

**MINISTÉRIO DA DEFESA
EXÉRCITO BRASILEIRO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

LEONARDO EMILIANO DOS SANTOS

**ESTUDO PRELIMINAR DAS LIGAS Ti-43Nb E Ti-30Nb-8Zr PARA
UTILIZAÇÃO COMO BIOMATERIAIS COM TRATAMENTO DE
SUPERFÍCIE**

**Rio de Janeiro
2016**

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

LEONARDO EMILIANO DOS SANTOS

**ESTUDO PRELIMINAR DAS LIGAS Ti-43Nb E TI-30NB-8ZR PARA
UTILIZAÇÃO COMO BIOMATERIAIS COM TRATAMENTO DE
SUPERFÍCIE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências em Ciências dos Materiais.

Orientador: Prof. Carlos Nelson Elias - D.C. do IME
Co-Orientador: Prof. Daniel Jogaib Fernandes - D.C. do IME

Rio de Janeiro
2016

c2016

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

Praça General Tibúrcio, 80 – Praia Vermelha

Rio de Janeiro – RJ CEP: 22290-270

Este exemplar é de propriedade do Instituto Militar de Engenharia, que poderá incluí-lo em base de dados, armazenar em computador, microfilmear ou adotar qualquer forma de arquivamento.

É permitida a menção, reprodução parcial ou integral e a transmissão entre bibliotecas deste trabalho, sem modificação de seu texto, em qualquer meio que esteja ou venha a ser fixado, para pesquisa acadêmica, comentários e citações, desde que sem finalidade comercial e que seja feita a referência bibliográfica completa.

Os conceitos expressos neste trabalho são de responsabilidade do(s) autor(es) e do(s) orientador(es).

620.11 S237c	Santos, Leonardo Emiliano dos Caracterização das ligas NB-43TI e TI-30NB-8ZR para utilização como biomateriais / Leonardo Emiliano dos Santos; orientado por Carlos Nelson Elias e Daniel Fernandes Jogaib – Rio de Janeiro: Instituto Militar de Engenharia, 2015. 86p.: il. Dissertação (Mestrado) – Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 2015. 1. Curso de Ciência dos Materiais – teses e dissertações. 2. Implantes dentários. 3. Ligas de Titânio. 4. Módulo de Young. I. Elias, Carlos Nelson. II. Jogaib, Daniel Fernandes. III. Título. IV. Instituto Militar de Engenharia.
-----------------	--

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

LEONARDO EMILIANO DOS SANTOS

**ESTUDO PRELIMINAR DAS LIGAS Ti-43Nb E Ti-30Nb-8Zr PARA
UTILIZAÇÃO COMO BIOMATERIAIS COM TRATAMENTO DE
SUPERFÍCIE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Orientador: Prof. Carlos Nelson Elias

Co-orientador: Prof. Daniel Jogaib Fernandes

Aprovada em 27 de janeiro de 2016 pela seguinte Banca Examinadora:

Prof. Carlos Nelson Elias – D.C. do IME- Presidente

Profa. Andersan Dos Santos Paula- D.C. do IME

Profa. Aline Raybolt Dos Santos – D.C. da UFRJ

Prof. Daniel Jogaib Fernandes – D.C. do IME

Rio de Janeiro

2016

Dedico este trabalho a Deus e a minha família: Minha esposa Mônica e meus filhos Nicole e Samuel. O apoio incondicional e irrestrito de vocês têm sido a força que necessito para vencer os obstáculos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço sempre em primeiro lugar, a Deus, por cada minuto e por ter chegado até a conclusão de mais esta etapa.

Aos meus orientadores, Prof. Carlos Nelson Elias e Prof. Daniel Jogaib Fernandes pela oportunidade ímpar de trabalho e por acreditarem em mim. Obrigado pela grandiosa ajuda.

A minha maravilhosa esposa, grande companheira, que juntamente com meus filhos, foram a principal razão e grandes incentivadores para conclusão desta etapa.

Aos meus pais pela compreensão e por terem me formado para as lutas diárias.

Ao Hector Borja e aos técnicos de laboratório Leonardo, Danilo e Joel pela dedicação e pela grande ajuda na realização dos ensaios.

Ao amigo Pedro Mendes, pelas palavras de incentivo e ajuda inestimável.

Ao Prof. Sérgio Motta, grande incentivador deste curso.

Ao INT pela prestimosa ajuda, através dos funcionários Rafael de Abreu Vinhosa e Edinaldo Gouvêia.

A todos os professores do IME, solícitos e atenciosos que contribuíram para minha formação.

Obrigado!

*“ISTO É UMA ORDEM: SÊ FIRME E CORAJOSO.
NÃO TE ATEMORIZES, NÃO TENHAS MEDO,
PORQUE O SENHOR ESTÁ CONTIGO EM
QUALQUER PARTE PARA ONDE FORES”*

Livro de Josué
Bíblia Sagrada

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	9
LISTA DE TABELAS.....	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	14
LISTAS DE SIGLAS.....	16
1 INTRODUÇÃO.....	19
1.1 Objetivo.....	20
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1 Titânio e suas ligas.....	21
2.2 Microestrutura.....	23
2.3 Propriedades mecânicas.....	24
2.4 Biocompatibilidade.....	28
2.4.1 Ticp4.....	30
2.4.2 Liga de titânio TiNb.....	31
2.4.3 Liga de titânio TiNbZr.....	32
2.5 Resposta Celular.....	35
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
3.1 Materiais.....	39
3.2 Metodologia.....	39
3.2.1 Preparação metalográfica.....	39
3.2.1.1 Tamanho médio de grãos.....	40
3.2.2 Difração de Rx.....	41
3.2.3 Microdureza.....	41
3.2.4 Densidade.....	42
3.2.5 MEV - EDS.....	43
3.2.6 Rugosidade.....	43
3.2.7 Molhabilidade.....	43
3.2.8 UV - Radiação ultravioleta.....	44
3.2.9 Cultura de células.....	44
3.2.10 Análise química (fluorescência).....	46
4 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	47
4.1 Caracterização de microestrutura.....	47
4.1.1 Tamanho médio de grãos.....	50
4.2 Difração de Rx.....	51
4.3 Microdureza.....	54
4.4 Densidade.....	56
4.5 Microscopia eletrônica de varredura - MEV.....	58
4.6 Rugosidade.....	60
4.7 Espectroscopia de energia dispersiva - EDS.....	62
4.8 Molhabilidade.....	64
4.9 UV - Radiação ultravioleta.....	65

