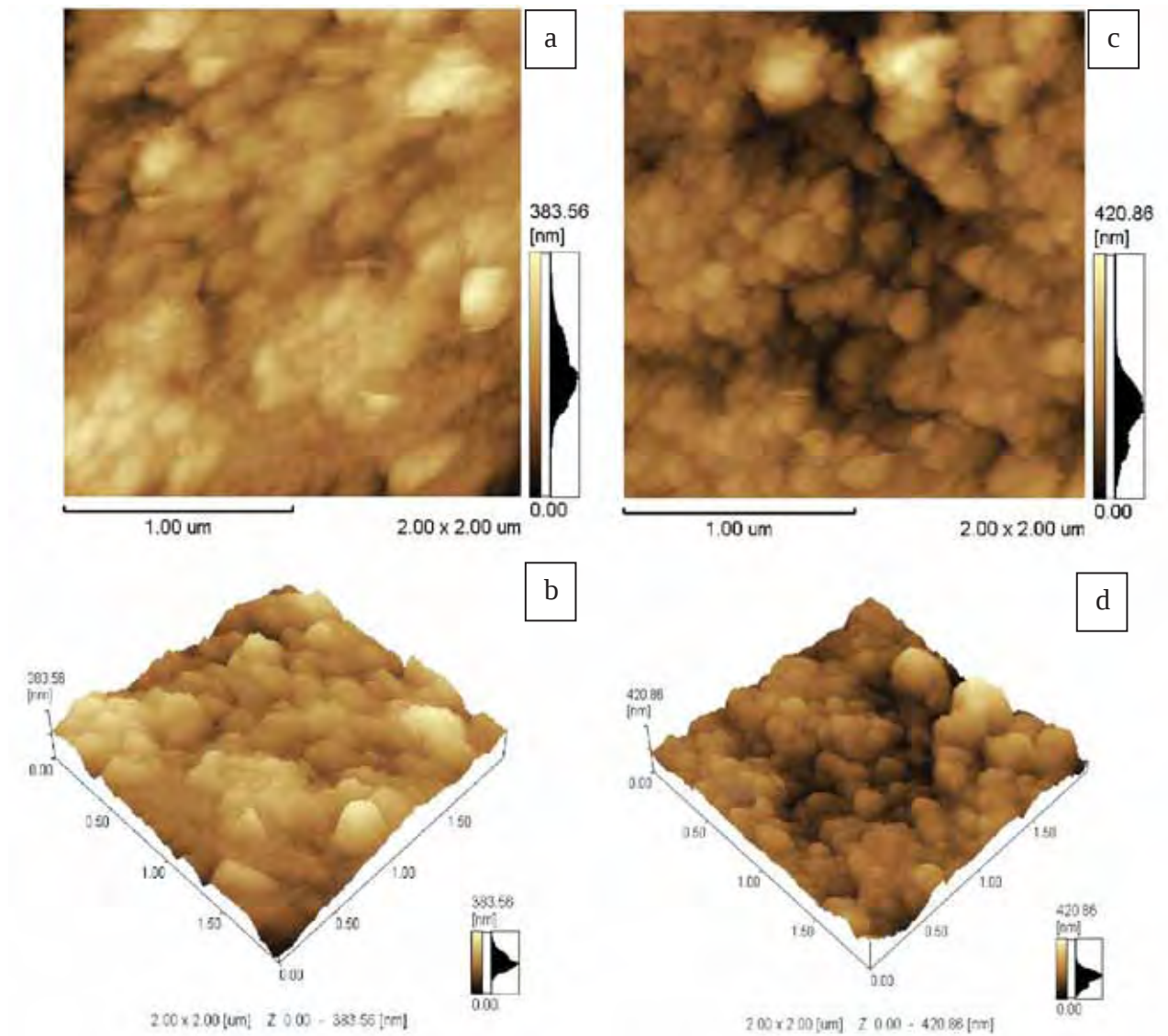


Figura 4.20 - Imagens obtidas em microscópio de força atômica (AFM) da liga Ti-7,5Mo anodizada com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5 mol/L a 80 °C e imersão em SBF: (a) e (b) 30V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 30V por 48 h e calcinadas a 450 °C

4.2.2. Imersão em SBF após tratamento alcalino e térmico

Após exposição dos nanotubos TiO_2 em NaOH para tornar a superfície da liga Ti-7,5Mo bioativa, observou-se a formação de estruturas aglomeradas de titanato de sódio ($\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$ ou $\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$) nas amostras anodizadas a 20V por 24 e 48 horas e imersas em NaOH a 5 mol/L por 1 hora a 80 °C como mostra a Figura 4.21. Para as duas condições avaliadas observa-se ainda a presença dos nanotubos com aglomerados de titanato de sódio como pode ser visto nas Figuras 4.21 (a) e (b).

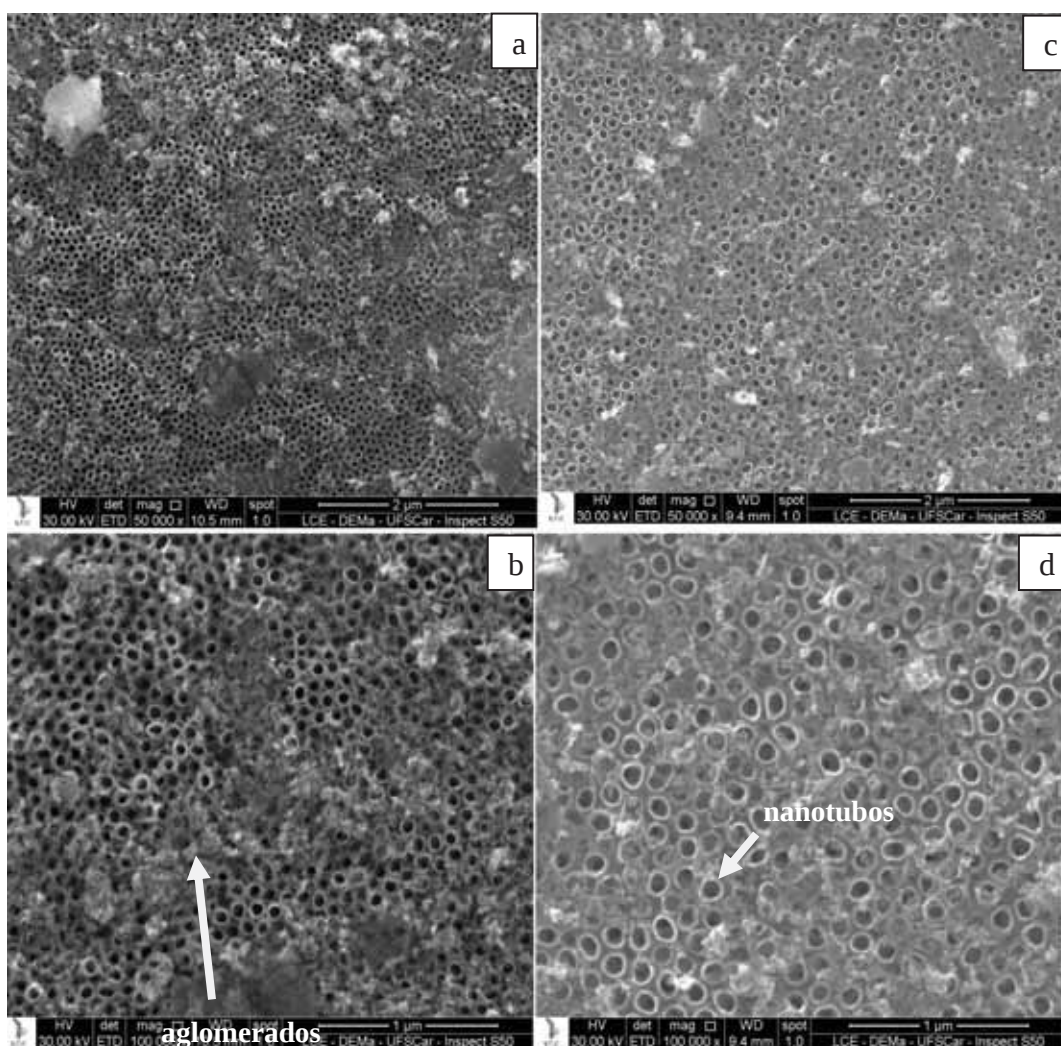


Figura 4.21 - Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5M a 80 °C: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C

A Figura 4.22 mostra as imagens AFM 3D das amostras anodizadas a 20V, imersas em NaOH 5mol/L a 80 °C por 1 hora. As Figuras 4.22 (a) e 4.22(b) são referente às amostras anodizadas por 24 horas e tratadas termicamente a 450 °C. As Figuras 4.22(c) e 4.22(d) às amostras anodizadas por 48 horas e tratadas termicamente a 450 °C e 600 °C respectivamente.

