

KEROLENE BARBOZA DA SILVA

**PROCESSAMENTO DA LIGA BIODEGRADÁVEL FE-35MN EMPREGANDO  
ECAP (EQUAL CHANNEL ANGULAR PRESSING) - APLICAÇÕES  
BIOMÉDICAS**

Relatório de Pós-doutorado realizado na  
Universidade Estadual Paulista (UNESP),  
Faculdade de Engenharia e Ciências, campus de  
Guaratinguetá.

Supervisora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Paula Rosifini  
Alves

Guaratinguetá

2024

## RESUMO

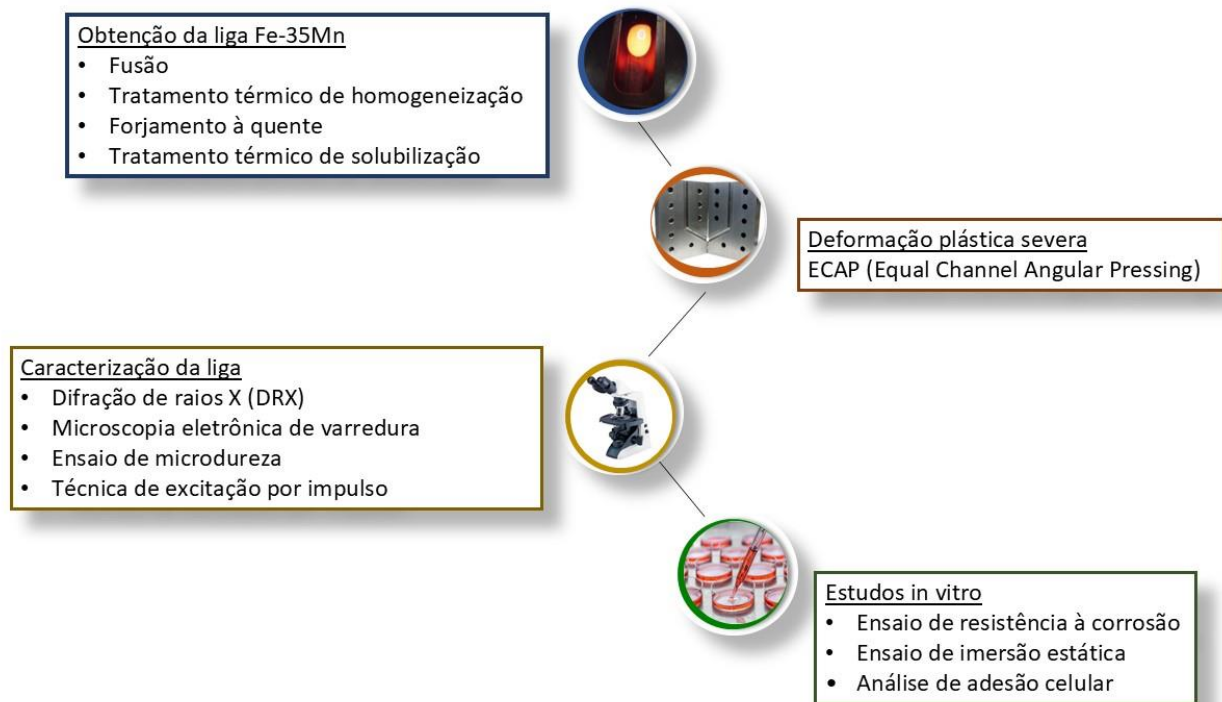
Nos últimos anos, o desenvolvimento de implantes metálicos temporários a partir de biomateriais biodegradáveis como o ferro e suas ligas têm sido alvo de várias pesquisas. Esses biomateriais permitem que o implante degrade progressivamente após servir ao seu objetivo, eliminando os riscos de complicações associadas a um implante permanente. O ferro é particularmente atraente do ponto de vista estrutural e com a adição de manganês tem manifestado grande potencial para aplicações em implantes biodegradáveis, principalmente em *stents* cardiovasculares. A liga Fe-35Mn exibe um conjunto de propriedades mecânicas, magnéticas e de degradação que a tornam a melhor opção dentro do sistema Fe-Mn, entretanto, sua taxa de degradação ainda é considerada muito baixa. Assim sendo, novas técnicas de processamento que promovem o refinamento dos grãos, como o ECAP (*Equal Channel Angular Pressing*), podem ser incorporadas à liga a fim de melhorar suas propriedades. A proposta desta pesquisa foi avaliar a influência do processamento por ECAP nas propriedades da liga Fe-35Mn. A liga experimental foi produzida em forno a arco voltaico, forjada, tratada termicamente e então submetida ao processo de deformação por ECAP. Microscopia eletrônica de varredura, difratometria de raios X, medidas de microdureza, ensaio de excitação por impulso foram empregados para caracterizar a liga. Estudos *in vitro*, para avaliar a taxa e os mecanismos de degradação, foram realizados por meio do ensaio de resistência à corrosão, imersão estática e análise de adesão celular.

**Palavras-chave:** Ligas biodegradáveis. Ligas de ferro. ECAP.

## 1. MATERIAIS E MÉTODOS

Uma representação esquemática das atividades realizadas e da metodologia empregada no desenvolvimento da pesquisa até o momento é apresentada na Figura 1.

Figura 1 – Fluxograma da metodologia aplicada neste trabalho.



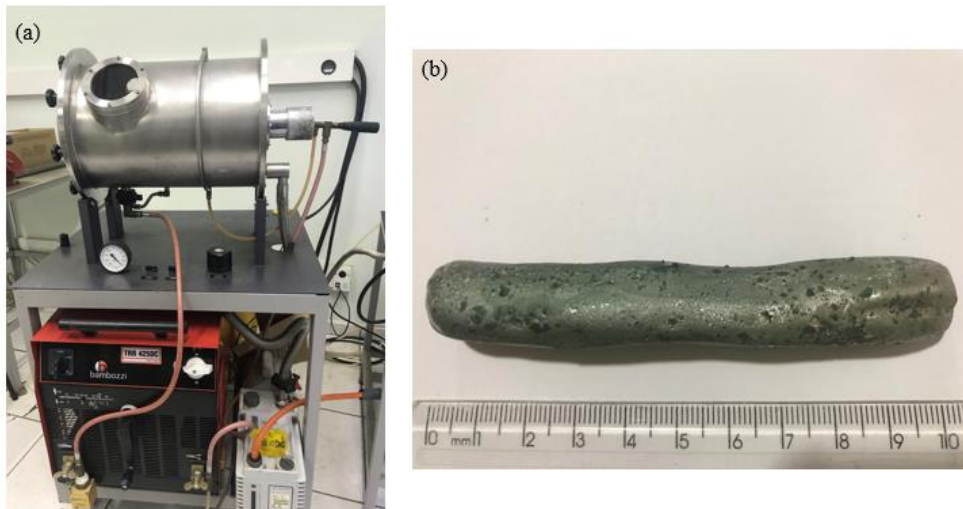
### 1.1 OBTENÇÃO DA LIGA FE-35MN

Para a obtenção da liga Fe-35Mn foram utilizados elementos precursores metálicos comercialmente puros, ferro (98% de pureza) e manganês (99% de pureza). Antes da imediata fusão da liga, o manganês metálico de partida foi submetido a uma decapagem química para remoção de impurezas superficiais. O metal foi imerso em uma solução composta por 21 ml HF, 64 ml HCL, 106 ml HNO<sub>3</sub> e 160 ml H<sub>2</sub>O durante aproximadamente 15 segundos, enxaguado com acetona e seco. Em seguida, os metais foram pesados em balança analítica para a obtenção de botões de 30g com estequiometria de Fe-35%p. Mn. No entanto, observada a perda de Mn durante o processo de fusão em testes anteriores, devido à sua alta pressão de vapor, para garantir a composição

quantitativa da liga houve um acréscimo de aproximadamente 5% em massa na quantidade deste elemento.

A fusão foi realizada em forno a arco voltaico com atmosfera inerte (gás argônio) e cadinho de cobre refrigerado, onde os materiais previamente preparados foram depositados de maneira que toda quantidade de Mn fosse envolvida pelo Fe. Durante a fusão da liga, para garantir a homogeneidade da composição, os botões foram refundidos pelo menos 10 vezes. A Figura 2 apresenta o forno de fusão a arco voltaico e o lingote obtido após a união dos botões.

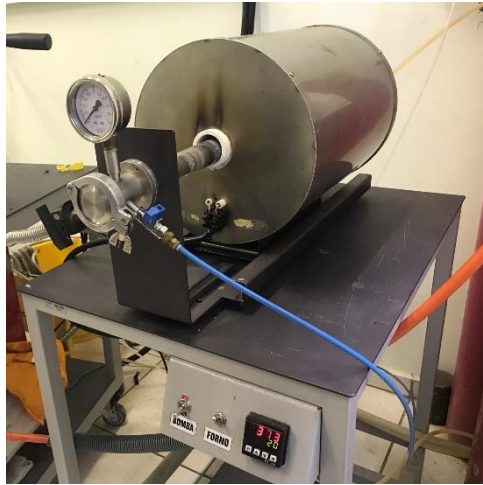
Figura 2 – (a) Forno de fusão a arco voltaico utilizado para fusão da liga Fe-35Mn e (b) Lingote obtido após a fusão.



Fonte: Autora.

Dando sequência ao processamento da liga, os lingotes foram submetidos ao tratamento térmico de homogeneização em forno tubular, como mostra a Figura 3, para eliminar as heterogeneidades do processo de solidificação. O material foi aquecido a 1000 °C a uma taxa de 16,6 °C/min, mantido nesta temperatura por 1440 minutos (24 horas) e resfriado lentamente, dentro do forno, até a temperatura ambiente.

