

UNESP
Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá

Guaratinguetá
2015

MAURÍCIO RANGEL SEIXAS

**DESENVOLVIMENTO DE UMA NOVA LIGA QUATERNÁRIA
Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn PARA APLICAÇÕES ODONTOLÓGICAS**

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

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Rosifini Alves Claro

GUARATINGUETÁ
2015

MAURICIO RANGEL DE SEIXAS

**ESTA TESE FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
“DOUTOR EM CIÊNCIAS”**

**PROGRAMA: ENGENHARIA MECÂNICA
ÁREA: MATERIAIS**

APROVADA EM SUA FORMA FINAL PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO


Prof. Dr. Edson Cocchieri Botelho
Coordenador

BANCA EXAMINADORA:


Prof. Dr. ANA PAULA ROSIFINI ALVES CLARO
Orientador / UNESP/FEG


Prof. Dr. MARCELO DOS SANTOS PEREIRA
UNESP/FEG


Prof. Dr. ROBERTO ZENHEI NAKAZATO
UNESP/FEG


Prof. Dr. ESTEVÃO TOMOMITSU KIMPARA
UNESP/SÃO JOSÉ DOS CAMPOS


Prof.ª Dr.ª CRISTIANE APARECIDA ASSIS CLARO
UNITAU

Junho de 2015

DADOS CURRICULARES

MAURÍCIO RANGEL SEIXAS

NASCIMENTO 05.02.1975 – Guaratinguetá / SP

FILIAÇÃO Ignácio Duarte Seixas
Rita Rangel Seixas

1996/1999 Curso de Graduação em Odontologia
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

2008/2010 Curso de Especialização em Ortodontia
Associação Paulista de Cirurgião-Dentista – APCD/SJC

2009/2011 Curso de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica,
Nível de Mestrado, na Faculdade de Engenharia
do Campus de Guaratinguetá da Universidade Estadual
Paulista/ UNESP

2011/2015 Curso de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica,
Nível de Doutorado, na Faculdade de Engenharia
do Campus de Guaratinguetá da Universidade Estadual
Paulista/ UNESP

DEDICATÓRIA

Esta tese é dedicada a fluidez do tempo, mestre de tudo !

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, e a Nossa Senhora de Aparecida pela realização deste trabalho.

Aos meus pais pelo apoio e compreensão em muitos momentos.

A minha família, amigos, e todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para que meu trabalho fosse possível de ser realizado.

Ao Departamento de Materiais e Tecnologia da Engenharia Mecânica da FEG – UNESP, pela atenção dedicada, tornando possível a realização dessa tese de Doutorado.

Especialmente à minha orientadora Prof^a Dr^a Ana Paula Rosifini Alves Claro, pela amizade, carinho, paciência e dedicação.

Aos professores Dr. Roberto Zenhei Nakazato, Dr. Marcelo dos Santos Pereira, pelo incentivo e pela participação no exame de qualificação e arguição.

Ao Prof. Dr. Ketul Popat (Colorado State University) pela atenção e disponibilização do laboratório de cultura de células, colaborando na realização deste estudo.

Ao Prof. Dr. Diego Mantovani (Université Laval) pela atenção e disponibilização dos laboratórios, colaborando na realização deste estudo.

Ao Prof. Dr. Paulo Suzuki do DEMAR/USP pelo laboratório de difração de Raios X.

Ao Prof. Dr. Roberto Zenhei Nakazato e a técnica em química Conceição Aparecida Matsumoto Dutra; pela atenção, disponibilidade e utilização dos laboratórios de química.

Ao aluno Javier Munhoz Chaves pela realização das análises na Universidade de São Carlos (UFScar).

A aluna Carolina Martinelli pela ajuda durante as realizações das análises de cultura de células.

Aos professores e técnicos do Laboratório de Materiais e Tecnologia da FEG/UNESP, pela dedicação e cooperação nos trabalhos.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da FEG/UNESP, Regina Célia Galvão Faria Alves, Maria Cristina Silva de Oliva, Renata Pereira da Rocha Barbosa e Rodrigo José Nunes pela atenção no atendimento.

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

Aos meus amigos Celso Bortolini Júnior, Reginaldo Toshihiro Konatu, Marisa Aparecida de Sousa, Ana Lúcia do Amaral Escada, João Pedro Aquiles Carobolante, Adelvam Pereira dos Santos Junior, André Rangel, Cristiane Mayumi; pelo apoio, dedicação, colabora
E especialmente a minha mãe Rita Rangel Seixas, por suas constantes orações.

" O tempo não se ocupa em realizar as nossas esperanças: faz o seu trabalho e voa. "

(Eurípedes)

SEIXAS, M. R. **Desenvolvimento de uma nova Liga Quaternária Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn para Aplicações Odontológicas**. 2015 Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Faculdade de Engenharia, Campus de Guaratinguetá, São Paulo, Guaratinguetá, 2015.

RESUMO

Materiais biometálicos são usados para aplicações biomédicas, como cardiovasculares, ortopédicas e odontológicas, devido as suas propriedades, como biocompatibilidade e adequadas propriedades mecânicas, como resistência à corrosão em ambiente corpóreo. E pela combinação de resistência ao desgaste e baixo módulo de elasticidade. Entretanto, apesar da sua excelente resistência a corrosão estes materiais podem ser corroídos quando expostos em ambiente oral. A liberação de íons metálicos pode produzir toxicidade indesejável, principalmente em ligas contendo níquel como NiTi. Nesse estudo, uma nova liga quaternária contendo elementos não citotóxicos Ti, Ta, Nb e Sn, foi processada e avaliada. As ligas foram processadas em forno de arco voltáico em atmosfera de argônio, a partir de chapas dos elementos comercialmente puros. Os lingotes foram fundidos, refundidos por pelo menos dez vezes e homogeneizados (1000 ° C para 86,4 ks) para eliminar a segregação, após trabalho a frio em prensa rotativa. As fases foram avaliadas por análises de XDR (Difração de raios X). Teste de microdureza e de tração foram realizado para avaliar as propriedades mecânicas. Comportamento de corrosão foi investigado em solução de fluoreto em polarização eletroquímica. Módulo de elasticidade e citotoxicidade da nova liga também foram avaliados. Neste estudo, para a liga quaternário Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn a estabilização da fase beta foi mantida. O módulo de elasticidade de Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn (65GPa) foi menor do que do titânio (105 GPa) e Ti6Al4V (110 GPa), sendo ligeiramente maior do que Ti₂₅Ta₂₅Nb liga (55GPa). A adição de Sn inibiu o duplo escoamento verificado na liga ternária Ti₂₅Ta₂₅Nb. Estudos eletroquímicos mostraram que o filme de óxido passivo formado ficou estável sobre a superfície da liga Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn e a não-toxicidade foi observada após ensaios MTT (Metiltiazol tetrazólio) - Sigma. Os resultados obtidos mostraram que a liga Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn é indicada para aplicações biomédicas.

Palavras-chave: ligas de titânio; biomateriais; propriedades mecânicas; resistência à corrosão

SEIXAS, M.R. **Development of new quaternary alloy Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn for Dental Applications**. 2015 Thesis (Doutorado em Engenharia Mecânica), Faculdade de Engenharia, Campus de Guaratinguetá, São Paulo, Guaratinguetá, 2015.

ABSTRACT

Metallic biomaterials have been used for biomedical applications, such as cardiovascular, orthopaedics and orthodontics, due to properties. However, although their corrosion resistance these materials can be corrode when exposed oral environment. Metals ion release can produce undesirable toxicity, principally in alloys containing Ni, as NiTi. In this study, a new quaternary alloys with non-cytotoxic elements Ti, Ta, Nb and Sn was processed and evaluated. Alloys were processing in arc melting furnace with argon atmosphere from sheets of commercially pure elements. Ingots will be melted and re-melted ten times at least and homogenized (1000°C for 86.4 ks) for eliminated segregation chemical after cold-worked by swaging. Phases were evaluated by XRD (X-ray diffraction) analysis. Microhardness and tension test was carried out to evaluate mechanical properties. Corrosion behaviors was investigated in fluoride solution by electrochemical polarization. Young's modulus and cytotoxicity of the new alloy were also evaluated. In our study, for quaternary alloy Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn the stabilization of beta phase was maintained. It was observed that the elastic modulus of Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn (65GPa) was lower than CP Ti (105 GPa) and Ti6Al4V (110 GPa) and slightly higher than Ti₂₅Ta₂₅Nb (55GPa) alloy. The addition of Sn suppressed the double yielding verified on ternary alloy Ti₂₅Ta₂₅Nb. Electrochemical studies showed that stable passive oxide film was formed on the Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn surface and non-toxicity was observed after MTT assays. Results obtained showed that Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn alloy is indicated for biomedical applications.

Key-words: titanium alloys; biomaterials; mechanical properties; corrosion resistance

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	(a) Dispositivo cirúrgico de aço inoxidável, (b) Prótese coxo-femural feita de aço inoxidável ou ligas à base de titânio.....	18
FIGURA 2	(a) Aparelho ortodôntico utilizando fios de NiTi; (b) Stent vascular; (c) clip para aneurisma de NiTi	19
FIGURA 3	Principais aplicações das ligas com efeito memória de forma....	22
FIGURA 4	Componentes de aparelhos ortodôntico.....	23
FIGURA 5	Transformação de fase das ligas memória de forma.....	24
FIGURA 6	Diagrama tensão/deformação para diferentes materiais.....	25
FIGURA 7	Diagrama de fase pseudo-binário do titânio e estabilizador beta..	28
FIGURA 8	Curva tensão x deformação da liga ternária Ti ₂₅ Ta ₂₅ Nb.....	30
FIGURA 9	Esquema do processo de degradação do titânio e liberação de íons.....	33
FIGURA 10	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de células HDF após 1 e 3 dias de cultura.....	35
FIGURA 11	Microscopia de fluorescência de células HDF após 1 e 3 dias de cultura.....	37
FIGURA 12	Fluxograma da metodologia empregada para desenvolvimento da liga.....	39
FIGURA 13	Sequência empregada no preparo das ligas: (a) metais depositados no cadinho de cobre antes da fusão; (b) forno a arco voltaico utilizado para obtenção dos lingotes da liga; (c) lingote após a fusão.....	40
FIGURA 14	Forno tubular resistivo empregado para o tratamento térmico das ligas.....	41
FIGURA 15	Prensa rotativa empregada para obtenção das barras da liga.....	41
FIGURA 16	Barra colocada no cadinho em forno tubular resistivo.....	42
FIGURA 17	Microscópio óptico (Epiphot 4, Nikkon) FEG/UNESP.....	43
FIGURA 18	Representação esquemática das medidas de microdureza realizadas.....	44
FIGURA 19	Corpos de prova empregados no ensaio de tração.....	45

FIGURA 20	(a) Máquina universal empregada para ensaios de tração (b) detalhe da amostra durante o ensaio.....	45
FIGURA 21	Corpo de prova utilizado.....	46
FIGURA 22	Célula utilizada nos ensaios de corrosão.....	47
FIGURA 23	Descongelamento em banho maria a 37°C.....	48
FIGURA 24	Câmara de fluxo laminar onde foram realizados os procedimentos laboratoriais na Universidade do Colorado – <i>Fort Collins – USA</i>	49
FIGURA 25	Câmara de fluxo laminar onde foi realizado o processo de desidratação.....	52
FIGURA 26	Microscopia óptica da liga quaternária Ti ₂₅ Ta ₂₅ Nb ₃ Sn / microestrutura da bruta de fusão.....	55
FIGURA 27	Microscopia óptica da liga quaternária Ti ₂₅ Ta ₂₅ Nb ₃ Sn / microestrutura após a homogeneização.....	56
FIGURA 28	Microscopia óptica da liga quaternária Ti ₂₅ Ta ₂₅ Nb ₃ Sn / microestrutura após a solubilização.....	57
FIGURA 29	Difração de raios-X das condições avaliadas.....	58
FIGURA 30	Curvas tensão-deformação obtidas para a liga quaternária Ti ₂₅ Ta ₂₅ Nb ₃ Sn.....	59
FIGURA 31	Curvas tensão/deformação obtidas para a liga ternária Ti ₂₅ Ta ₂₅ Nb e a liga quaternária Ti ₂₅ Ta ₂₅ Nb ₃ Sn.....	61
FIGURA 32	Gráfico Potencial de Circuito Aberto (OCP) liga quaternária Ti ₂₅ Ta ₂₅ Nb ₃ Sn, liga ternária Ti ₂₅ Ta ₂₅ Nb e Ti CP.....	62
FIGURA 33	Gráfico da curva de polarização para liga quaternária Ti ₂₅ Ta ₂₅ Nb ₃ Sn, liga ternária TiTa ₂₅ Nb e TiCp.....	63
FIGURA 34	Análise de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X	65
FIGURA 35	Espectro do titânio.....	66
FIGURA 36	Espectro do oxigênio.....	67
FIGURA 37	Espectro do tântalo.....	68
FIGURA 38	Espectro do nióbio.....	69
FIGURA 39	Imunofluorescência de fibroblastos semeados na superfície da liga Ti ₂₅ Ta ₂₅ Nb ₃ Sn após 1 dia de cultura.....	72

FIGURA 40	Imunofluorescência de fibroblastos semeados na superfície da liga Ti25Ta25Nb3Sn após 4 dias de cultura.....	73
FIGURA 41	Imunofluorescência de fibroblastos semeados na superfície da liga Ti25Ta25Nb3Sn após 7 dias de cultura.....	74
FIGURA 42	Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	74
FIGURA 43	Teste MTT após 1 e 7 dias de cultura de células HDF.....	75

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Valores encontrados para o titânio cp e a liga NiTi em comparação aos valores médios obtidos para a liga em estudo.....	60
TABELA 2	Medidas de microdureza das amostras em cada condição.....	61
TABELA 3	Valores dos parâmetros eletroquímicos E_{OC} , E_{corr} , J_{corr} , J_{pass} obtidos para o Ti-CP, TiTa NbSn e TiTa Nb, em solução de NaCl 0,15 mol/L + NaF 0,03 mol/L a $(37,0 \pm 0,5) ^\circ C$	64
TABELA 4	Energia de ligação (eV) para os diferentes elementos.....	75

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1	Impacto biológico: A cor vermelha indica uma preocupação séria; o amarelo indica uma preocupação moderada; a cor verde indica mínima/nenhuma preocupação.....	36
----------	---	----

SUMÁRIO

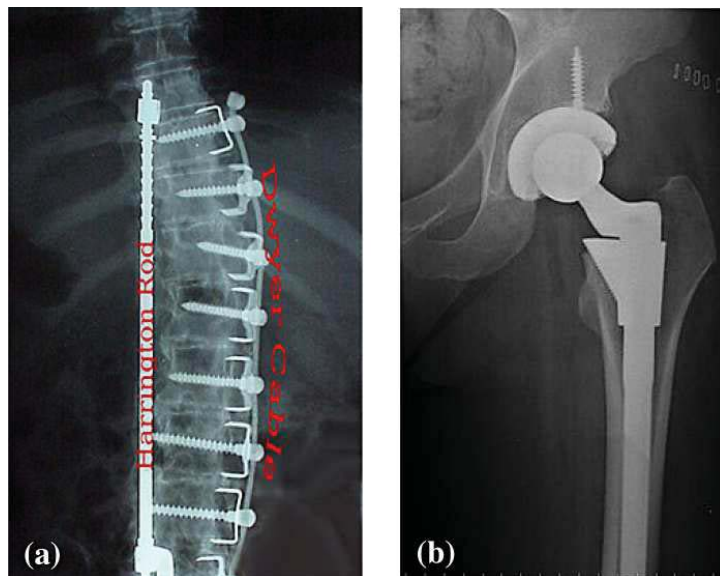
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	22
2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	22
2.2 TITÂNIO E SUAS LIGAS.....	26
2.3 AS LIGAS TERNÁRIAS.....	29
2.4 RESISTÊNCIA À CORROSÃO DO TITÂNIO E SUAS LIGAS.....	31
2.5 CITOTOXIDADE.....	34
3 MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1 PROCESSAMENTO DA LIGA.....	40
3.2 CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL.....	42
3.2.2 Análise por Difração de Raios-X.....	43
3.3 CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA.....	43
3.3.1 Ensaio de Microdureza.....	43
3.3.2 Ensaio de Tração.....	44
3.4 RESISTÊNCIA A CORROSÃO.....	46
3.5 XPS ANÁLISE.....	47
3.6 ESTUDO <i>in vitro</i> – AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE.....	48
3.6.1 Cultura de Células.....	48
3.6.2 Adesão e proliferação de células HDF.....	50
3.6.3 A viabilidade celular HDF.....	50
3.6.4 Organização do citoesqueleto de células HDF.....	51
3.6.5 Morfologia das células HDF.....	51
3.6.6 Diferenciação de HDF.....	52
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
4.1 CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL.....	54
4.2 CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA.....	59
4.3 RESISTÊNCIA À CORROSÃO.....	62
4.4 AVALIAÇÃO DA CITOTOXIDADE.....	71
5 CONCLUSÃO.....	76

6 TRABALHOS FUTUROS.....	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

1 INTRODUÇÃO

A multidisciplinaridade das pesquisas que envolvem o estudo dos biomateriais abrange diversas áreas do conhecimento como química, física, biologia, medicina e engenharia (WILLIAMS, 2009). Esses materiais como metais, cerâmicas e polímeros são definidos como biocompatíveis, podendo ser utilizados em inúmeras partes no corpo humano (KULKARNI et al., 2014), Figura 1.

Figura 1 - (a) Dispositivo cirúrgico de aço inoxidável, (b) Prótese coxo-femural feita de aço inoxidável ou ligas à base de titânio.



Fonte: Adaptado de Chem e Thouas, 2015

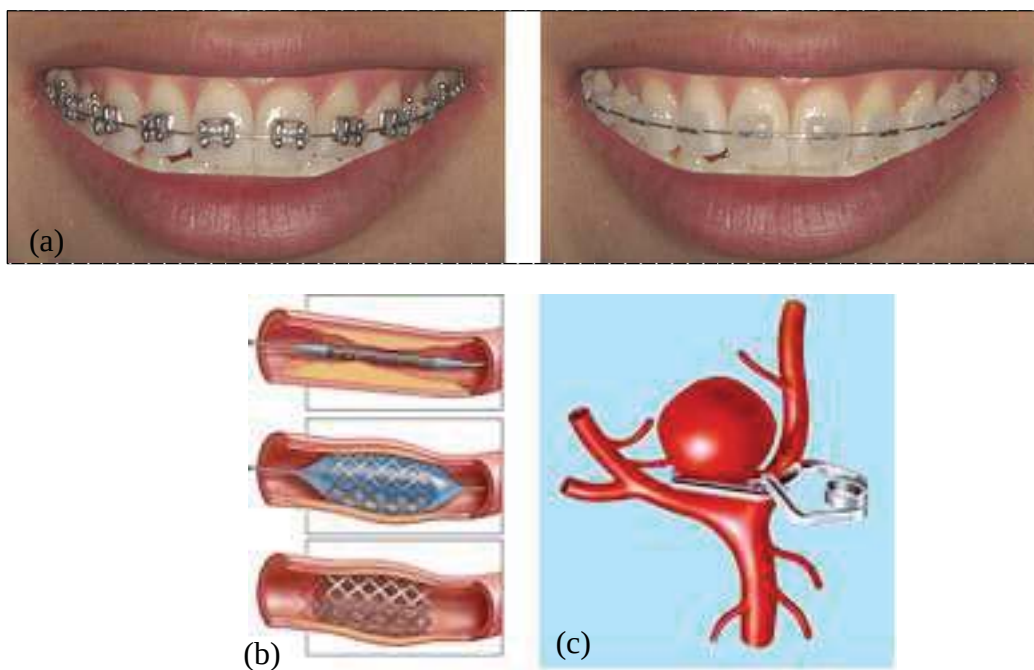
De acordo com Williams (2008), “biocompatibilidade se refere a habilidade de um material desempenhar a função desejada no que diz respeito a uma terapia médica, sem provocar quaisquer efeitos locais ou sistêmicos indesejáveis no hospedeiro da terapia, mas gerando a melhor resposta celular ou tecidual benéfica naquela situação específica, e otimizando a atuação clínica relevante da terapia”.

O uso de materiais metálicos para implantes médicos data do século XIX com a expansão da indústria metalúrgica durante a Revolução Industrial (CHEM e THOUAS, 2015).

Metais e ligas para aplicações biomédicas requerem uma combinação de diferentes propriedades, tais como, excelente biocompatibilidade e adequadas propriedades mecânicas, excelente combinação de resistência ao desgaste e baixo módulo de elasticidade, além de resistência à corrosão em ambiente corpóreo (GEETHA et al., 2009; WILLIAMS, 2009; BERTRAND et al., 2010).

Titânio e suas ligas possuem bastante destaque na área devido a sua resistência aos efeitos dos fluidos corporais, excelente resistência à tração, flexibilidade e elevada resistência à corrosão (AL-ZAIM et al., 2010; SUI et al., 2007; KANEKO et al., 2004; TARNITÃ et al., 2009). Desde a descoberta das propriedades únicas de memória de forma e superelasticidade, especialmente das ligas de NiTi, desenvolvidas por William Buehler nos anos 60 (BAUMANN, 2004), este biomaterial tem sido muito utilizado em uma variedade de aplicações biomédicas, como na confecção de aparelhos ortodônticos, stents e clips (BIESIEKIERSKI et al., 2012; TAKAHASHI et al., 2002; LIU et al., 2007; ROY et al., 2009; GERKE et al., 2009) (Figura 2).

Figura 2 – (a) Aparelho ortodôntico utilizando fios de NiTi; (b) Stent vascular; (c) clip para aneurisma de NiTi



Fonte: (a) Adaptado de Rosvall et al., 2009; (b) e (c) Chem e Thouas, 2015

No entanto, casos de alergia e hipersensibilidade ao níquel, quando em contato com o corpo humano, têm sido relatados (EL MEDAWAR et al., 2002; ELIADES et al., 2004; AL-ZAIN et al., 2010) bem como o seu potencial cancerígeno para os seres humanos (LI et al., 2010). Devido a citotoxicidade do níquel, novas ligas a base de titânio “Ni-free” são desenvolvidas para aumentar o grau de segurança dos materiais empregados nas diversas áreas biomédicas (AL-ZAIN et al., 2010 ; ARCINIEGAS et al., 2013).

Dessa forma ligas de titânio com elementos beta estabilizadores como nióbio, tântalo e zircônio são potenciais materiais biomédicos por exibirem propriedades como baixo módulo de elasticidade, memória de forma (NIINOMI et al. 2003; BANERJEE et al., 2005; HAO et al., 2007; TONG et al., 2011) e biocompatibilidade (LI et al., 2010). Dentre estas ligas, as binárias TiTa atraíram grande interesse devido a sua boa combinação de elevada resistência mecânica e baixo módulo de elasticidade (TONG et al., 2011). Da mesma forma, mereceram atenção as ligas binárias TiNb, que apresentaram menor citotoxicidade quando comparadas ao NiTi, devido a maior resistência a corrosão e consequentemente menor liberação de íons (MCMAHON et al., 2012).