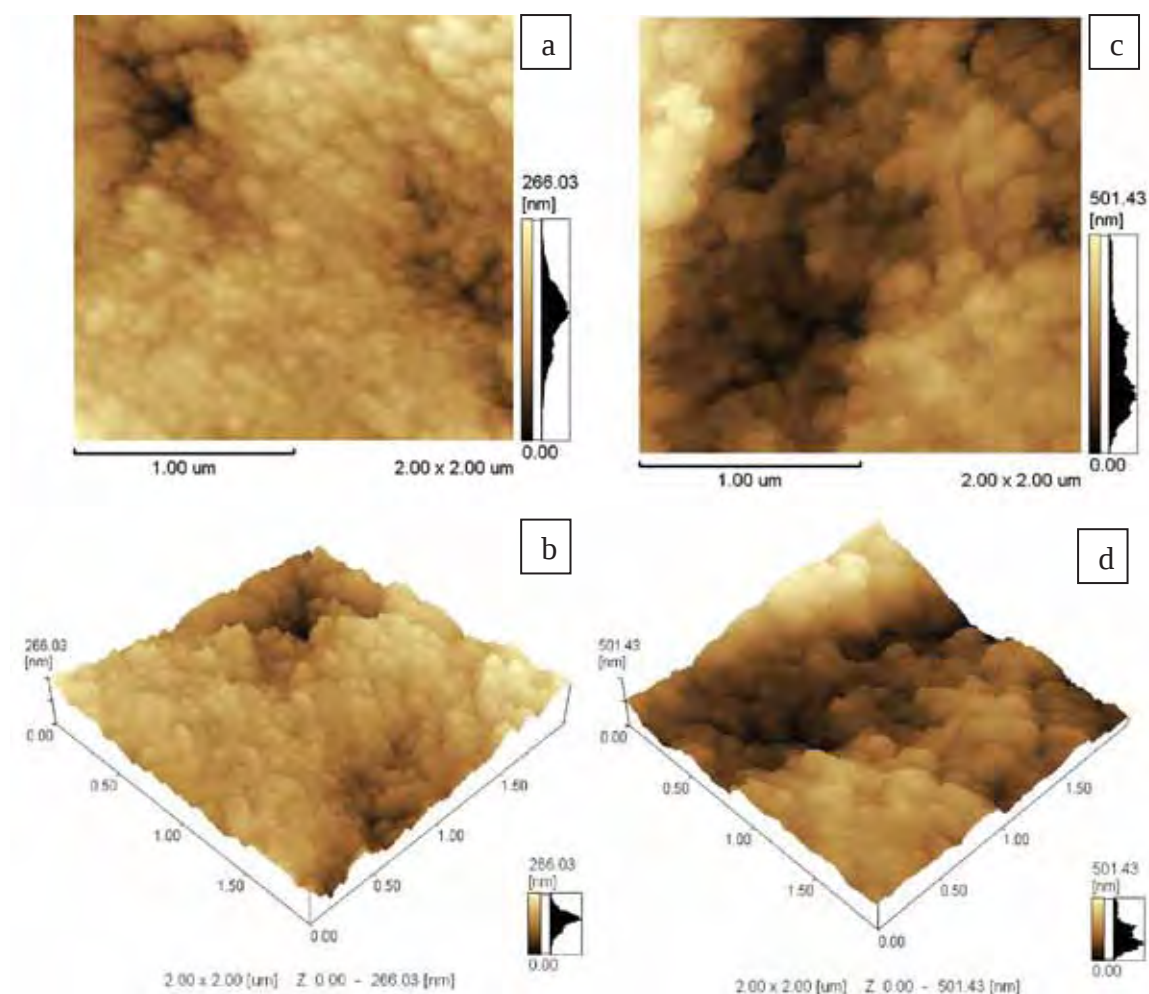


Figura 4.22 - Imagens obtidas em microscópio de força atômica (AFM) da liga Ti-7,5Mo anodizada com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5M a 80 °C: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C

A tabela 4.13 mostra os valores de rugosidade média (R_a) e ângulo de contato após tratamento alcalino e térmico, obtidos através da microscopia de força atômica. Novamente não foi encontrada uma correlação entre os valores de rugosidade e molhabilidade. No entanto, observa-se que com o tratamento alcalino houve uma diminuição nos valores do ângulo de contato.

Tabela 4.13 - Valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 20V, seguidas por tratamento alcalino e térmico, obtidas através da microscopia de força atômica.

Amostras após tratamento alcalino e térmico	Valores de rugosidade média (Ra) (nm)	Ângulo de contato (°)
20V - 24h - 450 °C	90,95	10
20V - 48h - 450°C	93,11	8,6

Nossos resultados foram diferentes dos verificados por Xiao et al. (2010) após tratamento alcalino em solução NaOH 5 mol/L a 60 °C por 30 min em Ti CP. Esses autores constataram que a estrutura dos nanotubos desapareceu e mudou para uma estrutura porosa após o tratamento alcalino devido à reação entre os nanotubos e a solução NaOH.

A figura 4.23 mostra os difratogramas de raios X para as amostras anodizadas a 20V, imersas em NaOH 5mol/L a 80 °C por 1 hora, e tratadas termicamente a 450 °C para os dois tempos de anodização avaliados. Os resultados indicam que houve o aparecimento do titanato de sódio na forma cristalina apenas para as amostras anodizadas a 20V por 48 horas e posteriormente submetidas a tratamento alcalino e térmico.

De acordo com a literatura, nanotubos de TiO_2 imersos em solução de NaOH reagem com OH^- formando HTiO_3^- . Então, esse HTiO_3^- é hidratado e forma hidróxido titanato ($\text{HTiO}_3^- \cdot n\text{H}_2\text{O}$). Esses hidróxidos juntam-se aos íons Na^+ na solução de NaOH e uma camada porosa de hidrogel de titanato de sódio é formada. Após o tratamento térmico, uma camada estável de titanato de sódio é formada ($\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$ or $\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$) pela remoção de $n\text{H}_2\text{O}$ da camada hidrogel de titanato de sódio.

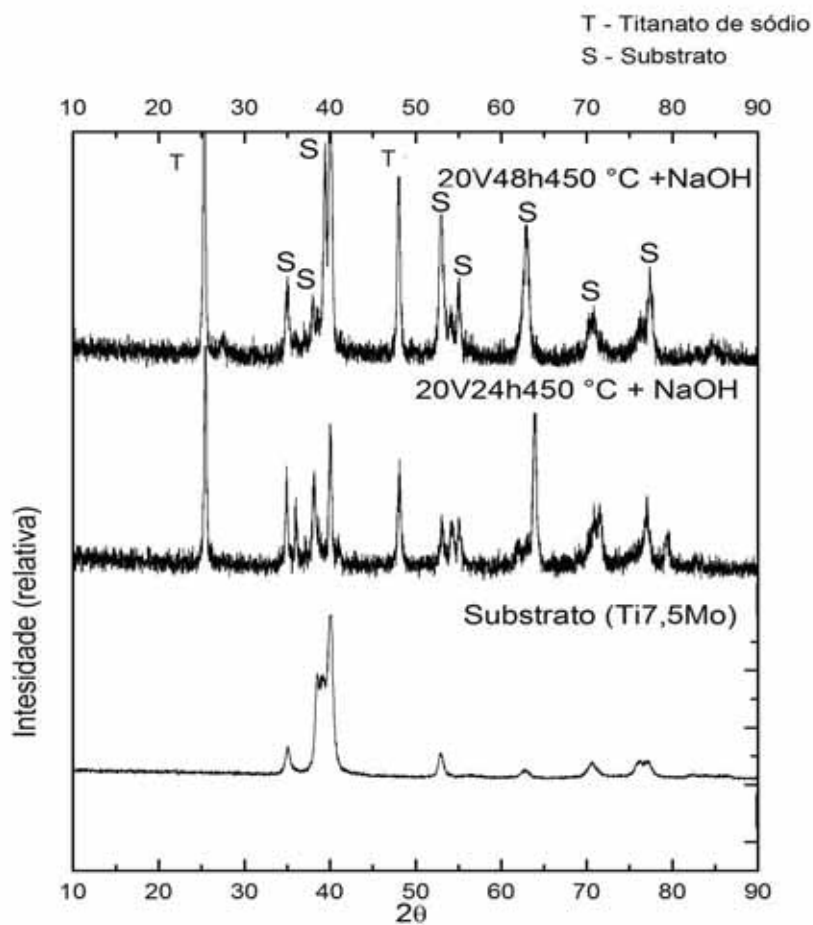


Figura 4.23 - Difrátogramas de raios X das amostras anodizadas a 20V, seguidas por tratamento alcalino e térmico

As Figuras 4.24 e 4.25 mostra as imagens das amostras anodizadas a 30V, imersas em NaOH 5mol/L a 80 °C por 1 hora. As Figuras 4.24 (a) e 4.24(b) são referente às amostras anodizadas por 24 horas e tratadas termicamente a 450 °C, e as Figuras 4.24(c) e 4.24(d) às amostras anodizadas por 48 horas. Novamente observa-se ainda a presença dos nanotubos concomitantemente à formação de aglomerados de titanato.