Figura 3 – Forno tubular utilizado para realização dos tratamentos térmicos.



Fonte: Autora.

Após a homogeneização, os lingotes foram forjados a quente no Departamento de Engenharia Mecânica do ITA - Instituto Tecnológico de Aeronáutica em São José dos Campos. Visando a obtenção de barras cilíndricas, como apresentada na Figura 4, o forjamento a quente foi realizado em prensa rotativa alternando o aquecimento dos lingotes à 850 °C em forno resistivo e passes graduais com diversos martelos. Os lingotes foram alongados na sua direção axial e reduzidos na sua seção transversal até que o diâmetro de 10 mm fosse obtido, quando então, foram resfriados naturalmente ao ar.

Figura 4 – Barras cilíndricas da liga Fe-35Mn obtidas após o forjamento a quente.



Fonte: Autora.

Para alcançar a microestrutura austenítica, o tratamento térmico de solubilização foi realizado também em forno tubular mediante o aquecimento das barras forjadas à 1000 °C, com uma taxa de 16,3 °C/min, durante 180 minutos (3 horas). Após este tempo, o resfriamento rápido foi realizado em água.

## 1.2 ECAP (EQUAL CHANNEL ANGULAR PRESSING)

O processamento por ECAP foi realizado em uma matriz bipartida produzida em aço AISI H13, que dispõe de canais com 10 mm de diâmetro posicionados em um ângulo de 120° entre si. Os canais foram lubrificados com graxa de bissulfeto de molibdênio e o processamento ocorreu em temperatura ambiente seguindo a rota de processamento B<sub>C</sub>. Barras cilíndricas com 100 mm de comprimento e 9,8 mm de diâmetro, foram pressionadas repetidamente através da matriz com auxílio de uma máquina universal de ensaios com célula de carga de 100 kN e um punção fabricado em aço VC 131. Durante o processamento (Figura 5), empregou-se uma velocidade de avanço de cerca de 1,0 mm/s, controlada manualmente. Após o primeiro passe as barras foram usinadas para readequar seu diâmetro ao dos canais da matriz e após o segundo amostras foram retiradas para caracterização.

Figura 5 – Matriz bipartida com canais de 10 mm de diâmetro posicionados em um ângulo de 120° usada para o processo de deformação plástica severa – ECAP.



Fonte: Autora.

### 1.3 CARACTERIZAÇÃO DA LIGA

Para a obtenção das amostras, algumas barras da liga de Fe-35Mn processadas por ECAP (após 2 passes) foram seccionadas em discos com 3 mm de espessura.

A evolução e o refinamento da microestrutura foram acompanhados por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Amostras foram preparadas de acordo com o procedimento metalográfico usual e as análises foram feitas no Laboratório Associado de Sensores e Materiais (LABAS) do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE).

A identificação das fases constituintes foi realizada por meio da técnica de difração de raios X (DRX). A análise foi conduzida em um difratômetro D8 *advance* - Brucker, utilizando radiação Cu-K $\alpha$ , corrente de 25 mA, tensão de 40 kV, intervalo 2 $\theta$  de medição de 20° a 100°, passo de 0,02° e tempo de contagem de 0,35 segundos. Após a coleta, a identificação das fases foi realizada com o auxílio do banco de dados ICSD (*Inorganic Crystal Structure Database*) e do *software Crystallographica Search-Match*.

O desempenho mecânico foi avaliado por meio do ensaio de microdureza Vickers e da técnica de excitação por impulso. Os valores de microdureza foram obtidos de acordo com a norma ASTM E384 – 2017 em um microdurômetro 401 MVD - *Wilson Instruments*. As medidas foram realizadas usando um indentador Vickers aplicado às amostras com uma carga de 1 kgf e tempo de permanência de 10 segundos. Uma média de pelo menos 10 medidas foi tomada para cada amostra.

O módulo de elasticidade foi obtido empregando a técnica de excitação por impulso, de acordo com a norma ASTM E1876. A técnica consiste em determinar o módulo de elasticidade com base na frequência de ressonância do material excitado por um curto impulso mecânico, seguido pela aquisição da resposta acústica por meio de um microfone. As medidas foram realizadas a temperatura ambiente, pelo modo flexional e utilizando o sistema Sonelastic – ATCP Engenharia Física. Corpos de prova com 10 mm de diâmetro e 100 mm de comprimento foram testados e o valor médio foi calculado a partir de cinco medidas realizadas.

### 1.4 ESTUDOS *IN VITRO*

Medidas de potencial de circuito aberto e polarização potenciodinâmica, em solução salina balanceada de Hank (HBSS) H1387 – Sigma-Aldrich, foram usadas para avaliar o comportamento em corrosão da liga Fe-35Mn após o processamento por ECAP.

Para o experimento, as amostras, constituídas por discos com 3 mm de espessura, foram embutidas em resina de polimerização a frio e submetidas ao lixamento úmido utilizando lixas d'água de carbeto de silício (SiC) com granulometria entre 100 e 1500 mesh. Em seguida, foram lavadas em banho ultrassônico com etanol e então secas.

Os testes foram realizados a 37 °C em uma célula convencional de três eletrodos, utilizando um eletrodo de platina como contra eletrodo, eletrodo de calomelano saturado (SCE) como eletrodo de referência e as amostras com 0,5 cm<sup>2</sup> de área exposta como eletrodo de trabalho (Figura 6). Após as amostras serem imersas no eletrólito, as medidas de potencial de circuito aberto (OCP) foram mantidas até 5400 segundos, quando se tornou estável, e somente após, os testes de polarização potenciodinâmica foram iniciados. As curvas potenciodinâmicas foram registradas de - 0,3 V contra OCP a + 0,7 V com uma taxa de varredura de 1 mV/s. Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em triplicatas. O potencial de corrosão ( $E_{corr}$ ) e a densidade da corrente de corrosão ( $i_{corr}$ ) foram determinados a partir do método Tafel.

Figura 6 – Célula eletroquímica convencional de três eletrodos.



Fonte: Autora

O comportamento em degradação foi determinado por meio do ensaio de imersão estática, realizado também em solução de Hank e de acordo com a norma ASTM G31-72. Amostras com aproximadamente 3 mm de espessura e 9,8 mm de diâmetro foram lixadas em lixas d'água de carbeto de silício (SiC) com granulometria entre 100 e 1500 mesh. Após, foram lavadas em banho ultrassônico com etanol, secas e pesadas. No ensaio, as amostras permaneceram suspensas em 60 ml de solução, Figura 7 (a), e mantidas em

banho maria a 37 °C durante 3, 10 e 30 dias. O ensaio foi realizado em triplicata, e os valores de pH da solução foram monitorados diariamente (Figura 7 (b)). Após cada intervalo, as amostras foram cuidadosamente enxaguadas com água deionizada, etanol e imediatamente secas.

Figura 7 - (a) Disposição das amostras e (b) Monitoramento do pH durante o ensaio de imersão estática.



Fonte: Autora

Para a remoção dos produtos de corrosão da superfície das amostras, estas foram submetidas ao procedimento de limpeza estabelecido pela norma ASTM G1-03. Após cada ciclo de limpeza, as amostras foram pesadas para o cálculo da perda de massa. O procedimento foi repetido várias vezes até que uma estabilidade na perda de massa fosse alcançada.

A taxa de degradação foi calculada através da equação 1.

$$TD = \frac{(8,76 \cdot 10^4) \times W}{A \times T \times D} \quad (1)$$

Onde, TD é a taxa de degradação em mm por ano, W é a perda de massa em g, A é a área exposta a solução em cm<sup>2</sup>, T é o tempo de exposição em horas e D é a densidade da liga em g/cm<sup>3</sup>.

Toda análise e caracterização celular foi realizado em parceria com o Prof. Dr. Joaquim Miguel Oliveira e o grupo de pesquisa I3B - Instituto de Investigação em Biomateriais, Biodegradáveis e Biomimética, da Universidade do Minho, Sede do

Instituto Europeu de Excelência em Engenharia de Tecidos e Medicina Regenerativa, em Guimarães, Portugal.

Para avaliar a citotoxicidade da liga Fe-35Mn antes e após o processamento por ECAP, foram utilizadas células da linhagem Saos-2 de osteossarcoma humano. Para isso, 200.000 células foram semeadas na superfície de cada amostra e mantidas em cultura por 14 dias a 37°C sob atmosfera umidificada de 5% v/v CO<sub>2</sub> em ar. O meio de cultura foi renovado duas vezes por semana. Nos dias 1, 3, 7 e 14 de cultura, proliferação, diferenciação e morfologia das células foram analisadas.

Microscópio Eletrônico de Varredura de Alta Resolução Auriga Compact – Zeiss, com aceleração de voltagem de 5 kV, foi usado para analisar as amostras e observar a morfologia celular durante o período de cultura. Para esta análise, as amostras foram fixadas em formalina 10% reidratada com diferentes concentrações de etanol (50, 70, 90 e 100% v/v) por 15 min e colocados em hexametildissilazano – Sigma Aldrich durante a noite em temperatura ambiente para secar. Posteriormente, as amostras foram revestidas com platina (Pt) usando um revestidor EM ACE600 - *Leica Microsystems*. As superfícies das amostras foram analisadas semiquantitativamente por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) utilizando um espectrômetro - *Oxford Instruments* a 20,0 eV.