4.10	Estudo piloto de cultura de células.....	67
4.11	Análise química (fluorescência).....	74
5	CONCLUSÃO.....	75
6	SUGESTÕES.....	76
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIG.2.1	Diagrama da microestrutura das fases α e β das ligas de titânio.....	24
FIG.2.2	Gráfico tensão-deformação obtido no ensaio de tração.....	26
FIG.2.3	(a)(b) Módulo de Young de Ti-Nb-Zr (a) e Ti-CP (b) fabricados por metalurgia do pó, medidos nos ensaios de tração, flexão e compressão.....	26
FIG.2.4	Picos de difração da liga.....	27
FIG.2.5	(a) ensaio de LDH e (b) avaliação do DNA em 14 dias.....	32
FIG.2.6	Ilustração de ângulos de contato formados por líquido em uma superfície sólida homogênea.....	37
FIG.3.1	Metodologia de interseção de Heyn aplicada sobre imagem em microscopia óptica em um aumento de 200x na amostra de Ti30Nb8Zr (ASTM E 112/96).....	40
FIG.4.1.	Morfologia da superfície das amostras de Ticp4.....	46
FIG.4.2.	Morfologias das amostras da liga de Ti43Nb.....	47
FIG.4.3.	Morfologia das amostras da liga Ti30Nb8Zr.....	48
FIG.4.4.	Espectro de difração de raios-X da amostra de Ticp4.....	50
FIG.4.5	Espectro de difração de raios-X da amostra de Ti43Nb.....	51
FIG.4.6.	Espectro de difração de raios-X da amostra de Ti30Nb8Zr.....	51
FIG.4.7.	Diagrama de fases Nb-Ti (ASM-Metals- Hand Book – 1992).....	52

FIG.4.8	Valores médios da microdureza Vickers das amostras testadas no presente trabalho (Ticp4, Nb43Ti e Ti30Nb8 Zr dos obtidos por (TiCp/Ti6Al4V/Ti13Nb13Zr) do estudo deOzan et al 2015 para as ligas Ticp, Ti6Al4V e Ti13Nb13Zr.....	53
FIG.4.9	Morfologia da superfície dos discos de Ticp4.....	57
FIG.4.10	Morfologia da superfície dos discos de Nb43Ti.....	58
FIG.4.11	Morfologia da superfície dos discos de Ti30Nb8Zr.....	59
FIG.4.12	Valores médios de Ra das amostras analisadas no presente trabalho e os obtidos por Bigi et al 2007 para as amostras das ligas Ti13Nb13Zr eTi6Al4V.....	60
FIG.4.13	Morfologias representativas das superfícies das amostras obtidas no rugosímetro Zygo: (a) TiCP4 (b) Nb43Ti e (c) Ti30Nb8Zr.....	60
FIG.4.14	(a) o espectro obtido na microanálise da amostra de Ticp4 e (b) Imagem da superfície.Por se tratar de um material comercialmente puro, observa-se somente o espectro do titânio.....	61
FIG.4.15	(a) espectro do EDS da amostra de Nb43Ti e (b)Imagem da superfície.....	62
FIG.4.16	(a) espectro do EDS da amostra de Ti30Nb8Zr e (b)Imagem da superfície.....	62
FIG.4.17	Imagens representativas da gota de água sobre a superfície das amostras. (a) TiCP4; (b) Nb43Ti e (c) Ti30Nb8Zr.....	63
FIG.4.18	Análise comparativa da molhabilidade da amostra de Ticp4/Ti43Nb/ Ti30Nb8Zr.....	65
FIG.4.19	(a) Morfologia da superfície da amostra de TiCP4 tratada com Porous®. (b) Visualização de alguns osteoblastos (imagens claras) na superfície tratada de TiCp4 (c) Maior quantidade de células ósseas, com formação de colônias de osteoblastos (d) Observa-se maior crescimento, proliferação e espalhamento celular, com visualização dos prolongamentos osteoblásticos. (e) Osteoblasto e seus prolongamentos.....	66
FIG.4.20	(a) Fotomicrografia de 2 (dois) osteoblastos unidos por seus prolongamentos (b)(c)(d) osteoblastos com corpo de aspecto mais achatado e prolongamentos amplos e estendidos (e) Unidade osteoblástica com corpo mais arredondado, caracterizando menor maturidade celular.....	67

FIG.4.21	(a)(b) Nestas imagens os osteoblastos após processo de maturidade celular assumem características semelhantes à superfície do material. (c) (d) Na análise superficial o que diferencia material da célula óssea é que esta está em posição diferente às estrias superficiais do material. (e) Osteoblasto imaturo com corpo arredondado.....	69
FIG.4.22	(a)(b)(c) Concentração de osteopontina após 24/48/96 horas de cultura celular.....	70
FIG.4.23	(a)(b)(c) Concentração de Colágeno tipo 1 24/48/96 horas de cultura celular.....	71

LISTA DE TABELAS

TAB.2.1	Propriedades do titânio puro.....	21
TAB.2.2	Ligas de titânio (*Liga desenvolvida para aplicação biomédica). (Azevedo et al 2003).....	22
TAB.2.3	Composição química de Ti CP (ASTM F 67) e Ti6Al4V (ASTM F 136).....	23
TAB.2.4.	Propriedades mecânicas do Ti CP (ASTM F 67) e Ti6Al4V (ASTM F 136).....	24
TAB.2.5.	Comparação de propriedades físicas do Ti com: Fe, Co e Ni (Chen et al 2005). Adaptado.....	25
TAB.2.6	Resumo da biocompatibilidade de metais apresentados nas ligas testadas (Bartáková et al 2009).....	33
TAB.4.1	Tamanho médio de grãos em μm das ligas.....	49
TAB.4.2	Valores de densidades das amostras.....	57
TAB.4.3	Parâmetros da rugosidade superficial das amostras tratadas.....	59
TAB.4.4	Composição química (% peso) das ligas. Valores determinados com EDS.....	62
TAB.4.5	Valores médios e desvios padrões dos ângulos de contato da água com as superfícies das amostras.....	63
TAB.4.6	Ângulo de contato (grau) da água com a superfície das amostras após a fotoativação com UV.....	64

TAB.4.7 Composições químicas (% peso) das amostras. Análises por fluorescência de raios-X.....	73
--	----

LISTAS DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABREVIATURAS

CCC	-	Cúbico de corpo centrado
CFC	-	Cúbico de face centrada
HC	-	Hexagonal Compacta
Ticp4	-	Titânio comercialmente puro grau 4
GPa	-	Giga pascal
MPa	-	Mega pascal
ALP	-	Alkaline phosphatase
HV	-	Dureza vickers
EDS	-	<i>Energy-dispersive spectroscopy</i>
LDH	-	Lactato desidrogenase
DNA	-	Ácido desoxirribonucléico
SBF	-	<i>Simulated body fluid</i>
MEV	-	Microscopia eletrônica de varredura
HCA	-	Hidroxiapatita carbonatada
ISO	-	<i>International Organization for Standardization</i>
g/cm ³	-	Gramas por centímetro cúbico
SFE	-	Energia livre de superfície

SÍMBOLOS

°C	-	Temperatura medida em Celsius
K	-	Temperatura medida em Kelvin
Å	-	Angstrom
Pg/ml	-	Picograma por mililitro
g/mol	-	Gramas por mol
%	-	Percentual
α	-	Fase alfa
β	-	Fase beta

Ω - Fase ômega

LISTAS DE SIGLAS

ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
CBPF	Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas
ICDD	<i>The International Centre for Diffraction Data</i>
IME	Instituto Militar de Engenharia
INT	Instituto Nacional de Tecnologia