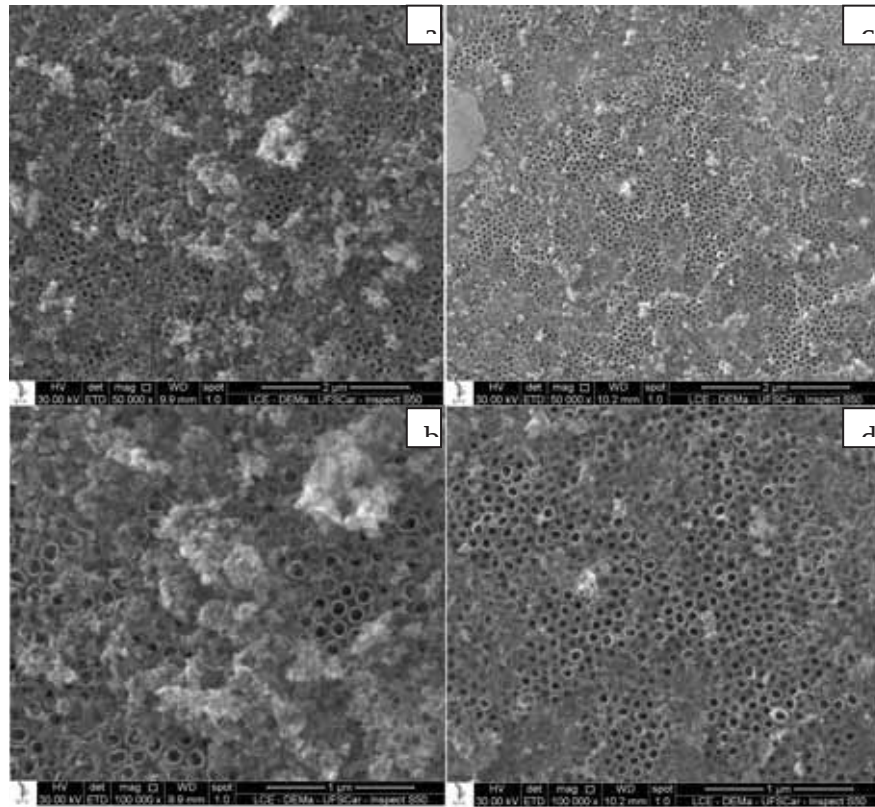


Figura 4.24 - Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5mol/L a 80 °C: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C

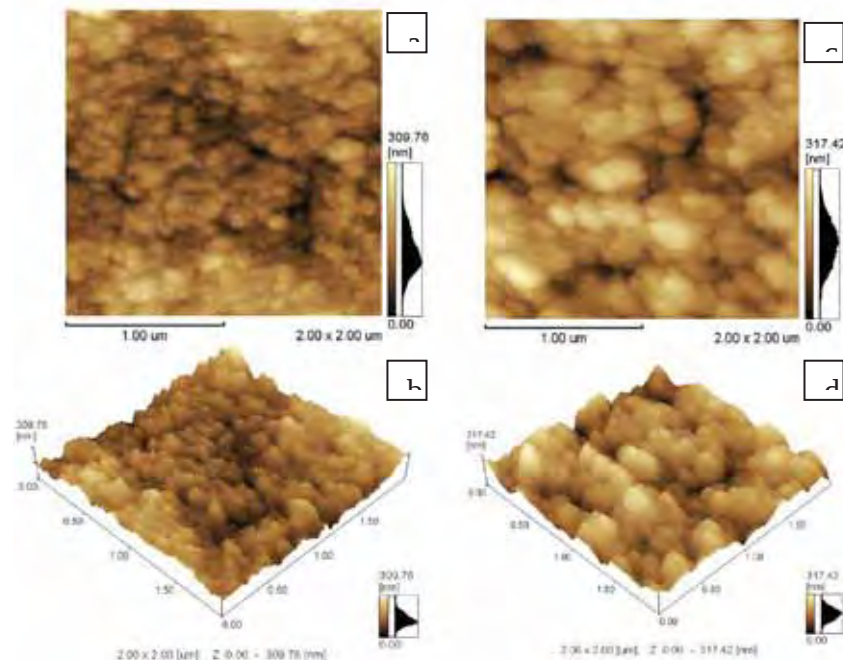


Figura 4.25 - Imagens obtidas em microscópio de força atômica (AFM) da liga Ti-7,5Mo anodizada com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5mol/L a 80 °C: (a) e (b) 30V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 30V por 48 h e calcinadas a 450 °C

A Tabela 4.14 mostra os valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 30V, seguidas por tratamento alcalino e térmico. Novamente verifica-se o aumento da molhabilidade sendo que o menor ângulo foi verificado para a amostra anodizada a 30 V por 48h seguida de tratamento alcalino e térmico.

Tabela 4.14 – Valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 30V, seguidas por tratamento alcalino e térmico, obtidas através da microscopia de força atômica.

Amostras após tratamento alcalino e térmico	Valores de rugosidade média (Ra) (nm)	Ângulo de contato (°)
30V - 24h - 450 °C	61,89	9,2
30V - 48h - 450°C	35,92	2,6

A Figura 4.26 mostra os difratogramas de raios X para as amostras anodizadas a 30V, imersas em NaOH 5M a 80 °C por 1 hora, e tratadas termicamente a 450 °C. Da mesma forma, apenas para essa amostra verificou-se a presença de titanato de sódio cristalino.

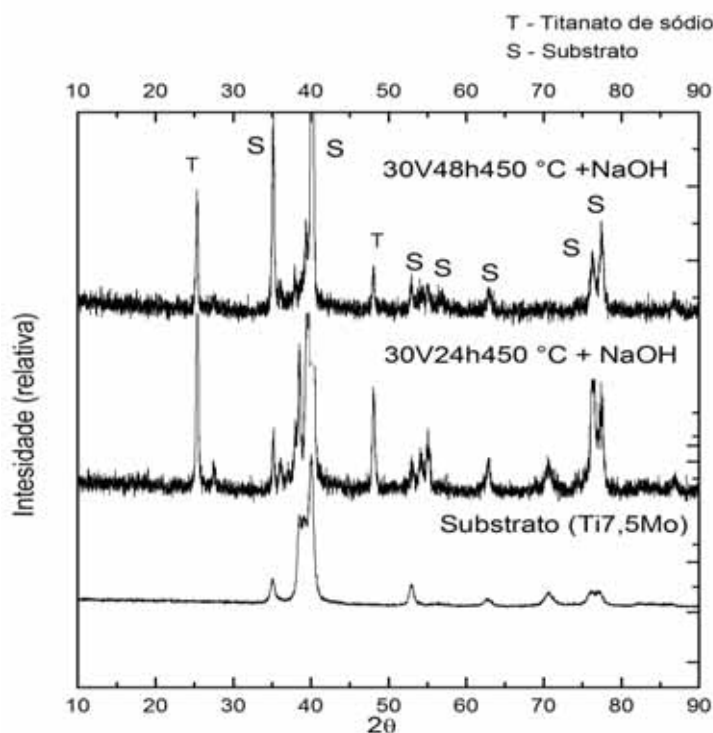


Figura 4.26 - Difratogramas de raios X das amostras anodizadas a 30V, seguidas por tratamento alcalino e térmico a 450 °C

Após o tratamento alcalino as amostras foram imersas em SBF e os resultados obtidos comparados com os resultados das amostras anodizadas e imersas em SBF. Na figura 4.27 observa-se a imagem das amostras anodizadas a 20V, imersas em NaOH 5M a 80 °C por 1 hora, tratadas termicamente a 450 °C, e imersas em SBF por 24 horas. As figuras 4.27(a) e 4.27(b) são referentes às amostras anodizadas por 24 horas, e as figuras 4.27(c) e 4.27(d) são referentes às amostras anodizadas por 48 horas, respectivamente.

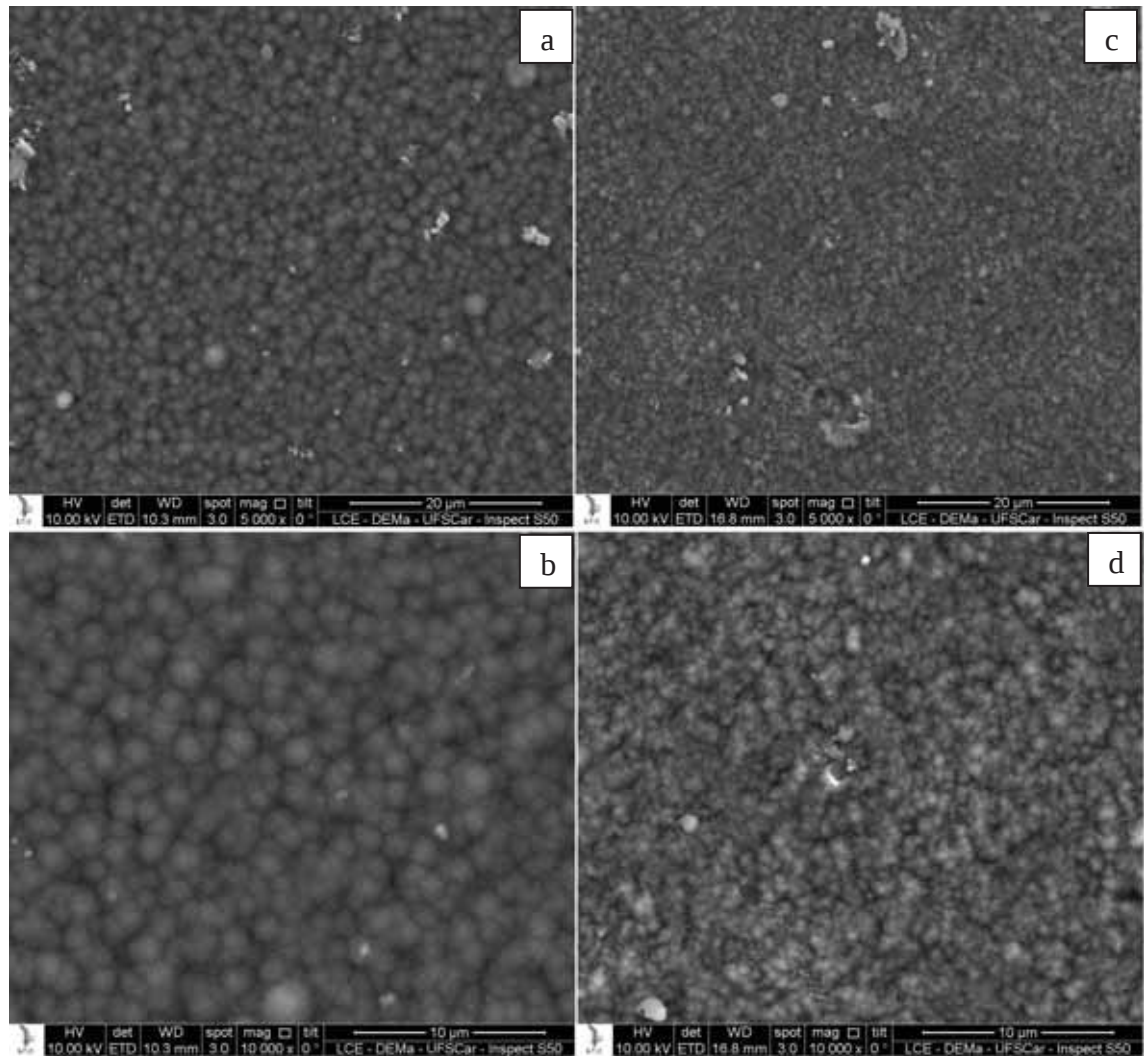


Figura 4.27 - Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5M a 80 °C e imersão em SBF: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C