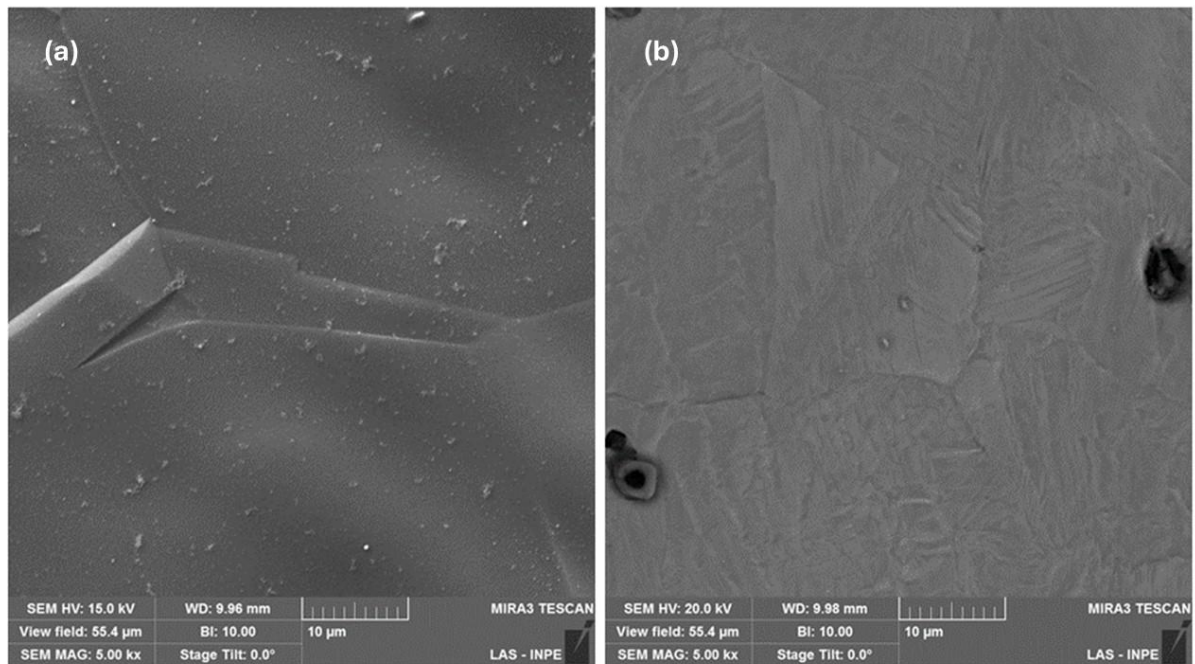
A adesão e o espalhamento das células foram estudados através da coloração de actina F. As células foram lavadas em solução salina tamponada com fosfato, PBS – Sigma Aldrich, fixadas durante 20 minutos com formalina tamponada neutra 10% - ThermoFisher Scientific, e permeabilizadas com 0,1% v/v de Triton X-100 – Sigma Aldrich em PBS por 5 minutos. Em seguida, as células foram incubadas por 30 minutos com 1% de albumina de soro bovino, BSA – Sigma Aldrich em PBS para reduzir a coloração de fundo não específica. Finalmente, os filamentos de actina F foram corados com Alexa Fluor, 488 *Phalloidin* - *ThermoFisher Scientific*, 1:40, e os núcleos foram contra corados com 4,6-Diamidino-2-fenilindol, em solução de dilactato DAPI 300nM - *ThermoFisher Scientific*. As amostras foram analisadas em microscópio confocal TCS SP8 - *Leica Microsystems*.

## **2 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A caracterização microestrutural do processo foi feita após 2 passes em matriz de deformação plástica severa (ECAP). Com isso, foi possível acompanhar a evolução do processo e sua influência na redução do tamanho de grão.

Na Figura 8 são apresentadas as micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da liga Fe-35Mn processada neste estudo. Antes do processamento por ECAP, Figura 8 a, nota-se uma microestrutura de grãos grandes e grosseiros com tamanho médio de  $102,38 \pm 46,69 \mu\text{m}$  uniformemente distribuídos. Após 2 passes, Figura 8 b, é possível observar o início do processo de refino da microestrutura. Devido ao caráter não homogêneo do mecanismo de cisalhamento promovido pelo ECAP, ainda há a presença de grãos maiores formando agora uma microestrutura heterogênea de grãos finos em uma matriz de grãos grosseiros.

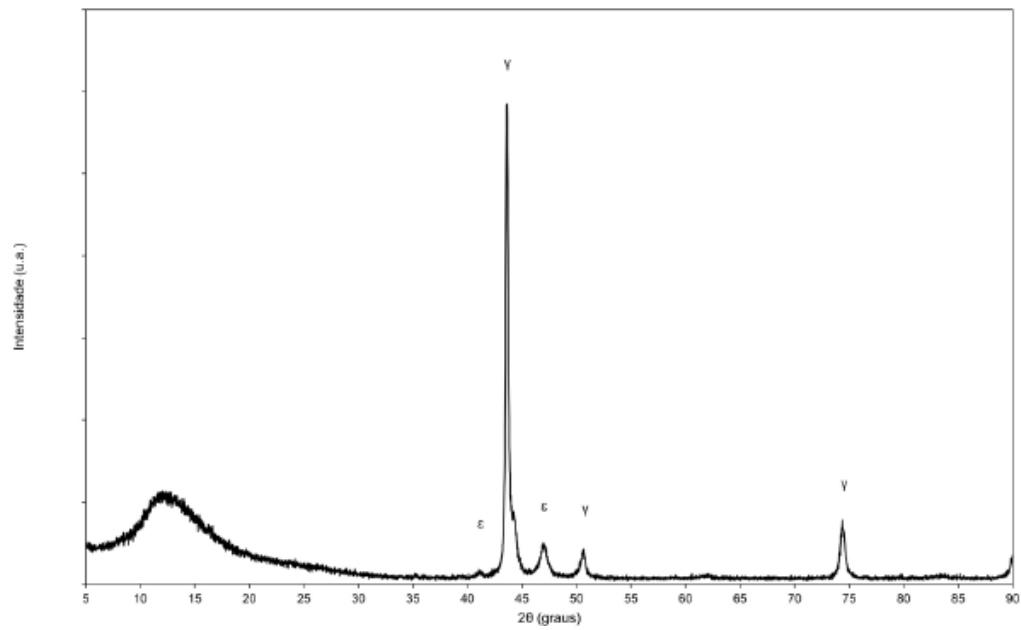
Figura 8 – Micrografias da liga Fe-35Mn obtidas por microscopia eletrônica de varredura (a) sem ECAP e (b) após processamento por ECAP.



Fonte: Autora

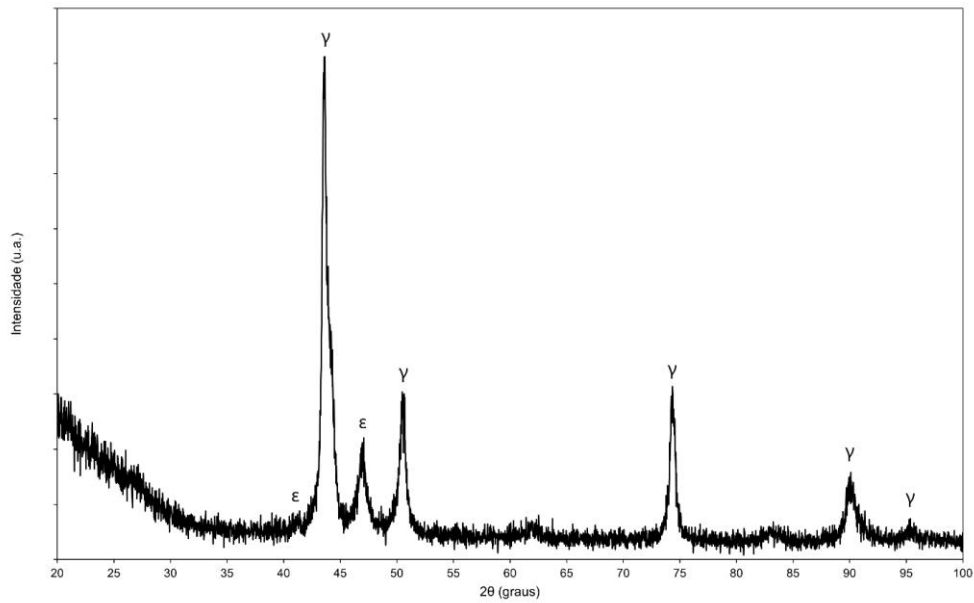
Os padrões de difração de raios X apresentados na Figura 9 e 10, revelam que picos relativos às fases austenita ( $\gamma$ ) e martensita ( $\epsilon$ ) foram encontrados antes e após o processamento da liga Fe-35Mn por ECAP.

Figura 9 - Difratoimetria de Raios X da liga Fe-35Mn antes do processamento por ECAP.



Fonte: Autora

Figura 10 - Difratoimetria de Raios X da liga Fe-35Mn após o processamento por ECAP.



Fonte: Autora

Segundo Nematia e Parsafar (2018), devido ao seu efeito estabilizador, o aumento do teor de manganês expande significativamente o campo de fase austenita ( $\gamma$ ). As ligas do sistema que compreendem um teor de manganês acima de 29% exibem a formação de fase totalmente austenítica. No entanto, a presença inesperada de martensita ( $\epsilon$ ) também foi observada por outros autores que estudaram a liga Fe-35Mn, inclusive aquelas obtidas por metalurgia do pó.