Estudos realizados por Miura et al. (2011) avaliaram a citotoxicidade da liga Ti25Nb11Sn, a qual exibe baixo módulo de elasticidade (40GPa) e elevada resistência mecânica. A liga apresentou citotoxicidade equivalente ao Ti6Al4V e titânio comercialmente puro.

A influência da presença dos elementos nióbio e estanho na resistência à corrosão em ligas a base de titânio, Ti16Nb5Sn e Ti18Nb4Sn, foi avaliada por Rosalbino et al. (2012). Os resultados mostraram que a resistência a passivação desses materiais aumenta com o tempo de exposição tornando o seu uso indicado para aplicações biomédicas.

Esse comportamento em meios corrosivos também foi verificado por Bertrand et al. (2010) para a liga ternária Ti25Ta25Nb. Dessa forma, se verifica que a adição de tântalo e nióbio influenciam positivamente o comportamento da liga (BERTRAND et al., 2010; DUTKIEWIEZ et al., 2005).

O presente trabalho tem como objeto principal o desenvolvimento de uma liga quaternária Ti25Ta25Nb3Sn por meio da adição de estanho para aplicação na área biomédica, com destaque na área odontológica mais especificamente na utilização como implantes e fios ortodônticos.

Para alcançar este objetivo foram traçados as seguintes metas :

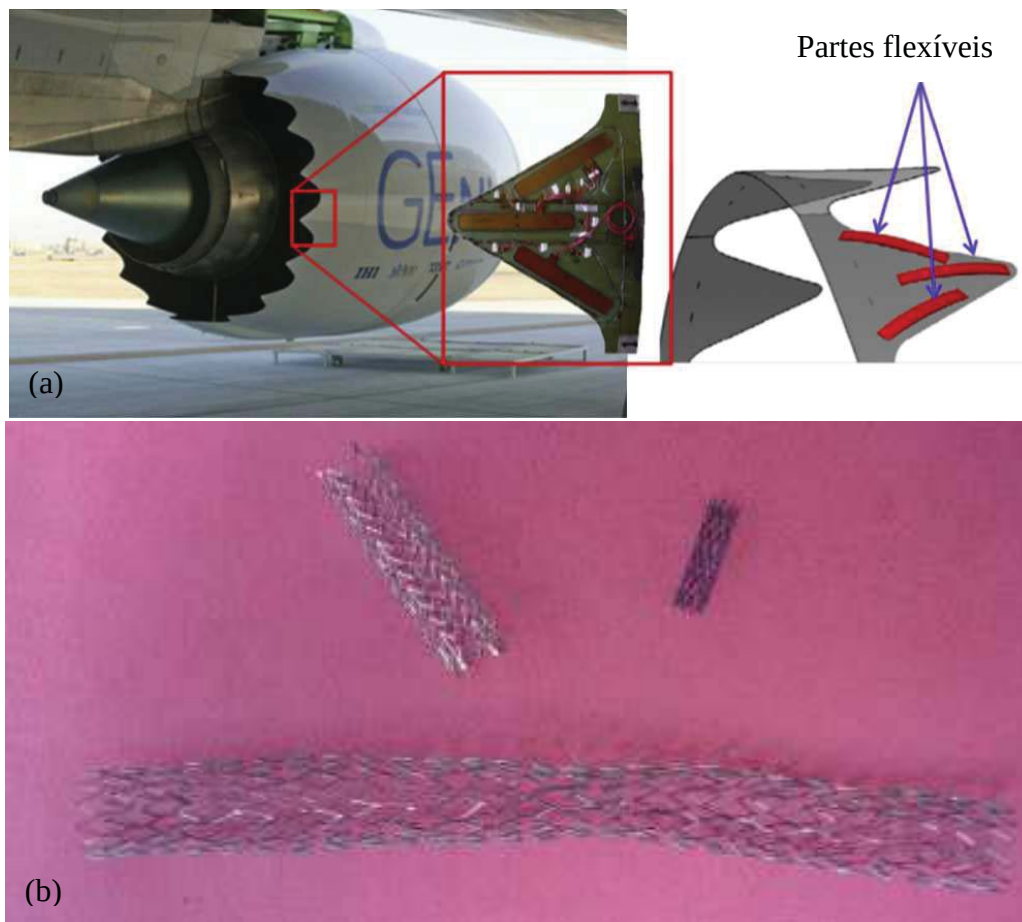
1. Processamento da Liga
2. Caracterização Microestrutural
3. Caracterização Mecânica
4. Ensaio de Corrosão
5. Citotoxicidade (estudo *in vitro*)

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

As ligas a base de titânio são amplamente utilizadas em diversos setores da indústria biomédica e aeroespacial, com destaque destacando para as ligas níquel-titânio com efeito memória de forma empregadas na indústria biomédica e aeroespacial, na construção de aviões (Figura 3a) e na confecção de componentes de válvulas cardíacas (Figura 3b) (KAYNAK et al., 2014).

Figura 3 - Principais aplicações das ligas com efeito memória de forma.



Fonte: Adaptado de Jani et al., 2014, Adaptado de Petrini e Migliavaca, 2011

Essas ligas revolucionaram vários setores da indústria, se destacando na área biomédica por apresentar baixo custo, quando comparada as demais ligas com memória de forma (REIS e ELIAS, 2001). O surgimento das ligas níquel-titânio ocorreu na década de 1960 quando o pesquisador americano Willian Buehler no laboratório de Armamentos Navais da Marinha Americana (Naval Ordinance Laboratory), desenvolveu uma liga composta por 55%at de níquel e 45%at de titânio, a qual foi denominada “NITINOL”, referenciando neste acrônimo as iniciais dos elementos níquel (Ni), titânio (Ti) e Naval Ordinance Laboratory (NOL). (BAUMANN, 2004; PÉRTILE 2005).

Posteriormente em 1975 novas técnicas foram inseridas na odontologia por Andreasen para o tratamento ortodôntico a partir da introdução de fios de NiTi o que resultou em grandes ativações com o uso de cargas menores e constantes (MANTOVANI, 2000; GHERSEL, 2005). Quando introduzidas no meio bucal as forças liberadas por estes fios são suaves e constantes, melhorando assim o efeito sobre o ligamento periodontal (WALKER et al., 2005). Algumas utilizações desta liga em ortodontia são apresentadas na Figura 4, sendo atualmente usadas na fabricação de diversos componentes de aparelhos ortodônticos

Figura 4 - Componentes de aparelhos ortodôntico



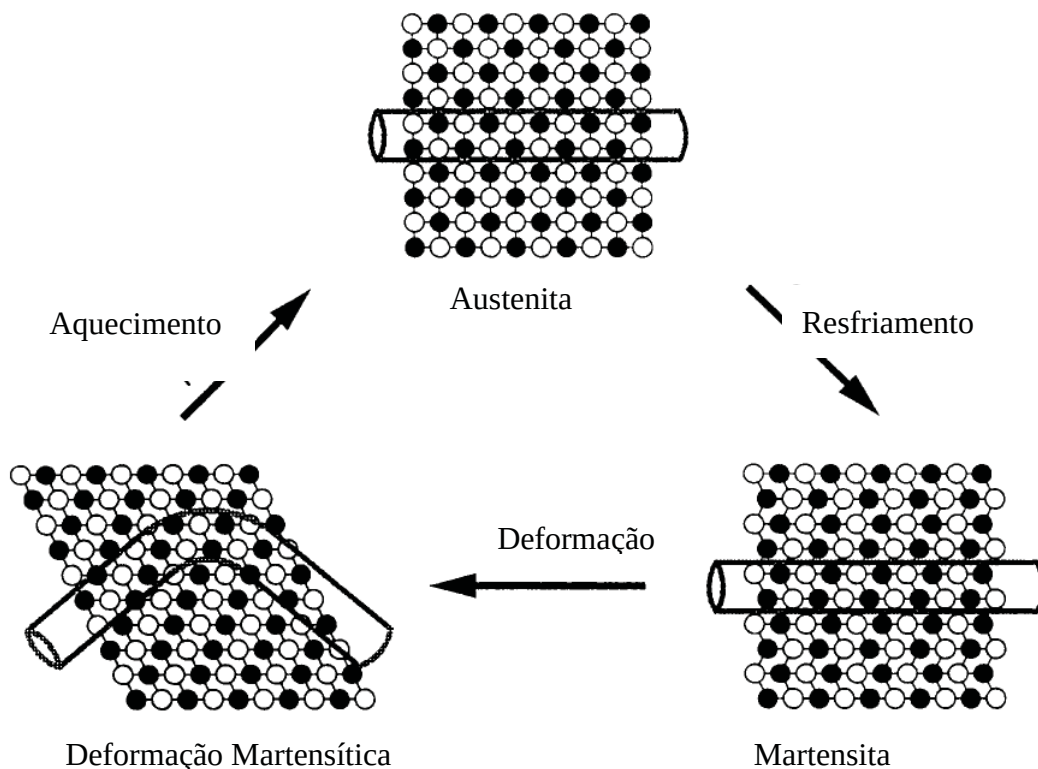
Fonte: Adaptado de Petrini et al., 2012; Gurgel; Ramos; Kerr, 2001.

A partir da década de 1990 essas ligas passaram a ser empregadas na área médica principalmente por suas propriedades de superelasticidade e memória de forma, sendo desde então amplamente comercializadas (RYHÄNEN, 1999). Em 1979 foi desenvolvida a liga beta titânio TMA (Titanium Molybdenum Alloy), contendo 79% Ti, 11% Mo, 6% Zr e 4% Sn, a qual possui módulo de elasticidade menor que o aço inoxidável e maior que a liga de níquel titânio, exibindo efeito memória de forma, excelente resistência à corrosão, podendo ser

soldada por caldeamento, gerando forças intermediárias entre o aço inoxidável e o Nitinol. São indicadas principalmente para pacientes com hipersensibilidade ao níquel (KANEKO et al., 2003; ANDRADE; SATO; KOZEL, 2007). No entanto, possuem alto atrito, sendo oito vezes maior que o avaliado no aço (GURGEL; RAMOS; KERR, 2001; KUSY, 1999).

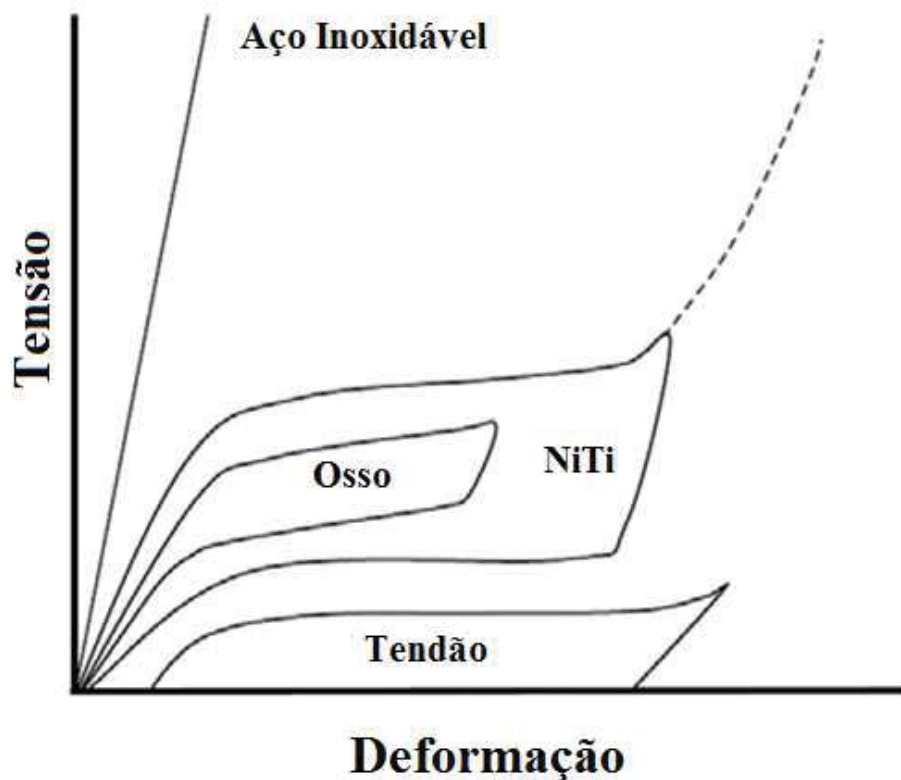
O efeito memória de forma é a capacidade do material em “lembrar” uma forma prévia após sofrer deformação. Superelasticidade (pseudo-elasticidade) é a recuperação instantânea do material após remoção de uma carga atribuída a uma transformação de fases austenita – martensita. Deformados a baixas temperaturas em sua fase martensítica estes materiais retornam espontaneamente a sua forma inicial após descarregamento e subsequentemente aquecimento acima de uma temperatura crítica, conforme apresentado na Figura 5 (GIL e PLANELL, 1998; GALL, 2008; HEBING et al., 2008).

Figura 5 – Transformação de fase das ligas memória de forma.



A histerese é uma importante propriedade para a área médica, onde o material apresenta elevada elasticidade e baixa e constante força de deformação aproximando-o dos demais materiais biológicos submetidos a carregamentos e descarregamentos, como osso e tecido, conforme observado na Figura 6 (TARNITÃ et al., 2009; PETRINI E MIGLIAVACCA, 2011; JANI et al., 2014).

Figura 6 - Diagrama tensão/deformação para diferentes materiais.



Fonte: Adaptado de Jani et al., 2014

Outro fator decisivo na escolha do titânio e suas ligas para aplicações biomédicas é sua capacidade para formar um filme composto por óxido de titânio (TiO_2) em sua superfície (KANEKO et al., 2004). Este filme produz uma camada passiva na superfície do material que atua como barreira física e química (TARNITÃ et al., 2009).

No entanto, a quebra desta camada passiva devido a exposição à meios agressivos como fluoretos pode levar a liberação de íons metálicos, como por exemplo níquel, que está

associado à processos patológicos e reações alérgicas, como a dermatite de contato, assim como potenciais efeitos carcinogênicos. (EL MEDAWAR et al., 2002; RAHILLY E PRICE, 2003; ELIADES et. al., 2004; AL-MAYOUF et al., 2004; WALKER et al., 2005; GERKE et al., 2009; BERTRAND et al., 2010; ROSALBINO et al., 2012).

Recentemente Toker et al. (2015) investigaram a relação entre a formação da camada passiva e a biocompatibilidade das ligas de NiTi onde concluíram que a geometria da amostra e a qualidade da superfície são fatores de extrema importância em relação a biocompatibilidade do material; conseqüentemente influenciando em sua liberação de íons de níquel (TOKER et al., 2015).

2.2 TITÂNIO E SUAS LIGAS

Uma importante propriedade do titânio e suas ligas é a alotropia, que pode ser definida como a capacidade do material apresentar duas ou mais estruturas cristalinas diferentes. A temperatura ambiente sua estrutura estável é a hexagonal compacta (HCP) chamada de fase “ α ”. Ao passar por um aquecimento acima de 888°C (1621°F), o material muda sua estrutura passando a ser estável na forma cúbica de corpo centrado (CCC) chamada de fase “ β ”.

As ligas de titânio podem ser classificadas Segundo em três diferentes classes: alfa (α); alfa mais beta ($\alpha + \beta$); e beta (β) (KIKUCHI et al., 2003).

O titânio comercialmente puro (Ti cp) é classificado como uma liga α , na qual o teor de oxigênio determina o seu grau de resistência mecânica, podendo em princípio ser considerado como uma liga TiO (WEISS e SEMIATIN, 1999). Essas ligas possuem baixa resistência mecânica (240 e 550 MPa para titânio de grau 1 e grau 4, respectivamente), porém possuem excelente resistência a corrosão.

Para estabilizar a fase alfa, é comum o uso de elementos que incrementam a temperatura na qual a fase alfa é estável como alumínio, oxigênio, carbono e nitrogênio. No caso da fase beta, os elementos que estabilizam esta fase são aqueles que permitem que ela seja estável em temperaturas menores que a transição beta, como o vanádio, molibdênio e tântalo (STEINEMANN, 1998).

As ligas α são materiais com fase única e estrutura cristalina hexagonal compacta. Diferentemente das ligas $\alpha + \beta$ e β , não podem ser endurecidas por tratamento térmico, o que lhes confere boa soldabilidade.

Ti5Al2,5Sn é um exemplo de liga α utilizada em aplicações criogênicas (WEISS e SEMIATIN, 1999). Estas ligas possuem ainda boa resistência à fluência, elevada resistência mecânica (900 MPa), baixa ductilidade e alto módulo de elasticidade.

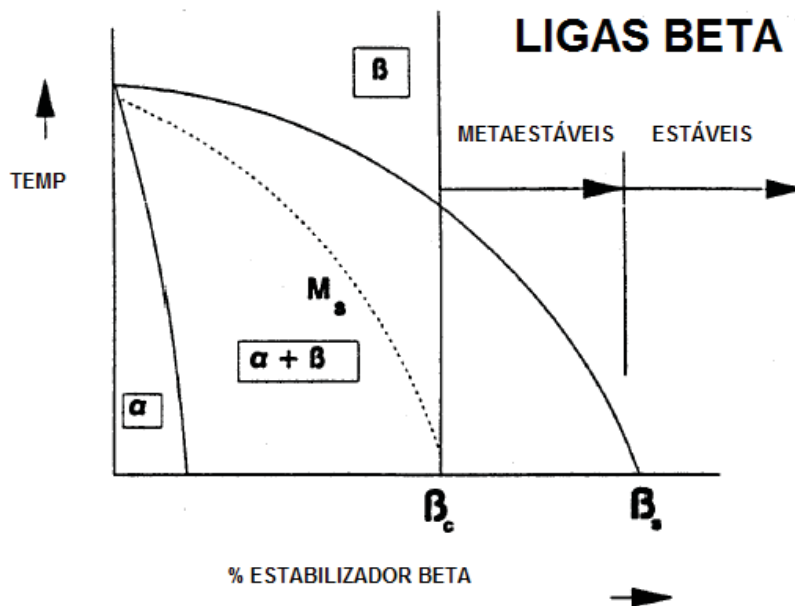
Existem ainda os elementos chamados de “ α ” estabilizadores, que aumentam a temperatura na qual a fase α é estável deslocando a temperatura transus para cima; e os elementos “ β ” estabilizadores, que resultam em estabilizar a fase β em temperaturas mais baixas. A adição de elementos “ α ” e “ β ” estabilizadores afeta diretamente as propriedades do material (SMITH et al., 1993).

As ligas Ti5Al2,5Fe e Ti6Al7Nb foram desenvolvidas na Europa, para aplicações médicas e odontológicas na década de oitenta (WANG, 1996). Também a liga Ti6Al4V tem sido amplamente empregada como material para implantes cirúrgicos em função da combinação de sua excelente biocompatibilidade, resistência à corrosão e propriedades mecânicas (KURODA et al., 1998; KOHN, 1998). No entanto, diversos autores têm questionado a presença do alumínio e vanádio, uma vez que a liberação de íons desses elementos tem sido associada a doenças como mal de Alzheimer e inflamações nos tecidos, respectivamente (IKEDA et al., 2002; LIN et al., 2002).

As transformações de fases nas ligas de titânio resultam em fases estáveis (equilíbrio) e metaestáveis (fora do equilíbrio) dependendo do conteúdo dos seus elementos. As ligas de titânio “ β ” são definidas como ligas que retêm a estrutura totalmente beta a partir do resfriamento rápido do campo em que a fase beta é estável (Figura 7).

Essa ligas contém β -estabilizadores suficientes para evitar que o resfriamento ocorra através da linha de início da transformação martensítica. Elas podem ser divididas em beta estáveis, beta metaestáveis e ligas alfa/beta ricas em beta. As fases metaestáveis como a martensita hexagonal (α'), martensita ortorrômbica (α'') e ômega (ω), por outro lado são formadas a partir de resfriamento rápido. Sua formação está diretamente relacionada com os elementos β estabilizadores e com as taxas de resfriamento. A fase ortorrômbica α'' foi observada em ligas de titânio após tratamento térmico a partir do campo β seguido pelo resfriamento rápido (PATHAK et al., 2014).

Figura 7 - Diagrama de fase pseudo-binário do titânio e estabilizador beta



Fonte: Adaptado de Jani et al., 2014

As ligas β são ricas em β estabilizadores e são caracterizadas pela alta temperabilidade e elevada resistência à fadiga. Possuem menos α estabilizadores do que as ligas α e $\alpha + \beta$ e uma quantidade suficiente de β estabilizadores que evitam, no resfriamento, a formação da martensita.

Normalmente, em ligas β os teores encontrados para vanádio e molibdênio variam de 2 a 20%p, de 2 a 12%p para o cromo e de 2 a 6%p para o cobre. O ferro, além de β estabilizador, também é utilizado como refinador de grão, conforme relatado por Sakamoto (1996) e Lin et al. (2002). A presença do nióbio reduz o módulo de elasticidade (GEETHA et al., 2003), tornando o seu uso indicado para aplicações ortopédicas, neste caso é interessante que o módulo de elasticidade apresente valores próximos ao osso humano (35 GPa).

A desvantagem das ligas β em comparação com as ligas $\alpha + \beta$ é sua maior densidade. Na condição solubilizada (100% de fase β retida), essas ligas possuem boa ductilidade e tenacidade (DONACHIE, 1989). Segundo Anken e Greene (1999), a precipitação homogênea da fase α na fase β metaestável aumenta o limite de resistência e a ductilidade da liga. Conforme relatado por esses autores, o envelhecimento duplo para controlar a precipitação da fase α melhora o limite de resistência e a tenacidade das ligas titânio β .

2.3 AS LIGAS TERNÁRIAS

Na década de 1960, a liga Ti6Al4V, inicialmente empregada em aplicações militares e aeroespaciais, passou a ser utilizada na área biomédica devido principalmente a sua excelente resistência mecânica, apesar de sua resistência à corrosão ser inferior a do titânio CP. Restrições passaram a ser feitas quanto ao emprego dessa liga, inicialmente, 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).

Alguns autores substituíram o vanádio por nióbio, devido ao seu menor risco biológico, mantendo a mesma formulação do Ti6Al4V (WATANABE; OPHAM, 2004). No entanto, em seu estudo, Walker et al., 1998, já apontavam os possíveis danos em células do sistema nervoso causados por íons de alumínio. Outras desvantagens apresentadas por essa liga são sua baixa resistência ao desgaste e elevado módulo de elasticidade (WALKER et al., 1998).

Por essa razão, novas ligas de titânio (sem vanádio e alumínio) como por exemplo, Ti13Nb13Zr (ASTM F1713), Ti12Mo6Zr (ASTM F1813), e várias composições de ligas ternárias contendo TiTaNb e TiNbSn foram pesquisadas nos últimos anos para essas aplicações (MIYAZAKI et al., 1999; TAKAHASHI et al., 2002; TONG et al., 2011; ROSALBINO et al.; BERTRAND et al., 2012). Com destaque para o tântalo devido a sua excelente tenacidade à fratura e trabalhabilidade, podendo ser utilizado na área biomédica como por exemplo na confecção de placas (MIYAZAKI et al., 1999).