A morfologia da camada obtida para as amostras anodizadas, seguidas de tratamento alcalino e imersão em SBF foi totalmente diferente da obtida para as superfícies contendo apenas os nanotubos. Foi obtida uma camada de apatita uniforme e homogênea sem a presença de trincas ou aglomerados. Esse resultado foi confirmado com as imagens AFM 3D onde foi possível verificar a topografia da superfície (Figura 4.28). As Figuras 4.28(a) e 4.28(c) são referentes às amostras anodizadas por 24 horas, e as Figuras 4.28(b) e 4.28(d) são referentes às amostras anodizadas por 48 horas, respectivamente.

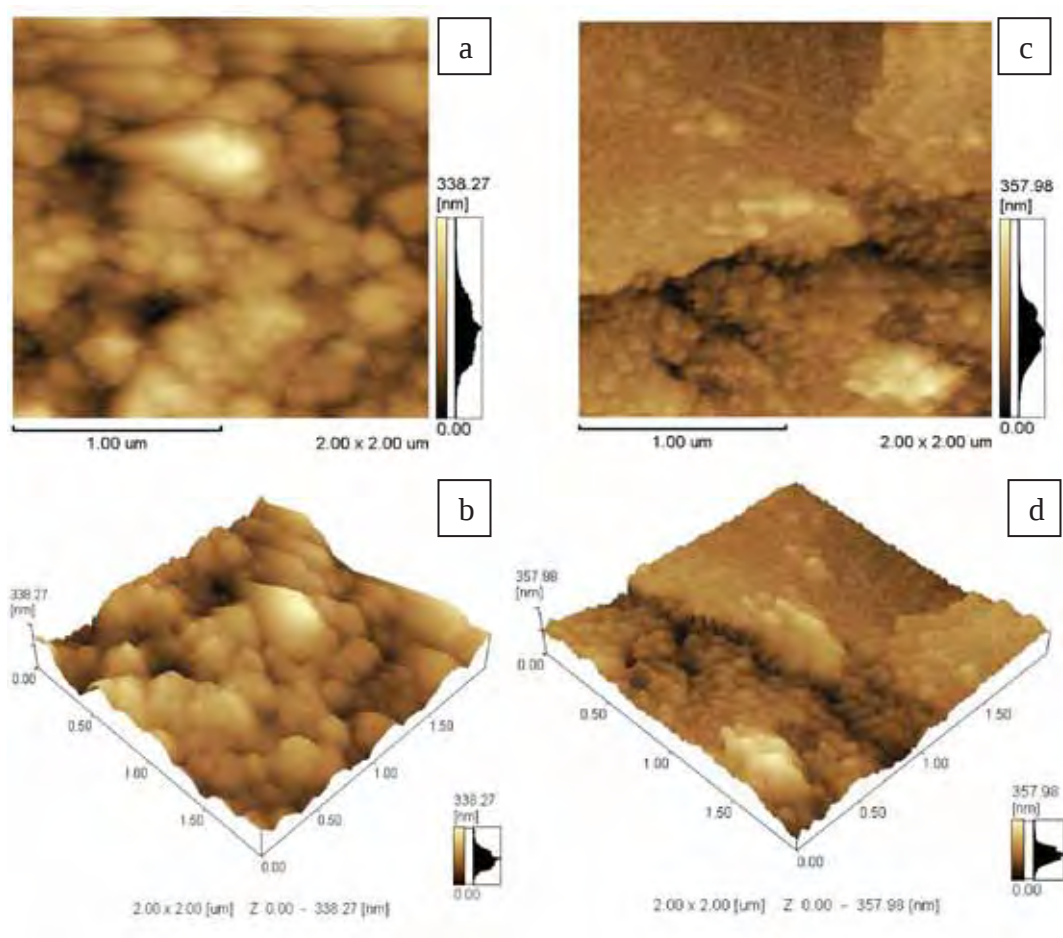


Figura 4.28 - Imagens obtidas em microscópio de força atômica (AFM) da liga Ti-7,5Mo anodizada com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5mol/L a 80 °C e imersão em SBF: (a) e (b) 20V por 24h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 20V por 48 h e calcinadas a 450 °C

A tabela 4.15 mostra os valores de rugosidade média (Ra) após anodização a 20V, tratamento alcalino e térmico, e imersão em SBF. Observa-se que houve um aumento no valor do ângulo de contato devido à incorporação da apatita.

Tabela 4.15 - Valores de rugosidade média (Ra) e ângulo de contato para as amostras anodizadas a 20 V, seguidas por tratamento alcalino e térmico, e imersão em SBF obtidas através da microscopia de força atômica.

Tratamento alcalino e térmico + Imersão em SBF	Valores de rugosidade média (Ra) (nm)	Ângulo de contato (°)
20V - 24h - 450 °C	80,03	13,76
20V - 48h - 450°C	79,21	17,3

No difratogramas de raios-X, observa-se a presença dos picos de apatita para as amostras anodizadas 20V por 24 e 48 horas e imersas em SBF, e para as amostras anodizadas a 20V por 24 horas e 48 horas, seguidas por tratamento alcalino e térmico, com posterior imersão em SBF como mostra a Figura 4.29 e a Figura 4.30.

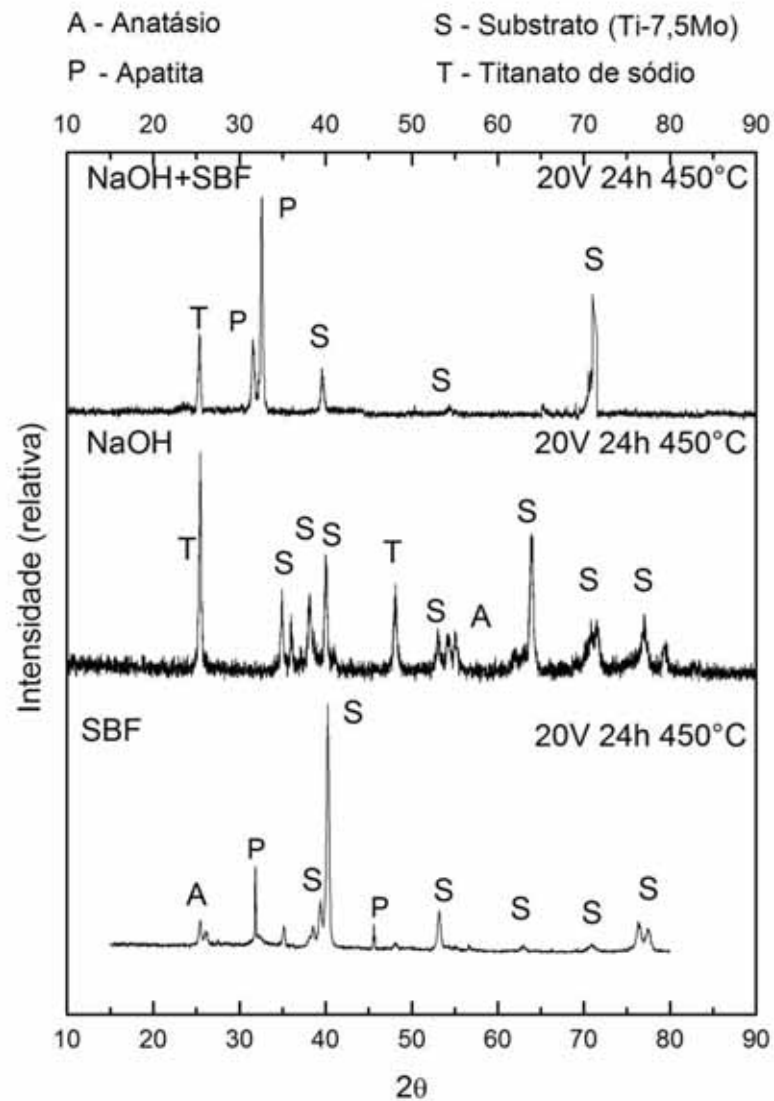


Figura 4.29 - Difratoogramas de raios X para as amostras anodizadas a 20V e imersas em SBF, e para as amostras anodizadas a 20V por 24 horas, seguidas por tratamento alcalino e térmico, com posterior imersão em SBF