RESUMO

Os implantes dentários de Ti comercialmente puro apresentam excelente biocompatibilidade e propriedades mecânicas aceitáveis para esta função. No entanto, apresentam limitações para outras aplicações, como biomaterial, devido ao alto módulo de elasticidade em relação ao osso e baixa resistência mecânica e a fadiga. As ligas de Ti β , com propriedades mecânicas superiores, seriam uma melhor alternativa para outras aplicações. Este estudo teve como objetivo analisar a viabilidade do uso das ligas Ti-43%Nb e Ti-30%Nb-8%Zr como biomaterial. Para alcançar este objetivo foram realizadas análises comparativas da densidade, resistência mecânica e biocompatibilidade de duas ligas, com superfícies das amostras tratadas com duplo ataque ácido (Porous®). Os resultados iniciais se mostraram promissores quanto à resistência mecânica e biocompatibilidade. Analisando o comportamento dessas ligas, pode-se concluir que: a liga Ti30Nb8Zr, que possui menor tamanho de grãos e a retenção da fase β , pode ser responsável pelo resultado de microdureza vickers elevada desta liga. A adição de 8% de Zr na liga Ti30Nb aumentou a dureza e em consequência, a resistência mecânica, por se tratar de um endurecedor em solução sólida. Quanto a superfície das amostras, as ligas de Ti apresentaram comportamentos que favorecem sua biocompatibilidade. As superfícies apresentaram características micro e nanoestruturadas. Esta morfologia otimiza a aderência, proliferação e diferenciação celular, o que leva a um favorecimento no comportamento bioativo do material. As superfícies das amostras apresentaram baixo ângulo de contato ($< 90^\circ$), sendo caracterizadas como superfícies hidrofílicas. Após exposição à radiação ultravioleta, ocorreu um aumento na energia superficial, diminuição dos ângulos de contato e aumento da hidrofobicidade destas ligas. As ligas de Ti apresentaram resultados superiores ao TiCp4, que é um material que possui como uma das suas principais características a alta biocompatibilidade. Isto significa que estas ligas, apesar de mostrarem resultados superiores em ensaios in vitro, mostraram-se promissoras quanto ao comportamento de biocompatibilidade.

Palavras-chave: Implantes dentários; Biomateriais; Ligas de titânio

ABSTRACT

Dental implants of commercially pure Ti exhibit excellent biocompatibility and acceptable mechanical properties for this function. However, they have limitations for other applications such as biomaterials, due to the high modulus of elasticity relative to the bone and low mechanical strength and fatigue. B Ti alloys with superior mechanical properties, would be a better alternative to other applications. This study aimed to analyze the feasibility of using the alloys Ti-43%Nb and Ti-30% Nb-Zr 8% as a biomaterial. To achieve this goal were carried out comparative analyzes of density, mechanical strength and biocompatibility of two leagues. The initial results were promising as to mechanical strength and biocompatibility. Analyzing the behavior of these alloys, it can be concluded that: a Ti30Nb8Zr alloy has lower grain size and the retention of the β phase, may be responsible for the result of high hardness vickers this league. The addition of 8% Zr in the alloy Ti30Nb increased hardness and accordingly, the mechanical strength, because it is a solid solution hardener. As the surface of the samples, the Ti showed behaviors that favor its biocompatibility. The micro- and nanostructured surfaces presented characteristics. This morphology optimizes the adhesion, proliferation and cellular differentiation, which leads to favoring the bioactive behavior of the material. The surfaces of the samples showed low contact angle ($<90^\circ$), being characterized as hydrophilic surfaces. After ultraviolet radiation exposure, an increase in the surface energy, decrease of contact angle and increased hydrophilicity of these alloys. Ti alloys showed better results than the Ticp4, which is a material that has as one of its main features high biocompatibility. This means that these alloys, although superior results show in vitro tests have shown promise as the biocompatibility behavior.

1 INTRODUÇÃO

A utilização do titânio e suas ligas nas áreas médica e odontológica têm demonstrado resultados satisfatórios. Isto porque apresentam favorável combinação das propriedades mecânicas, químicas e físicas destes materiais, destacando-se a resistência mecânica, dureza, tenacidade, resistência à corrosão, densidade e biocompatibilidade (Niinomi *et al* 2008). No entanto, apesar do bom índice de sucesso dos implantes metálicos, existem situações em que se observam falhas durante o uso a longo prazo. Estas falhas tem sido associadas a baixa resistência à fadiga do material, elevado módulo de elasticidade em comparação com o do osso e à falta de biocompatibilidade específica para aquela aplicação. Devido a esses problemas, são realizadas pesquisas para desenvolver materiais com propriedades que garantam maior longevidade no corpo humano (Gepreel e Niinomi 2013).

O titânio e suas ligas possuem propriedades mecânicas adequadas para várias aplicações, entre elas placas para fixação de fraturas, próteses cardíacas e implantes para ancoragem ortodôntica. Para outras aplicações (prótese total de quadril e de joelho) os implantes metálicos atuais possuem rigidez inadequada. As ligas possuem maior módulo de elasticidade que o osso humano e induzem a concentração de tensões na interface implante-osso. Como consequência, ocorre a reabsorção óssea e o afrouxamento do implante. Este fenômeno é conhecido como “stress shielding”. Uma das soluções é usar ligas com módulos de elasticidade próximos ao do osso. Assim, tem aumentado as pesquisas para o desenvolvimento de ligas de titânio com algumas das propriedades mecânicas semelhantes a do titânio, mas com menor módulo de elasticidade (Brailovsky *et al* 2011).

O procedimento adotado tem sido a adição de nióbio ou zircônio no titânio para melhorar as propriedades em relação as ligas convencionais e para obter comportamento mecânico semelhante ao osso. O Nb adicionado ao Ti estabiliza a fase β , o que melhora as propriedades mecânicas da liga. O Zr é utilizado como um agente endurecedor em solução sólida e apresenta propriedades químicas semelhantes as do Ti (Ribeiro *et al* 2009). Por essas características, esses materiais foram utilizados neste estudo, ligados ao titânio, estabilizando fase beta em sua composição, com seus respectivos percentuais: Ti43Nb e Ti30Nb8Zr.

1.1 OBJETIVOS

Este estudo teve como objetivo analisar a viabilidade do uso das ligas Ti-43%Nb e Ti-30%Nb-8%Zr como biomaterial. Para alcançar este objetivo foram realizadas análises comparativas da densidade, resistência mecânica e biocompatibilidade de duas ligas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TITÂNIO E SUAS LIGAS

O titânio e as suas ligas destacam-se principalmente devido à sua alta resistência mecânica, excelente resistência à corrosão e elevada biocompatibilidade, características que o credenciam como material de opção para utilização como próteses ortopédicas e odontológicas. Outras áreas, como arquitetura, processamento químico, medicina, geração de energia, nave e transporte têm aumentado interesse na utilização deste material (Leyens e Peters 2003). Na Tabela 2.1 são apresentadas as principais propriedades físicas do titânio puro.