Takahashi et al. (2002) avaliaram o efeito do tratamento térmico e da adição de estanho em ligas composta por Ti16Nb4Sn concluindo que o tratamento térmico tem forte influência sobre a transformação de fase da liga; e a temperatura de transformação martensítica diminui rapidamente com o aumento da quantidade de estanho adicionada, ou seja; um acréscimo de 1% na quantidade de estanho diminui a temperatura em aproximadamente 150 K (TAKAHASHI et al., 2002).

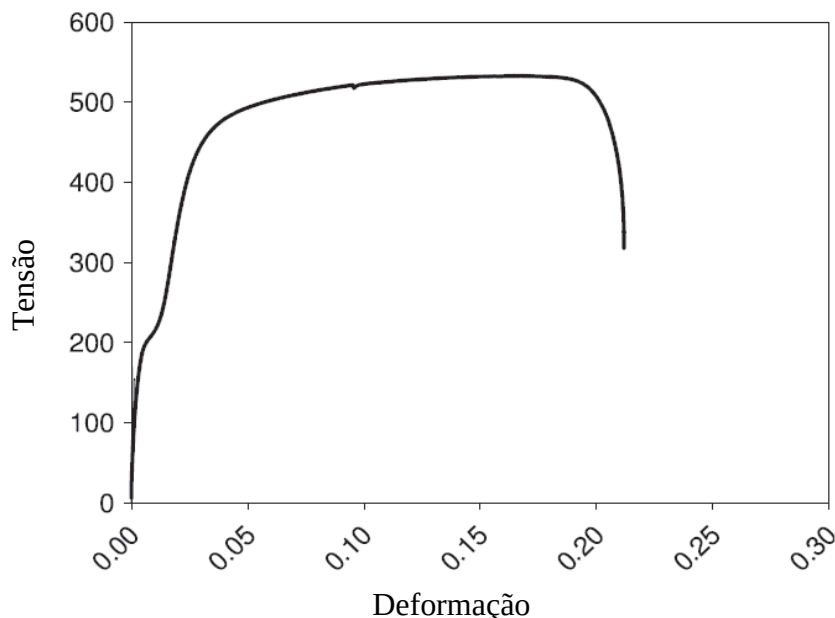
O comportamento corrosivo de duas ligas a base de titânio, Ti16Nb5Sn e Ti18Nb4Sn, foi avaliado por Rosalbino et al. (2012), com resultados muito satisfatórios; os quais mostraram que estas ligas formavam uma camada de passivação espontaneamente formada por dióxido de titânio (TiO_2), assim como nas ligas de níquel-titânio. Porém, esta camada de

passivação foi mais resistente nas ligas ternárias contendo Sn, quando comparadas as ligas de NiTi (ROSALBINO et al., 2012).

Zhou et al. (2004) avaliaram o efeito do conteúdo de tântalo, adicionado na composição de ligas, sobre o módulo de elasticidade dinâmico. Os autores estudaram as seguintes ligas: Ti10%Ta, Ti20%Ta, Ti30%Ta, Ti40%Ta, Ti50%Ta, Ti60%Ta, Ti70%Ta e Ti80%Ta e concluíram que o teor de tântalo influenciou significativamente os resultados, sendo que as ligas Ti30Ta e Ti70Ta exibiram os menores valores de módulo de elasticidade associados à melhor combinação de elevada resistência/baixo módulo, comparadas as outras composições avaliadas.

Uma nova liga ternária Ti25Ta25Nb foi proposta por Bertrand et al. (2010; 2013). Os autores verificaram que na liga ocorre estabilização da fase β após tratamento térmico de solubilização devido a presença dos elementos tântalo e nióbio. O escoamento duplo na região elástica, definido como uma variação no módulo de elasticidade e característico da transformação da fase β para α'' foi verificado durante a realização do ensaio de tração (Figura 8). Este tipo de comportamento mecânico pode ser indesejável em ligas empregadas na fabricação de próteses ortopédicas por possibilitar fraturas Li et al., (2008).

Figura 8 – Curva tensão X deformação da liga ternária Ti25Ta25Nb



Posteriormente a este estudo, Tong et al. (2011) avaliaram duas ligas ternárias, Ti(35x)TaxSn e Ti(35x)TaxZr, onde ($x = 0,1$ e 5). Os resultados demonstraram que o estanho (Sn) foi considerado melhor β -estabilizador quando comparado ao zircônio (Zr). Além disso,

também melhorou a resistência a tração e corrosão da liga nos mesmos parâmetros de comparação. Dessa forma os autores concluíram que o estudo dessa liga tornaria visando o desenvolvimento de um novo biomaterial para aplicações biomédicas é interessante.

2.4 RESISTÊNCIA À CORROSÃO DO TITÂNIO E SUAS LIGAS

A corrosão pode ser definida como a deterioração de um material, geralmente metálico, por ação química ou eletroquímica do meio ambiente aliada ou não a esforços mecânicos. A deterioração causada pela interação físico-química entre o material e o seu meio operacional representa alterações prejudiciais indesejáveis no material, tais como desgaste, variações químicas ou modificações estruturais, tornando-o inadequado para o uso. As seguintes variáveis devem ser consideradas no seu estudo: material, meio e condições operacionais. Outro aspecto importante a considerar é o pH do meio, o qual pode variar dependendo da ação local dos fluidos corporais e de biomoléculas como as proteínas podendo ocorrer a liberação de íons metálicos que podem combinar com estas biomoléculas de proteínas e enzimas, causando citotoxicidade e alergias ao organismo humano, assim como reações inflamatórias severas, resultando em dermatites de contato e lesões bucais (FIGUEIRA et al., 2009).

Do ponto de vista biomédico, um pré-requisito fundamental para os biomateriais metálicos é que apresentem excelente resistência à corrosão quando em contato com fluidos corporais (GUO et al., 2012). O titânio puro e as ligas a base de titânio, apresentam em sua superfície uma camada passiva constituída de dióxido de titânio (TiO_2), o que torna este material bioinerte e resistente à corrosão (MCMARON et al., 2012). Vale ressaltar que alguns elementos de liga como nióbio e especialmente o tântalo são particularmente interessantes do ponto de vista biomédico, por apresentarem alta resistência a corrosão (BERTRAND et al., 2010). No entanto, ligas de titânio biocompatíveis devem ser formadas por elementos atóxicos devido à liberação de íons induzida por fenômenos de corrosão no corpo humano. (GEETHA et al., 2009).

A elevada relação resistência, baixo peso e resistência à corrosão do titânio e suas ligas têm levado a sua aplicação na área biomédica, bem como na indústria aeroespacial, automotiva, fabricação de produtos químicos, geração de energia, esportes e outras grandes indústrias. Especificamente como materiais biomédicos são usados na fabricação de diversos

tipos de implantes, porta agulhas, pinças de fixação, válvulas cardíacas dentre outros. Mais de 100 toneladas de dispositivos a base de titânio são implantados em pacientes todos os anos, como por exemplo, para substituição de articulações. Devido a sua baixa densidade, resistência mecânica e biocompatibilidade o titânio é um dos poucos materiais que correspondem aos requisitos necessários para ser implantado no corpo humano (DUAN e WANG, 2006; ANDERSON et al., 2013).

No entanto, este filme passivo formado na superfície de ligas de Ti não é estável e pode ser destruído localmente, em alguns ambientes específicos, permitindo à ocorrência de corrosão (SUI et al., 2007). A liberação de íons ocorre como resultado da interação entre a liga e os tecidos ou fluídos corporais, e depende do tipo da liga, bem como do tipo e morfologia da possível camada de óxido que forma na liga. Cada um destes parâmetros tem efeito sobre as propriedades químicas, mecânicas e de superfície da liga, afetando desta forma a biocompatibilidade do material (TOKER et al., 2015). O titânio pode formar vários óxidos, incluindo TiO , Ti_2O_3 e TiO_2 . Dentre estes óxidos, TiO_2 é o mais comumente encontrado e mais estável. Portanto, em condições aquosas, tais como imersão em fluídos corporais, se espera a formação de uma camada constituída de óxido de titânio que proporcionará uma barreira contra a liberação de íons.

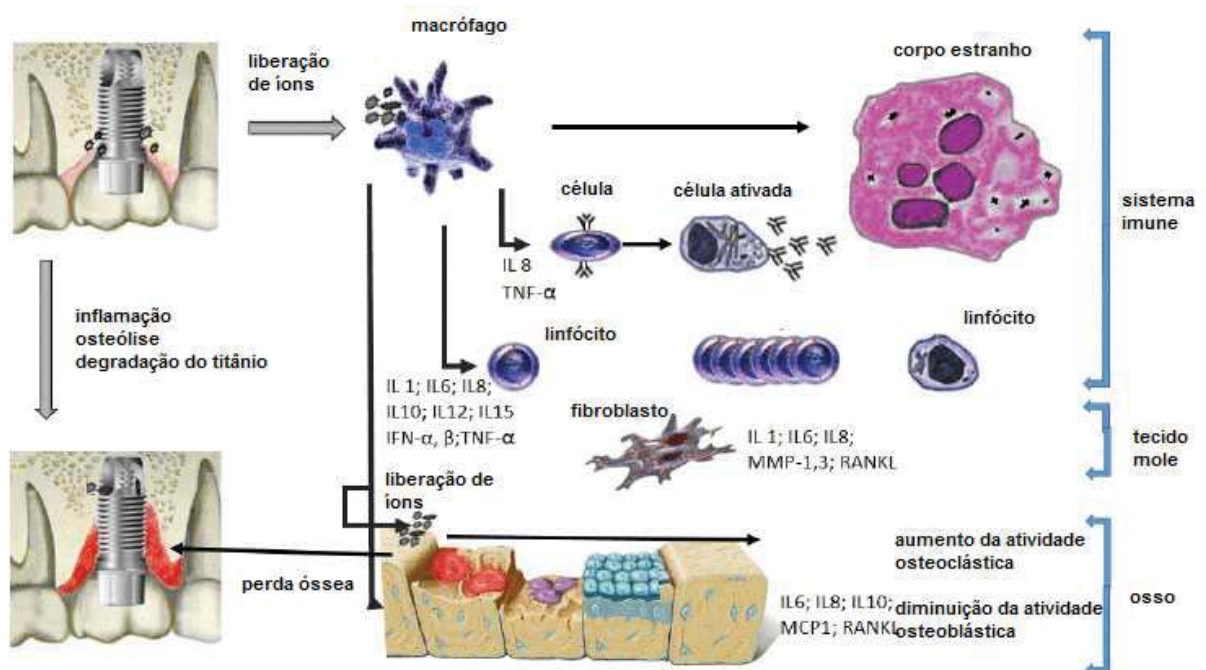
Especificamente, durante a estadia do material dentro do corpo, a camada passiva de óxido em torno dele passa por uma dissolução e reconstrução em ciclo contínuo. Isto conduz a diferentes taxas de liberação de íons uma vez que a espessura da camada de óxido varia durante cada fase do ciclo. Quando a taxa de dissolução da camada de óxido é maior que a taxa de reconstrução, a liberação de íons pode aumentar gradualmente a medida que a camada vai ficando mais fina.

No entanto, uma camada mais espessa de óxido não significa necessariamente inibição da liberação de íons, visto que a possibilidade de formação de fissuras na camada aumenta concomitante com a espessura, o que pode eventualmente levar à liberação de íons mais pronunciada, fazendo da espessura da camada de óxido um parâmetro crítico para controlar a liberação de íons de metal. Esta espessura é afetada pelas propriedades químicas dos fluídos ou tecidos do corpo em contato com o material, assim como o tempo de permanência no ambiente corporal. Desta forma a camada de óxido passiva formada na superfície de um material é fator importante na qualificação deste como biocompatível (TOKER et al., 2015).

Embora titânio e suas ligas possuam excelente resistência à corrosão, a liberação de íons metálicos e partículas no ambiente corpóreo pode ocorrer devido a degradação da

camada passiva, resultante da ação simultânea da corrosão e desgaste no meio bucal podendo levar a toxicidade local e sistêmica (JUANITO et al., 2015). Esse fato pode ser verificado, por exemplo, após a inserção em implantes bucais sujeitos a um meio agressivo e carregamentos cíclicos devido aos esforços mastigatórios (Figura 9).

Figura 9 – Esquema do processo de degradação do titânio e liberação de íons



Fonte: Adaptado de Pathak et al., 2014

Diversas técnicas podem ser empregadas na análise da resistência à corrosão de materiais. O potencial de circuito aberto (OCP) pode ser definido como o potencial para o qual uma liga se encontra em equilíbrio com um meio específico. Em metais varia em função do tempo, no entanto, após um certo período ocorre estabilização para um dado valor.

A natureza do eletrólito ao qual o material é exposto varia com o tempo, e dessa forma o potencial de circuito aberto será influenciado pela composição, tempera e conteúdo de oxigênio no eletrólito, além do estado da superfície do metal. As ligas com potencial mais

negativo são mais suscetíveis a corrosão do que ligas com valores mais positivos (ROSALBINO et al., 2012).

2.5 CITOTOXIDADE

O sucesso dos biomateriais é dependente da reação do corpo humano, e isto mede sua biocompatibilidade. Os materiais biomédicos devem ser atóxicos não devendo provocar quaisquer reações inflamatórias ou alérgicas ao organismo humano.

Os dois principais fatores que influenciam a biocompatibilidade de um material são a resposta do hospedeiro, induzida pelo material, e sua degradação no ambiente corpóreo (GEETHA et al., 2009)

Nas duas últimas décadas, estudos *in vitro* se revelaram úteis na avaliação do desempenho biológico dos materiais, utilizando métodos de cultura celular padronizados, reproduzidos a baixo custo e fácil execução.

Estes testes comprovaram ser um método eficaz para avaliar inicialmente a segurança e eficiência dos biomateriais (POPA et al., 2014), sobre qualquer aspecto funcional das células ou do seu metabolismo, incluindo a expressão do gene, o ciclo celular, ativação inflamatória, a expressão da proteína e o estresse oxidativo, dentre outros (WATAHA, 2012).

Estudos comprovaram que elementos potencialmente tóxicos tais como Ni, Al, V, devem ser evitados para a próxima geração de biomateriais. Desta forma, varias tentativas têm sido feitas para substituí-los por outros elementos de “liga β ” não-tóxicos (GEETHA et al., 2009; SMITH et al., 2011; BIESIEKIERSKI et al., 2012).

Várias pesquisas avaliaram interações entre células humanas e novas ligas de titânio β , comprovando a boa biocompatibilidade destas ligas (CIMPEAN et al., 2012), e elementos como Nb, Mo, Ta, Zr, Sn, dentre outros, foram selecionados para a concepção de novas ligas à base de titânio com menor módulo de elasticidade, elevada resistência mecânica e resistência à corrosão (NEACSU et al., 2015).

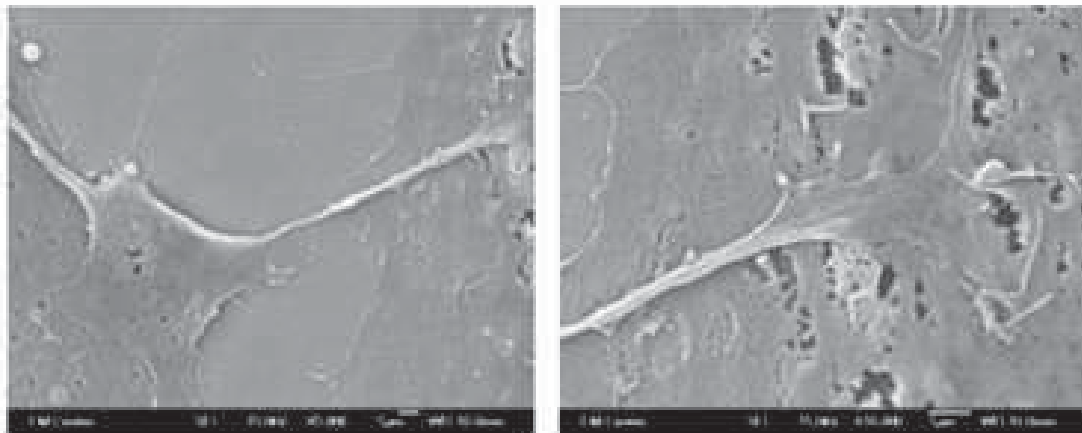
No quadro 1 podemos observar que o Ti, Au, Sn, Ta, Nb, Zr e Ru são classificados como elementos de liga altamente biocompatíveis.

Os testes *in vitro* para avaliação da citotoxicidade de possíveis materiais biocompatíveis podem ser divididos em 3 tipos:

- Testes dos extratos: extraído do meio no qual o material é imerso à uma dada temperatura por um determinado período de tempo.
- Testes por contato direto célula/material: células e material permanecem em contato íntimo.
- Testes por contato indireto célula/material: neste caso ocorre interposição de uma camada ágar ou membrana porosa.

A morfologia, viabilidade e adesão à superfície das células são avaliadas quando a citotoxicidade do material está sendo testada. A investigação morfológica é baseada no exame microscópico, seja por varredura ou transmissão, evidenciando mudanças no núcleo e/ou citoplasma da célula (PIZZOFERRATO et al., 2014) (FIGURA 10).

Figura 10 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de células HDF após 1 e 3 dias de cultura.



Fonte: Adaptado de Capellato et al., 2012

Quadro 1 - Impacto biológico: A cor vermelha indica uma preocupação séria; O amarelo indica uma preocupação moderada; A cor verde indica mínima/nenhuma preocupação.

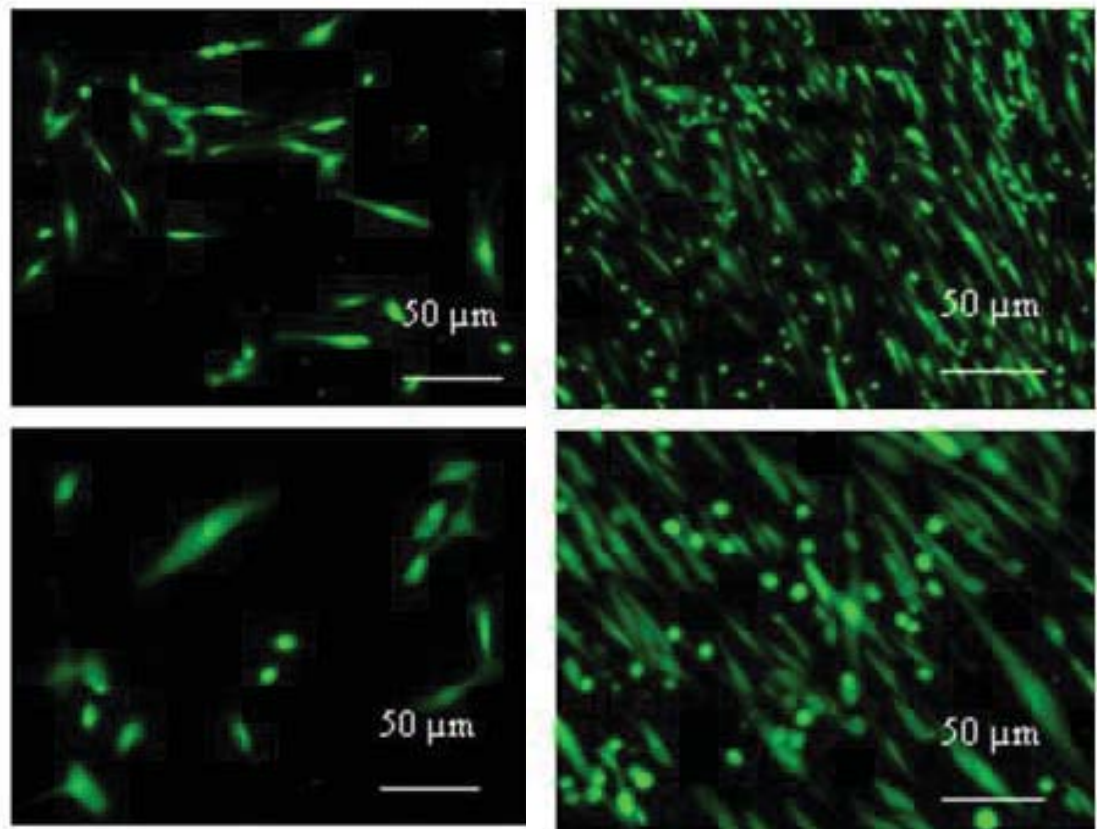
Posição na tabela periódica	elemento	biocompatível	carcinogénico	genotóxico	mutagénico	Citotóxico	alergénico	Propenso à corrosão	Outros
3d	Ti	Sim	Não	Não	Não	Médio	não	Não	Não
	V	Não	Sim	Sim	Sim	Alto	Sim	Não	Não
	Cr	Não	controverso	Sim	Sim	Alto	Sim	Não	Não
	Mn	Não	Não	Sim	Não	Alto	Não	Sim	Não
	Fe	Não	Não	Sim	Controverso	Alto	Não	Sim	Não
	Co	Não	Sim	Sim	Sim	Alto	Sim	Sim	Sim
	Ni	Não	Sim	Sim	Sim	Alto	Sim	Sim	Sim
	Cu	Não	Não	Sim	Sim	Alto	Sim	Sim	Sim
4d	Zr	Sim	Não	não	não	Baixo	Não	Não	Não
	Nb	Sim	Não			Baixo	Não	Não	Não
	Mo	Não	Controverso	Sim	Sim	Baixo	Sim	Sim	Sim
	Te	Não	RADIOATIVO						
	Ru	Sim	Não	Não	Não	Médio	Não	Não	Sim
	Rh	não	Sim	Sim	Sim	Alto	Desconhecido	Não	Não
	Pd	Não	Sim	Não	Controverso	Médio	Sim	Não	Não
	Ag	Não	Não	Não	Não	Alto	Sim	Não	Sim
5d	Hf	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecido	Médio	Não	Não	Desconhecido
	Ta	Sim	Não	Não	Não	Baixo	Não	Não	Não
	W	Não	Sim	Sim	Não	Médio	Não	Sim	Não
	Re	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecido	Desconhecido	Não	Não	Desconhecido
	Os	Não	Desconhecido	Sim	Sim	Alto	Não	Sim	Não
	Ir	Não	Não	Não	Sim	Alto	ão	Não	Sim
	Pt	Não	Sim	Sim	Sim	Alto	Sim	Não	Não
	Au	Sim	Não	Não	Não	Alto	Não	Não	Não
	Al	Não	Não	Sim	Não	Baixo	Não	Não	Sim
	Zn	Não	Não	Não	Não	Alto	Não	Não	Sim
	Sn	Sim	Não	Não	Não	baixo	Não	Não	Sim

Outros: Refere-se a questões além dos já mencionados. Por exemplo; hemólise, efeitos neurológicos, etc. Para mais detalhes, consulte o elemento relevante no texto (BIESIEKIERSKI et al., 2012).

A viabilidade celular pode ser avaliada por teste de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio), conforme técnica adaptada por Ciapetti em 1990. Esta técnica mede o quanto deste produto presente no meio foi reduzido pela atividade metabólica celular em cristais de formazan, de cor azul. A quantidade de formazan, medida por espectrofotometria, é diretamente proporcional ao número de células viáveis (TIM MOSMANN 1983; CIAPETTI et al., 1992).