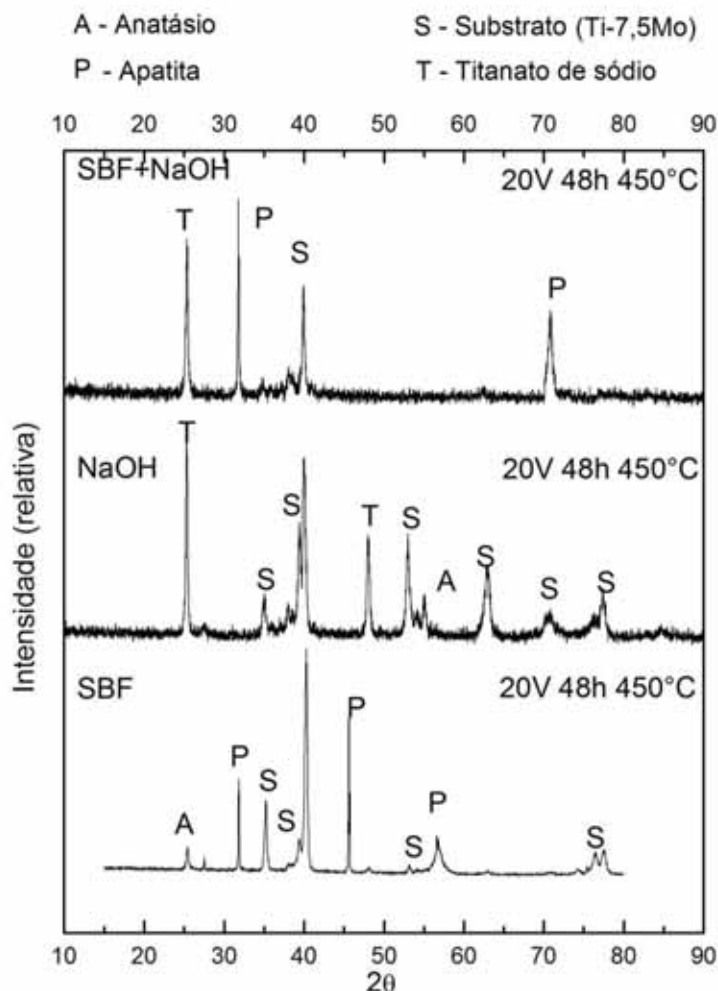


Figura 4.30 - Difrátogramas de raios X para as amostras anodizadas a 20V e imersas em SBF, e para as amostras anodizadas a 20V por 48 horas, seguidas por tratamento alcalino e térmico, com posterior imersão em SBF

A Figura 4.31 mostra a imagem das amostras anodizadas a 30V, imersas em NaOH 5 mol/L a 80 °C por 1 hora, tratadas termicamente a 450 °C, e imersas em SBF por 24 horas. As Figuras 4.31(a) e 4.31(b) são referentes às amostras anodizadas por 24 horas, e as Figuras 4.31(c) e 4.31(d) são referentes às amostras anodizadas por 48 horas, respectivamente. Verifica-se a presença de trincas na camada formada que podem ser atribuídas à desidratação, diferença de contração, formação de uma camada muito densa ou ainda à perda de material volátil.

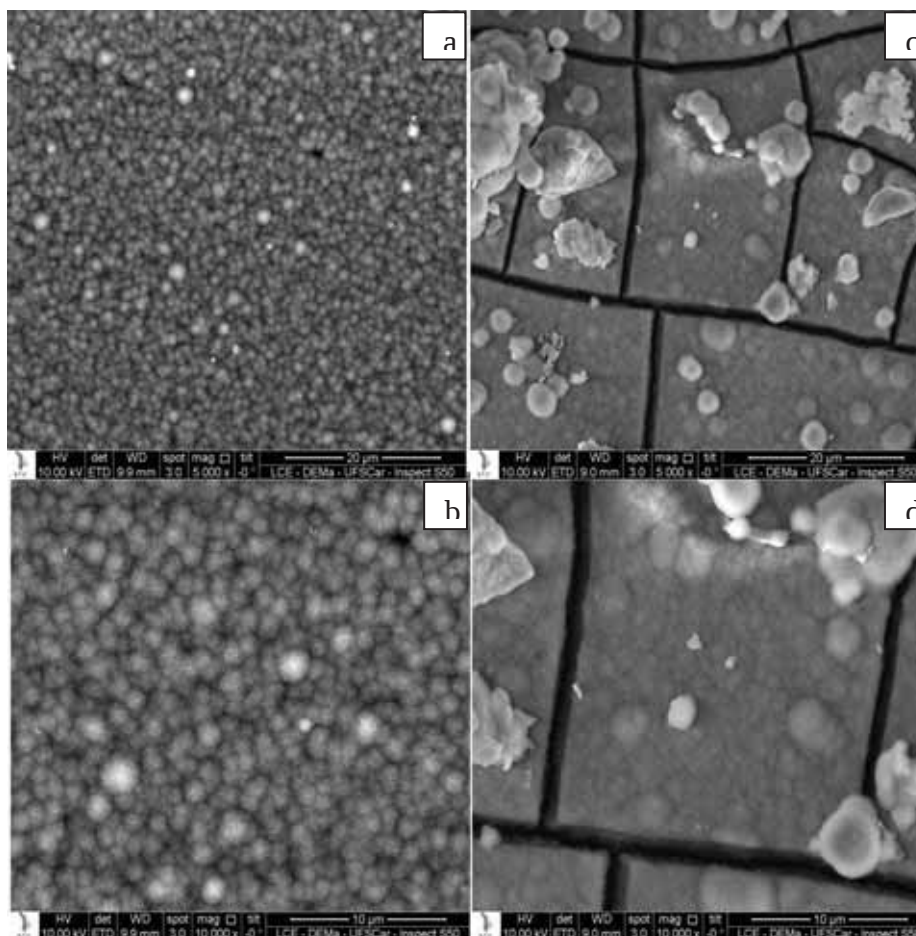


Figura 4.31 - Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5 mol/L a 80 °C e imersão em SBF: (a) e (b) 30V por 48h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 30V por 48 h e calcinadas a 450 °C

A tabela 4.16 mostra os valores de rugosidade média (Ra) após anodização a 30V, tratamento alcalino e térmico, e imersão em SBF. Conforme era esperado, houve um aumento no valor do ângulo de contato devido à incorporação da apatita na forma de uma camada bastante densa, conforme já apresentado na Figura 24 (c) e (d).

Tabela 4.16 - Valores de rugosidade média (Ra) após anodização a 30V, tratamento alcalino e térmico, e imersão em SBF, obtidas através da microscopia de força atômica.

Tratamento alcalino e térmico + Imersão em SBF	Valores de rugosidade média (Ra) (nm)	Ângulo de contato (°)
30V - 24h - 450 °C	62,75	14,7
30V - 48h - 450°C	58,73	37,6

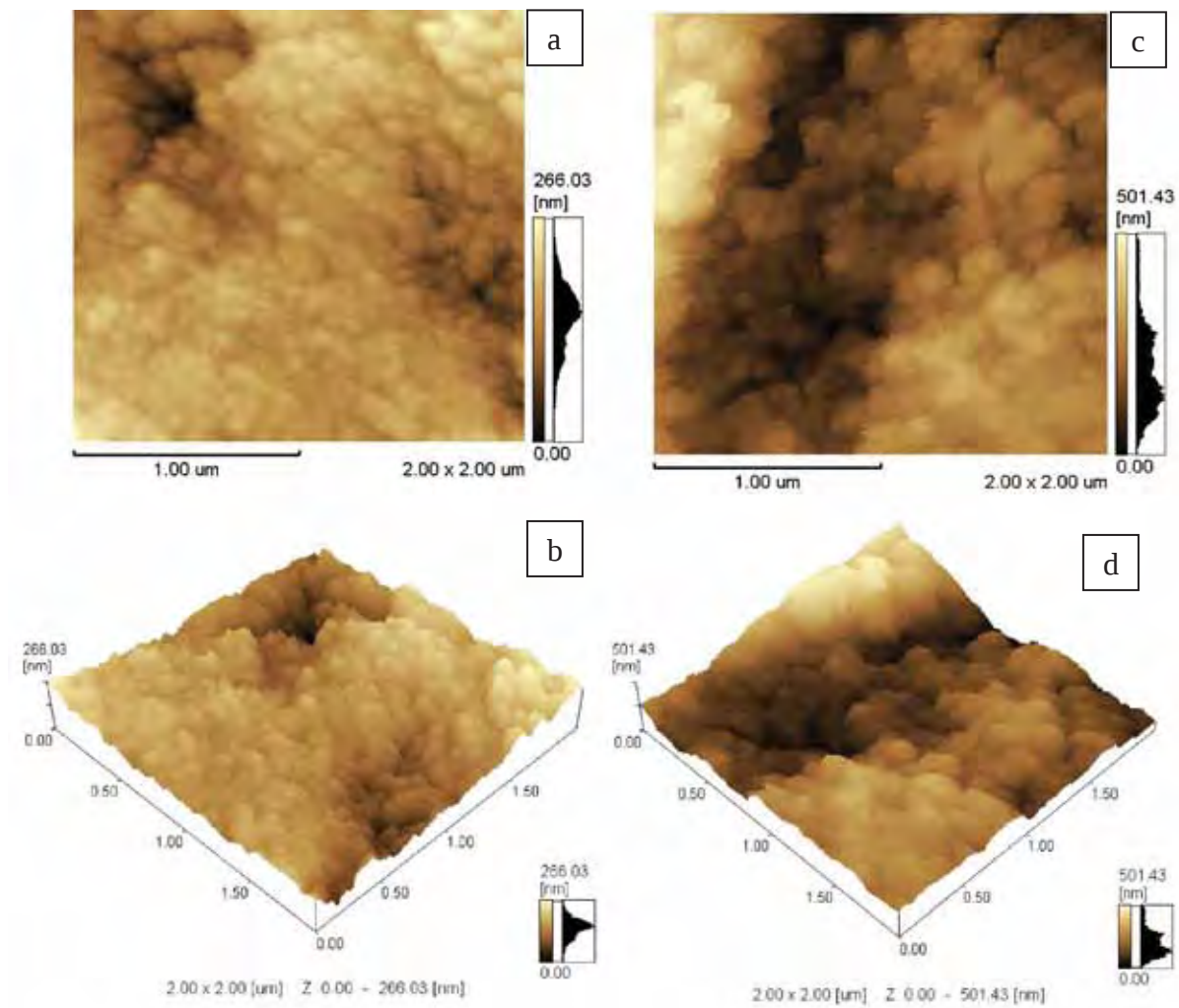


Figura 4.32 - Imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) da liga Ti-7,5Mo anodizadas com posterior tratamento alcalino por 1 hora em NaOH 5 mol/L a 80 °C e imersão em SBF: (a) e (b) 30V por 48h e calcinadas a 450 °C; (c) e (d) 30V por 48 h e calcinadas a 450 °C