Tabela 2.1: Propriedades do titânio puro.

Propriedade	Valor
Número Atômico	22
Peso Atômico	47,9
Estrutura Cristalina	HC (α)
c	4,68 Å
a	2,95 Å
Cúbica de corpo centrado (β)	
a	3,28 Å
Densidade (g/cm^3)	4,54
Condutividade térmica (W/(m K))	19,2
Temperatura de fusão	1668°C
Temperatura de transformação (°C)	882
Módulo de elasticidade (α) GPa	105
Limite de escoamento (α) MPa	692
Limite de resistência (α) MPa	785

Apesar do emprego das ligas de Ti na fabricação dos implantes osseointegráveis, atualmente há predominância do emprego do titânio comercialmente puro (Ticp). Entre as ligas mostradas na tabela 2.2, o Ticp4 (titânio comercialmente puro grau 4), é o mais utilizado na fabricação dos implantes dentários por apresentar maior resistência mecânica.

O titânio comercialmente puro (liga α) e a liga Ti6Al4V (liga $\alpha+\beta$) são as ligas mais utilizadas na fabricação de implantes dentários, apesar de exibirem algumas limitações, como a baixa resistência mecânica do Ticp e a liberação de $VeAl$, os quais podem causar efeitos citotóxicos ou distúrbios neurológicos.

Tabela 2.2: Ligas de titânio (*Ligas desenvolvidas para aplicação biomédica). (Azevedo *et al* 2003)

LIGAS	NORMAS	MICROESTRUTURA
Ti-6Al-4V ELI	ASTM F136, ASTM F620, ISO5832-3	$\alpha+\beta$
Ti-6Al-4V	ASTM F1108, ASTM F1472	$\alpha+\beta$
Ti-6Al-7Nb*	ASTM F1295, ISO 5832-11	$\alpha+\beta$
Ti-5Al-2,5Fe*	ISO 5832-1	$\alpha+\beta$
Ti-5Al-3Mo-4Zr*	-	$\alpha+\beta$
Ti-15Sn-4Nb-2Ta-0,2Pd*	-	$\alpha+\beta$
Ti-15Zr-4Nb-2Ta-0,2Pd*	-	$\alpha+\beta$
Ti-13Nb-13Zr*	ASTM F1713	β
Ti-12Mo-6Zr-2Fe*	ASTM F1813	β
Ti-15Mo	-	β
Ti-16Nb-10Hf	-	β
Ti-15Mo-5Zr-3Al	-	β
Ti-15Mo-2,8Nb-0,2Si-0,26°	-	β
Ti-35Nb-7Zr-5Ta*	-	β
Ti-29Nb-13Ta-4,6Zr*	-	β
Ti-40Ta*	-	β
Ti-50Ta*	-	β

O Ticp4 é conhecido como o mais resistente dos quatro graus de titânio comercialmente puro. É também conhecido pela sua excelente resistência à corrosão, boa formabilidade e soldabilidade. Mostra-se na tabela 2.3 as composições químicas dos diferentes tipos de Ticp e da liga Ti-6Al-4V (Ti G5) utilizadas como biomaterial (Leyens e Peters 2003).

Tabela 2.3: Composição química de Ticp (ASTM F 67)

Elemento	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau4
N máx	0,03	0,03	0,05	0,05
C máx	0,10	0,10	0,10	0,10
H Max	0,015	0,015	0,015	0,015
Fe máx	0,20	0,30	0,30	0,50
O máx	0,18	0,25	0,35	0,40
Ti	Equilíbrio			

Estudos recentes são focados no desenvolvimento de novas ligas de titânio especificamente para aplicações biomédicas, tal como as ligas β , que possuem boas propriedades, entre elas menor densidade, excelente resistência à corrosão e baixo módulo de elasticidade em comparação com as ligas de titânio α e $\alpha + \beta$. (Dalmau *et al* 2015). As ligas de Ti, Nb e Zr aparecem como materiais promissores por que não possuem toxicidade, baixo módulo de elasticidade e propriedades bioquímicas (Geetha *et al* 2004).

2.2 MICROESTRUTURA

O titânio puro, bem como a maior parte das ligas de titânio, em baixas temperaturas, apresenta uma estrutura hexagonal compacta (HC), denominada titânio α . Em altas temperaturas, no entanto, a estrutura cúbica de corpo centrado (CCC) é estável e é referida como titânio β . A temperatura β -transus do titânio puro é $882 \pm 2^\circ \text{C}$. A existência de duas estruturas cristalinas e a correspondente temperatura de transformação alotrópica influenciam nas propriedades das ligas de titânio. Além disso, a estrutura de cristalina hexagonal provoca uma anisotropia no comportamento mecânico do titânio α (Leyens e Peters 2003).

As ligas de titânio que possuem as fases α e β são caracterizadas por uma microestrutura granular de grãos da fase β dispersos na matriz α (figura 2.1). No interior dos grãos existem colônias de fase lamelar, a qual é nucleada nos contornos dos grãos. As lamelas nas colônias crescem de forma paralela, formando a textura dentro dos grãos. A descrição quantitativa deste tipo de microestrutura deve incluir dados sobre todos os três parâmetros: grãos, colônias e lamelas (Chraponski e Szkliniarz, 2001).

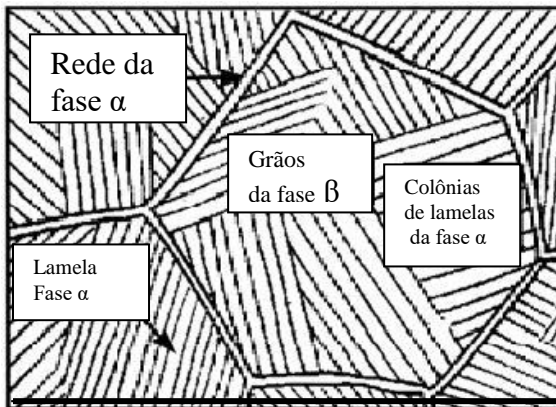


Figura 2.1: Diagrama da microestrutura das fases α e β das ligas de titânio (Chraponki e Szkliniarz 2001) Adaptada

2.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS

O teor de oxigênio e dos elementos intersticiais (CeN) influenciam na resistência à tração e à fadiga. O endurecimento ocorre através do mecanismo de solução sólida intersticial. O nitrogênio possui aproximadamente o dobro do efeito de endurecimento em relação ao carbono e oxigênio. O Ti puro é um metal alotrópico com fase hexagonal α (HC) abaixo 882°C e transformando em uma fase β (CCC) acima dessa temperatura. Como a sua microestrutura típica é a fase alfa, o trabalho à frio é também um mecanismo de reforço aplicado. Na tabela 2.4 são apresentadas as principais propriedades do T1cp (ASTM F 67)

Tabela 2.4: Propriedades mecânicas do T1cp (ASTM F 67) e Ti6Al4V (ASTM F 136)

Propriedade	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Ti6Al4V
Limite de tensão (MPa)	240	345	450	550	860
Escoamento (MPa)	170	275	380	485	795
Alongamento (%)	24	20	18	15	10

A utilização como biomateriais das ligas de titânio contendo a fase β , têm aumentado devido ao seu menor módulo de elasticidade, boa biocompatibilidade e resistência à corrosão superiores, em comparação com aos aços inoxidáveis e ligas à base de cobalto (tabela 2.5). Estas propriedades nortearam o desenvolvimento mais recente de ligas β metaestáveis, para utilização como biomateriais (Chen *et al* 2005).