A adesão celular demonstra o grau de citotoxicidade a partir de uma simples contagem de células vivas e mortas. A interação entre as biomoléculas e as características físicas de ancoramento mecânico das células mostram o caminho da proliferação celular na superfície investigada. Dados como a produção enzimática ou da matriz extracelular também podem ser avaliados (GEETHA et al., 2009; RATNER AND BRYANT, 2004; SMITH et al., 2004). A Figura 11 mostra a avaliação da adesão celular na liga Ti30Ta onde se observa o aumento no número de células (CAPELLATO, et al., 2012)

Figura 11 – Microscopia de fluorescência de células HDF após 1 e 3 dias de cultura.



Os fibroblastos são células mesenquimais com muitas funções vitais durante a fase de desenvolvimento e em organismos adultos estando entre as células de mamíferos mais acessíveis para a cultura *in vitro* (GOMÉZ-FLORIT et al., 2014). Ensaio de biocompatibilidade, utilizando células humanas como fibroblastos e osteoblastos, demonstraram que nenhuma citotoxicidade foi revelada para uma nova liga quaternária composta por Ti20Nb10Zr5Ta (POPA et al., 2014).

A resposta imunológica do organismo frente aos biomateriais nos ajuda a compreender seu desempenho e auxilia na previsão de como podemos melhorá-los (RATNER AND BRYANT, 2004). Todos os biomateriais demonstram inicialmente eventos biológicos sob a forma de recrutamento de células inflamatórias, formação de tecido de granulação, reação de corpo estranho e fibrose, sendo estas as principais causas de rejeição dos biomateriais (SMITH et al., 2011).

Estes biomateriais como as ligas a base de titânio com destaque para as ligas níquel-titânio (KAYNAK et al., 2014) revolucionaram vários setores da indústria, se destacando na área biomédica (REIS e ELIAS, 2001). No entanto a liberação de íons de níquel, restringiram seu uso (WALKER et al., 2005; GERKE et al., 2009; BERTRAND et al., 2010; ROSALBINO et al., 2012), assim como da liga Ti6Al4V devido à presença do vanádio e alumínio considerados tóxicos (EISENBARTH et al., 2004; KOIKE et al., 2005).

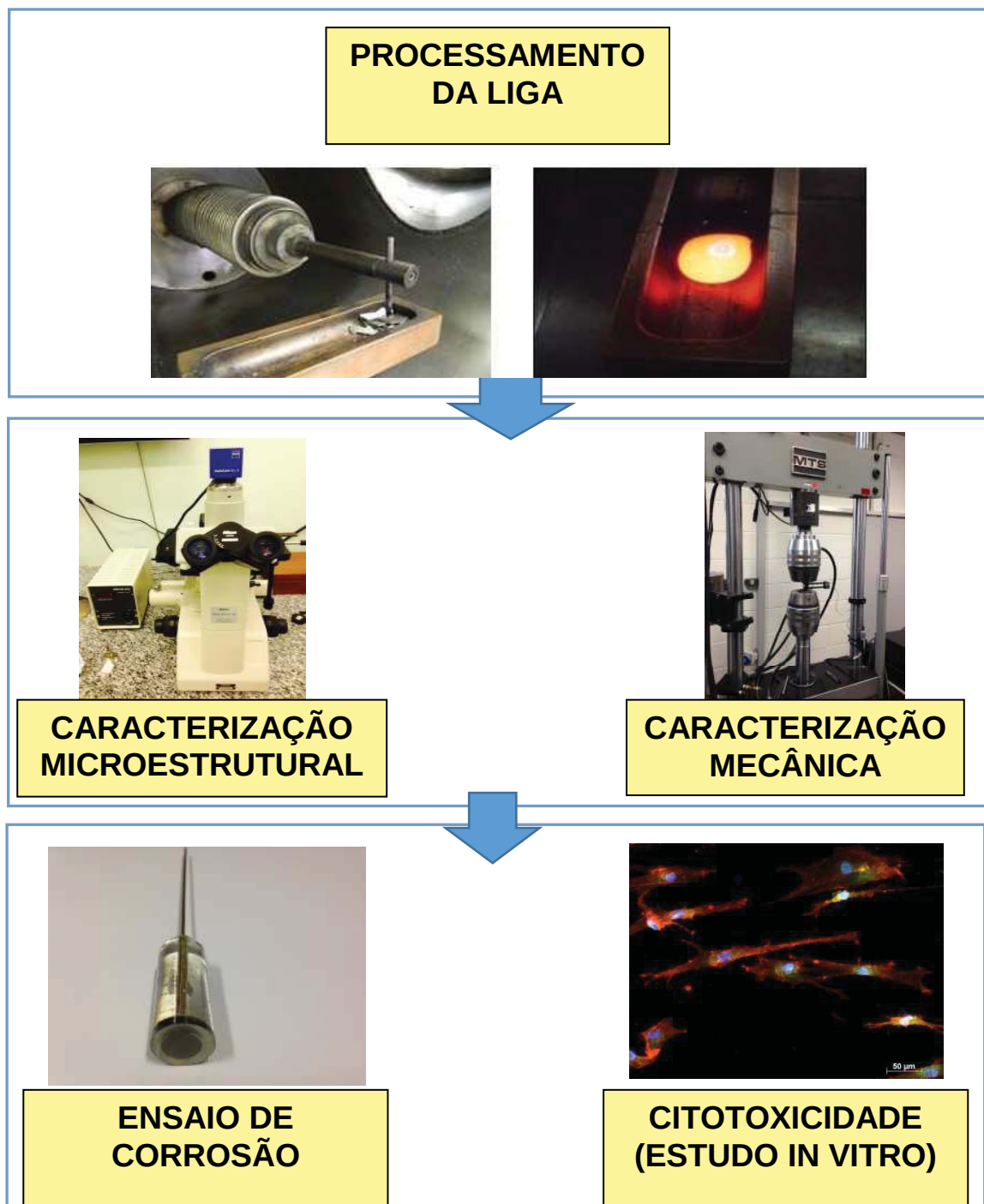
Desta forma, novas ligas contendo TiTa Nb e TiNbSn foram pesquisadas para aplicações biomédicas (MIYAZAKI et al., 1999; TAKAHASHI et al., 2002; TONG et al., 2011; ROSALBINO et al.; BERTRAND et al., 2012) apresentando em sua superfície uma camada passiva que as torna bioinerte e resistente à corrosão (MCMARON et al., 2012). Outros estudos sobre as interações entre células humanas e novas ligas de titânio β , comprovam a biocompatibilidade destas ligas quando constituídas por elementos como Nb, Mo, Ta, Zr, Sn que conferem ao material menor módulo de elasticidade e elevada resistência mecânica (CIMPEAN et al., 2012; NEACSU et al., 2015).

Portanto o desenvolvimento de ligas a base de titânio constituídas por elementos como Ta, Nb, e Sn se justifica sendo alvo de estudos atuais (TONG et al., 2011; ROSALBINO et al.; BERTRAND et al., 2012, NEACSU et al., 2015).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Na Figura 12 é possível observar o fluxograma da metodologia empregada nesse estudo.

Figura 12 - Fluxograma da metodologia empregada para o estudo da liga.



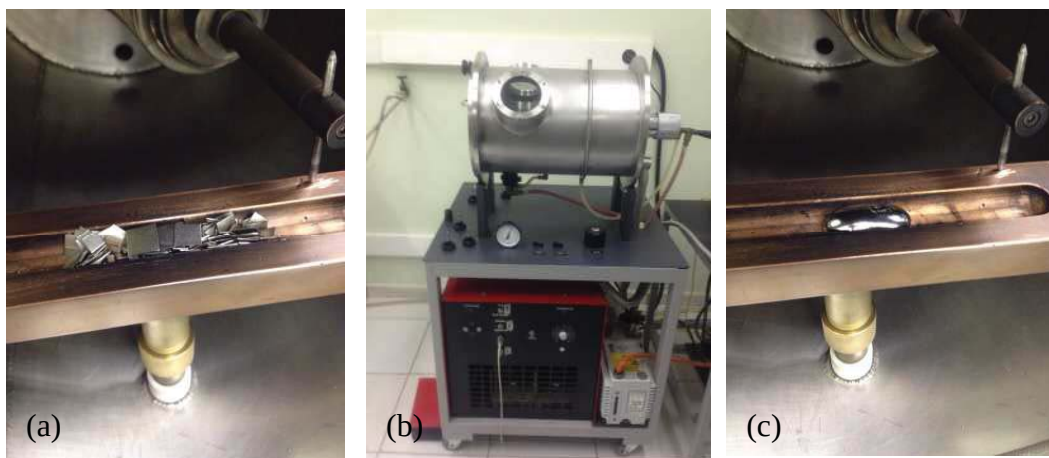
3.1 PROCESSAMENTO DA LIGA

Os lingotes da liga foram obtidos a partir de chapas de titânio (grau 2), nióbio, tântalo e estanho comercialmente puros, de acordo com a composição da liga estudada $\text{Ti}_{25}\text{Ta}_{25}\text{Nb}_{3}\text{Sn}$.

Os metais foram limpos em uma solução formada por 25% de HF e 75% de HNO_3 , pesados em balança analítica de acordo com as composições indicadas e colocados no interior do forno a arco voltaico com atmosfera inerte (Figura 13a). Antes da fusão foi realizada purga a qual consiste no estabelecimento do vácuo na câmara de fusão, para retirada de oxigênio, e posterior injeção de argônio.

Esse equipamento emprega o princípio da soldagem para a fusão dos metais, sendo o eletrodo uma ponta de tungstênio contida no seu interior e o ânodo o cadinho de cobre refrigerado. Durante o processo, um fole flexível e rosqueado possibilita o deslocamento linear do eletrodo sobre o material. Após cada passe os lingotes são rotacionados no cadinho sem a abertura do forno sendo esse procedimento repetido pelo menos 10 vezes para garantir a homogeneização química.

Figura 13 - Sequência empregada no preparo das ligas: (a) metais depositados no cadinho de cobre antes da fusão; (b) forno a arco voltaico utilizado para obtenção dos lingotes da liga; (c) lingote após a fusão.



Após a fusão, os lingotes foram submetidos ao tratamento térmico de homogeneização a 950 °C durante um período de 24 h em forno tubular resistivo, com resfriamento lento dentro do forno (Figura 14).

Figura 14 – Forno tubular resistivo empregado para o tratamento térmico das ligas

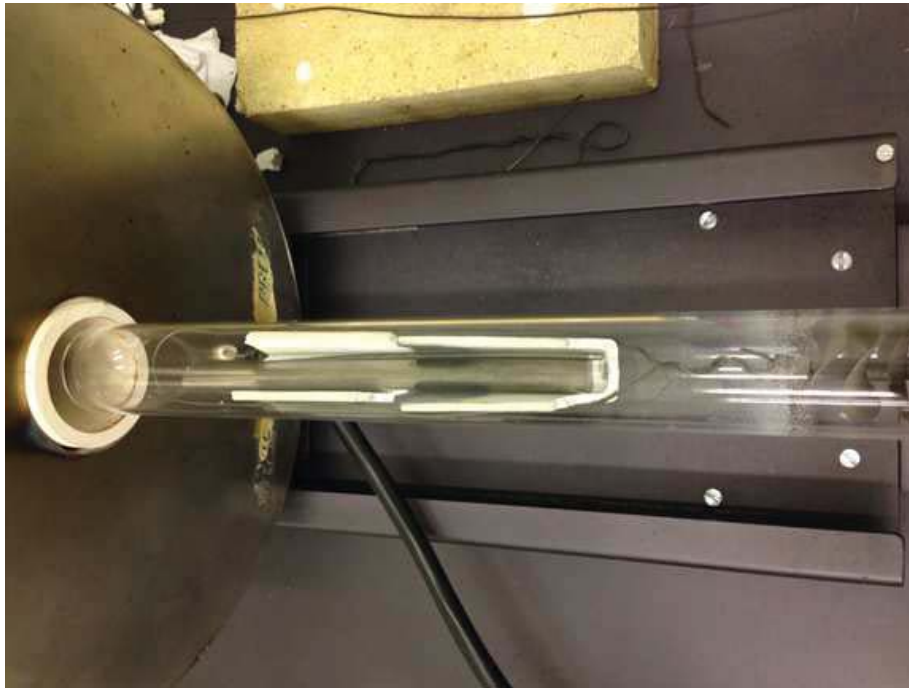


O forjamento a frio foi realizado posteriormente, em prensa rotativa, com diferentes martelos até que barras com 8 mm de diâmetro fossem obtidas (Figura 15). Esta etapa foi realizada no Instituto de Tecnologia Aeroespacial (ITA), em São José dos Campos. Após forjamento, as barras foram submetidas a um novo tratamento térmico de solubilização a 950°C por 2 horas seguido de resfriamento rápido em água (Figura 16).

Figura 15 - Prensa rotativa empregada para obtenção das barras da liga



Figura 16 – Barra colocada no cadinho em forno tubular resistivo



3.2 CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL

Nesta etapa as condições de processamento da liga quaternária $\text{Ti}_{25}\text{Ta}_{25}\text{Nb}_{3}\text{Sn}$ foram avaliadas desde a estrutura bruta de fusão até o tratamento térmico final. Para a caracterização microestrutural as amostras foram seccionadas transversalmente em uma máquina automática com disco diamantado (Isomet, Buehler) e embutidas em baquelite. O lixamento úmido foi realizado com água e parafina, empregando lixas de carbetto de silício (SiC) com grana variando de 180 a 2400. O polimento foi realizado com um pano especial (OP-Chem, Struers) e ácido oxálico (5%). Em seguida foi realizado o ataque químico, com uma solução de 10 mL de HF, 10 mL HNO_3 e 20 mL de glicerina, para análise da microestrutura em microscópio óptico (Epiphot 200, Nikon) (Figura 17).

Figura 17 - Microscópio óptico (Epiphot 200, Nikon) FEG/UNESP.



3.2.2 Análise por Difração de Raios-X

A análise das fases presentes foi feita por difração de raios-X na Escola de Engenharia de Lorena (EEL-USP). As amostras foram presas a um suporte e posicionadas no equipamento de difração de raios x da (PANalytical, modelo Empyrean). Foram utilizados os seguintes parâmetros de operação: potência de 40 kV, e corrente de 30 mA, comprimento de onda do Cu α , varredura entre os ângulos 30° e 90°, com velocidade angular de varredura de 0,2°/segundo.

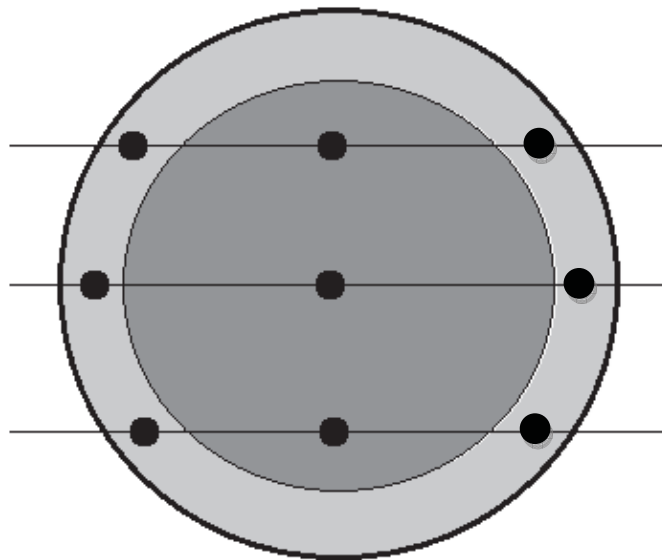
3.3 CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA

3.3.1 Ensaio de microdureza

O ensaio de microdureza foi realizado em 6 amostras que foram submetidas a caracterização microestrutural empregando um microdurômetro HMV2T, Shimadzu pertencente ao Laboratório de Polímeros, da Faculdade de Engenharia, Campus de Guaratinguetá, UNESP. Foram realizadas nove medidas no corpo de prova (Figura 18),

utilizando penetrador com diamante Vickers, piramidal de base quadrada com ângulo de 136° entre planos e carga de 0.5 kgf. Para cada ponto indicado na Figura 18 foi realizada uma medida. Os resultados foram fornecidos pelo próprio aparelho, após medição das diagonais das mossas produzidas para cada corpo de prova. Foi feita a média aritmética das leituras, obtendo a microdureza Vickers.

Figura 18 - Representação esquemática das medidas de microdureza realizadas.



3.3.2 Ensaio de tração

Após o forjamento e tratamento térmico de solubilização (950°C por 2 horas seguido de resfriamento rápido em água), os corpos de prova foram usinados de acordo com a norma ASTM E 8M (Figura 19a e 19b), e submetidos a um carregamento uniaxial de tração ao longo de seus eixos. Os ensaios foram realizados utilizando uma velocidade de 0,5 mm/min em uma máquina de ensaios mecânicos, MTS, modelo 632.24C-50 no Laboratório de Ensaios Mecânicos, Departamento de Materiais e Tecnologia, Faculdade de Engenharia Mecânica, FEM – UNICAMP em Campinas (Figura 20).

Figura 19 - Corpos de prova empregados no ensaio de tração.

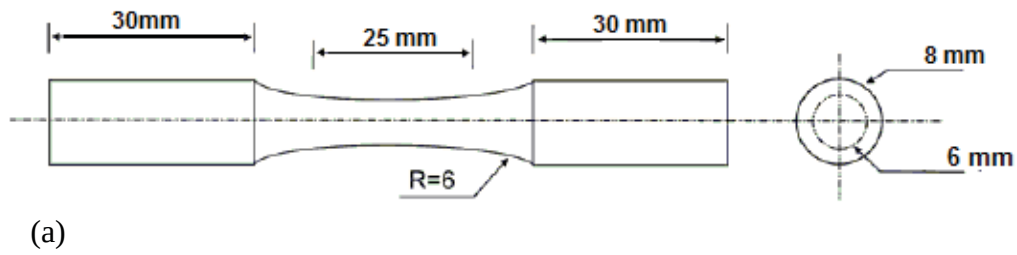


Figura 20 – (a) Máquina universal empregada para ensaios de tração (b) detalhe da amostra durante o ensaio



3.4 RESISTÊNCIA A CORROSÃO

Para avaliar a resistência a corrosão da liga Ti25Ta25Nb3Sn os lingotes obtidos foram usinados na forma de pastilha (tablet), com diâmetro de 8 mm e espessura de 3 mm. O contato elétrico foi feito fixando as amostras do material a uma haste de cobre com cola de prata. Em seguida, o conjunto foi embutido em resina poliéster, mantendo uma área exposta de 0,50 cm², na forma de disco plano (Figura 21). Para efeito de comparação foi utilizada a liga ternária Ti25Ta25Nb e o Ti CP.

Figura 21 – Corpo de prova utilizado



Os ensaios eletroquímicos foram realizados em uma célula convencional de três eletrodos com capacidade de 250 mL de solução, com camisa de termostatização, para controle de temperatura. O eletrodo de referência utilizado foi o de calomelano saturado ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$, $\text{KCl}_{\text{saturado}}$) e como eletrodo auxiliar, um bastão de grafite com área de 10 cm². Como eletrólito foi empregada uma solução de NaCl 0,15 mol/L + NaF 0,03 mol/L, com pH igual a 6. Todos os ensaios foram realizados a uma temperatura de $(37,0 \pm 0,5^\circ\text{C})$ (Figura 22).

Figura 22 - Célula utilizada nos ensaios de corrosão



Os ensaios eletroquímicos foram realizados no departamento de química da faculdade de engenharia de Guaratinguetá (FEG/UNESP) com o auxílio de um potenciostato/galvanostato METRHOM, Autolab PGSTAT 302N, com um módulo analisador de respostas de frequências (frequency response analyzer - FRA). As técnicas empregadas consistiram de leitura do potencial de circuito aberto (OCP) em função do tempo e polarização potenciodinâmica. As medições de OCP foram realizadas por um período de tempo de três horas, seguido dos ensaios de polarização potenciodinâmica. As curvas de polarização foram obtidas a uma velocidade de varredura de potencial de 1 mV/s, no intervalo de -0,50V a 3,0V.

3.5 ANÁLISE DE XPS (Espectroscopia de Fotoelétrons excitados por Raios X)

A espectroscopia fotoeletrônica de raios-X (XPS) foi realizada para a análise da camada passiva formada na superfície da liga utilizado um espectrômetro de fotoelétrons excitados por raios X, (XPS, PHJ 5600-ci, Physical Eletronics); no Laboratório de Biomateriais e Bioengenharia, do University Hospital Research Center, Laval University, Dept of Min-Met-Materials Engineering, Quebec City, Quebec, Canada.

As análises foram feitas em ambiente de ultra-vácuo limpo com purga de argônio. A direção do ângulo de detecção usada foi 45°, e a área da superfície avaliada 0,005 cm².

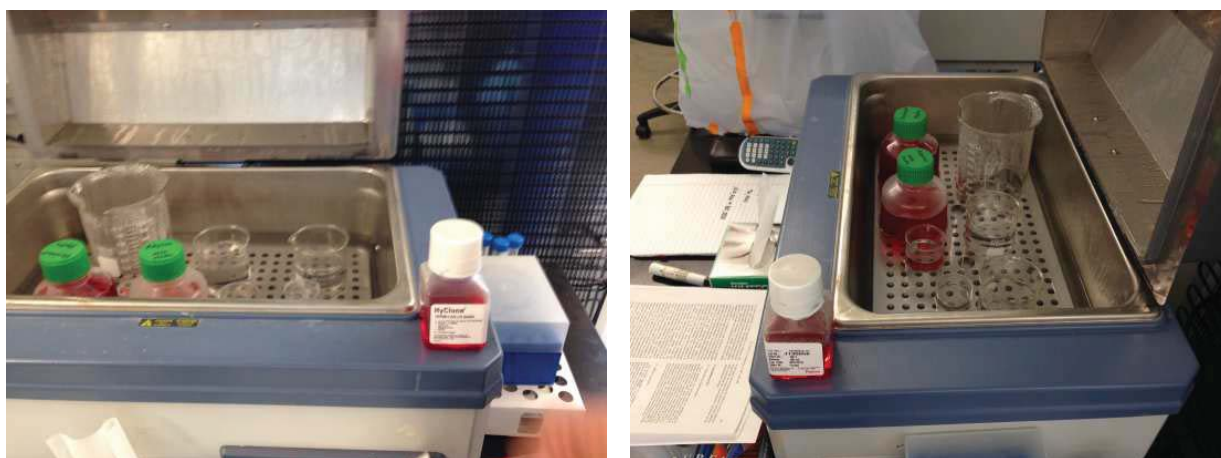
3.6 ESTUDO *IN VITRO* – AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE

3.6.1 Cultura de Células

Esse estudo foi realizado para avaliar a biocompatibilidade, a capacidade de adesão e proliferação celular na liga Ti25Ta25Nb3Sn. Foram utilizadas células dérmicas humanas (Human Dermal fibroblast) uma vez que fibroblastos são os maiores constituintes do tecido conjuntivo adjacente ao implante.