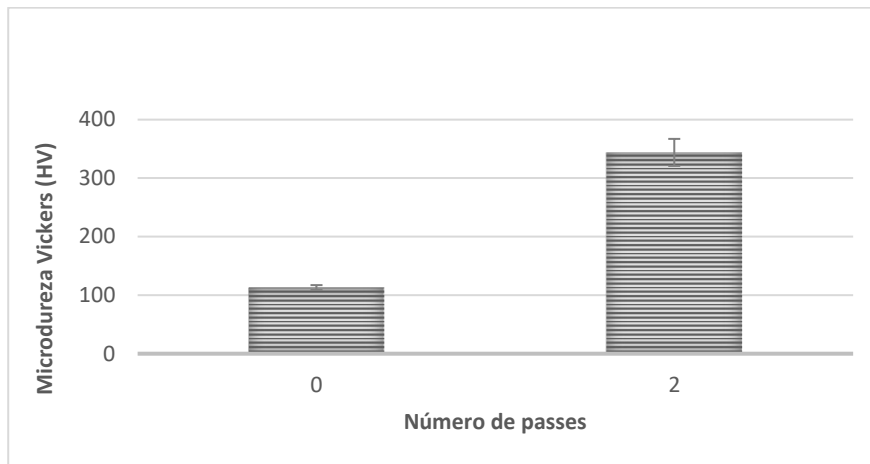
Para Dehestani et al. (2017), a formação de fase martensita ( $\epsilon$ ) nas ligas do sistema Fe-Mn também pode ser influenciada pela deformação plástica. A influência e a intensidade do pico aumentam com a diminuição do teor de manganês, entretanto, neste estudo, devido aos sucessivos passes de forjamento realizados durante a fabricação da liga, a presença de fase martensita ( $\epsilon$ ) foi detectada mesmo com 35% de manganês na composição.

Nas observações de Dargusch et al. (2019), a liga é composta principalmente de fase austenita ( $\gamma$ ) com alguns picos menores atribuídos a fase martensita ( $\epsilon$ ) que podem ser negligenciados.

Analisando os padrões de difração de raios X apresentados nas Figuras 9 e 10, é possível observar que o processamento por ECAP não induziu a formação de uma nova fase e não alterou de maneira significativa a composição das fases presentes na condição anterior. Embora a técnica seja capaz de induzir altos níveis de deformação plástica, o mecanismo de cisalhamento em ação visa promover a deformação via cisalhamento simples para a obtenção das propriedades desejadas. Assim, ocorre o refinamento da microestrutura sem a variação da seção transversal do lingote. Além disso, o comportamento da liga sugere que por ser constituída predominantemente de fase austenita ( $\gamma$ ) e não possuir outros precipitados em quantidades suficientes para favorecer uma transformação de fases induzida por deformação plástica, nenhuma alteração foi observada nas condições de processamento empregadas.

As propriedades mecânicas do sistema Fe-Mn são fortemente influenciadas pela composição de fase. A fase austenita ( $\gamma$ ), principal constituinte da liga Fe-35Mn, exibe grãos relativamente grandes que poderiam explicar sua superior ductilidade e baixa resistência (HERMAWAN; DUBÉ; MANTOVANI, 2010). Assim sendo, a avaliação da microdureza foi realizada antes e após o processamento por ECAP a fim de verificar a influência das alterações microestruturais. Os valores encontrados podem ser visualizados na Figura 11.

Figura 11 – Medidas de microdureza Vickers da liga Fe-35Mn antes e após o processamento por ECAP.

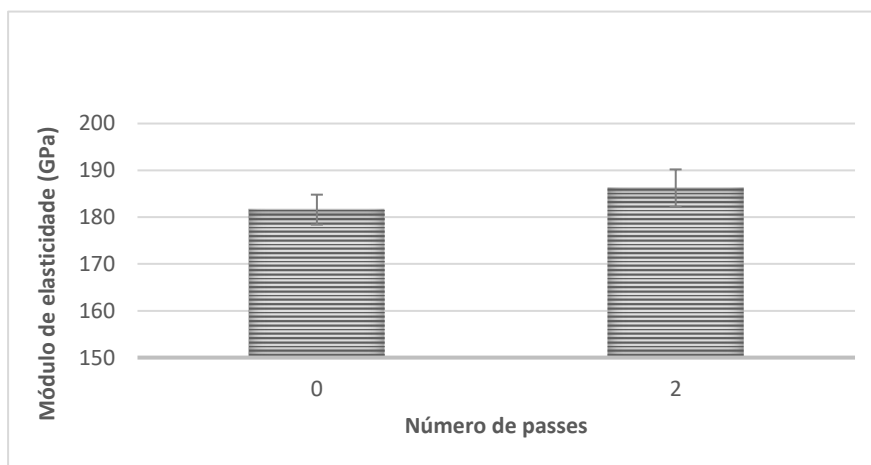


Fonte: Autora

Os valores de microdureza apresentaram variações antes e após o processamento da liga por ECAP, no entanto, concordam com as mudanças inseridas na microestrutura em cada etapa. A microdureza da liga Fe-35Mn aumentou de  $130 \pm 4,2$  HV, para  $344 \pm 23,1$  HV após dois passes pela matriz durante o processamento. Esse resultado indica um elevado processo de endurecimento causado pelas deformações plásticas do processo.

A técnica de excitação por impulso foi empregada para caracterizar o módulo de elasticidade do material e as medidas obtidas foram apresentadas na Figura 12.

Figura 12 – Medidas do módulo de elasticidade da liga Fe-35Mn antes e após o processamento por ECAP.

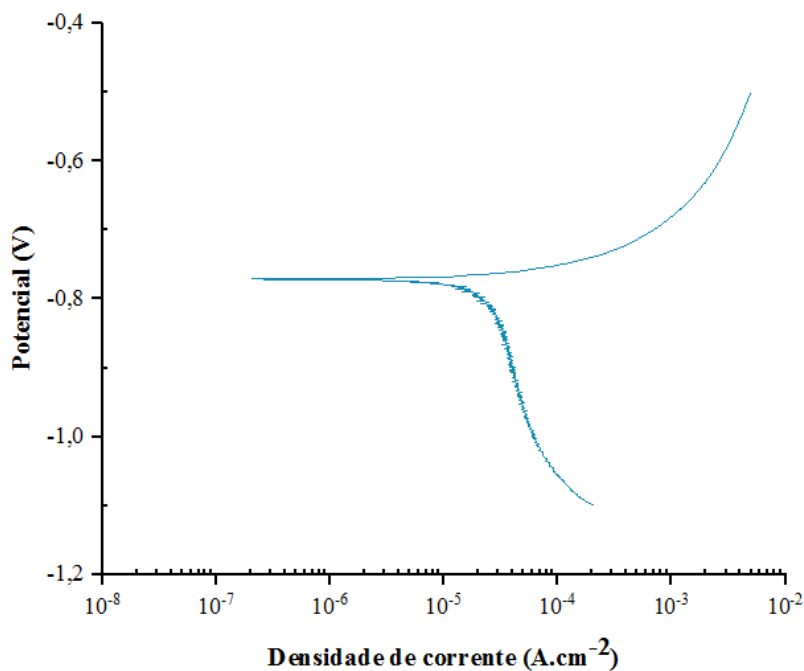


Fonte: Autora

Por ser uma técnica de simples execução, pode ser realizada em uma quantidade maior de corpos de prova e dessa maneira minimiza a perda de material e a ocorrência de desvios causados pelo processo de fabricação. Um valor médio de  $181 \pm 3,20$  GPa foi encontrado para o módulo de elástico da liga antes de processada por ECAP. Realizada a comparação com o valor obtido após o processamento,  $186 \pm 4,01$  é possível verificar que os valores foram similares, e a diferença não foi estatisticamente significativa.

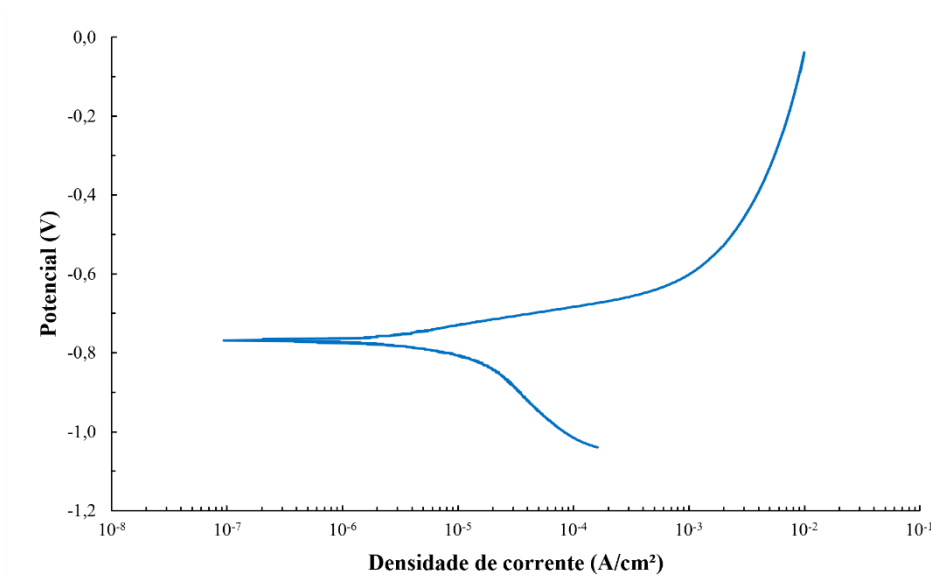
As curvas de polarização potenciodinâmica em solução de Hank para a liga Fe-35 Mn antes e após do processamento por ECAP podem ser observadas na Figura 13 e 14, respectivamente. A média dos parâmetros relacionados à corrosão, como o potencial de corrosão e a densidade de corrente, determinados pelo método de extrapolação Tafel são apresentados na Tabela 1.