Vários estudos (Malek *et al* 2013 e Yu *et al* 2009) foram realizados sobre a quantificação das tensões residuais, induzidas pela transformação da fase α martensítica reversível para

microestrutura β . Estas transformações influenciam nas propriedades mecânicas, as quais variam com microestrutura, tamanho e morfologia de grãos.

Tabela 2.5: Comparação de propriedades físicas do Ti com: Fe, Co e Ni (Chen et al 2005).

Adaptado

Elementos	Densidade(g/cm ³)	Estrutura	Módulo de Young	Módulo de cisalhamento	Ponto de fusão	
Fe	7,9	CCC(220)abaixo912°C	211	170	82	1538
		CFC(220)912-1394°C				
		CCC(220)acima1394°C				
Co	8,8	HC abaixo 417°C	210	180	75	1493
		CFC acima 417 °C				
Ni	8,9	CFC	200	180	76	1455
Ti	4,5	HC(220)abaixo 885 °C	116	110	44	1668
		CCC(220)acima885 °C				

Além da adição dos elementos intersticiais (C, O e N) para obter o endurecimento por solução sólida, o Zr tem sido adicionado ao Ti para obter melhores propriedades. O Zr é quimicamente semelhante ao titânio, é usado como elemento neutro quando adicionado, possui comportamento termodinâmico similar ao Ti, apresenta transformação alotrópica idêntica e com temperatura de transição de fase da mesma ordem de grandeza. Quando em solução sólida no titânio nas fases α e β , o Zr promove endurecimento e diminui a velocidade de transformação de fase. Este elemento tem grande solubilidade em ambas as fases cristalinas do titânio e podem formar ligas com várias proporções, bem como aumenta a resistência mecânica (resistência à tração, dureza, e resistência à flexão) e melhora a resistência à corrosão. (Duraccio *et al* 2015)

Kim *et al*(2005) adicionaram quantidades de Zr (2-8%) em uma liga de Ti-22Nb, e determinaram propriedades mecânicas através de ensaios de tração (limite de escoamento, limite de ruptura e deformação plástica) a temperatura ambiente. Quanto ao limite

de escoamento, houve aumento com o aumento do teor de Zr. Isto é devido ao endurecimento por solução sólida da liga. A deformação na ruptura diminuiu de 40% para 27%, com o aumento do teor de Zr (figura 2.2).

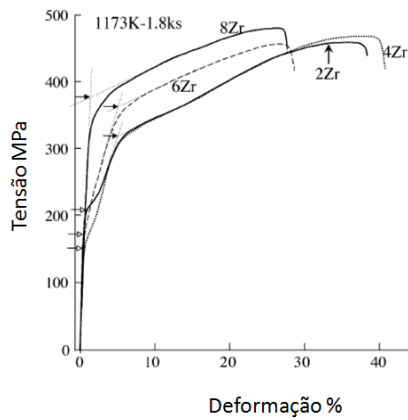


Figura 2.2: Gráfico tensão-deformação obtido no ensaio de tração (Kim *et al* 2005) Adaptada

Em um estudo, onde foram realizados ensaios de tração, compressão e flexão, os resultados indicaram que o módulo de Young da liga TiNbZr diminuiu significativamente com o aumento da temperatura de recozimento de 450 para 600°C. O módulo de Young diminuiu de 10 GPa \pm 2 à 6 GPa \pm 1. Sob as mesmas condições de ensaio, no mesmo estudo, o TiCp produzido pela mesma tecnologia e com porosidade semelhante permaneceu relativamente insensível ao recozimento pós-sinterização (figura 2.3). (Brailovski *et al* 2012)

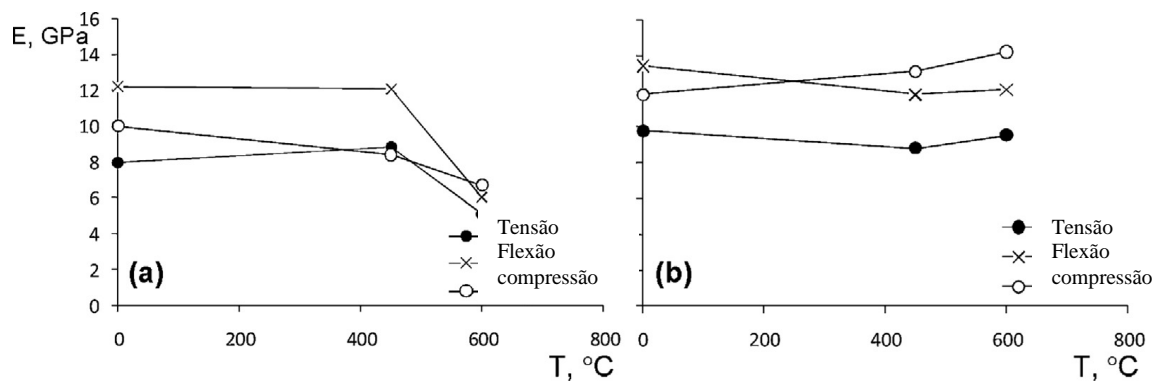


Figura 2.3: (a) Módulo de Young de TiNbZr (b) TiCp fabricados por metalurgia do pó, medidos nos ensaios de tração, flexão e compressão. (Brailovski *et al* 2012) Adaptado

A microestrutura das ligas forjadas à quente com baixa fração de Zr apresentam a formação predominante da fase α . O desaparecimento da fase α martensita em amostras com maior teor de Zr (4Zr, 6Zr e 8Zr) indica que Zr atua como elemento β -estabilizador. A

composição química nominal da liga de Ti-35Nb-4Zr parece ser suficiente para reter a microestrutura Ti- β monofásicos . Com a variação do percentual de Zr ocorreu a formação de diferentes tamanhos de grãos (Malek et al 2013).

Em um estudo de Yu *et al* 2009 com diminuição do teor de Zr em liga de TiNb, o tamanho de grãos da microestrutura das ligas foi reduzido. Nas caracterizações por difração de raio-x, o pico característico do plano (1 10) da fase β , sofreu deslocamento para esquerda, e a largura do pico cresceu com o aumento da adição de Zr (figura 2.4). A temperatura de transformação martensítica foi diminuída quando a quantidade de Zr aumentou, indicando o efeito de Zr na estabilização da fase β .