A partir da análise de difração de raios X, foi possível verificar a presença de apatita para todas as condições avaliadas indicando a eficiência da modificação de superfície realizada (Figura 4.33 e Figura 4.34).

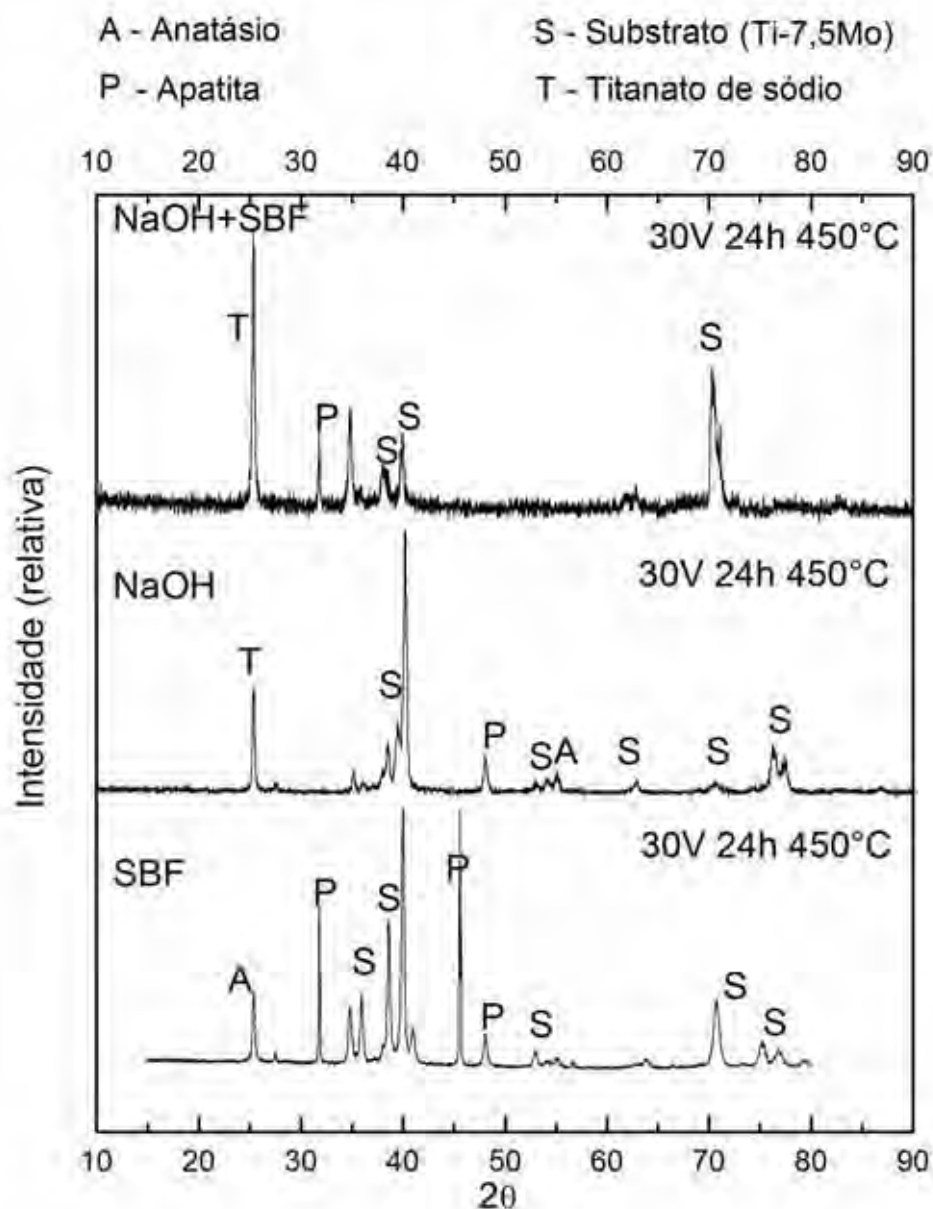


Figura 4.33 - Difrátogramas de raios X para as amostras anodizadas a 30V e imersas em SBF, e para as amostras anodizadas a 30V por 24 horas, seguidas por tratamento alcalino e térmico, com posterior imersão em SBF.

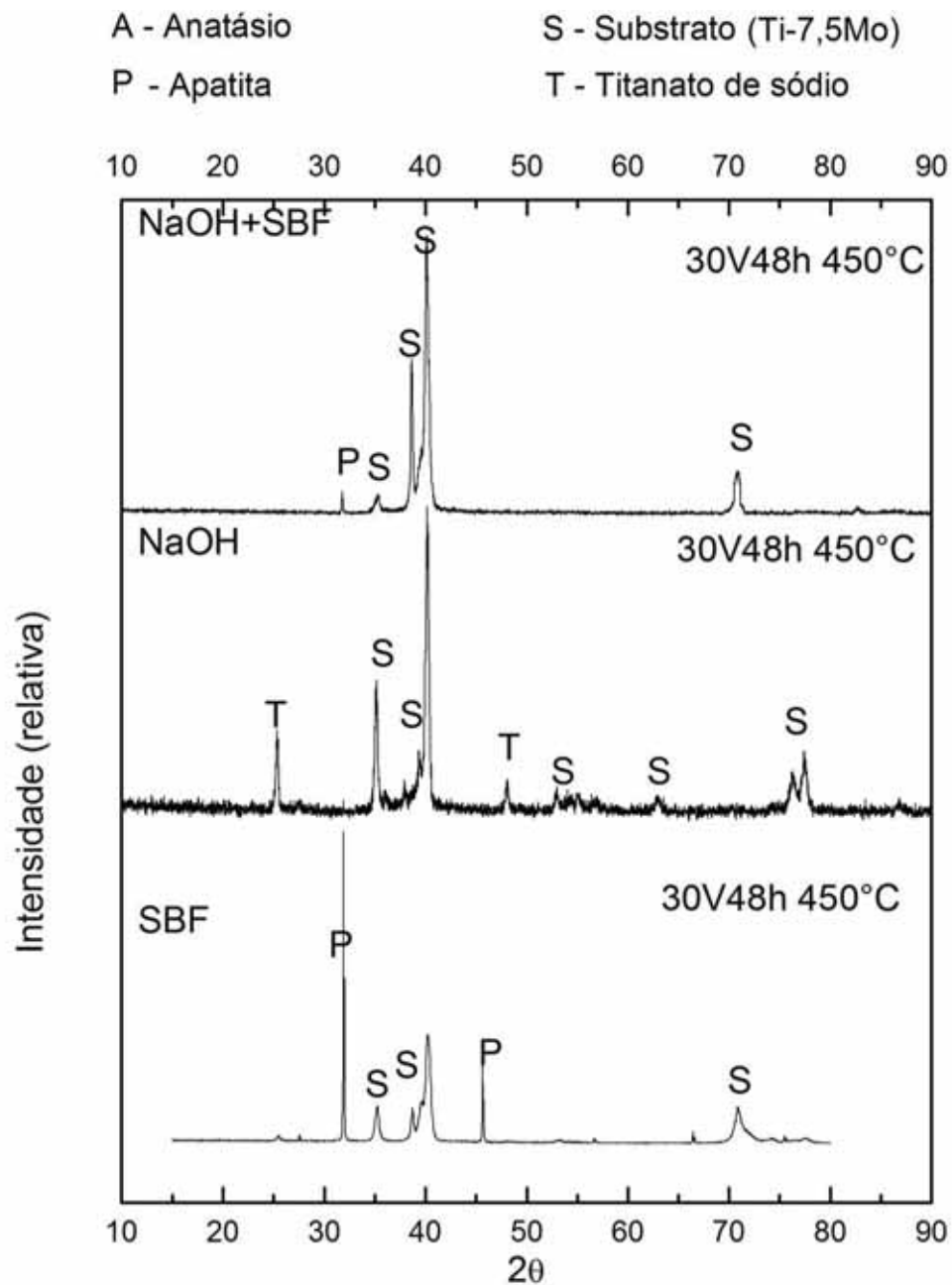


Figura 4.34 - Difratomogramas de raios-X para as amostras anodizadas a 30V e imersas em SBF, e para as amostras anodizadas a 30V por 48 horas, seguidas por tratamento alcalino e térmico com posterior imersão em SBF.