Figura 13 - Curva média de polarização potenciodinâmica de amostras da liga Fe-35Mn em solução de Hank a 37°C, antes do processamento por ECAP.



Fonte: Autora

Figura 14 - Curva média de polarização potenciodinâmica de amostras da liga Fe-35Mn em solução de Hank a 37°C, após o processamento por ECAP.



Fonte: Autora

Tabela 1 - Parâmetros de corrosão da liga Fe-35Mn antes e após o processamento por ECAP.

Eletrólito	Material	Condição	$E_{\text{corr}}$ (V)	$I_{\text{corr}}$ ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )
Solução de Hank	Fe-35Mn	Sem ECAP	- 0,70	2,69
Solução de Hank	Fe-35Mn	Com ECAP	- 0,77	3,79

Fonte: Autora

De acordo com Wang et al. (2017), a corrosão acontece com base no potencial ( $E_{\text{corr}}$ ) em um sistema termodinâmico, onde maior potencial corresponde a superior resistência à corrosão, enquanto a taxa de corrosão é cineticamente medida pela densidade de corrente ( $I_{\text{corr}}$ ), que quanto mais baixa indica menores taxas. Geralmente, menor potencial implica densidade de corrente de corrosão mais alta (CHENG et al., 2013).

As curvas (Figuras 13 e 14) demonstraram que todas as condições analisadas, sem e com ECAP, exibiram comportamento de corrosão semelhante com ausência de passivação na região anódica. Os filmes de óxido tornaram-se instáveis e descontínuos

no meio com o aumento do potencial, deixando o material mais propenso à corrosão (OBAYI et al., 2016).

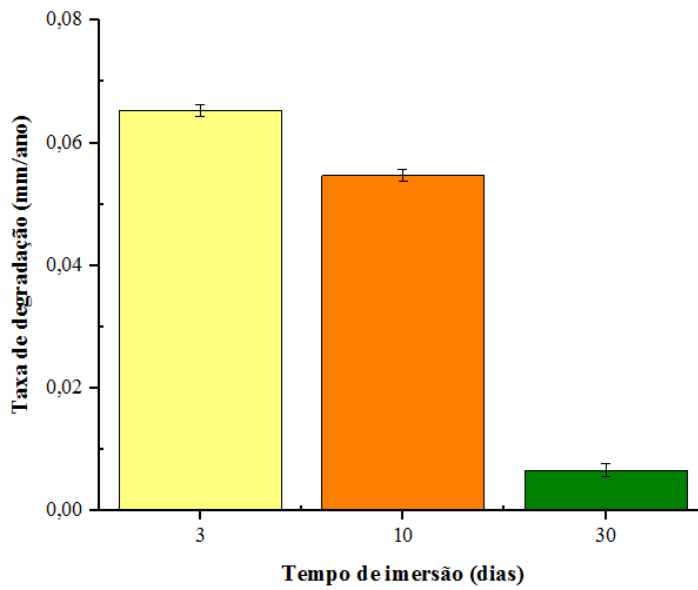
Dehestani et al. (2017) reportaram que a adição de manganês na estrutura de um material a base ferro resulta na diminuição da resistência à corrosão. Por ser um elemento menos nobre, com potencial eletroquímico menor, o manganês torna a matriz de ferro mais propensa à corrosão em meios fisiológicos. Segundo Liu et al. (2018), mecanismos de corrosão galvânica, no qual um metal corrói preferencialmente a outro, podem ser introduzidos no sistema devido a diferença de potencial entre os elementos metálicos, aumentando também sua taxa de corrosão.

Os resultados obtidos neste estudo, evidenciam que o processamento por ECAP causou menor estabilidade da liga em solução de Hank, levando a queda na resistência à corrosão. A liga antes do processamento apresentou potencial de  $-0,70$  V e densidade de corrente de  $2,69 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ . Após o ECAP observou-se uma pequena redução do potencial de corrosão para  $-0,77$  V, sugerindo maior susceptibilidade à corrosão. A densidade de corrente mudou de  $2,69 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$  para  $3,79 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ , indicando maior taxa de corrosão da liga processada por ECAP.

Os testes de polarização potenciodinâmica podem dar indícios sobre comportamento em corrosão das ligas e prever sua taxa de corrosão com base em um curto tempo de teste. No entanto, esses testes não podem mostrar os fenômenos dependentes do tempo, como a forma de corrosão e precipitação de espécies da solução, que foram observados nos testes de imersão estática (HERMAWAN et al., 2007).

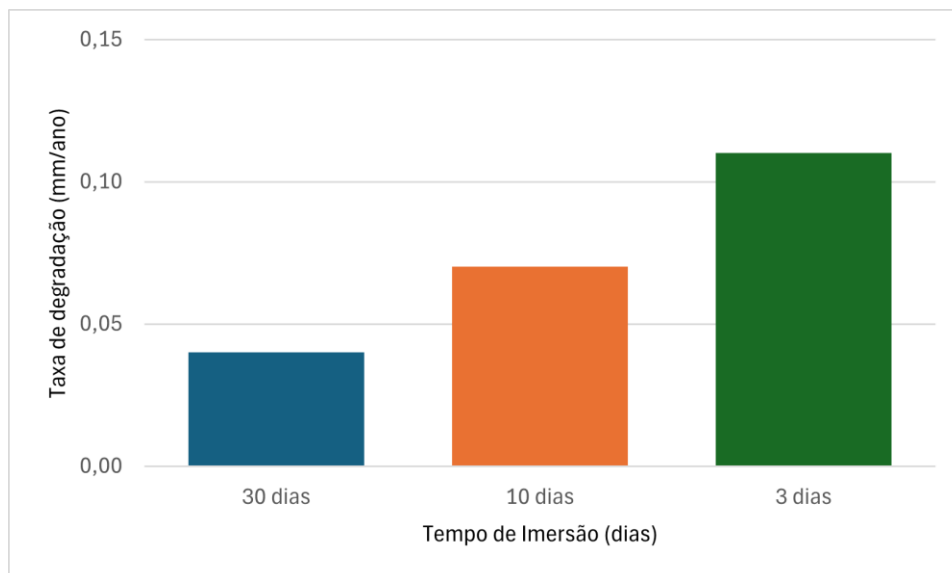
No teste de imersão estática, o efeito do tempo de exposição da liga Fe-35Mn em solução de Hank foi observado. Houve diferenças nas taxas de degradação obtidas entre as condições e os tempos avaliados, Figuras 15 e 16. Em ambas as condições avaliadas, antes e após ECAP, a liga mostrou uma diminuição da taxa de degradação depois de mais tempo de exposição. Comportamentos similares foram observados por Hermawan et al. (2007) e Zhang e Cao (2015) que relacionam o fato aos produtos de degradação da liga Fe-35Mn, que por serem insolúveis são aderidos e acumulados sobre a superfície da amostra, retardando a troca iônica entre o substrato e a solução corrosiva. Quanto maior o tempo de exposição, maior a quantidade de produtos de corrosão concentrados. Embora a taxa de degradação seja maior que outros materiais metálicos como o ferro puro, sua completa degradação é dita muito difícil se não houver mecanismos eficazes para transportar esses produtos para fora do corpo (CHENG et al., 2013).

Figura 15 – Taxas de degradação média da liga Fe-35Mn sem ECAP, obtidas a partir do ensaio de imersão estática em solução de Hank, após 3, 10 e 30 dias.



Fonte: Autora

Figura 16 – Taxas de degradação média da liga Fe-35Mn após ECAP, obtidas a partir do ensaio de imersão estática em solução de Hank, após 3, 10 e 30 dias.



Fonte: Autora

Quando comparadas as duas condições estudadas, é possível notar uma maior taxa de degradação da liga com ECAP ao longo dos períodos analisados. Tal fenômeno pode

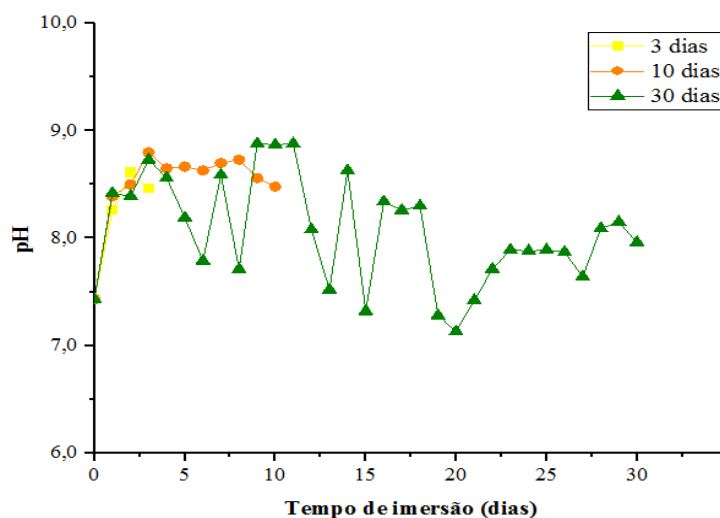
envolver uma combinação de fatores, como o refinamento da microestrutura, a deformação severa e as mudanças nas propriedades mecânicas (como aumento na dureza), que podem afetar a resistência do material à corrosão.