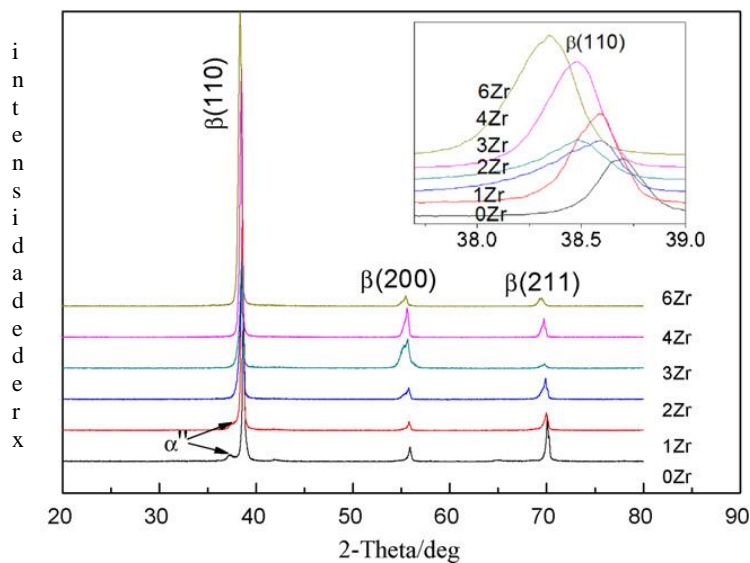


Figura 2.4: Picos de difração da liga $Ti_{75-x}Nb_{25}Zr_x$ ($x = 0-6$). (Yu *et al* 2009) Adaptada

Em alguns casos, dependendo da composição química da liga e dos parâmetros de tratamento térmico, ocorre a precipitação da fase metaestável ω . Entretanto, a precipitação dessa fase não é desejável, pois a mesma induz a fragilização da liga, com diminuições da ductilidade e a resistência à fadiga (Lin *et al* 2002). Alguns autores sugeriram que a fase ω pode atuar como precursor de nucleação heterogênea da fase α em temperaturas médias (Cremasco *et al* 2011). O Nb é conhecido, dependendo da quantidade do elemento, como elemento que ao ligar-se com titânio estabiliza fase β (β -estabilizador) que promove a diminuição da temperatura de transformação da fase α para a fase β quando adicionado ao titânio puro (Leyens e Peters, 2003). A temperatura ambiente, essas ligas apresentam predominância de fase β , e a estabilização da estrutura CCC está relacionada com características de baixo módulo de elasticidade e elevada resistência mecânica (Martins *et al* 2008).

Nb, Ta e Zr são elementos de liga não tóxicos e anti-alérgicos, adequados para utilização como elementos de liga no titânio para aplicações biomédicas. Ligas de titânio de baixa rigidez apresentam vantagem na cicatrização de fratura óssea e remodelação óssea, comprovada em estudos *in vivo* (Niinomi 2008). Um baixo módulo de Young equivalente ao do osso cortical é necessário para inibir a absorção óssea. O efeito do “stress-shielding” é um fenômeno em que a tensão *in vivo* é aplicada sobre osso circundante, resultando numa carga preferencial para um implante com elevado módulo de Young e uma inibição da transferência de tensão normal para o osso circundante (Noyama *et al* 2012).

Em um estudo que propõe a substituição do Ni nas ligas de titânio por ligas Ti-Nb, Ni-free (sem níquel), sobre memória de forma, constataram que essas ligas sofreram transformação martensítica termoelástica da fase β para fase α' após resfriamento. Nestas ligas, a temperatura inicial de transformação martensítica (M_i) aumentou com a diminuição da quantidade de Nb. O efeito de superelasticidade é devido à reorientação das variantes martensíticas durante o carregamento e a transformação reversa após descarregamento. Assim, a análise do comportamento das ligas com memória de forma durante deformação, é importante para a compreensão das propriedades e desempenho das ligas tipo β à base de Ti (Tobe *et al* 2013).

2.4 BIOCAMPATIBILIDADE

Uma liga metálica ideal para implante deve exibir algumas propriedades, tais como: biocompatibilidade, densidade menor que a do osso, alta resistência mecânica e resistência à fadiga, baixo módulo de elasticidade e boa resistência ao desgaste. Apesar das ligas de titânio utilizadas como biomateriais não apresentarem todas as propriedades desejadas para estas aplicações, elas são usadas devido às suas excelentes propriedades mecânicas e boa biocompatibilidade (Nie *et al* 2014).

A avaliação das propriedades mecânicas e químicas, são essenciais para projetar um biomaterial. As propriedades mecânicas são dependentes da microestrutura, por isso é fundamental para controlá-las através da modificação da microestrutura. Além disso, a caracterização de superfícies de biomateriais é também importante devido à osseointegração, que é um item importante em aplicações biomédicas (Schneider *et al* 2005).

Nag e Banerjee (2012) classificaram três requisitos necessários para as propriedades dos implantes:

- O material utilizado para a prótese tem de ser compatível com o corpo humano. As mudanças resultantes das propriedades mecânicas, físicas e químicas dentro do ambiente, não deve conduzir a alterações deletérias locais e efeitos sistêmicos prejudiciais.
- O implante deve ter o equilíbrio desejado de propriedades mecânicas e físicas necessárias para o desempenho esperado. A otimização específica de propriedades, tais como a elasticidade, escoamento, ductilidade, deformação relacionada com tempo, limite de resistência máxima, resistência à fadiga, dureza, e resistência ao desgaste, realmente depende do tipo e a funcionalidade específica do implante.
- O dispositivo em questão deve ser relativamente fácil de fabricar, sendo reprodutível, consistente, e de acordo com todas as técnicas e requisitos biológicos. Produção de excelente acabamento de superfície ou textura, com capacidade do material para conseguir adequada esterilização e custo de produção. A reparação de tais implantes em caso de falha é também muito importante. Tem-se observado que para qualquer prótese, a revisão da cirurgia de um implante é difícil, diminuindo taxa de sucesso, e podendo induzir danos adicionais para os tecidos circundantes.

Segundo Leyens e Peters (2003), no sistema implante/corpo várias interações e reações podem conduzir às seguintes injúrias:

- Pelo processo de corrosão, um fluxo de elétrons do metal do implante e um fluxo de íons no tecido circundante é produzido. Este fluxo de íons no tecido pode perturbar o movimento fisiológico de íons das células nervosas.
- Uma reação inorgânica do implante, ou especialmente de produtos primários de corrosão, comum a grande superfície por uma solução de íons metálicos no fluido corporal e transporte para vários órgãos, onde eles se tornam concentrados e podem produzir efeitos sistêmicos ou de hipersensibilidade, se o limite de toxicidade para um determinado metal é excedido.
- Uma reação orgânica, direta do implante ou dos produtos primários de corrosão com proteínas do tecido, provocando alergia ou inflamação.

- A produção de $H^2 O^2$ por células inflamatórias e a decomposição deste $H^2 O^2$ com a formação de um radical hidroxila causando injúria do sistema biológico.