Antes da cultura, as células foram isoladas de prepúcios neonatal armazenados durante 4 dias a -80°C e posteriormente descongelados em banho maria a 37°C (Figura 23). O meio empregado para a cultura de células foi o DMEM (Dulbecco Modificado por Eagle) alta glucose (Hyclone) suplementado com 50 mL de soro fetal bovino.

Figura 23 – Descongelamento em banho maria a 37°C .



A suspensão foi colocada em frascos de 75 mL, incubada a 37°C em estufa de CO_2 por uma semana quando então 70% de confluência foi alcançada. O meio foi trocado a cada 72 horas e quando o nível de confluência de 70% foi atingido, 3 mL de solução de tripsina foi adicionada para a liberação das células. Após alguns minutos a reação foi interrompida a partir da adição do neutralizador formado por 0,5% de soro fetal bovino em PBS (Figura 24).

Figura 24 – Câmara de fluxo laminar onde foram realizados os procedimentos laboratoriais na Universidade do Colorado – *Fort Collins* - USA



As células foram aspiradas, transferidas para os frascos e centrifugadas a 180g por 7 minutos, posteriormente as células precipitadas foram então ressuspensas em 5 ml de PBS (0,5% de soro fetal bovino em PBS). As amostras esterilizadas previamente por radiação gama foram colocadas em placas com 42 poços, lavados previamente com PBS estéril por 3 vezes.

Todos os procedimentos laboratoriais foram realizados em câmara de fluxo laminar em condições estéreis (Figura 24) na Universidade do Colorado (CSU) – *Fort Collins* - USA.

3.6.2 Adesão e proliferação de células HDF

Após um período de 1 e 7 dias de cultura celular, a adesão e proliferação celular foram investigadas utilizando corante de Actina (CMFDA-Invitrogen), e corante de núcleo 4'6-diamidino-2-fenil-indol-dicloridrato (DAPI-Invitrogen).

Anteriormente a coloração, após três suaves lavagens em PBS, as células não aderidas foram removidas por aspiração. As amostras foram transferidas para uma nova placa de 42 poços e incubadas em CMFDA (1 ml de solução de estoque CMFDA em 1 mL de PBS) durante 30 min a 37 °C e CO₂ a 5%.

Na sequência o PBS foi aspirado e as células aderidas foram fixadas em 3,7 % de formaldeído em PBS durante 15 min à temperatura ambiente, seguido de três lavagens (5 minutos por lavagem) em PBS. Então as membranas celulares foram permeabilizadas utilizando 1% de Triton X-100 em PBS à temperatura ambiente durante 3 min e novamente lavadas em PBS.

Na sequência a solução foi aspirada, as amostras lavadas suavemente em PBS por 3 vezes e incubadas em F-actina (125 µL de solução de estoque de actina em 2,25 mL de PBS) durante 25 min à temperatura ambiente. Corante de núcleo DAPI (105 ug / mL) em PBS foi adicionado a F-actina e incubado à temperatura ambiente durante 5 min. Após a incubação, as amostras foram enxaguadas com PBS e as imagens obtidas em um microscópio de fluorescência (Axioplan 2 Zeiss) utilizando um conjunto de filtros 44 FITC BP 530/50 filtro verde (Zeiss) ou DAPI BP 445/50 filtro azul (Zeiss). Avaliação da proliferação e número de células aderidas foi determinada por meio de detecção nuclear utilizando imagens de fluorescência DAPI e software ImageJ.

3.6.3 A viabilidade celular HDF

A viabilidade celular foi realizada utilizando um Kit de ensaio Metiltiazol tetrazólio (MTT - Sigma), disponível comercialmente. As células não aderidas foram removidos por aspiração após lavagem por 3 vezes em PBS, seguindo protocolo padrão fornecido pelo fabricante.

As amostras foram transferidas para uma nova placa de 42 poços e incubadas em solução de MTT de 10% em PBS durante 4h a 37°C e 5% de CO₂. Os cristais de formazan resultantes foram dissolvidos em uma mesa agitadora adicionando SDS-HCl (1 g de SDS, fornecido pelo fabricante, em 10 mL de HCl a 0,01 mL).

Absorbância da solução foi medida a um comprimento de onda de 570 nm utilizando um leitor de placas (BMG Labtech). Absorbância líquida foi calculada subtraindo a absorbância de fundo com um comprimento de onda de 690 nm para determinar a viabilidade celular sobre as amostras (discos).

3.6.4 Organização do citoesqueleto de células HDF

As amostras coradas por DAPI foram simultaneamente corados em F-actina (citoesqueleto) e CMFDA para avaliar organização do citoesqueleto por meio de imagens em microscópio de fluorescência. As amostras foram fotografadas em microscópio de fluorescência utilizando HQ Texas Red BP 540/60 filtro vermelho, 44 FITC BP 530/50 filtro verde (Zeiss) e DAPI BP 445/50 filtro azul (Zeiss).

3.6.5 Morfologia das células HDF

Após 1 e 7 dias de cultura, a morfologia das células HDF aderidas foi investigada, empregando microscópio eletrônico de varredura (MEV). As células na superfície das amostras foram fixadas em solução de glutaraldeído a 3%, cacodilato de sódio 0,1 M e 0,1 M de sacarose durante 45 min. As superfícies foram então embebidas numa solução tampão contendo 0,1 M de cacodilato de sódio e 0,1 M de sacarose durante 10 min. Foi realizada na sequência a desidratação das células por imersão em concentrações crescentes de etanol (35, 50, 70 e 100%) durante 10 min cada e imersão em hexametildisilazano durante 10 min.

Figura 25 – Câmara de fluxo laminar onde foi realizado o processo de desidratação



Foram então secas a vácuo e armazenadas num dessecador para futura análise em MEV. Por fim, foram revestidas com 10 nm de ouro, no equipamento *Supeer Coater*, marca *Baltec*, modelo SCD050 para melhorar o nível de emissão de elétrons e visualização em instrumento Jeol JSM 6500F (tensão 10 e 15 kV).

3.6.6 Diferenciação de HDF

Após 7 dias de cultura, a imunofluorescência foi utilizada para determinar a expressão e diferenciação celular, por meio da presença do corante específico para proteína presente nas membranas das células HDF. Após três lavagens suaves em PBS as células não aderidas foram removidas por aspiração.

Amostras foram transferidas para uma placa 42 poços. As células aderidas foram

fixadas em 3,7% de formaldeído em PBS durante 15 min à temperatura ambiente e lavada três vezes (5 min por lavagem) em PBS. As membranas celulares foram permeabilizadas utilizando 1% de Triton X-100 em PBS à temperatura ambiente durante 3 min e lavadas em PBS.

Um anticorpo primário (diluição de 1:50, Santa Cruz Biotechnology) em 2% de soro de bloqueamento em PBS foi administrada durante 1h à temperatura ambiente. As amostras contendo células HDF foram coradas em anti-colágeno Ia1, lavados três vezes (5 minutos por lavagem) em PBS e incubadas em anticorpo secundário - FITC (diluição 1:100, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) em 2% de soro de bloqueio em PBS durante 1h à temperatura ambiente.

Posteriormente as amostras foram lavados três vezes (5 min por lavagem) em PBS e fotografadas com um microscópio de fluorescência, utilizando HQ Texas Red BP 560/40 filtro vermelho, 44 FITC BP 530/50 filtro verde (Zeiss) e DAPI BP 445/50 filtro azul (Zeiss). Todas imagens foram processadas utilizando Software AxioVision.

Diferenciação e expressão celular foram determinadas, respectivamente, pela melhora na estrutura celular e aumento no tamanho das células.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL

Na figura 26 é possível observar as micrografias obtidas para a liga quaternária Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn. Esta mostra as mudanças microestruturais observadas nas amostras após fusão em forno a arco voltáico, homogeneização (950°C por 24 horas) e solubilização (900°C por 2 horas).

A fusão em forno a arco voltáico implica no resfriamento rápido devido ao emprego de cadinho de cobre refrigerado a água. Dessa forma, ocorreu a formação dendrítica típica de ligas monofásicas submetidas a resfriamento rápido. Após homogeneização, grãos grosseiros maiores que 100 µm foram observados (Figura 27).

Com a realização do tratamento térmico de solubilização ocorreu a redução do tamanho de grão com a formação de uma micro estrutura refinada a qual pode ser verificada na Figura (28).

A análise por difração de raios-X mostrou a presença da fase β para as três condições avaliadas conforme os picos apresentados (Figura 29), não ocorrendo transformação desta fase mesmo após diferentes tratamentos térmicos realizados.

No estudo realizado por Bertrand et al. (2010) foi observada na liga ternária Ti₂₅Ta₂₅Nb a presença da fase β .

Dessa forma, comparando os resultados entre as ligas ternária Ti₂₅Ta₂₅Nb e quaternária Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn se conclui que a fase β permaneceu estável mesmo após a adição de estanho.

Figura 26 – Imagem de microscopia óptica da liga quaternária $\text{Ti}_{25}\text{Ta}_{25}\text{Nb}_{3}\text{Sn}$ / microestrutura da bruta de fusão

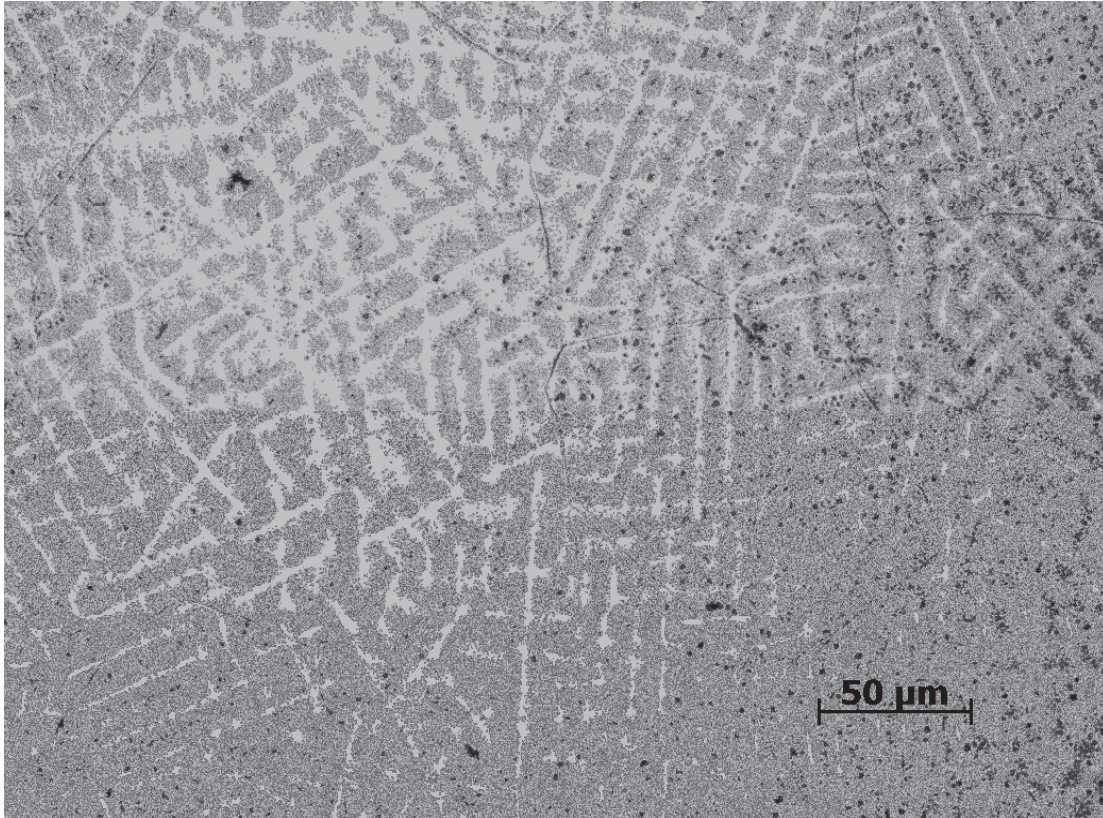


Figura 27 - Imagem de microscopia óptica da liga quaternária Ti25Ta25Nb3Sn / microestrutura após a homogeneização

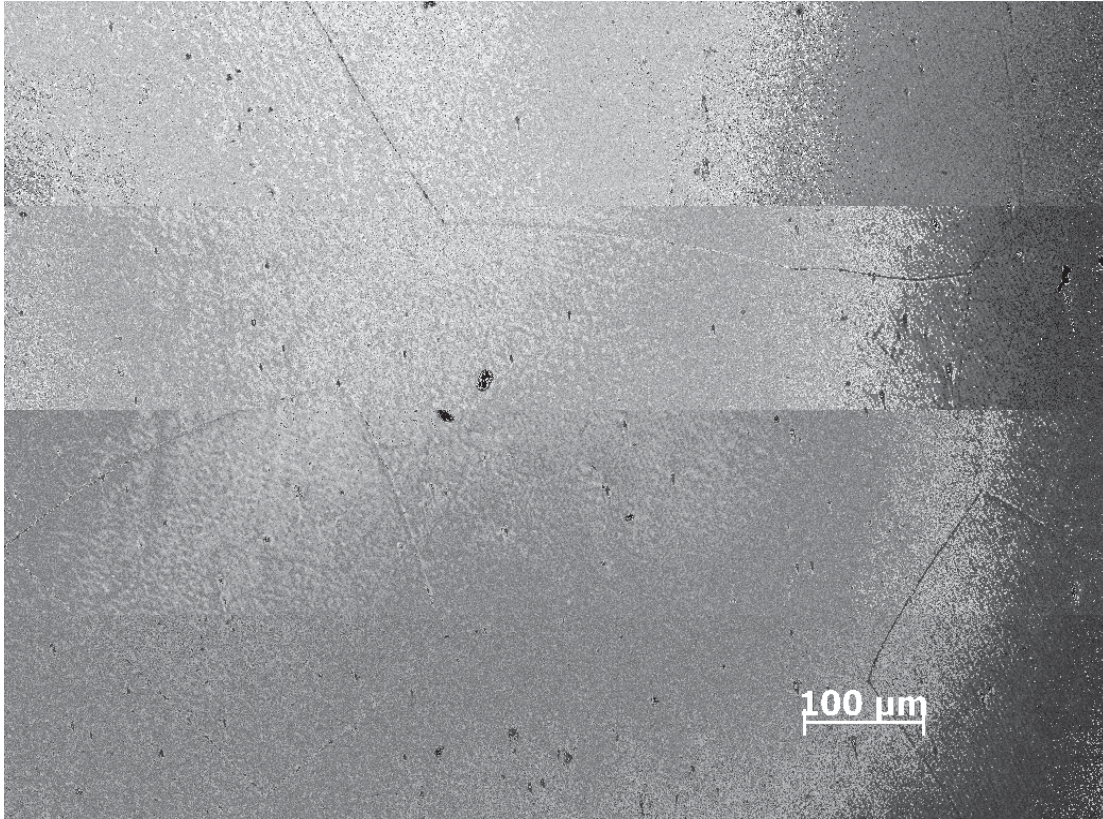
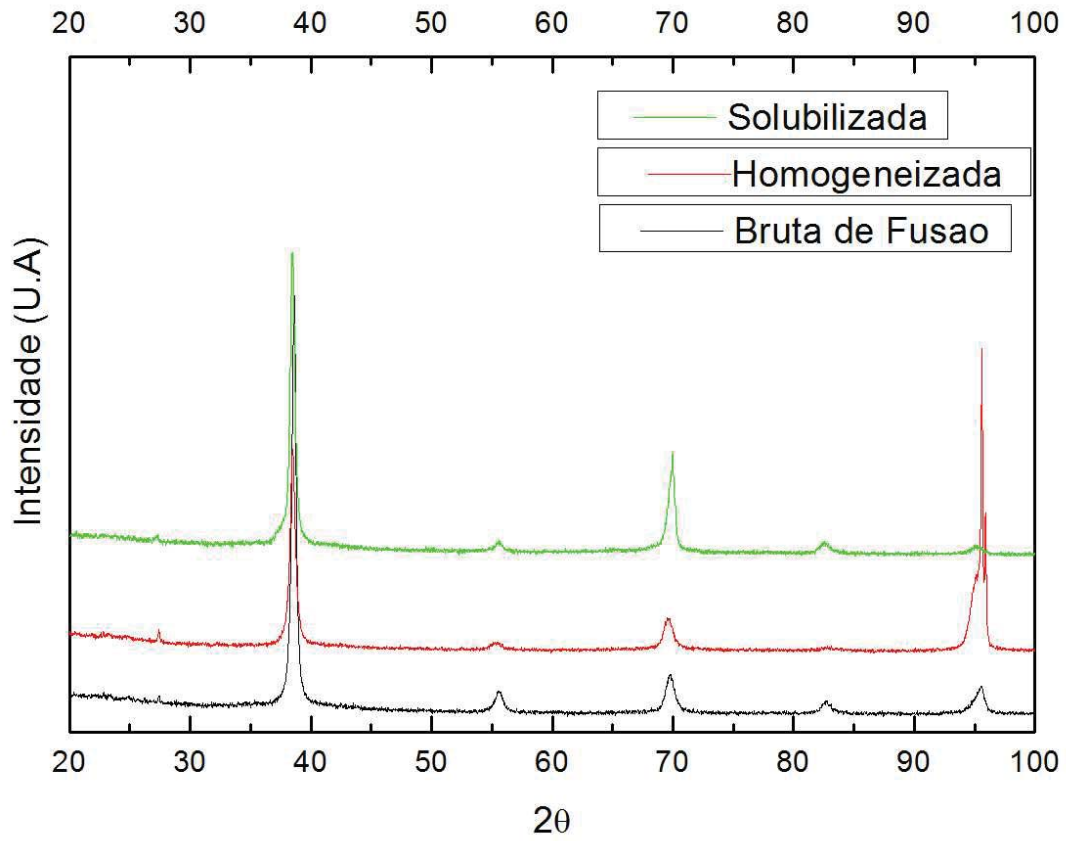


Figura 28 - Imagem de microscopia óptica da liga quaternária Ti25Ta25Nb3Sn / microestrutura após a solubilização



Figura 29 - Difratoograma de raios X das condições avaliadas



4.2 CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA

Os gráficos obtidos após a realização do ensaio de tração podem ser observados na Figura 30. Com a realização deste ensaio foi possível obter os valores de limite de resistência à tração, limite de resistência ao escoamento, módulo de elasticidade e deformação (Tabela 1). Esses valores foram comparados ao Ti CP e a liga ternária Ti25Ta25Nb. O aumento no valor encontrado do módulo de elasticidade pode ser verificado para a liga quaternária contendo estanho que pode ser explicado a partir da análise da Figura 31.

Figura 30 – Curvas tensão-deformação obtidas para a liga quaternária Ti25Ta25Nb3Sn

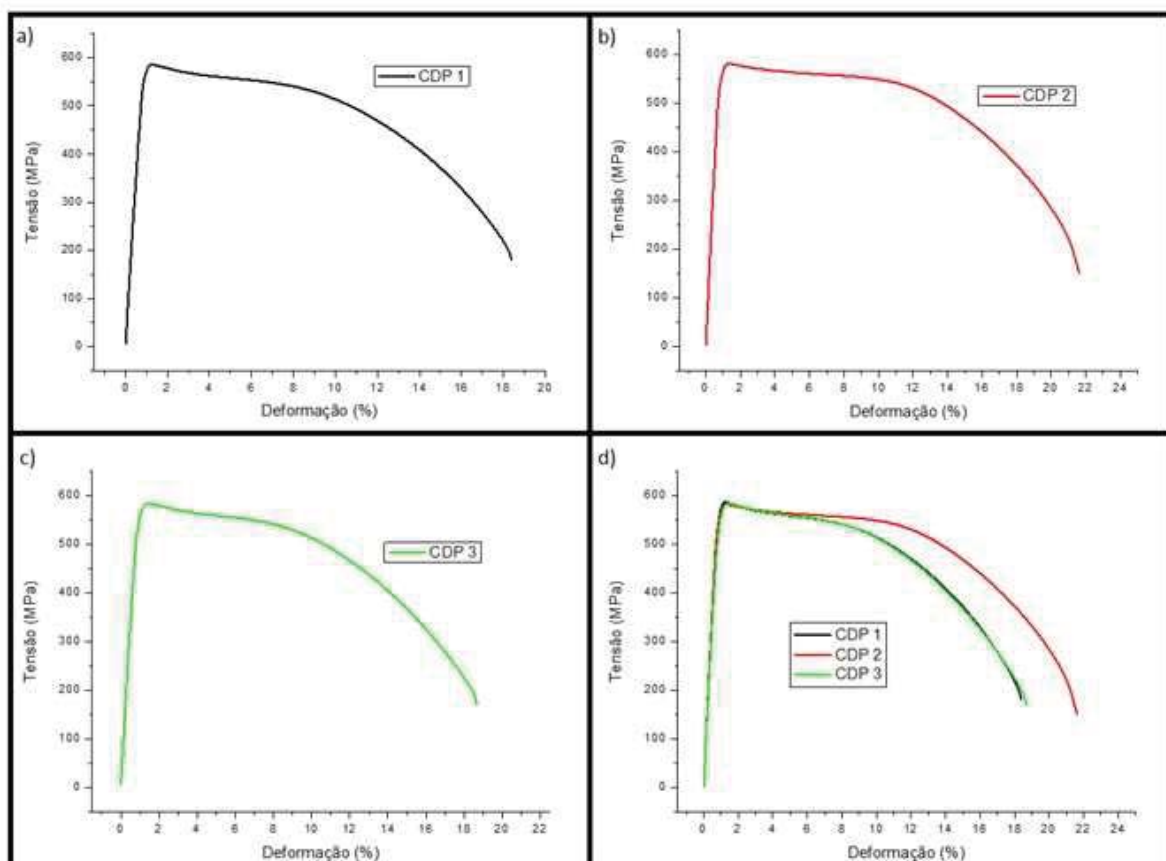


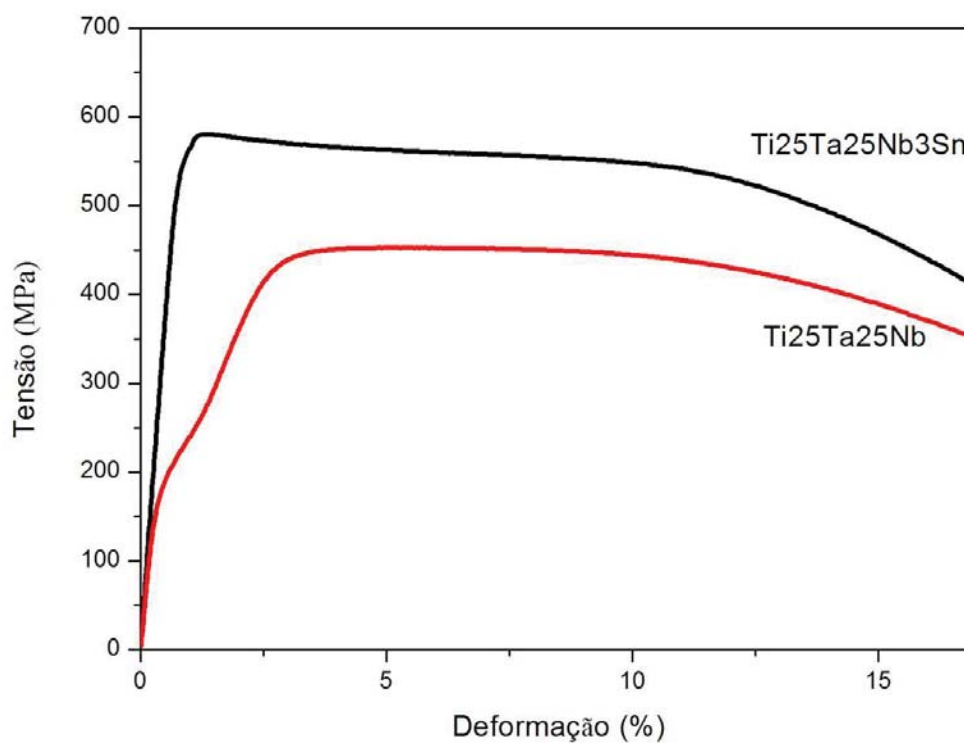
Tabela 1- Valores de propriedades mecânicas encontrados para o titânio CP e a liga NiTi em comparação aos valores médios obtidos para a liga em estudo.