As características mais importantes dos fluidos corporais que influenciam a corrosão dos implantes metálicos são os níveis de cloreto, oxigênio dissolvido e pH. Assim, a estabilidade do pH próximo ao do ambiente fisiológico (~ 7,4) é essencial para simular adequadamente o comportamento de degradação real dos materiais à base de ferro no corpo humano (ELIAZ, 2019). Mudanças no pH podem ter um grande impacto no comportamento de degradação dos implantes (XU; HODGSON; CAO, 2016).

Eliaz (2019) relatou que o pH ao redor de um implante recém-inserido pode atingir níveis inferiores a 4,0 devido ao acúmulo de hematomas entre outros, e a condição que pode durar várias semanas. A diminuição local do pH pode ser crítica e resultar em corrosão localizada severa do implante metálico.

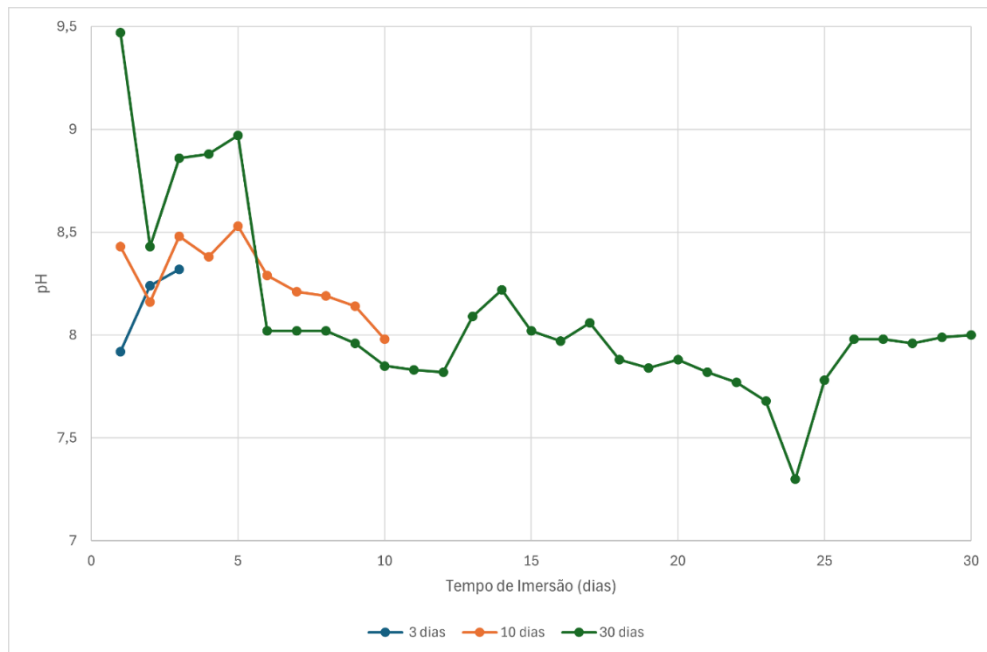
As Figuras 17 e 18 mostram que os valores de pH da solução de Hank, no ensaio de imersão estática, apresentaram uma variação entre 7,2 e 8,5 durante os diferentes períodos de imersão. Nos estudos de Liu e Zheng (2011) a mesma faixa de variação foi observada e reportada como não prejudicial ao corpo humano ou ao processo corrosivo do implante.

Figura 17 – Variação do pH da solução de Hank durante o ensaio de imersão estática na liga Fe-35Mn antes do ECAP.



Fonte: Autora

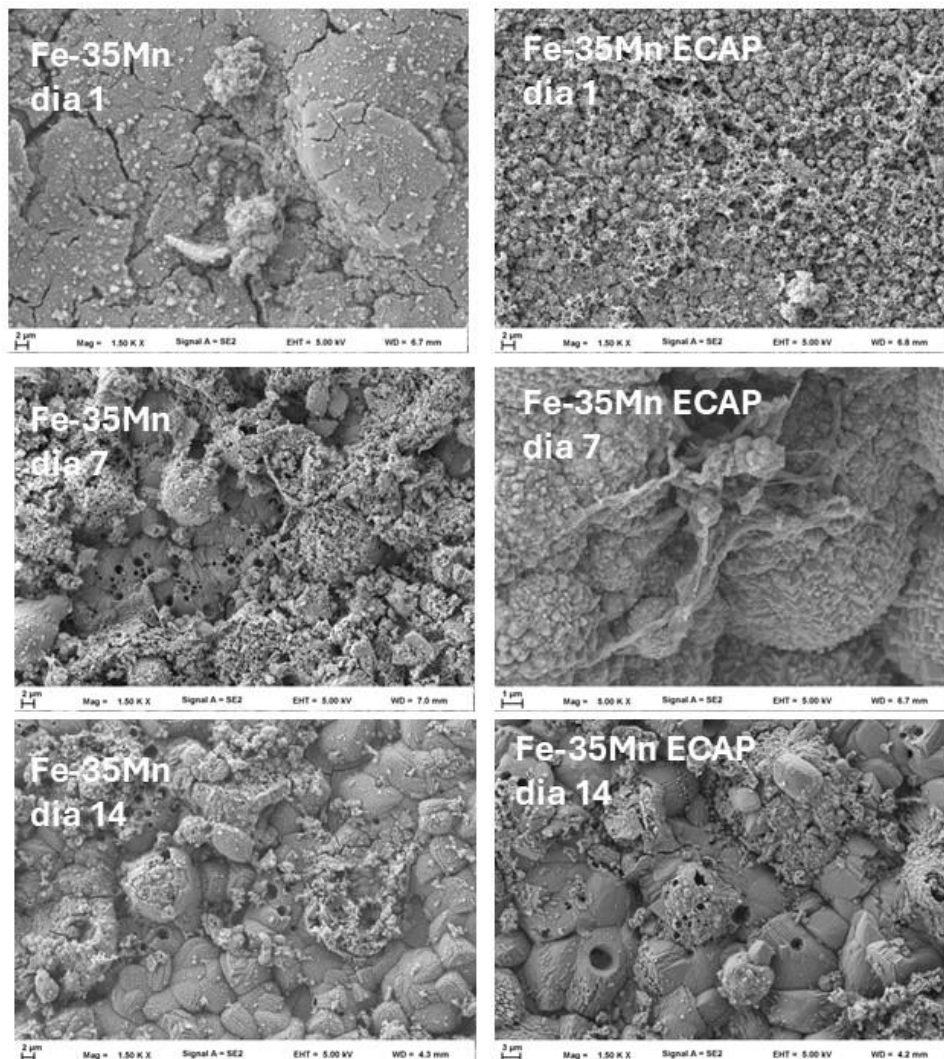
Figura 18 – Variação do pH da solução de Hank durante o ensaio de imersão estática na liga Fe-35Mn após o processamento por ECAP.



Fonte: Autora

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi usada para observar a topografia das amostras da liga Fe-35Mn nas condições avaliadas, e a morfologia desenvolvida pelas células cultivadas. Ao longo dos 14 dias, observou-se um aumento na quantidade dos produtos de corrosão tipicamente criados pela degradação das amostras, cobrindo as células cultivadas. Nas micrografias da Figura 19 é possível identificar as estruturas celulares e o acúmulo de produtos de corrosão sobre as superfícies.

Figura 19 – Micrografias das amostras da liga Fe-35Mn antes e após o ECAP após 1, 7 e 14 dias de cultura celular Saos-2.