O módulo de Young do Ti (110 GPa) é maior que o do osso maxilar (30-50 GPa) e em algumas aplicações a resistência mecânica é insuficiente com o risco de fratura por fadiga. Assim, tornou-se necessário a obtenção de uma nova classe de ligas metálicas que combine um adequado módulo de elasticidade com boas propriedades mecânicas e anticorrosivas e nenhuma toxicidade potencial ao corpo humano (Moreno *et al* 2013).

Foi demonstrado que a adição do nióbio, zircônio e tântalo ao titânio atendem esses requisitos. Estes elementos são conhecidos como beta estabilizadores, pois quando adicionados ao titânio, obtém-se a microestrutura β -Ti (CCC) ao invés de α -Ti (HC). Alguns beta estabilizadores apresentam excelente biocompatibilidade (Hao *et al* 2010).

Segundo Majundar *et al* (2011) apesar das ligas de Ti serem usadas na fabricação dos implantes osseointegráveis, atualmente há predominância do emprego do titânio comercialmente puro. Entre as ligas mostradas na tabela 1, o Ticp4, é o mais utilizado na fabricação dos implantes dentários por apresentar maior resistência mecânica que as demais ligas de Ti.

2.4.1 Ticp4

Na norma ASTM F67, que abrange as especificações para utilização do titânio puro como biomaterial, relata que este material têm sido empregado com sucesso em aplicações de implantes humanos em contato com o tecido mole e osso por décadas. Devido ao nível bem caracterizado de resposta biológica exibida pelo titânio puro, este têm sido utilizado com controle na especificação F981 (Compatibilidade dos Biomateriais para implantes cirúrgicos). Nenhum material para implante cirúrgico mostrou ser completamente livre de reações adversas no corpo humano. A experiência clínica de longo prazo do uso do referido nesta especificação, no entanto, mostrou que um nível aceitável de resposta biológica pode ser esperado, se o material é usado em aplicativos apropriados.

2.4.2 Liga de titânio TiNb

Apesar das ligas binárias de TiNb não possuírem normas específicas para classificação destas ligas como biomateriais, alguns estudos têm relacionado essas ligas com sua aplicabilidade como implantes cirúrgicos. Xu *et al*(2013) realizaram pesquisa que teve por objetivo observar as características da liga Ti-25Nb e sua biocompatibilidade *in vitro*, para fornecer evidência experimental fundamental para o desenvolvimento de novas próteses porosas ou implantes ósseos para a regeneração do tecido ósseo. As ligas foram então avaliadas com base em várias características, tais como propriedades mecânicas, pureza, tamanho de poro e porosidade. Para avaliar biocompatibilidade, as amostras foram submetidas a ensaios de colorimetria com metil tiazolde tetrazólio(MTT), adesão celular e ensaio de proliferação utilizando a coloração de acridina, MEV e detecção do fator inflamação interleucina-6. Com grupos de amostras sendo divididos em: Grupo com 40% de porosidade em sua superfície e Grupo com 70% de porosidade, por toda sua superfície. Depois das células terem sido inoculadas durante 3 horas, as células-tronco mesenquimais da medula óssea de coelho, aderiram à superfície da amostra da liga com 70% de porosidade. Após 24 horas, saliências semelhantes à pseudópodes das células apareceram, inter-relacionadas entre si, com as células firmemente ligadas à superfície da liga com 70% de porosidade. Após 72 horas de inoculação, as células começaram a crescer para dentro dos poros das ligas com 70% de porosidade e 40% de porosidade. As células foram crescendo a partir da borda para o interior dos poros do grupo de porosidade de 70% na qual matriz extracelular pode também ser observada (Xu *et al* 2013).

Em um estudo comparativo de McMahon *et al*(2012), sobre citotoxicidade em amostras de ligas binárias de Ni-49,2Ti e Ti-26Nb com células NIH3T3, as amostras foram marcadas pelas medidas LDH do DNA. O conteúdo de hidrogel dos discos de metal expostos. Especificamente, ao 14º dia, o conteúdo de DNA dos hidrogéis expostos a Ni-49,2Ti foi significativamente reduzida em relação aos géis expostos a Ti-26Nb e Ti ($P = 0,004$ e $P = 0,007$, respectivamente). Dado os indicadores das medidas de DNA, foram considerados padrões de rede de proliferação e morte celular. Estes resultados sugerem que as amostras de Ti-26Nb e Ti foram menos tóxicos do que Ni-49,2Ti (figura 2.5).

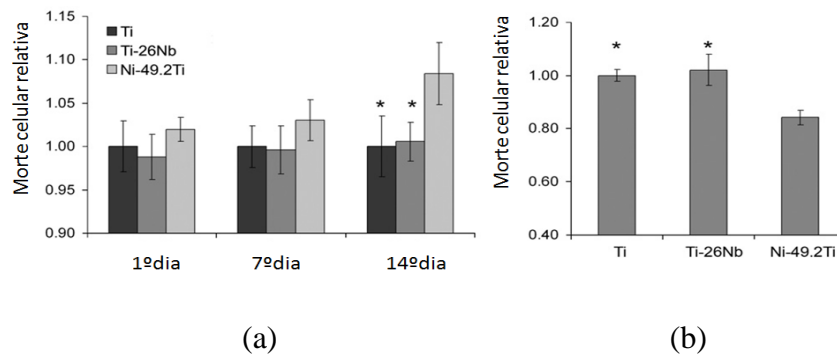


Figura 2.5:(a) ensaio deLDH e(b) avaliação do DNA em 14dias (McMahon et al 2012) Adaptado.

2.4.3 Liga de titânio TiNbZr

De acordo com a Norma ASTM F1713-08 atualizada em 2013, testes biológicos foram realizados com a liga Ti-13Nb-13Zr, não apresentando reação adversa. Os resultados nestes estudos indicaram um nível de resposta biológica local semelhante a que a produzida pela liga Ti-6Al-4V (ASTM F1472), que tem uma longa história de aplicação clínica de sucesso em implantes de tecidos moles e ossos em seres humanos.

No que se refere a biocompatibilidade, uma série de estudos em animais e in vitro foram realizados como: citotoxicidade, ensaio de sensibilização, pirogenicidade em coelhos, mutagenicidade, teste de micronúcleos em medula de ratos, implantação em músculo de coelhos, hemólise sangüínea de coelhos, teste de AMES (mutagenicidade) e toxicidade sistêmica. Toda resposta biológica foi comparada à liga de Ti-6Al-4V, que serviu como material de referência. Estes testes serviram como suporte ao uso deste material em implantes cirúrgicos. Em todos os casos, os resultados indicaram que este o material não foi mais reativo do que o material referência (ASTM F1713).

Em um estudo sobre aspectos biológicos das ligas de titânio, para aplicabilidade como implantes dentários, 34 ligas- β de titânio com diferentes quantidades de nióbio (Nb), molibdênio (Mo), tântalo (Ta), vanádio (Va), ferro (Fe) e zircônio (Zr) foram testadas. A sua adequação para possível uso como implantes dentários foram avaliadas com especial atenção para o potencial de toxicidade. Para avaliar a biocompatibilidade destas ligas, foram aplicados inúmeros testes biológicos com foco em: crescimento celular, adesão celular, dilatação celular, avaliação de toxicidade, testes de aberração cromossômica, e outros parâmetros de

biocompatibilidade. O teste de triagem e dois testes básicos de citocompatibilidade dos metais puros selecionados mostraram que apenas quatro dos metais testados exibiram uma elevada biocompatibilidade (tabela 2.6). Além do Ti, os elementos: Ta, Nb e Zr apresentaram potencial prospectivo para ligas biocompatíveis (Bartáková *et al* 2009).