	Ti CP	Ti25Ta25Nb	Ti25Ta25Nb3Sn
LRT (MPa)	360	530	583
σ_e (MPa)	310	210 / 480	567
E (GPa)	105 - 110	55	65
ϵ (%)	16	20	20

A análise comparativa da curva tensão-deformação entre a liga ternária Ti25Ta25Nb e a liga quaternária Ti25Ta25Nb3Sn (Figura 31) permitiu concluir que a adição de estanho (Sn) inibiu a transformação da fase β para fase α'' verificada na região elástica da liga ternária Ti25Ta25Nb. Essa transformação é caracterizada por um fenômeno conhecido como “duplo escoamento”. De acordo com Li et al. (2008) este fenômeno corresponde ao valor crítico da tensão necessária para transformar β em α'' e este efeito pode não ser benéfico durante o uso dessas ligas em aplicações que envolvem cargas, por exemplo, próteses. Para a liga quaternária a transformação ocorreu após a tensão de escoamento sendo que esse efeito foi também observado por Hanada et al. (2014) para a liga Ti33,6Nb4Sn, onde verificou que o estanho inibe a transformação da fase β em fase α'' . Uma queda na curva foi verificada para Ti25Ta25Nb3Sn durante o estudo e pode ser atribuído a deformação da fase α'' na região plástica.

As propriedades mecânicas tais como, limite de resistência a tração, módulo de elasticidade e tensão de escoamento da liga quando comparados com a literature para o titânio CP e a liga ternária podem ser observados na Tabela 1. Onde o módulo de elasticidade foi inferior ao titânio CP e levemente superior a liga ternária.

Figura 31 – Curvas tensão/deformação obtidas para a liga ternária Ti25Ta25Nb e a liga quaternária Ti25Ta25Nb3Sn.



O valor de microdureza nas condições de bruta fusão e homogeneização foram próximos, 196 HV e 210 HV, respectivamente. O ligeiro aumento verificado pode ser atribuído a recristalização dos grãos, com a mudança da estrutura dendrítica. É importante observar que esses valores são inferiores ao da liga NiTi que possui valores de dureza em torno de 280 HV de acordo com a literatura (Tabela 2).

Tabela 2 – Medidas de microdureza das amostras em cada condição

Microdureza		
Bruta de fusão	Homogeneizada	solubilizada
185 ± 6	210 ± 9	196 ± 8

4.3 RESISTÊNCIA À CORROSÃO

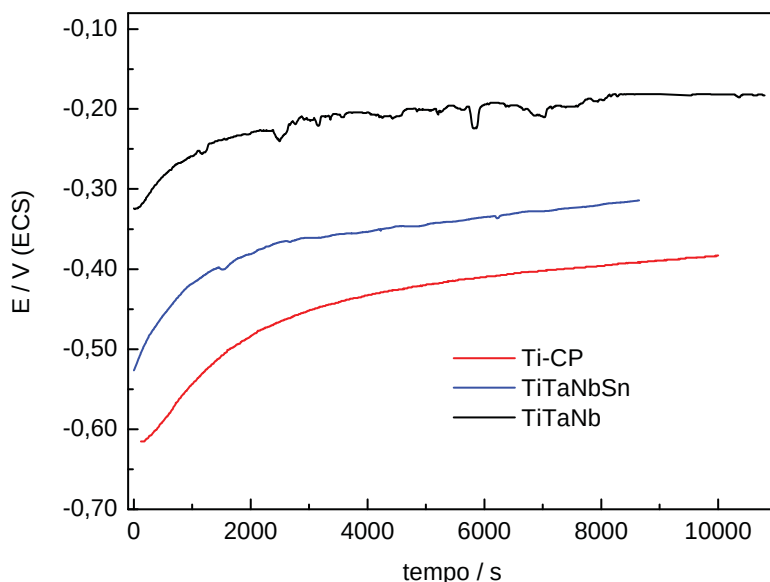
A liga Ti25Ta25Nb3Sn foi avaliada a fim de determinar sua resistência à corrosão em comparação com Ti CP e uma liga ternária Ti25Ta25Nb. Esta análise objetivou avaliar o comportamento da liga Ti25Ta25Nb3Sn frente à adição do elemento estanho (Sn) presente em sua constituição em um meio fluoretado.

Em 2001 Koibe et al. constaram no estudo sobre a resistência a corrosão de titânio puro em meios ácidos que quanto menor o pH do meio ao qual o material é submetido, maior é a tendência a dissolução deste material.

Este resultado foi confirmado por Castro et al. (2015) em seu trabalho sobre corrosão em fios ortodônticos, onde concluíram que em meios ácidos, principalmente contendo fluoretos, ocorre a aceleração no processo de corrosão dos metais e suas ligas.

Baseado em pesquisas anteriores (Rezende et al. 2008; Alves et al. 2004), no presente estudo foram realizados ensaios eletroquímicos como monitorização do potencial de circuito aberto (OCP) e análise de curvas de polarização empregando meio fluoretado. Na Figura 32, vemos as curvas obtidas de potencial de circuito aberto para os diferentes materiais. A liga Ti25Ta25Nb3Sn apresentou um valor intermediário de (OCP) dentre os materiais avaliados, com maior nobreza que o Ti CP, no entanto, menor nobreza que a liga Ti25Ta25Nb, caracterizando a seguinte sequência de nobreza: Ti CP < TiTa Nb Sn < TiTa Nb.

Figura 32 – Curvas de Potencial de Circuito Aberto (OCP) para liga quaternária Ti25Ta25Nb3Sn, liga ternária Ti25Ta25Nb e Ti CP em solução de NaCl 0,15 mol/L + NaF 0,03 mol/L, pH 6,0 a 37°C.

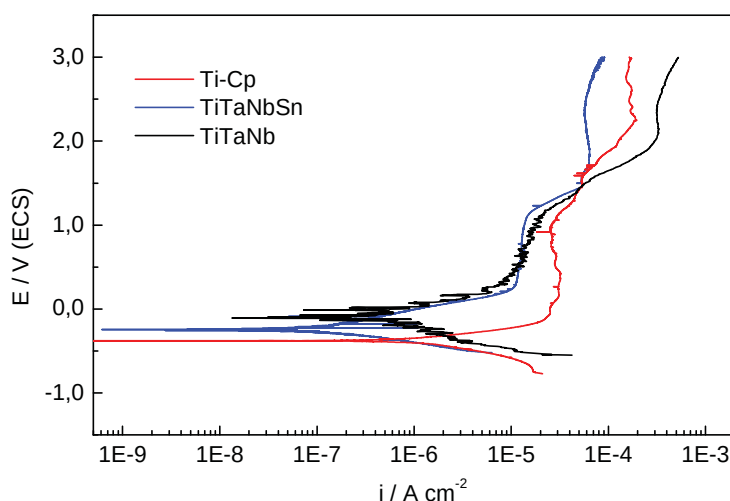


Podemos considerar que quanto mais positivo o valor de potencial de circuito aberto (OCP) mais nobre se caracteriza o material analisado. O fato do material ser mais nobre não significa, necessariamente, uma maior resistência a corrosão. O valor mais positivo de potencial de circuito aberto indica a formação de espécies mais estáveis, principalmente de óxidos de titânio, caracterizando uma melhor formação do filme passivo na superfície do material.

Esta melhora na formação e qualidade da camada de óxido de titânio foi avaliada recentemente por Wu et al. (2015), onde os autores concluíram que a adição do elemento estanho (Sn) promoveu a formação de uma camada passiva mais espessa e uniforme na superfície das ligas a base de titânio, mantendo uma maior estabilidade do material.

Por meio da análise do gráfico (Figura 33) das curvas de polarização para os materiais estudados, é possível determinar a densidade de corrente de corrosão (j_{corr}) de cada um deles, a qual é medida traçando linhas que tangenciam a região catódica ou anódica e interceptam a linha traçada no potencial de corrosão (E_{corr}).

Figura 33 – Curva de polarização potenciodinâmica para liga quaternária Ti25Ta25Nb3Sn, liga ternária TiTaNb e Ti CP em solução de NaCl 0,15 mol/L + NaF 0,03 mol/L, pH 6,0 a 37°C.



Podemos associar a densidade de corrente a velocidade com que o material sofre corrosão em determinado meio. A liga quaternária Ti25Ta25Nb3Sn apresenta menor valor de densidade de corrente de corrosão quando comparada com a liga ternária Ti25Ta25Nb e Ti CP.

Este menor valor de densidade de corrente de corrosão (j_{corr}) evidência que a liga quaternária, objetivo principal de nosso estudo, apresenta maior resistência à corrosão dentre os três materiais avaliados, liga quaternária Ti25Ta25Nb3Sn, liga ternária TiTa Nb e Ti CP. Consequentemente, tem uma menor velocidade de quebra da camada passiva a qual é formada por óxidos de titânio na superfície do material.

A liga Ti25Ta25Nb foi alvo do estudo de Bertrand et al.(2010) revelando baixas taxas de densidade de corrosão (j_{corr}) o que caracteriza este material como muito estável. Esta liga apresentou maior resistência a corrosão quando comparada ao titânio CP. As taxas de corrosão e consequente liberação de íons foram mais baixas para a liga Ti25Ta25Nb do que para o Ti CP, e os elementos tântalo (Ta) e nióbio (Nb) apresentam os mesmos efeitos benéficos.

Guo et al. (2012) confirmaram que a presença do estanho (Sn) estabiliza uma maior quantidade de fase β na liga Ti65Ta(35-x)Sn ($x=0,1,3,5$), com consequente melhora na resistência a corrosão devido à diminuição da densidade de corrente (j_{corr}) do material. Neste mesmo estudo foi constatado que ocorre a formação de uma dupla camada de óxido na liga TiTa estudada.

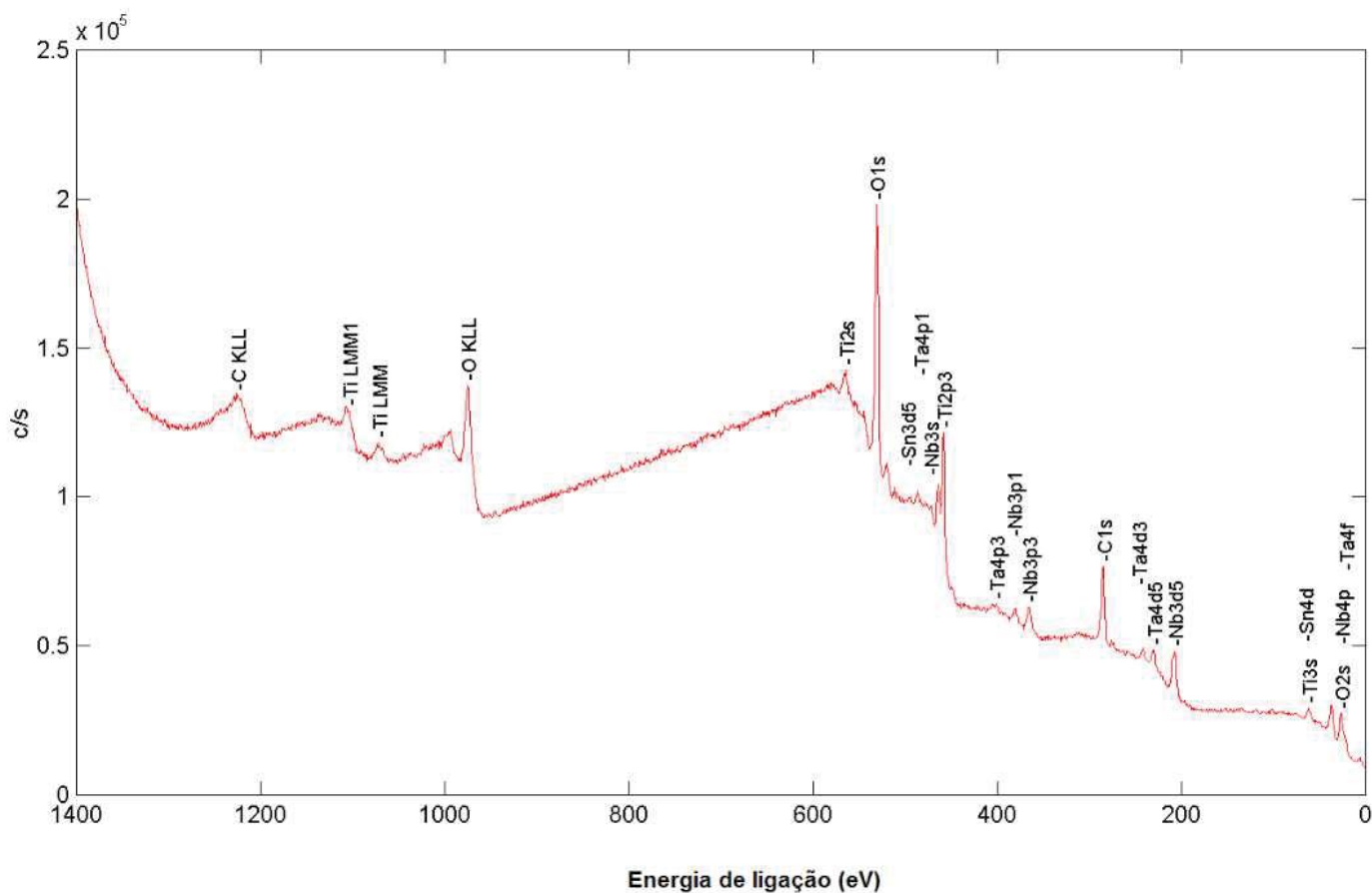
Todas estas características demonstram que ligas contendo elementos com titânio (Ti), tântalo (Ta), e nióbio (Nb) são realmente promissoras para utilização a longo prazo como material biomédico. Somado a estes elementos (Ti, Ta e Nb) o elemento estanho (Sn) contribui para a melhoria das propriedades de corrosão das ligas a base de titânio evidenciando que ligas quaternárias contendo os elementos (Ti,Ta,Nb e Sn) podem sinalizar o futuro dos biomateriais.

Tabela 03 - Valores dos parâmetros eletroquímicos E_{OC} , E_{corr} , j_{corr} , j_{pass} obtidos para o Ti CP, TiTa Nb Sn e TiTa Nb, em solução de NaCl 0,15 mol/L + NaF 0,03 mol/L a $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

	E_{OC} (V)	E_{corr} (V)	j_{corr} (A/cm ²)	j_{pass} (A/cm ²)
Ti CP	-0,39	-0,38	$1,4 \times 10^{-6}$	$2,6 \times 10^{-5}$
TiTa Nb Sn	-0,31	-0,24	$1,9 \times 10^{-7}$	$1,3 \times 10^{-5}$
TiTa Nb	-0,18	-0,13	$6,7 \times 10^{-7}$	$1,4 \times 10^{-5}$

A composição química dos óxidos formados na superfície da liga Ti25Ta25Nb3Sn foi caracterizada empregando análise de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X. O espectro XPS (Espectrometro de Fotoelétrons excitados por Raios X) obtido é mostrado na Figura 34. Os sinais dominantes são Ti, O, Ta e Nb com pouca contribuição do Sn. Dessa forma a superfície da amostra exibiu os elementos formadores da liga além de impurezas como C e N.

Figura 34 - Análise de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X da liga Ti25Ta25Nb3Sn.



O espectro de alta resolução do pico do Ti 2p (Figura 35) mostra que a superfície do óxido é formada principalmente pelos picos de TiO_2 não sendo verificada a presença dos subóxidos Ti_2O_3 e TiO . O espectro do Ti2p foi decomposto na forma Ti^{4+} indicando a predominância de TiO_2 sendo que titânio na forma metálica não foi detectado. A superfície também é formada por Nb_2O_5 com valores de energia de ligação de 207,38 eV e 210,10 eV (Figura 36).

Na figura 37 o espectro da região Ta 4f indica a presença de Ta_2O_5 com valores de energia de ligação de 26,31 eV e 28,22 eV. Os mesmos valores foram observados por Textor et al. (2000) e Milosev et al. (2013). Os mesmos óxidos foram observados por Cimpean et al. (2012) no estudo da liga ternária Ti25Ta25Nb. Esses valores foram verificados por Romero et al. (2003), e Ghicov et al., (2006) (Figura 38).