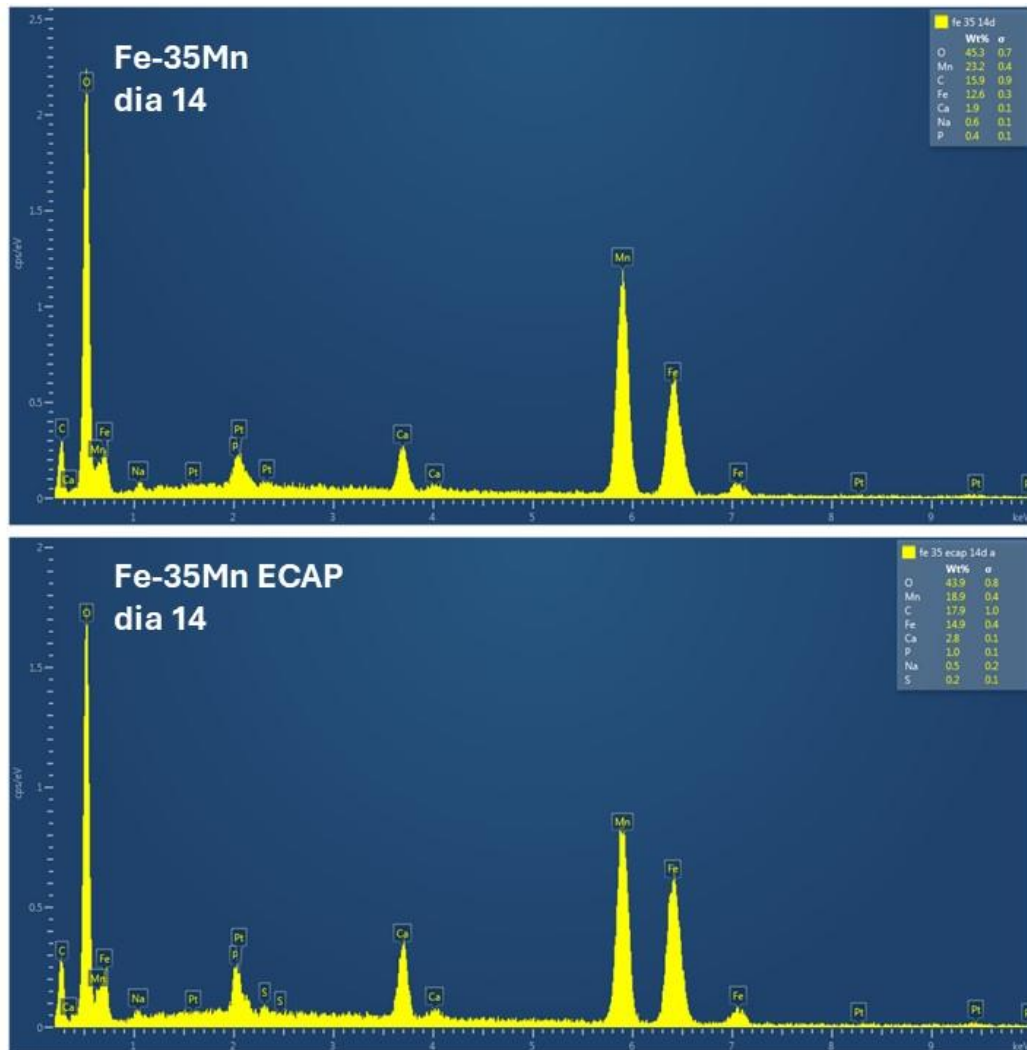


Fonte: Autora

Ainda durante os dias de cultivo celular, a superfície das amostras estudadas foram analisadas semiquantitativamente por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS). Os resultados (Figura 20) mostraram que além da presença de elementos típicos à composição das amostras como ferro, manganês, carbono, oxigênio entre outros, também foram detectados cálcio e fósforo após 14 dias de cultivo, indicando um processo de mineralização onde células pré-osteoblásticas, como as Saos-2 utilizadas neste experimento, podem responder a superfície das amostras e continuar se diferenciando ao longo da linhagem osteoblástica (LISKOVA et al., 2015). Os osteoblastos são células capazes de armazenar fósforo de cálcio e responsáveis pela síntese da matriz óssea. Desse

modo, a liga Fe-35Mn após o processamento por ECAP que apresentou a maior precipitação de cálcio e fosfato no meio durante o período considerado, demonstrando maior potencial de diferenciação osteogênica.

Figura 20 – Análise por EDS da liga Fe-35Mn antes e após o processamento por ECAP em 14 dias de cultura celular Saos-2.

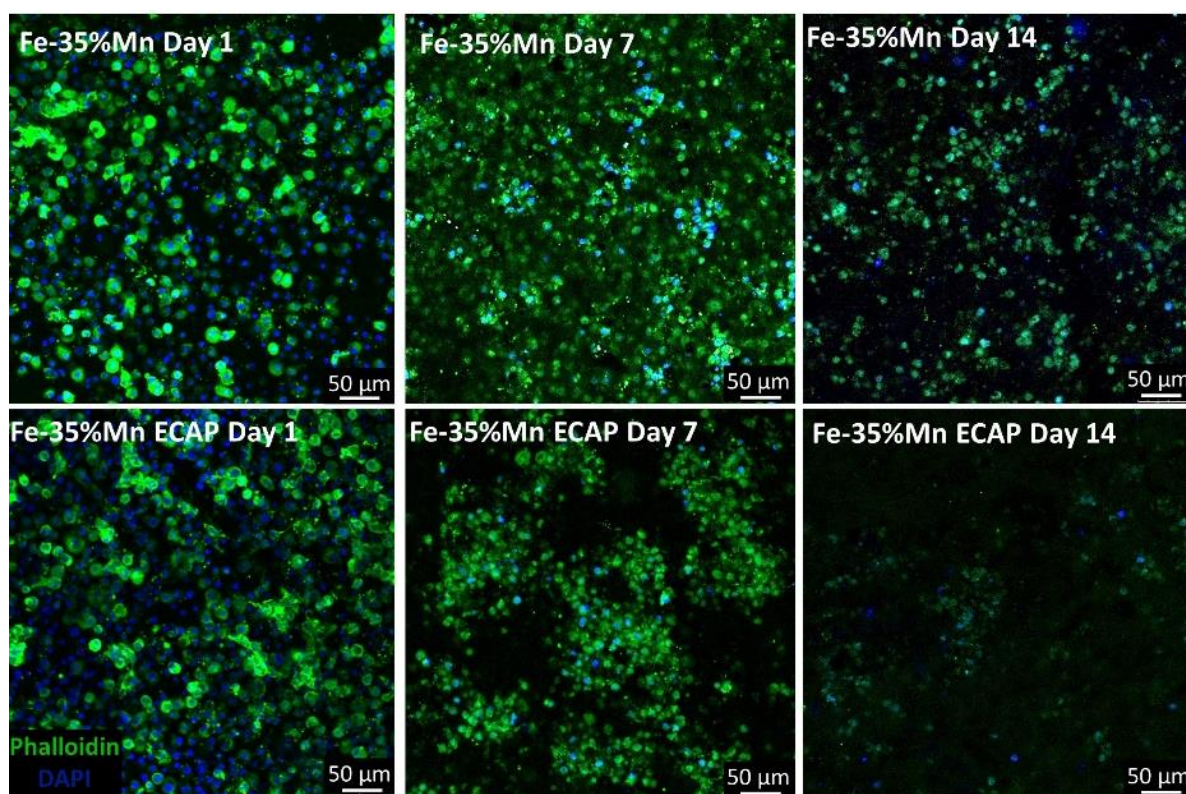


Fonte: Autora

A coloração com actina F foi realizada para avaliar a adesão e disseminação das células sobre as amostras estudadas. Em todas as condições, antes e após o ECAP, as células foram capazes de aderir e se espalhar após o primeiro dia de cultivo. De acordo com as imagens da Figura 21, um número maior de células foi observado nas amostras

da liga Fe-35Mn processada por ECAP em comparação com as amostras da liga Fe-35Mn não processada.

Figura 21 – Coloração com actina F de células cultivadas sobre amostras da liga de Fe-35Mn antes e após o ECAP para avaliar a adesão celular e espalhamento ao longo de 14 dias de cultura. F-actina das células foi corada com faloidina (cor verde) e os núcleos foram contra corados com DAPI (cor azul) (barra de escala = 50  $\mu$ m).



As células cultivadas em amostras da liga Fe-35Mn sem o processamento por ECAP se proliferaram e atingiram seu máximo com 7 dias de cultivo, seguido de um decréscimo no dia 14.

Em contraste, as células cultivadas sobre as amostras da liga Fe-35Mn com ECAP não atingiram a confluência durante os 14 dias de cultura, mas cresceram em colônias. Curiosamente, uma diminuição na coloração de F-actina foi notada nessas colônias, provavelmente devido ao alto número de células presentes. O desaparecimento das fibras de actina F também foi observado por Pavel et al. (2018). Eles observaram que as células malignas perdem as fibras de estresse actina F após atingir a confluência.

### 3 CONCLUSÃO

Considerando que o objetivo geral desta proposta foi estabelecer uma nova possível rota de processamento para a liga biodegradável Fe-35Mn empregando a técnica de deformação plástica severa - ECAP, pode-se concluir que a mesma se mostrou adequada, uma vez que os resultados apresentados estão de acordo com a literatura e promoveram maior eficiência da liga quanto as propriedades mecânicas e taxa de degradação. Também não foram observados prejuízos às propriedades biológicas quando comparado ao material de referência. Portanto, há indícios favoráveis à aplicação da liga Fe-35Mn processada por ECAP em dispositivos biomédicos temporários.

### 4 PRODUÇÃO GERADA

Publicação em periódicos

RANGEL, RITA DE CÁSSIA REIS; RANGEL, ANDRÉ LUIZ REIS; **DA SILVA, KEROLENE BARBOZA**; ESCADA, ANA LÚCIA DO AMARAL; CHAVES, JAVIER ANDRES MUNOZ; MAIA, FÁTIMA RAQUEL; PINA, SANDRA; REIS, RUI L.; OLIVEIRA, JOAQUIM M.; ROSIFINI ALVES, ANA PAULA. Characterization of Iron Oxide Nanotubes Obtained by Anodic Oxidation for Biomedical Applications-In Vitro Studies. *Materials JCR*, v. 17, p. 3627, 2024.

**SILVA, KEROLENE BARBOZA DA**; CAROBOLANTE, JOÃO PEDRO AQUILES ; RAJAN, S. SUDHAGARA ; JÚNIOR, CELSO BORTOLINI ; SABINO, ROBERTA MAIA ; SEIXAS, MAURÍCIO RANGEL ; NAKAZATO, ROBERTO ZENHEI ; POPAT, KETUL C. ; CLARO, ANA PAULA ROSIFINI ALVES . Mechanical Properties, Corrosion Behavior, and In Vitro Cell Studies of the New Ti-25Ta-25Nb-5Sn Alloy. *Materials JCR*, v. 16, p. 1970, 2023.

CAROBOLANTE, JOÃO PEDRO AQUILES ; PEREIRA JÚNIOR, ADELVAM; BORTOLINI JUNIOR, CELSO; **BARBOZA DA SILVA, KEROLENE**; SABINO, ROBERTA MAIA; POPAT, KETUL C.; CLARO, ANA PAULA ROSIFINI ALVES . Processing and Characterization of a New Quaternary Alloy Ti10Mo8Nb6Zr for Potential Biomedical Applications. *Materials JCR*, v. 15, p. 8636, 2022.