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES

O presente trabalho teve como objetivo principal avaliar o crescimento de nanotubos auto-organizados na superfície da liga Ti-7,5Mo, visando a fabricação de implantes dentários. Os resultados obtidos permitem concluir que:

- a) Pelo método da oxidação anódica foi possível a obtenção de nanotubos de TiO_2 na superfície da liga Ti-7,5Mo, utilizando glicerol e fluoreto de amônio a 0,25%.
- b) Para as amostras anodizadas a 20V foi possível verificar que o diâmetro médio dos nanotubos foi menor (80nm) que para as amostras anodizadas a 30V (120 nm), isto é, o diâmetro aumentou de acordo com o aumento da tensão aplicada.
- c) Para a temperatura de calcinação empregada (450 °C), em todos os grupos verificou-se apenas a presença de anatásio.
- d) Para todas as condições de anodização superfícies hidrofílicas foram obtidas, no entanto, a melhor condição de molhabilidade foi observada quando o tempo de anodização de 48 horas foi empregado.
- e) A melhor condição para aplicação como biomaterial foi obtida para as amostras anodizadas a 30V por 48 horas.
- f) Após o tratamento alcalino e térmico, a formação de um filme de titanato de sódio cristalino tornou a superfície super-hidrofílica.
- g) O filme de titanato de sódio, por ser bioativo, possibilitou maior incorporação de apatita quando comparado com as amostras imersas em SBF

CAPÍTULO 6

SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Baseando-se nos resultados apresentados, sugerimos para trabalhos futuros:

- A análise *in vitro* da biocompatibilidade da liga Ti-7,5Mo após oxidação anódica e tratamento alcalino.
- Adequação do método de formação de nanotubos de TiO₂ em superfícies planas para superfícies cilíndricas.
- Realização de testes *in vivo* para avaliação do desempenho da modificação da superfície no processo de osseointegração.

REFERÊNCIAS

ALBU, S. P., DOOHUN KIM, D., PATRIK SCHMUKI, P. Growth of Aligned TiO₂ Bamboo-Type Nanotubes and Highly Ordered Nanolace. **Angewandte Chemie International Edition**, v.47, n.10, p.1916-1919, fevereiro 2008

ALBU, S., GHICOV, A., ALDABERGENOVA, S., DRECHSEL, P., LECLERE, D., THOMPSON, G.E., MACAK, J.M., SCHMUKI, P. Formation of Double-Walled TiO₂ Nanotubes and Robust Anatase Membranes. **Advanced Materials**, v.20, n.21, p.4135-4139, setembro 2008

ASOH, H., NISHIO, K., NAKAO, M., TAMAMURA, T., MASUDA, H. Conditions for Fabrication of Ideally Ordered Anodic Porous Alumina Using Pretextured Al. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 148, n. 4, p. B152-B156, 2001.

ARVIDSSON, A., FRANKE-STENPORT, V., ANDERSSON, M., KJELLIN, P., SUL, Y.T., WENNWEBERG, A. Formation of calcium phosphates on titanium implants with four different bioactive surface preparations. An in vitro study. **Journal of Materials Science: Materials Medicine**, Holanda, v.18, n.10, p.1945-1954, out.2007

BACAKOVA, L., GRAUSOVA, L., VACIK, J., FRACZEK, A., BLAZEWICZ, S., KROMKA, A. Improved adhesion and growth of human osteoblast-like MG 63 cells on biomaterials modified with carbon nanoparticles. **Diamond Related Materials** v.16, n.12, p.2133–2140, 2007.

BALASUNDARAM, G., WEBSTER, T.J. A perspective on nanophase materials for orthopedic implant applications. **Journal of Materials Chemistry**, v.16, p. 3737-3745, 2006.

BARRERE, F., VAN BLITTERSWIJK, C.A., DE GROOT, K., LAYROLLE, P. Influence of ionic strength and carbonate on the Ca-P coating formation from SBFx5 solution. **Biomaterials**, Bruxelas, v. 23, n. 9, p. 1921-1930, maio.2002.

BAUER, S., KLEBER, S., SCHMUKI, P. TiO₂ nanotubes: Tailoring the geometry in H₃PO₄/HF electrolytes. **Electrochemistry Communications**, v.8, n.8, p.1321-1325, 2006.

BAUER, S., PITTROF, A., TSUCHIYA, H., SCHMUKI P. Size-effects in TiO₂ nanotubes: Diameter dependent anatase/rutile stabilization. **Electrochemistry Communications** v.13, n.6, p.538-541, 2011.

BERGER, S., TSUCHIA, H., SCHMUKI, P. Transition from Nanopores to Nanotubes: Self-Ordered Anodic Oxide Structures on Titanium-Aluminides. **Chemical Materials** v.20, p.2345-2347, 2008.

BORNSTEIN, M.M., LUSSI, A., SCHMID, B., BELSER, U.C., BUSER, D. Early Loading of Nonsubmerged Titanium Implants with a Sandblasted and Acid-Etched (SLA) Surface: 3-year Results of a Prospective Study in P. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v.18, n.5, p.659-666, 2003.

BRÄNEMARK, P.I., ZARB, G.A., ALBREKTSSON, T. **Tissue integrated prostheses. Osseointegration in clinical dentistry**, Quintessence Publ. Co. Inc. 1985.

BRUNETTE, D. M., TENGVALL, P., TEXTOR, M., THOMSEN, P. **Titanium in Medicine**, p. 171, Springer 2001.

CHANG, C.H., LEE, H.C., CHEN, C.C., WU, Y.H., HSU, Y.M., CHANG, Y.P, YANG, T.I., FANG, H.W. A novel rotating electrochemically anodizing process to fabricate titanium oxide surface nanostructures enhancing the bioactivity of osteoblastic cells. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v.100A, n.7, p.1687-1695, 2012.

DEMETRESCU, I., PIRVU, C., MITRAN, V. Effect of nano-topographical features of Ti/TiO₂ electrode surface on cell response and electrochemical stability in artificial saliva. **Bioelectrochemistry**, v.79, p.122-129, 2010.

DOROZHUKIN, S.V., EPPLE, M. Biological and medical significance of calcium phosphates. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v.41, n.17, p.3130-3146, ago.2002.

DUAN, K., WANG, R. Surface modification of bone implants through wet chemistry. **Journal of Materials Chemistry**, v. 16, n.24, p.2309-2321, 2006.

EISENBARTH, E.; VELTEN, D.; MULLER, M.; THULL, R.; BREME, J. Biocompatibility of beta-stabilizing elements of titanium alloys. **Biomaterials**, v.25, n. 26, p.5705-5713, 2004.

ELIAS, C.N., LIMA, J.H.C., VALIEV, R., MEYERS, M.A. Biomedical applications of titanium and its alloys. **Biological Materials Science JOM**, v.60, n.3, p.46-49, mar.2008.

GEETHA, M., SINGH, A.K., ASOKAMANI, R., GOGIA, A.K. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. **Progress in Materials Science**, v. 54, n.3, p. 397 - 425, maio. 2009

GHICOV, A., SCHMUKI, P. Self-ordering electrochemistry: a review on growth and functionality of TiO₂ nanotubes and other self-aligned MO_x structures. **The Royal Society of Chemistry**, p.2791-2808, 2009.

HENCH, L.L., WILSON, J. Bioactive Glasses. **An Introduction to Bioceramics**, World Scientific, Singapore, Cap.3, p. 41–62, 1993.

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

HRUSKA, A.R., BORELLI, P. Quality criteria for pure titanium casting, laboratory soldering, intraoral welding, and a device to aid in making uncontaminated castings. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v.66, n.4, p.561-565, 1999.

JAROENWORALUCK, A., REGONINI, D., BOWEN, C. R., STEVENS, R., ALLSOPP, D. Macro, micro and nanostructure of TiO₂ anodised films prepared in a fluorine-containing electrolyte, **Journal of Materials Science**, v.42, p.6729–6734, 2007.

JAROENWORALUCK, A., REGONINI, D., BOWEN, C. R., STEVENS, R. A microscopy study of the effect of heat treatment on the structure and properties of anodised TiO₂ nanotubes. **Applied Surface Science**, v.256, p.2672-2679, 2010.

KIM, H.M., MIYAJI, F., KOKUBO, T., NAKAMURA, T., Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surfaces. **Journal of Biomedical Materials Research**, Cleveland, v. 32, n.3, p.409-417, nov.1996.

KOIKE, M., ZHUO CAI, Z., YUTAKA ODA, Y., MASAYUKI HATTORI, M., HIROYUKI FUJII, H., OKABE, T. Corrosion behavior of cast Ti-6Al-4V alloyed with Cu. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials** v.73B, n.2, p.368-374, maio 2005.

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

KOKUBO, T., KIM, H.M., KAWASHITA, M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. **Biomaterials**, Bruxelas, v.24, n.13, p.2161-2175, jun. 2003.

LEE, B.H., KIM, Y.D., SHIN, J.H., LEE, K.H. Surface modification by alkali and heat treatments in titanium alloys. **Journal of Biomedical Material Research Part A**, Cleveland, v.61, n.3 p.466- 473, set. 2002.

LEE, B.H., KIM, Y., LEE, K.H. XPS study of bioactive graded layer in Ti-In-Nb-Ta alloy prepared by alkali and heat treatments. **Biomaterials**, Bruxelas, v.24, n.1, p.2257-2266, jun. 2003.