Figura 35 – Espectro de XPS do titânio

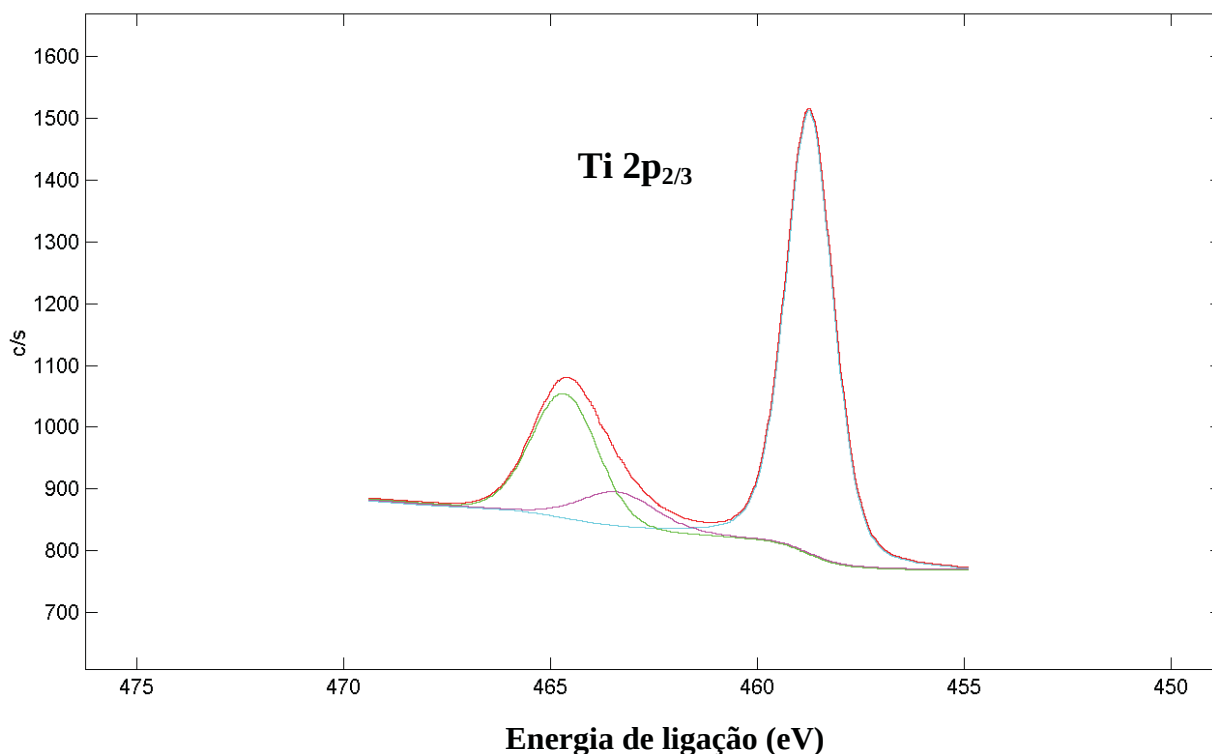


Figura 36 – Espectro de XPS do oxigênio

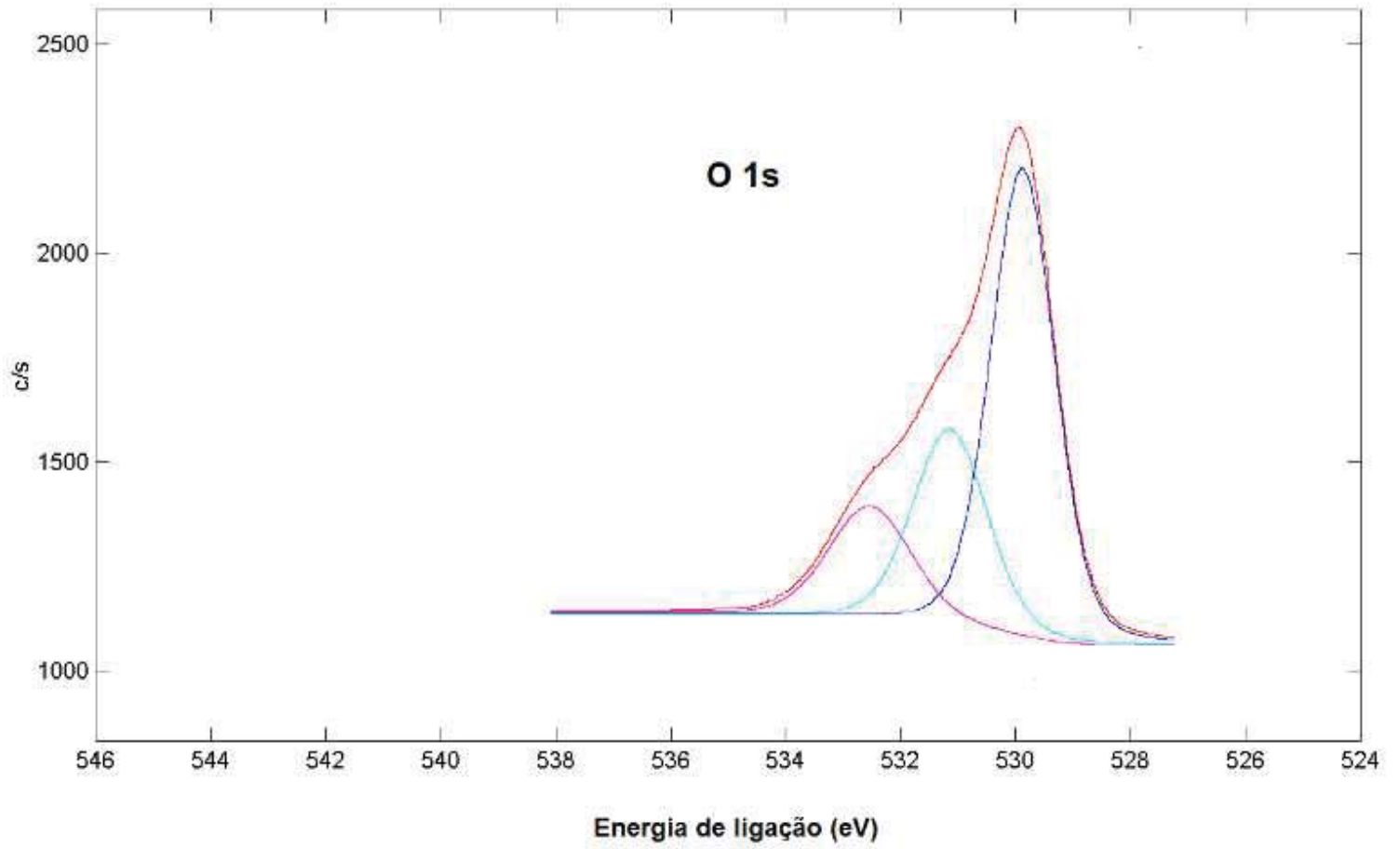


Figura 37 – Espectro de XPS do tântalo

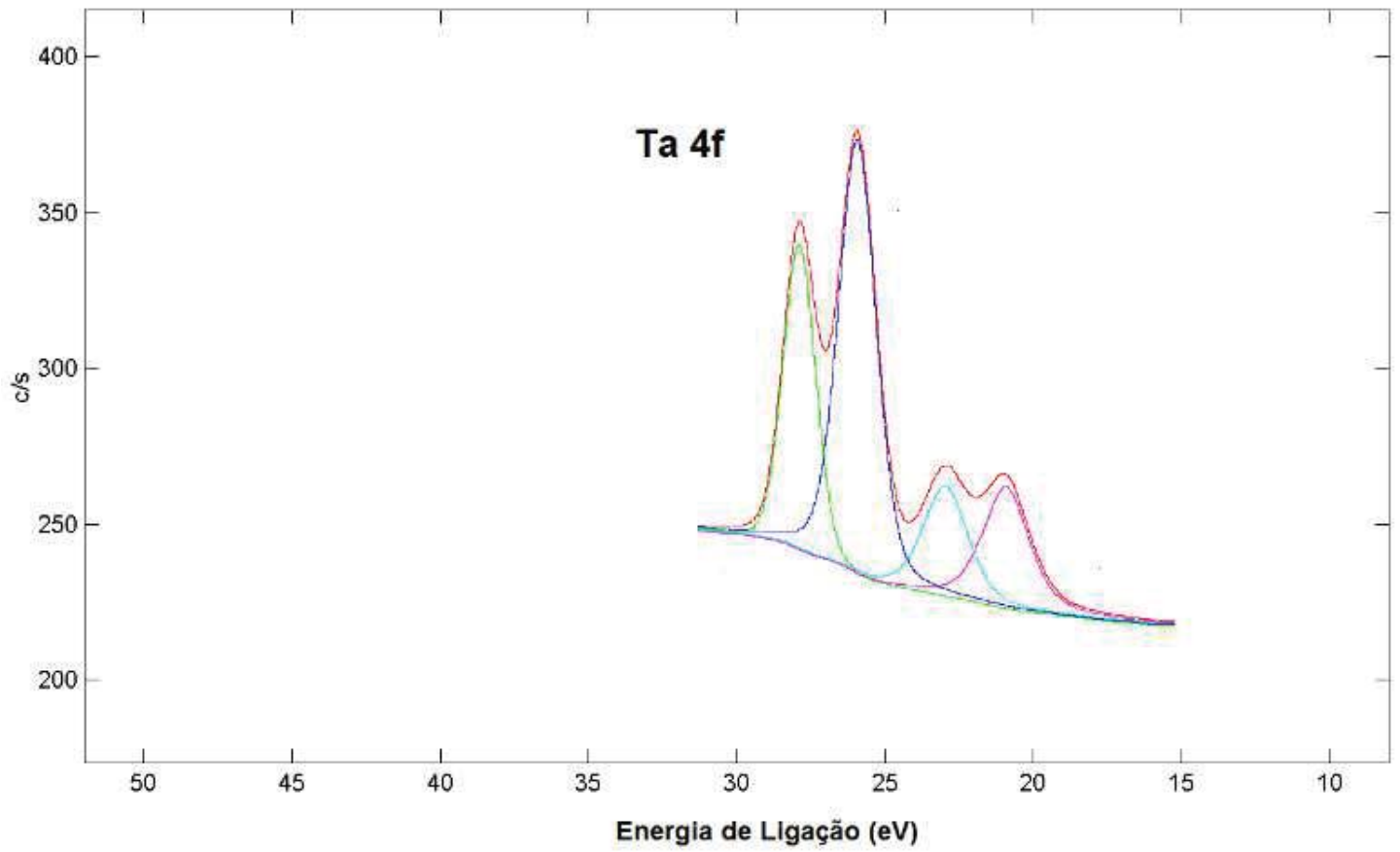
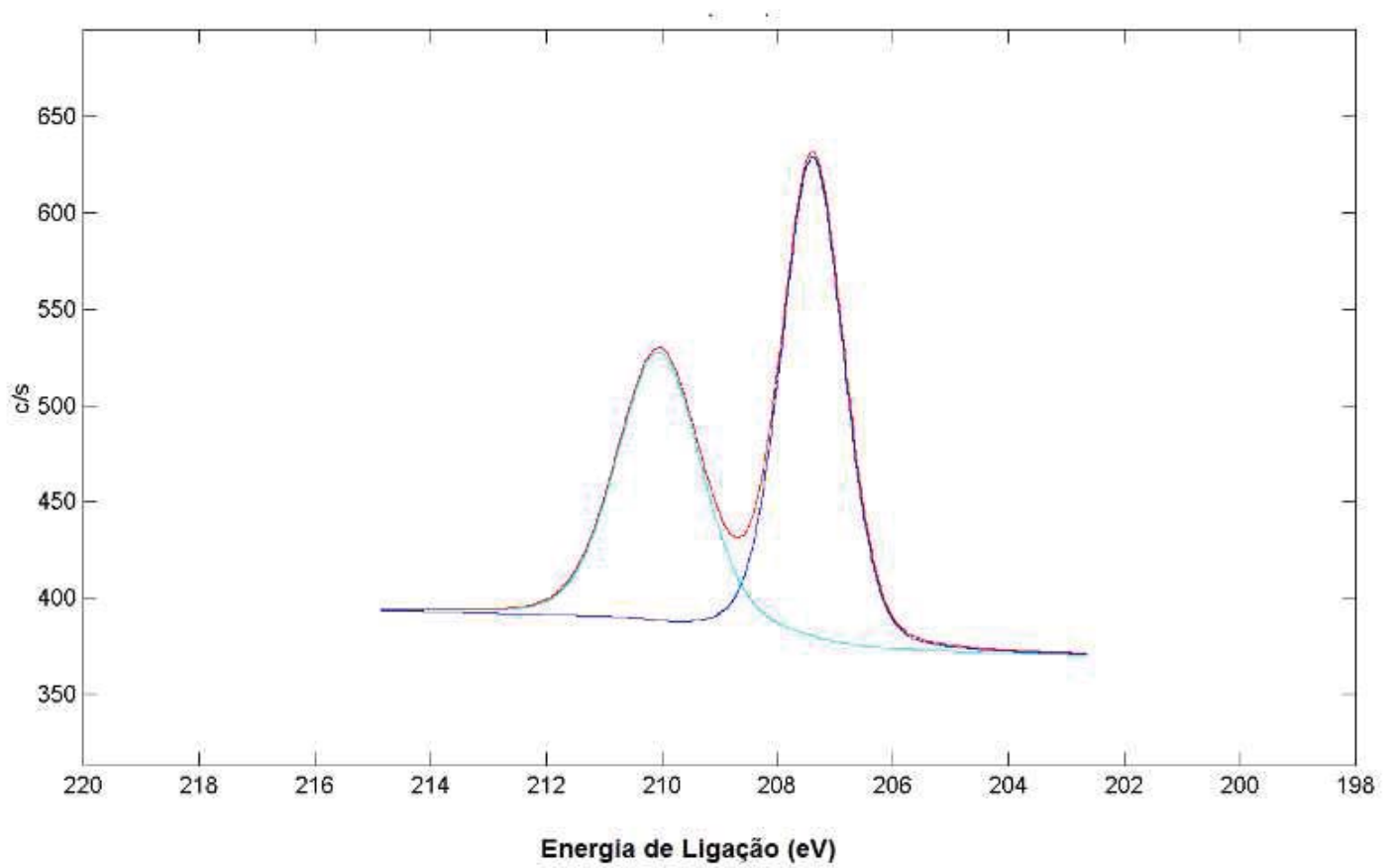


Figura 38 – Espectro de XPS do nióbio



Na Tabela 04 é possível observar as energias de ligação dos elementos presentes na superfície da liga. A ausência da presença de elementos metálicos evidencia a formação de uma camada de óxido mais espessa, uma vez que as camadas mais profundas de metal não são captadas pelo espectrometro de fotoelétrons excitados por Raios X (XPS).

Tabela 4 - Energia de ligação (eV) para os diferentes elementos

	Energia de ligação (eV)
Ti 2p _{3/2}	458,71
	464,49
O 1s	530,19
	531,23
	532,94
Ta 4f	26,31
	28,22
Nb 3d	207,38
	210,10

4.4 AVALIAÇÃO DA CITOTOXIDADE

A citotoxicidade da liga Ti25Ta25Nb3Sn foi avaliada em relação a viabilidade, morfologia e diferenciação, capacidade de adesão e proliferação celular de células dérmicas humanas (Human Dermal fibroblast) – fibroblastos.

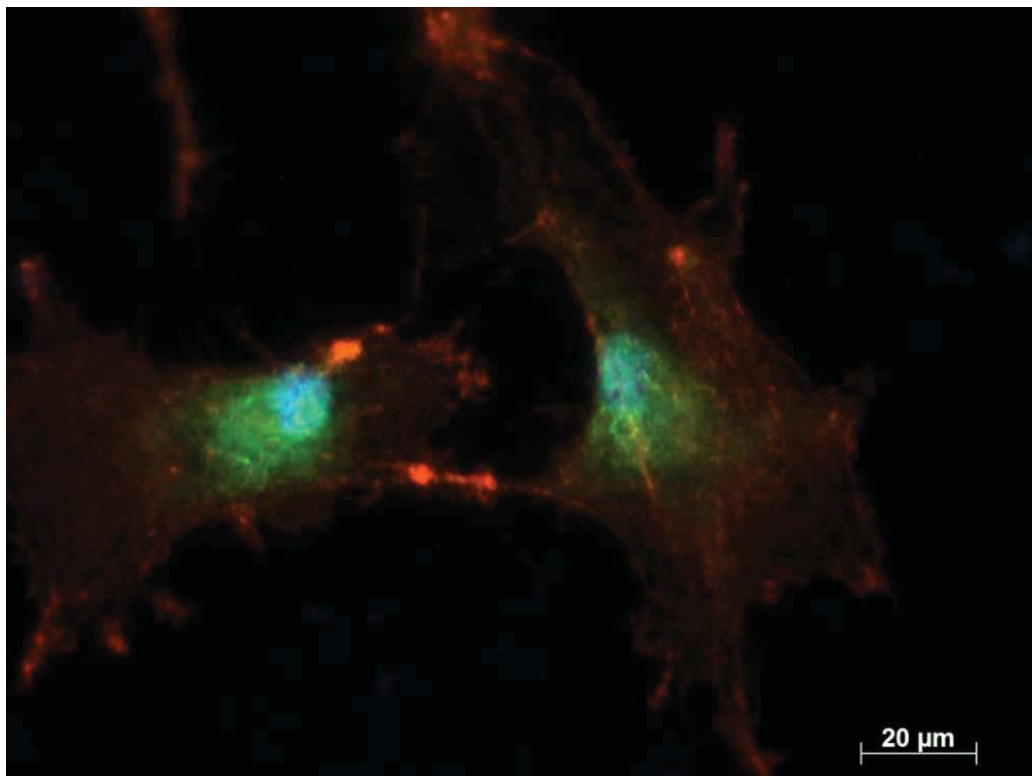
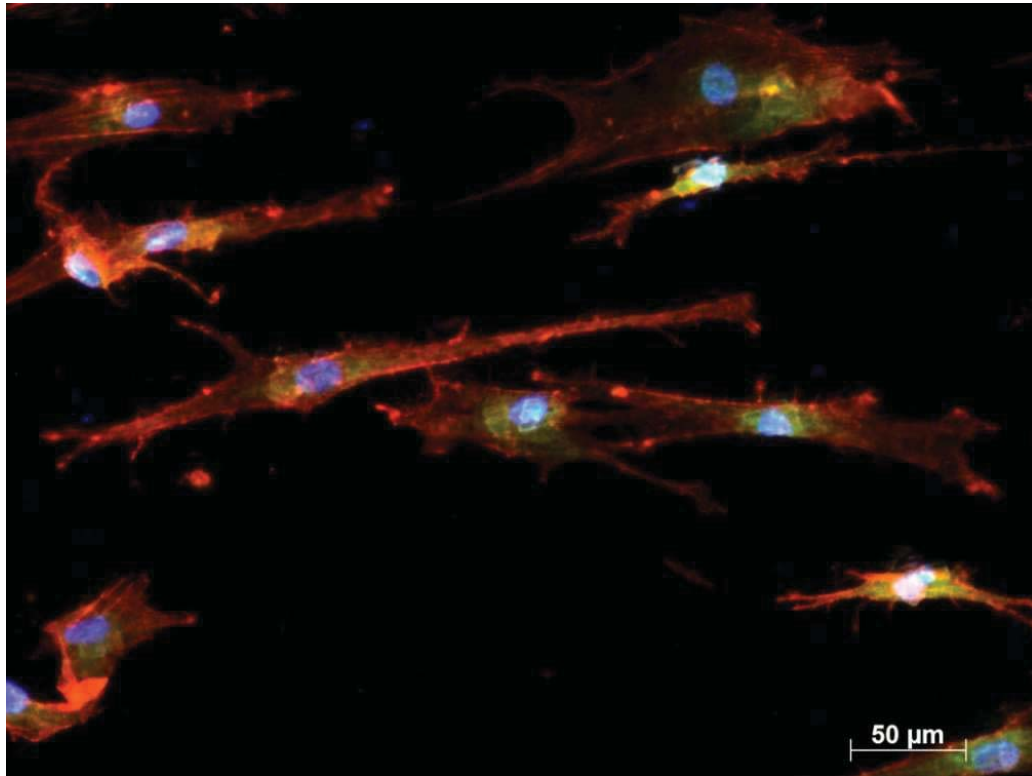
Nas Figuras 39, 40 e 41 é possível observar a proliferação dos fibroblastos na superfície da liga após 1 dia, 4 dias e 7 dias de cultura celular. É possível observar um aumento da quantidade de células aderidas após o aumento do número de dias de cultura.

Nas imagens de MEV (Figura 42) foi observada a morfologia das células fibroblásticas e o resultado indica um aumento considerável na interação de fibroblastos com o material devido a presença de células cobrindo toda sua superfície.

Estudos anteriores de nosso grupo (CAPELLATO et al., 2012) relatam que apenas células integras conseguem degradar o MTT pela ação metabólica das enzimas mitocondriais, reforçando a idéia de que o aumento nesta degradação caracteriza uma proliferação de células no material, demonstrando sua não citotoxicidade.

A reprodução e funcionalidade das células é intimamente ligada a capacidade do citoesqueleto se reorganizar, consequentemente o alongamento deste mostrado por meio da imunofluorescência evidencia sua capacidade de reorganização (SMITH et al., 2011; CAPELLATO et al., 2012).

Figura 39 - Imunofluorescência de fibroblastos semeados na superfície da liga Ti25Ta25Nb3Sn após 1 dia de cultura (adesão celular foi observada).



A observação da superfície do material demonstrando a proliferação dos fibroblastos com alongamento destas células evidenciando uma boa resposta celular em relação ao material estudado, caracterizando sua biocompatibilidade. O alongamento do citoesqueleto indica maior proliferação, comunicação e integração celular na superfície.

Figura 40 – Imunofluorescência de fibroblastos semeados na superfície da liga Ti-25Ta-25Nb-3Sn após 4 dias de cultura (adesão celular foi observada)

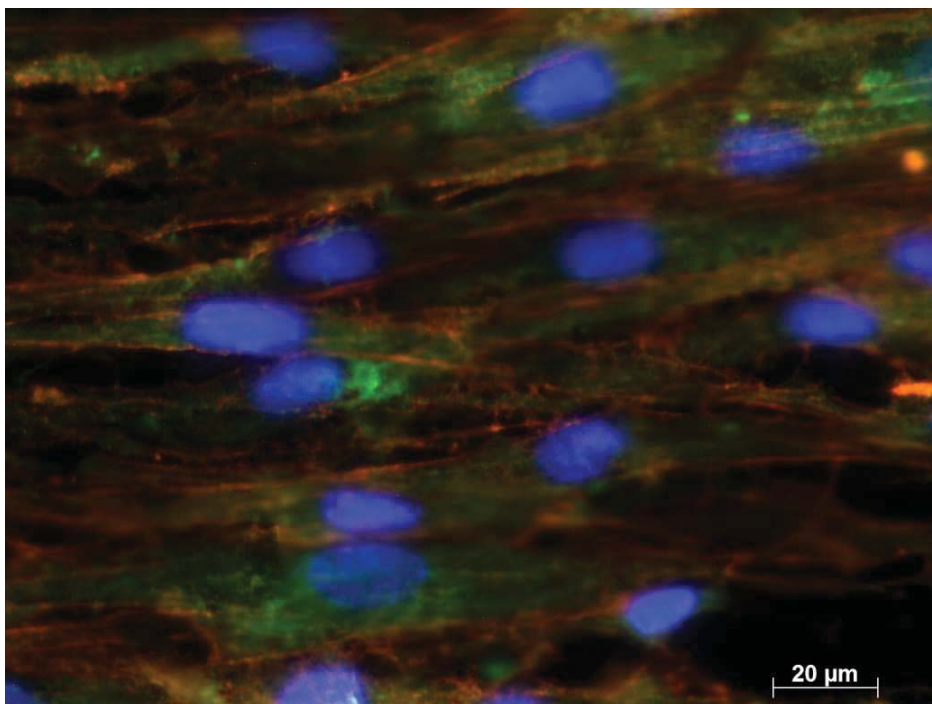
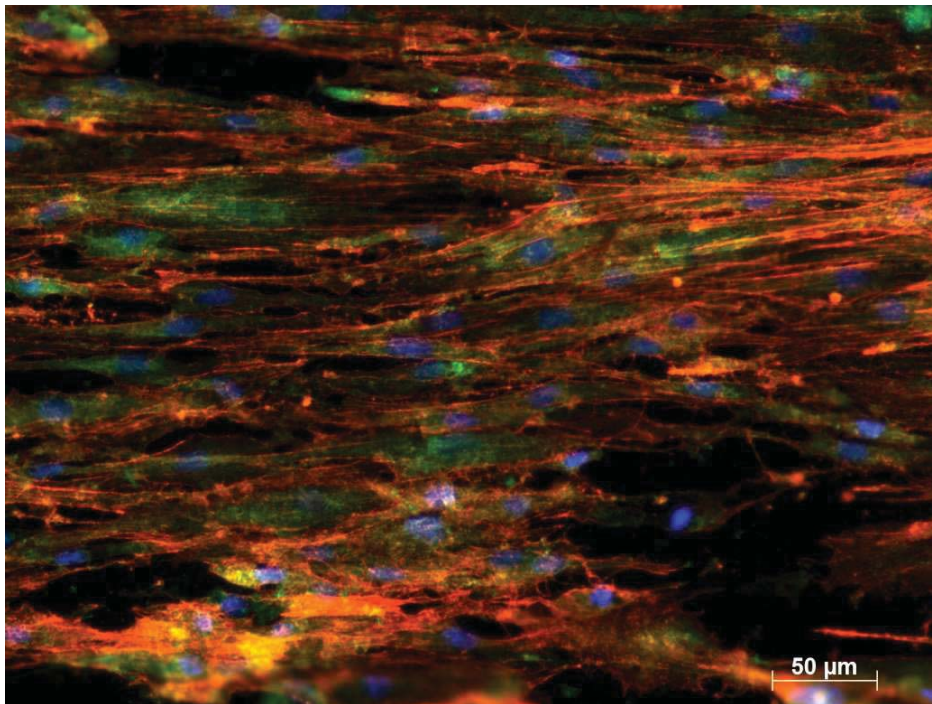


Figura 41 - Imunofluorescência de fibroblastos semeados na superfície da liga Ti-25Ta-25Nb-3Sn após 7 dias de cultura (adesão celular foi observada).