## 5 REFERÊNCIAS

AVERSA, R. *et al.* Hybrid ceramo-polymeric nanocomposite for biomimetic scaffolds design and preparation. **American Journal of Engineering and Applied Sciences**, Dubai, v. 9, n. 4, p. 1096-1115, 2016.

AZUSHIMA, A. *et al.* Severe plastic deformation (SPD) processes for metals. **CIRP Annals**, Paris, v. 57, n. 2, p. 716-735, 2008.

BOWEN, P. K. *et al.* Biodegradable metals for cardiovascular stents: from clinical concerns to recent Zn-Alloys. **Advanced Healthcare Materials**, Weinheim, v. 5, n. 10, p. 1121-1140, 2016.

CHENG, J. *et al.* Comparative in vitro study on pure metals (Fe, Mn, Mg, Zn and W) as biodegradable metals. **Journal of Materials Science & Technology**, Pequim, v. 29, n. 7, p. 619-627, 2013.

DARGUSCH, M. S. *et al.* In vivo evaluation of bioabsorbable Fe-35Mn-1Ag: first reports on in vivo hydrogen gas evolution in Fe-Based implants. **Advanced Healthcare Materials**, Weinheim, v. 10, n. 2, p. 2000667, 2021.

DARGUSCH, M. S. *et al.* Exploring the role of manganese on the microstructure, mechanical properties, biodegradability, and biocompatibility of porous iron-based scaffolds. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, Washington, v. 5, n. 4, p. 1686-1702, 2019.

DEHESTANI, M. *et al.* Effects of microstructure and heat treatment on mechanical properties and corrosion behavior of powder metallurgy derived Fe-30Mn alloy. **Materials Science and Engineering: A**, Paris, v. 703, p. 214-226, 2017.

DEGHAN-MANSHADI, A.; STJOHN, D. H.; DARGUSCH, M. S. Tensile Properties and Fracture behaviour of biodegradable iron-manganese scaffolds produced by powder sintering. **Materials**, Basiléia, v. 12, n. 10, p. 1572, 2019.

ELIAZ, N. Corrosion of metallic biomaterials: a review. **Materials**, Basiléia, v. 12, n. 3, p. 407, 2019.

FRANCIS, A. *et al.* Iron and iron-based alloys for temporary cardiovascular applications. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, Nápoles, v. 26, n. 3, p. 1-16, 2015.

FUKUDA, Y. *et al.* Processing of a low-carbon steel by equal-channel angular pressing. **Acta Materialia**, Cambridge, v. 50, n. 6, p. 1359-1368, 2002.

FURUKAWA, M. *et al.* The shearing characteristics associated with equal-channel angular pressing. **Materials Science and Engineering: A**, Paris, v. 257, n. 2, p. 328-332, 1998.

HE, J. *et al.* Advances in Fe-based biodegradable metallic materials. **RSC Advances**, Hanover, v. 6, n. 114, p. 112819-112838, 2016.

HEIDEN, M. *et al.* Effect of microstructure and strain on the degradation behavior of novel bioresorbable iron–manganese alloy implants. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, Hoboken, v. 103, n. 2, p. 738-745, 2015.

HERMAWAN, H.; MANTOVANI, D. Process of prototyping coronary stents from biodegradable Fe–Mn alloys. **Acta Biomaterialia**, Cambridge, v. 9, n. 10, p. 8585-8592, 2013.

HERMAWAN, H. *et al.* Fe–Mn alloys for metallic biodegradable stents: degradation and cell viability studies. **Acta Biomaterialia**, Cambridge, v. 6, n. 5, p. 1852-1860, 2010.

HERMAWAN, H.; DUBÉ, D.; MANTOVANI, D. Degradable metallic biomaterials: design and development of Fe–Mn alloys for stents. **Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials**, Hoboken, v. 93, n. 1, p. 1-11, 2010.

HERMAWAN, H.; DUBÉ, D.; MANTOVANI, D. Developments in metallic biodegradable stents. **Acta Biomaterialia**, Cambridge, v. 6, n. 5, p. 1693-1697, 2010.

HERMAWAN, H. *et al.* Fe–Mn alloys for metallic biodegradable stents: degradation and cell viability studies. **Acta Biomaterialia**, Cambridge, v. 6, n. 5, p. 1852-1860, 2010.

HERMAWAN, H. *et al.* Degradation behaviour of metallic biomaterials for degradable stents. **Advanced Materials Research**. Trans Tech Publications Ltd, Hoboken, p. 113-118, 2007.

HOU, L. *et al.* A review on biodegradable materials for cardiovascular stent application. **Frontiers of Materials Science**, Nova Iorque, v. 10, n. 3, p. 238-259, 2016.

HU, T. *et al.* Biodegradable stents for coronary artery disease treatment: Recent advances and future perspectives. **Materials Science and Engineering: C**, Paris, v. 91, p. 163-178, 2018.

KIANI, F.; WEN, C.; LI, Y. Prospects and strategies for magnesium alloys as biodegradable implants from crystalline to bulk metallic glasses and composites—a review. **Acta Biomaterialia**, Cambridge, v. 103, p. 1-23, 2020.

LANGDON, T. G. The principles of grain refinement in equal-channel angular pressing. **Materials Science and Engineering: A**, Paris, v. 462, n. 1-2, p. 3-11, 2007.

LI, H.; ZHENG, Y.; QIN, L. Progress of biodegradable metals. **Progress in Natural Science: Materials International**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 414-422, 2014.

LISKOVA, J. *et al.* Osteogenic cell differentiation on H-terminated and O-terminated nanocrystalline diamond films. **International Journal of Nanomedicine**, Londres, v. 10, p. 869-884, 2015.

LIU, P. *et al.* Microstructure, mechanical properties, degradation behavior, and biocompatibility of porous Fe-Mn alloys fabricated by sponge impregnation and sintering techniques. **Acta Biomaterialia**, Cambridge, v. 114, p. 485-496, 2020.

LIU, B.; ZHENG, Y. F. Effects of alloying elements (Mn, Co, Al, W, Sn, B, C and S) on biodegradability and in vitro biocompatibility of pure iron. **Acta Biomaterialia**, Cambridge, v. 7, n. 3, p. 1407-1420, 2011.

MOSTAED, E. *et al.* Zinc-based alloys for degradable vascular stent applications. **Acta Biomaterialia**, Cambridge, v. 71, p. 1-23, 2018.

MOSTAED, E. *et al.* Influence of ECAP process on mechanical and corrosion properties of pure Mg and ZK60 magnesium alloy for biodegradable stent applications. **Biomatter**, Londres, v. 4, n. 1, p. e28283, 2014.

NAYAK, P.; BISWAL, A. K.; SAHOO, S. K. Processing and characterization of Fe-35Mn biodegradable metallic materials. **Materials Today: Proceedings**, Oxford, v. 33, p. 5284-5289, 2020.

NEMATIA, N. H.; PARSAFAR, M. The effect of the third element on corrosion behavior and phase structure of Fe35Mn alloy fabricated by spark plasma sintering (SPS). **Journal of Modern Processes in Manufacturing and Production**, Najafabad, v. 7, n. 4, p. 31-39, 2018.

NIINOMI, M. Recent progress in research and development of metallic structural biomaterials with mainly focusing on mechanical biocompatibility. **Materials Transactions**, Hokkaido, v. 59, n. 1, p. 1-13, 2018.

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

OBAYI, C. S. *et al.* Effect of grain sizes on mechanical properties and biodegradation behavior of pure iron for cardiovascular stent application. **Biomatter**, Londres, v. 6, n. 1, p. e959874, 2016.

PEUSTER, M. *et al.* Long-term biocompatibility of a corrodible peripheral iron stent in the porcine descending aorta. **Biomaterials**, Cambridge, v. 27, n. 28, p. 4955-4962, 2006.

TOTH, L. S.; GU, C. Ultrafine-grain metals by severe plastic deformation. **Materials Characterization**, Cambridge, v. 92, p. 1-14, 2014.

VALIEV, R. Z.; LANGDON, T. G. Principles of equal-channel angular pressing as a processing tool for grain refinement. **Progress in Materials Science**, Paris, v. 51, n. 7, p. 881-981, 2006.

VALIEV, R. Z. *et al.* Producing bulk ultrafine-grained materials by severe plastic deformation. **Jom**, Nova Iorque, v. 58, n. 4, p. 33-39, 2006.

ZAOKARI, Y.; PERSAUD, A.; IBRAHIM, A. Biomaterials for adhesion in orthopedic applications: a review. **Engineered Regeneration**, Oxford, v. 1, p. 51-63, 2020.

ZHANG, Q.; CAO, P. Degradable porous Fe-35wt.% Mn produced via powder sintering from NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> porogen. **Materials Chemistry and Physics**, Cambridge, v. 163, p. 394-401, 2015.

ZHANG, L.; CHEN, L. A review on biomedical titanium alloys: recent progress and prospect. **Advanced Engineering Materials**, Weinheim, v. 21, n. 4, p. 1801215, 2019.

ZHENG, Y. F.; GU, X. N.; WITTE, F. Biodegradable metals. **Materials Science and Engineering: R: Reports**, Paris, v. 77, p. 1-34, 2014.

ZHU, Y. T.; LOWE, T. C. Observations and issues on mechanisms of grain refinement during ECAP process. **Materials Science and Engineering: A**, Paris, v. 291, n. 1-2, p. 46-53, 2000.

WANG, H. *et al.* In vitro corrosion properties and cytocompatibility of Fe-Ga alloys as potential biodegradable metallic materials. **Materials Science and Engineering: C**, Paris, v. 71, p. 60-66, 2017.