LEE, B.H., KIM, J.K., KIM, Y.D., SHOI, K., LEE, K.H. *In vivo* behavior and mechanical stability of surface-modified titanium implants by plasma spray coating and chemical treatments, **Journal of Biomedical Material Research Part A**, Cleveland, v.69A, n.2, p.279-285 , maio. 2004

LEE, S-H., KIM, H-W., LEE, E-J., LI, L-H., KIM, H-E. Hydroxyapatite-TiO₂ Hybrid Coating on Ti Implants. **Journal of Biomaterials Applications**, v.20, p.195-208, 2006.

LEE, B.H., LEE, C., KIM, D.G., CHOI, K., LEE, K.H., KIM, Y. Effect of surface structure on biomechanical properties and osseointegration. **Materials Science and Engineering: C**, Nova York, v.28, n.8, p. 1448-1461 , dez. 2008

LEGEROS, R.Z. Properties of Osteoconductive Biomaterials: Calcium Phosphates. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, Philadelphia, n.395, p.81-98, fevereiro 2002.

LI, G., LIU, Z.Q., LU, J., WANG, L., ZHANG, Z. Effect of calcination temperature on the morphology and surface properties of TiO₂ nanotube arrays. **Applied Surface Science**, v.255, n. 16, p.7323-7328, maio 2009.

LIM, Y.J., OSHIDA, Y., ANDRES, C.J., BARCO, M.T. Surface characterizations of variously treated titanium materials. **International Journal of Oral Maxillofacial Implants**, v.16, n.3, p.333-342, maio-junho 2001.

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, dez. 2004.

LOCKMAN, Z., SREEKANTAN, S., ISMAIL, S., MENDE, L.S., MACMANUS-DRISCOLL, J.L. Influence of anodisation voltage on the dimension of titania nanotubes. **Journal of Alloys and Compounds**, v.503, p.359-364, 2010.

MACAK, J.M., ALBU, S.P., SCHMUKI, P. TiO₂ nanotubes: Self-organized electrochemical formation, properties and applications **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v.11 , p.3-18, 2007.

MACAK J M, HILDEBRAND H, MARTEN-JAHNS U AND SCHMUKI P. Mechanistic aspects and growth of large diameter self-organized TiO₂ nanotubes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 621, n. 2, p. 254-266, set.2008.

MINAGAR, S., BERNDT, C.C., WANG, J., IVANOVA, E., WEN, C. A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces. **Acta Biomaterialia**, v.8, n.8, p.2875-2888, agosto 2012.

MOR, G.K., VARGHESE, O. K., PAULOSE, M., SHANKAR, K., GRIMES, C. A. A review on highly ordered, vertically oriented TiO₂ nanotube arrays: Fabrication, material properties, and solar energy applications. **Solar Energy Materials & Solar Cells**, v.90, n.14, p.2011-2075, 2006

MULLER, L., MULLER, F.A., Preparation of SBF with different HCO₃⁻ content and its influence on the composition of biomimetic apatites. **Acta Biomaterialia**, Oxford , v. 54, n. 1, p.181-189, janeiro 2006.

MUSCAT, J., SWAMY, V., HARRISON N.M., First-principles calculations of the phase stability of TiO₂. **Physical Review B**, v.65, n. 22, p.224112-224121

NARAYANAN, R., KWON, T.B., KIM, K.H. Anodic TiO₂ from stirred Na₂SO₄/NaF electrolytes: Effect of applied voltage and stirring. **Materials Letters**, v.63, n.23, p. 2003-2006, set. 2009 (a).

NARAYANAN, R., KWON, T.B., KIM, K.H. TiO₂ nanotubes from stirred glycerol/NH₄F electrolyte: Roughness, wetting behavior and adhesion for implant applications. **Materials Chemistry and Physics**, v.117, p.460 - 464, 2009 (b).

NARAYANAN, R., LEE, H.J., KWON, T.B., KIM, K.H. Anodic TiO₂ nanotubes from stirred baths: hydroxyapatite growth & osteoblast responses. **Materials Chemistry and Physics**, v.125, p.510 - 517, 2011.

NISHIGUCHI, S., NAKAMURA, T., KOBAYASHI, M., KIM, H.M., MIYAJI, F., KOKUBO, T. The effect of heat treatment on bone-bonding ability of alkali-treated titanium, **Biomaterials**, Bruxelles, v. 20, n.5, p.491-500, mar.1999.

OH, S.H., FINÕNES, R.R., DARAIO, C., CHEN, L.H., JIN, S. Growth of nano-scale hydroxyapatite using chemically treated titanium oxide nanotubes. **Biomaterials**, Bruxelles, v.26, n.24, p. 4938-4943, agosto 2005.

OH, H.A., LEE, J.H., JEONG, Y., KIM, Y.J., CHI, C.S. Microstructural characterization of biomedical titanium oxide film fabricated by electrochemical method. **Surface and Coatings Technology**, v.198, n.1-3, p.247-252, agosto 2005.

OH, S.H., JIN, S. Titanium oxide nanotubes with controlled morphology for enhanced bone growth. **Materials Science and Engineering C**, v.26, p.1301 – 1306, 2006.

REGONINI, D., JAROENWORALUCK, A., STEVENS, R., BOWEN, C.R. Effect of heat treatment on the properties and structure of TiO₂ nanotubes: phase compositions. **Surface and Interface Analysis**, v.42, pp.139-144, 2010.

REGONINI, D., SATKA, A., JAROENWORALUCK, A., ALLSOPP, D.W.E., BOWEN, C.R., STEVENS, R. Factors influencing surface morphology of anodized TiO₂ nanotubes. **Electrochimica Acta**, v.74, pp. 244-253, 2012.

ROY, P., BERGER, S., SCHMUKI, P. TiO₂ Nanotubes: Synthesis and Applications. **Angewandte Chemie International Edition**, v.50, pp. 2904 - 2939, 2011.

SCHARNWEBER, D., BEUTNER, R., RÖßLER, S. *et al.* Electrochemical behavior of titanium-based materials – are there relations to biocompatibility?”, **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 13, pp. 1215-1220, 2002.

SOBIESZCZYK, S. Surface modification of Ti and its alloys. **Advances in Materials Science**, v.10, n.1, p.29-42, 2010.

SPRIANO, S., BOSETTI, M., BRONZONI, M., VERNE, E., MAINA, G., BERGO, CANNAS, M. Surface properties and cell response of low metal ion release Ti-6Al-7Nb alloy after multi-step chemical and thermal treatments. **Biomaterials**, Bruxelles, v. 26, n. 11, p.1219-1229, 2005.

SUL, Y. T., JOHANSSON, C. B., JEONG, Y., ALBREKTSSON, T. The electrochemical oxide growth behavior on titanium in acid and alkaline electrolytes. **Medical Engineering & Physics**, v. 23, n.5, p.329-346, jun. 2001.

TANG H, PRASAD K, SANJINÈS R, SCHMID PE, LÉVY F. Electrical and optical properties of TiO₂ anatase thin films. **Journal of Applied Physics**, , v.75, n.4, p.2042-2047, 1994.

TAVEIRA LV, MACAK JM, TSUCHIYA H, DICK LFP, SCHMUKI P. Initiation and Growth of Self-Organized TiO₂ Nanotubes Anodically Formed in NH₄F(NH₄)₂SO₄ Electrolytes. **Journal of Electrochemical Society** v.152, n.10 p.B405-B410, 2005.

TUNG, M.S. Calcium Phosphate in Biological and Industrial System, **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, MA, 1998.

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.

VARGHESE, K.O., GONG, D., PAULOSE, M., ONG, K.G., DICKEY, E.C., GRIMES, A.C. Extreme changes in the electrical resistance of titania nanotubes with hydrogen exposure. **Advanced Materials**, v.15, n.7-8, p.624-627, abril. 2003.

VARIOLA, F., YI, J.H., RICHERT, L., WUEST, J.D., ROSEI, F., NANJI, A. Tailoring the surface properties of Ti6Al4V by controlled chemical oxidation. **Biomaterials**, Bruxelas, v. 29, n. 10, p.1285-1298, jun. 2008.

VELTEN, D., BIEHL, V., AUBERTIN, F. VALESKE, B., POSSART, W., BREME, Preparation of TiO₂ layers on cp-Ti and Ti6Al4V by thermal and anodic oxidation and by sol-gel coating techniques and their characterization. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 59, n.1, p. 18-28, jan. 2002.

XIAO, X.F., LIU, R.F., TIAN, T. Preparation of bioactive titania nanotube arrays in HF/Na₂HPO₄ electrolyte. **Journal of Alloys and Compounds**, v.466, n.xx, p.356–362, 2008.

XIE, Z.B., BLACKWOOD, D.J. Effects of anodization parameters on the formation of titania nanotubes in ethylene glycol. **Electrochimica Acta**, v.56, p.905–912, 2010.

YANG, Y., WANG, X.H, LI, L.T. Synthesis and photovoltaic application of high aspect-ratio TiO₂ nanotube arrays by anodization. **Journal of the American ceramic Society**, v.91, n.9, p. 632-635, julho 2008.

YU, J., WANG, B. Effect of calcination temperature on morphology and photoelectrochemical properties of anodized titanium dioxide nanotube arrays. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 94, p. 295-302, 2010.

WATANABE, I., MCBRIDE, M., NEWTON, P., KURTZ, K.S. Laser surface treatment to improve mechanical properties of cast titanium. **Dental materials**, v.25, n.5, p.629-633, 2009.