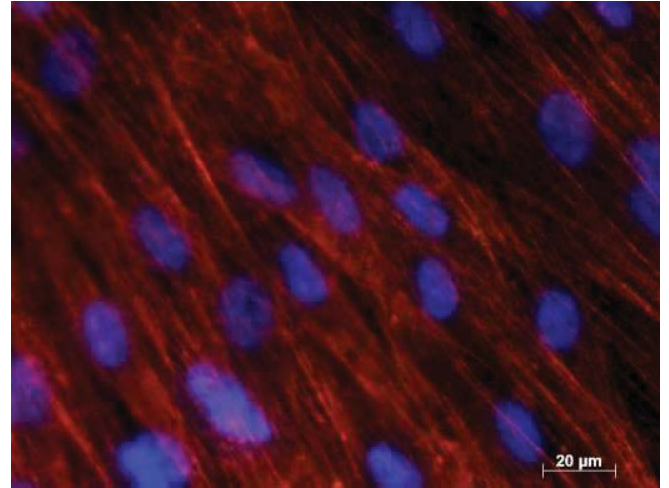
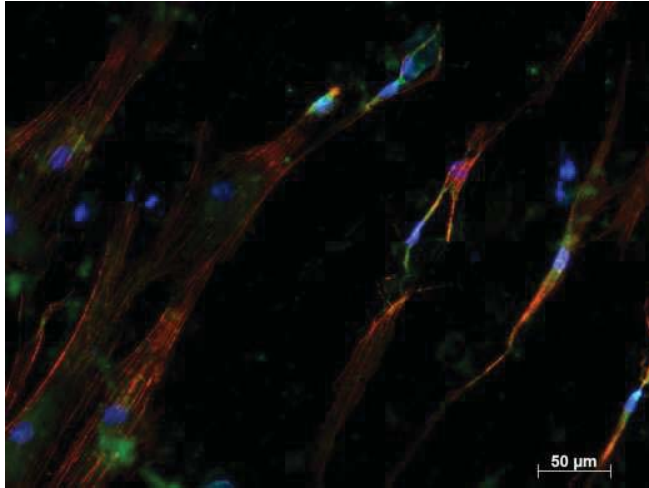
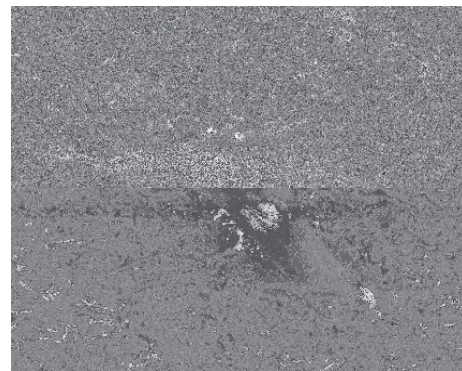
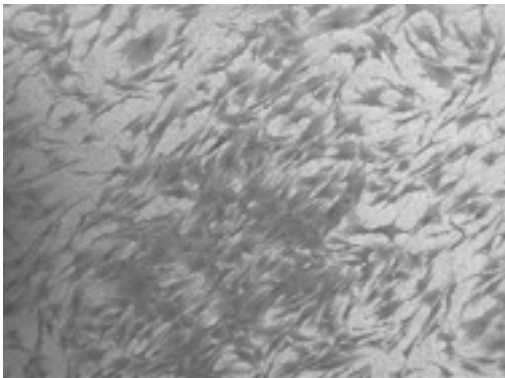
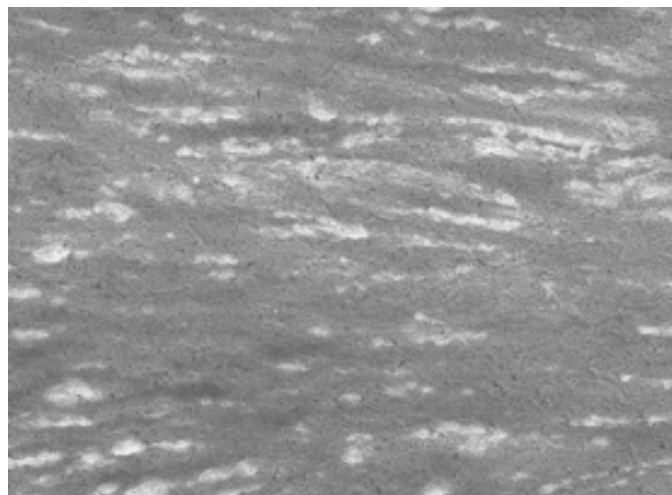


Figura 42 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Dia 1



Dia 7

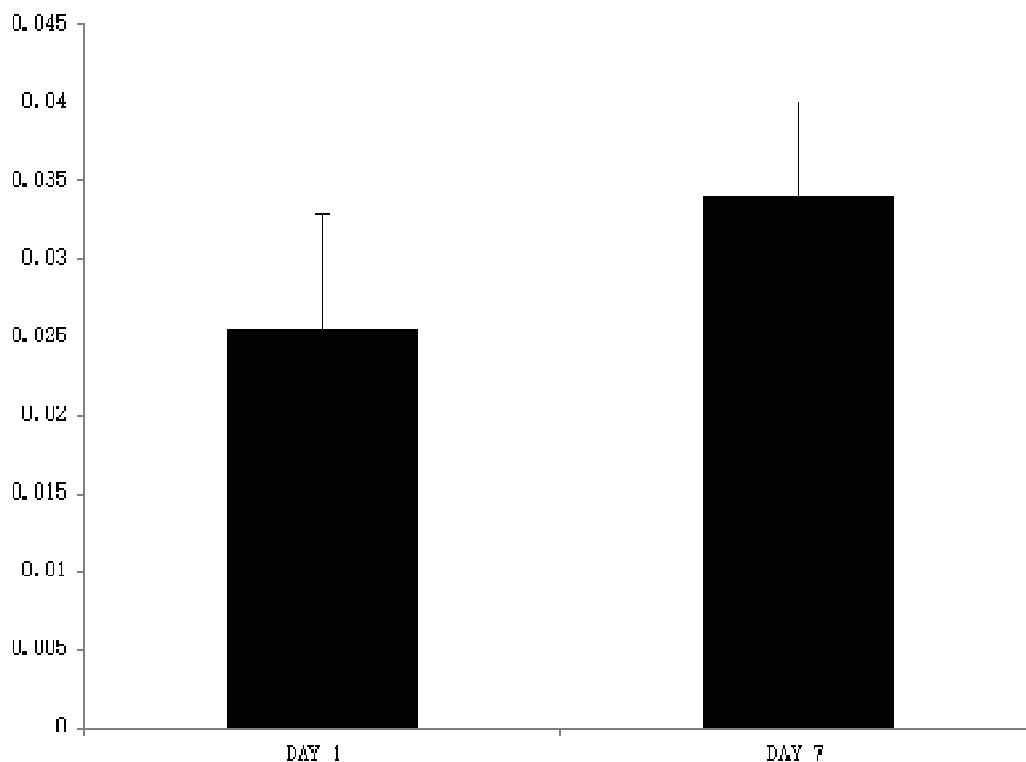


Em métodos de cultura de células as alterações morfológicas como aumento do núcleo e citoplasma são evidências da biocompatibilidade do material. A capacidade da célula em absorver um corante e sua adesão a superfície do material são também considerados um sinal de boa compatibilidade.

No teste MTT apenas células que apresentam funcionalidade normal expressaram atividade mitocondrial eficiente para transformar o Metiltiazol tetrazólio (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) em formazan (PIZZOFERRATO et al., 1993).

Este teste é amplamente utilizado para medir a viabilidade celular e a compatibilidade entre células e biomateriais segundo Ciapetti et al (1992). O resultado do teste durante o período de 1 e 7 dias (Figura 43) confirmou adesão celular na superfície do material com um aumento significativo na viabilidade celular indicando uma relação positiva na integração entre fibroblastos e a superfície da liga Ti25Ta25Nb3Sn. Segundo Smith et al. (2011) uma maior atividade metabólica mitocondrial tem relação direta com o número de células vivas.

Figura 43 – Teste MTT após 1 e 7 dias de cultura de células HDF



5 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que a liga Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn pode ser utilizada em aplicações biomédicas, incluindo as odontológicas. Ela exibiu propriedades mecânicas, tais como alta resistência mecânica e baixo módulo de elasticidade requeridas para esta finalidade.

A adição de estanho (Sn) inibe o “duplo escoamento” verificado na região elástica da liga ternária Ti₂₅Ta₂₅Nb, efeito considerado benéfico na liga quaternária Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn, por apresentar um único valor de módulo de elasticidade, principalmente em aplicações que envolvem cargas, por exemplo, implantes.

Estudos eletroquímicos mostraram que uma película estável de óxido passivo foi formado sobre a superfície da liga Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn conferindo proteção ao material.

Os ensaios MTT comprovaram a não-toxicidade deste material caracterizada pelo aumento da atividade celular em função do tempo.

6 TRABALHOS FUTUROS

Buscando dar continuidade a esse estudo será avaliado o efeito memória de forma da liga quaternária Ti₂₅Ta₂₅Nb₃Sn e sua aplicabilidade como biomaterial em diversas áreas médicas e industriais.

REFERÊNCIAS

- ABEDINI, M. et al. **Effect of phase transformation on the wear behavior of niti alloy.** Journal Of Engineering Materials And Technology. v. 132, n. 3, p. 031010, 2010.
- AL-MAYOUF, A.M., et al. **Corrosion behavior of a new titanium alloy for dental implant applications in fluoride media.** Materials Chemistry and Physics. v.86, n.2-3, p.320-29 Aug. 2004.
- AL-ZAIN, A. et al. **Shape memory properties of Ti-Nb-Mo biomedical alloys.** Acta Materialia. v. 58, p.4212-4223, 2010.
- ANDERSON, C. et al. **Corrosion Resistant Titanium Alloys for Medical Tools and Implants.** J Powder Metall Min. v. 2, n. 110, p. 2, 2013.
- ANKEM, S. e GREENE, C.A. **Recent developments in microstructure/property relationships of beta titanium alloys.** Materials Science and Engineering A., v. 263, n. 2, p. 127-131, Maio 1999.
- ARCINIEGAS, M. et al. **New Ni-free superelastic alloy for orthodontic applications.** Materials Science and Engineering. v. 33, n. 6, p. 3325-3328, 2013.
- ARTICOLO, L.C., KUSY, R.P. Influence of angulation on the resistance to sliding in fixed appliances. [American Journal Orthodontics Dentofacial and Orthopedics](#). USA, v.115, p.39-51, 1999.
- BAUMANN, M.A. **Nickel–titanium: options and challenges.** The Dental Clinics of North America, v. 48, p.55-67, 2004.
- BAYRAMOGLU, G. et al. The effect of pH on the corrosion of dental metal alloys. **Journal of Oral Rehabilitation**, v.27, p. 563-575, 2000.

BANERJEE, S.; HEMRAJ BHENNY, T.; WONG, S. S. **Covalent surface chemistry of single-walled carbon nanotubes**. *Advanced Materials*, v. 17, n. 1, p. 17-29, 2005.

BERTRAND, E. et al. **Synthesis and characterisation of a new superelastic Ti-25Ta-25Nb biomedical alloy**. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, v. 3, n. 8, p. 559-564, 2010.

BERTRAND, E.; CASTANY, P.; GLORANT, T. **Investigation of the martensitic transformation and the damping behavior of a superelastic Ti-Ta-Nb alloy**. *Acta Materialia*, v. 61, n. 2, p. 511-518, 2013.

BIESIEKIERSKI, A. et al. **A new look at biomedical Ti-based shape memory alloys**. *Acta biomaterialia*, v. 8, n. 5, p. 1661-1669, 2012.

CAPELLATO, P. et al. **Fibroblast functionality on novel Ti 30Ta nanotube array**. *Materials Science and Engineering: C*, v. 32, n. 7, p. 2060-2067, 2012.

CHEN, QIZHI e THOUAS, G. A. **Metallic implant biomaterials**. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, v. 87, p. 1-57, 2015.

CIAPETTI, G. et al. **In vitro evaluation of cell/biomaterial interaction by MTT assay**. *Biomaterials*, v. 14, n. 5, p. 359-364, 1993.

CIMPEAN, A. et al. **Osteoblast cell behavior on the new beta-type Ti-25Ta-25Nb alloy**. *Materials Science and Engineering: C*, v. 32, n. 6, p. 1554-1563, 2012.

DONACHIE Jr., M. J. **Titanium a technical guide**. ASM International. 1989.

DUTKIEWICZ, J. et al. **Microstructure and mechanical properties of nanocrystalline titanium and Ti-Ta-Nb alloy manufactured using various deformation methods**. *Physica Status Solidi (a)*, v. 202, n. 12, p. 2309-2320, 2005.

EISENBARTH, E. et al. **Biocompatibility of β -stabilizing elements of titanium alloys.** Biomaterials. v 25,p. 5705-5713, 2004.

EL MEDAWAR, L. et al. **Electrochemical and cytocompatibility assessment of Nitinol-memory shape alloy for orthodontic use.** Biomolecular Engineering, Amsterdam, v.19, n.2-6, p.153-160, 2002.

ELIADES, T. et al. **Characterization and cytotoxicity of ions released from stainless steel and nickel-titanium orthodontics alloys.** American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, USA, v. 125, n.1, p.24-9, 2004.

FIGUEIRA N., et al. Corrosion behaviour of NiTi alloy. **Electrochimica Acta**, v.54, p. 921–926, 2009.

GALL, K. et al. Effect of microstructure on the fatigue of hot - rolled and cold - drawn NiTi shape memory alloys. **Materials Science and Engineering A**. v. 486, p. 389 – 403, 2008.

GEETHA, M. et al. **Corrosion and microstructural aspects of titanium and its alloys as orthopadeic devices.** Corrosion Reviews Special Issue, v. 21, n. 2 - 3, p. 125 - 159, 2003.

GERKE, L. et al. **Adhesion and elasticity of plasma deposited wear resistant a-C:H coatings on nickel–titanium.** Surface and Coatings Technology, v.203, n.20-21, p.3214-3218, julho 009.

GHERSEL, H. **Relação entre força e deflexão na ativação e desativação de fios ortodônticos de NiTi.** Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, Tese de doutorado, 2005.

GIL, F.J.; PLANELL, J.A. **Shape memory alloys for medical applications.** [Proceedings Institution of Mechanical Engineers](#), London. v. 212 , part H, p.473-488, 1998.

GÓMEZ-FLORIT, M. et al. **Differential response of human gingival fibroblasts to titanium and titanium-zirconium modified surfaces.** Journal of periodontal research. v. 49, n. 4, p. 425-436, 2014.

GUO, B. et al. **Effect of Sn addition on the corrosion behavior of Ti-Ta alloy.** Materials and Corrosion, v. 63, n. 3, p. 259-263, 2012.

GURGEL, J. A., RAMOS, A.L., KERR, S.D. **Fios Ortodônticos.** Revista DentalPress Ortodontia Ortopedia Facial. Maringá, v. 6, n. 4, p. 103-114, jul.- ago. 2001.

HANAWA, T. **Metal ion release from metal implants.** Materials Science and Engineering C. v.24, p.745-752, 2004.

HAO, Y. L. et al. **Elastic deformation behaviour of ti-24nb-4zr-7.9 sn for biomedical applications.** Acta biomaterialia, v. 3, n. 2, p. 277-286, 2007.

HEBING, C.; FRENZEL, J.; SHABALOVSKAYA, S. **Effect of martensitic transformation on the performance of coated NiTi surfaces.** Materials Science and Engineering A. v.486, p. 461-469, 2008.

IKEDA, M. et al. **Aging behavior of the Ti-29Nb-13Ta-4,6Zr new beta alloy for medical implansts.** Metallurgical and Materials Transactions A. v. 33A , p. 487-493, 2002.

JANI, J.M; LEARY, M.; SUBIC, A.; GIBSON, M.A. **A review of shape memory alloy research, applications and opportunities.** Materials and Design. v. 56, p. 1078-1113, 2014.

JUANITO, G. M. P. et al. **Effect of Fluoride and Bleaching Agents on the Degradation of Titanium: Literature Review.** Dentistry. v. 5, n. 273, p. 2161-1122.100027, 2015.

KANEKO K. at al. **Degradation in performance of orthodontic wires caused by hydrogen absorption during short-term immersion in 2.0% acidulated phosphate fluoride solution.** The Angle Orthodontist. USA. v.74, n.4, p. 487-95, ago. 2004.

KAYNAK, Y. et al. **The effects of machining on the microstructure and transformation behavior of NiTi alloy.** Scripta Materialia. v. 74, p. 60-63, 2014.

KIKUCHI, M. et al. **Mechanical properties and microstructures of cast Ti-Cu alloys.** Dental Materials. v. 19, n. 3, p. 174-181, 2003.

KOIKE, Marie e FUJII, Hiroyuki. **The corrosion resistance of pure titanium in organic acids.** Biomaterials, v. 22, n. 21, p. 2931-2936, 2001.

KULKARNI, M. et al. **Biomaterial surface modification of titanium and titanium alloys for medical applications.** Nanomedicine, v. 111, p. 111, 2014.

KURODA, D. et al. **Design and mechanical properties of new α type titanium alloys for implant materials.** Materials Science and Engineering. A243, p. 244-249, 1998.

KUSY, R.P., **Ongoing innovations in biomechanics and materials for the new millennium.** The Angle Orthodontist. v.117, p.366-376, 2000.

KUSY, R.P. e WHITLEY, J.Q., **Influence of archwire and bracket dimension on sliding mechanics: derivation and determinations of the critical contact angle for binding.** European Journal of Orthodontist. v.21, p.199-208b, 1999

LI, S. J. et al. (2008). **Fatigue properties of a metastable β -type titanium alloy with reversible phase transformation.** Acta Biomaterialia, 4(2), 305-317

LIN, F. H., HSU, Y. S., LIN, S. H., SUN. J. S. **The effect of Ca/P concentration and temperature of simulated body fluid on the growth of hydroxyapatite coating on alkali-treated 316L stainless steel.** Biomaterials. Bruxelas, v. 23, n. 19, p. 4029–4038, out. 2002.

LIU, Y. et al. **Influence of calcium phosphate crystal assemblies on the proliferation and osteogenic gene expression of rat bone marrow stromal cells.** Biomaterials. Bruxelas, v. 28, n. 7, p. 1393-1403, mar.2007.

MANTOVANI, D. **Shape Memory Alloys: Properties and Biomedical Applications**. JOM. p. 36-44, outubro 2000.

MCMAHON, R.E. et al. **A comparative study of the cytotoxicity and corrosion resistance of nickel–titanium and titanium–niobium shape memory alloys**. Acta biomaterialia, v. 8, n. 7, p. 2863-2870, 2012.

MIURA, K.; NORIKAZU, Y.; HANADA, S.; JUNG, T. ITOI, E. **The bone tissue compatibility of a new Ti-Nb-Sn alloy with a low Young's modulus**. Acta Biomaterialia. v. 7, p. 2320-2326, 2011.

MIYAZAKI, S.; OTSUKA, K.; WAYMAN, C. M.; **Medical and dental applications of shape memory alloys**. Cambridge: Cambridge University Press. (1999) .

MOSMANN, Tim. **Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays**. Journal of immunological methods. v. 65, n. 1, p. 55-63, 1983.

NEACSU, P. et al. **In vitro performance assessment of new beta ti–mo–nb alloy compositions**. Materials Science And Engineering: C. V. 47, P. 105-113, 2015.

NIINOMI, M. **Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications**. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, v. 1, n. 1, p. 30-42, 2008.

PATHAK, A. et al. **Orthorhombic martensitic phase in Ti–Nb alloys: A first principles study**. Computational Materials Science, v. 83, p. 222-228, 2014.

PÉRTILE, L.B. **Caracterização mecânica e eletroquímica in vitro e in vivo da liga NiTi**. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Dissertação de Mestrado, 2005.

PETRINI, L.; MEGLIAVACCA, F. **Biomedical applications of shape memory alloys.** Journal of Metallurgy. v. 2011, 15 p., 2011.

PIZZOFERRATO, Arturo et al. **Cell culture methods for testing biocompatibility.** Clinical materials. v. 15, n. 3, p. 173-190, 1994.

POPA, M. et al. **Structural Analysis, Electrochemical Behavior, and Biocompatibility of Novel Quaternary Titanium Alloy with near β Structure.** Metallurgical and Materials Transactions A. v. 45, n. 7, p. 3130-3143, 2014.

RAHILLY, G. e PRICE, N. **Nickel allergy and orthodontics.** Journal of Orthodontics. Oxford, v.30, n.2, p.171-74, jun. 2003.

RATNER, Buddy D.; BRYANT, Stephanie J. **Biomaterials: where we have been and where we are going.** Annu. Rev. Biomed. Eng. v. 6, p. 41-75, 2004.

REIS e ELIAS. **Ligas de NiTi com superelasticidade e memória de forma.** Revista Brasileira de Odontologia. v. 58, n. 5, p. 300-304, set.-out. 2001

ROSALBINO, F. et al. **In vitro corrosion behaviour of ti-nb-sn shape memory alloys in ringer's physiological solution.** Journal Of Materials Science: Materials In Medicine. V. 23, N. 4, P. 865-871, 2012.

ROSVALL, M. D. et al. **Attractiveness, acceptability, and value of orthodontic appliances.** American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. v. 135, n. 3, p. 276. e1-276. e12, 2009.

RYHÄNEN, J. **Biocompatibility evaluation of nickel-titanium shape memory alloy.** 1999. 117f. Academic Dissertation- Departament of Surgery - Faculty of Medicine, University of Oulu. Finland.1999.

SAKAMOTO, H. et al. **Improvement in brittleness of amorphous Fe-Si-BC alloy ribbons by controlling casting conditions.** Materials Science and Engineering: A. v. 206, n. 1, p. 150-153, 1996.

SANTORO, M., BESHES, D.N. **Nickel-titanium alloys: Stress-related temperature transitional range.** American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. v. 118, n. 6, p. 685-692, dec. 2000.

SMITH, B. S. et al. **Dermal fibroblast and epidermal keratinocyte functionality on titania nanotube arrays.** Acta biomaterialia, v. 7, n. 6, p. 2686-2696, 2011.

STEINEMANN, S.G. **Titanium – the material of choice?** Periodontology 2000 17: 7–21, 1998.

SUI, J.H. et al. **DLC films fabricated by plasma immersion ion implantation and deposition on the NiTi alloys for improving their corrosion resistance and biocompatibility.** Materials Science and Engineering A. v. 454 – 455, p. 472 – 476, 2007.

SUI, J.H. e CAI, W. **Effect of diamond-like carbon (DLC) on the properties of the NiTi alloys.** Diamond and Related Materials. v.15, n.10, p. 1720–1726, outubro 2006.

SUI, J.H.; CAI, W., LIU, L.H.; C, ZHAO, L.C. **Surface characteristics and electrochemical corrosion behavior of NiTi coated with diamond-like carbon.** Materials Science and Engineering A, v. 438–440, p. 639–642, 2006.

TAKAHASHI, E. et al. **Effect of heat treatment and Sn content on superelasticity in biocompatible TiNbSn alloys.** Materials Transactions. v, 43, n. 12, p. 2978 - 2983, 2002.

TARNITĂ, D. et al. **Properties and medical applications of shape memory alloys.** Romanian Journal of Morphology and Embryology. v.50, n.1, p. 15–21, 2009.

THOMPSON, S.A. **An overview of nickel–titanium alloys used in dentistry.** International Endodontic Journal, v.33, n.4, p. 297–370, julho 2000.

TOKER, S.M. et al. **Evaluation of passive oxide layer formation–biocompatibility relationship in NiTi shape memory alloys: Geometry and body location dependency.** Materials Science and Engineering C. v. 36, p. 118–129, 2015.

TONG, Y.X. et al. **Effects of Sn and Zr on the microstructure and mechanical properties of Ti-Ta-Based shape memory alloys.** Journal of Materials Engineering and Performance. v. 20, p. 765-766, 2011.

WALKER, M.P.; WHITE, R.J.; KULA, K.S. [Effect of fluoride prophylactic agents on the mechanical properties of nickel-titanium-based orthodontic wires](#). American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. USA, v. 127, n.6, p. 662-669, 2005.

WANG, K. **The use of titanium for medical applications in the USA.** Materials Science and Engineering A, v. 213, n. 1-2, p. 134-137, 1996.

WATAHA, John C. **Predicting clinical biological responses to dental materials.** Dental Materials, v. 28, n. 1, p. 23-40, 2012.

WATANABE, I, TOPHAM, D. **Tensile strength and elongation of laser-welded Ti and Ti-6Al-4V.** J Biomed Mater, Appl Biomater, 71B, 46-51, 2004.

WEISS, I. e SEMIATIN, S. L. **Thermomechanical processing of beta titanium alloys – an overview.** Materials Science and Engineering. A243, p. 46-65, 1999.

WILLIAMS, D. F. **On the mechanisms of biocompatibility.** Biomaterials, v. 29, n. 20, p. 2941-2953, 2008.

WILLIAMS, D. F. **On the nature of biomaterials.** Biomaterials, v. 30, n. 30, p. 5897-5909, 2009.

WU, X. Q. et al. **Effect of Sn Content on the Corrosion Behavior of Ti-based Biomedical Amorphous Alloys.** Int. J. Electrochem. Sci, v. 10, p. 2045-2054, 2015.