Tabela 2.6:Resumo da biocompatibilidade de metais apresentados nas ligas testadas (Bartáková *et al* 2009).

ELEMENTO	TESTE DE DILATAÇÃO	TESTE DE ADESÃO	TRIAGEM	AVALIAÇÃO GLOBAL
Mo	Tolerante	Tolerante	Tolerante	Tolerante
Nb	Compatível	Compatível	Compatível	Compatível
Ta	Compatível	Compatível	Compatível	Compatível
Ti	Compatível	Compatível	Compatível	Compatível
V	Tolerante	Tóxico	Tolerante	Tolerante
Zr	Compatível	Compatível	Compatível	Compatível

Zardiackas *et al*(2005) Estudaram a resposta de osteoblastos, fibroblastos e linfócitos em ligas metálicas, onde foram avaliados os efeitos relativos de formas solúveis de Zr⁺⁴ e Nb⁺⁵ com concentrações entre 0,001 e 10,0 mM. Ligas contendo Zr e Nb provaram não ser mais tóxicos do que as ligas de implantes tradicionais. Concentrações abaixo de 0,1 mM, Zr e Nb não reduziram o número de osteoblastos,linfócitos, ou a proliferação de fibroblastos. Zr foi geralmente, em ordem de magnitude, menos tóxico do que o Nb. Os resultados indicaram que Zr e Nb solúveis resultantes de degradação por reação de solução de cloreto de células peri-implantares humanas (células MG-63 semelhantes a osteoblastos, fibroblastos, e linfócitos) responderam de forma semelhante à concentração específica para metais, capaz de produzir respostas locais e reações adversas tênues dos tecidos para o mesmo grau como metais de ligas de implantes tradicionais, por exemplo, o Ti-6Al-4V (ASTM F 138) e Co-Cr-Mo ligas (ASTM F75).

O tratamento químico da superfície da liga Ti-13Nb-13Zr, foi sugerido por Müller *et al*(2008) para formação de hidróxi-apatita carbonatada (HCA), através de testes in vitro de bioatividade

em fluido corporal simulado (SBF). Amostras de Ti-13Nb-13Zr sinterizadas foram tratadas com HCl, H_3PO_4 , e numa mistura de HF + HNO_3 , respectivamente, e subsequentemente pré-tratadas em NaOH. A exposição das amostras tratadas quimicamente e ativadas por NaOH em SBF durante 1 semana conduziu à formação de uma camada de HCA na superfície de HCl, bem como amostras tratadas em H_3PO_4 . A formação in vitro de HCA em SBF é geralmente aceite como uma característica típica para materiais bioativos, supõe-se que o condicionamento com HCl e subsequente tratamento com NaOH pode melhorar a capacidade de ligação ao osso in vivo de Ti-13Nb-13Zr.

Em um estudo in vitro que investigou a biocompatibilidade de uma camada de TiO_2 , com incorporação de íons cálcio (Ca), obtidos por tratamento hidrotérmico com tratamento térmico pós, na liga de Ti-13Nb-13Zr, realizado por Park et al 2011, as características da superfície foram avaliadas por MEV, difração de raios-X, espectroscopia, microscopia de força atômica e medidas de ângulo de contato. As superfícies contendo Ca foram avaliadas em comparação com superfícies não tratados utilizando uma linha de células pré-osteoblásticas. O tratamento hidrotérmico produziu uma camada cristalina de $CaTiO_3$. Com o tratamento térmico a 400 C por 2 h, houve diminuição significativa dos ângulos de contato na camada de $CaTiO_3$. As superfícies de liga com Ca, exibiu aumento na viabilidade celular e atividade de fosfatase alcalina (ALP) comparada com superfícies não tratadas, e também uma regulação da expressão de vários genes de integrina a um ponto inicial no momento da incubação. Após o tratamento térmico houve aumento na adesão e atividade de ALP em células cultivadas em superfícies de ligas Ti-13Nb-13Zr com Ca. Os resultados indicaram que a camada de óxido com Ca produzida pela tratamento hidrotérmico e tratamento térmico simples podem ser eficazes em melhorar a cicatrização óssea em implantes de liga de Ti-13Nb-13Zr por aumentar a viabilidade e diferenciação de células osteoblásticas (Park *et al* 2011).

Botino *et al* 2008 realizaram avaliação histomorfológica de implantes da liga de Ti-13Nb-13Zr e demonstraram que ocorreu osseointegração através de micrografias adquiridas imediatamente após remoção desses implantes de tíbias de coelhos neozelandeses, mostrando a presença de tecido mineralizado em contato. As micrografias em MEV avaliadas para as seções calcificadas de todos os lotes de implantes mostrou contato próximo entre o osso e o implante. A micrografia apresentada mostra a interação íntima entre o osso e o implante, suporte osteocondutor e propriedades biocompatíveis para ligas de Ti-13Nb-13Zr.

2.5 RESPOSTA CELULAR

As células que interagem com o implante, quando instalado em um meio endósseo e os osteoblastos são as principais células que participam diretamente na osseointegração. A matriz extracelular óssea é composta por 90% proteínas colagênicas (colágeno tipo I e 97% de colágeno tipo V 3%) e de 10% de proteínas não-colagênicas (osteocalcina de 20%, 20% osteonectina, sialoproteína óssea 12%, 10% proteoglicanos, osteopontina, fibronectina, fatores de crescimento, proteínas morfogenéticas do osso). Todas estas proteínas são sintetizadas por osteoblastos, que estão envolvidos na adesão a outras proteínas, tais como fibronectina e vitronectina demonstraram estar envolvidas no processo de adesão dos osteoblastos (Anselme 2000).

A importância da integração dos biomateriais com o tecido ósseo faz toda a diferença para o sucesso destes substitutos. A necessidade de se estudar todos aspectos que envolvem, principalmente as propriedades da superfície dos biomateriais, e o entendimento dessas reações, tanto do material, quanto do próprio tecido ósseo (processos inflamatórios), atenuará os riscos que estão ligados a reações que podem levar a perda de função destes materiais.

Atualmente o Ti é um material indicado, comprovado através de pesquisas, como biomaterial de primeira opção em próteses ortopédicas e odontológicas. As propriedades da superfície dos implantes de titânio pode ser significativamente melhorada na fase de fabricação, tendo como consequência a alteração da atividade celular, durante a fase de cicatrização, que acabará por determinar a resposta do tecido hospedeiro, um requisito fundamental para o sucesso clínico (Elias e Meireles, 2010)

Características da superfície dos implantes de Ti, como a formação da camada de óxido, é consequência da sua alta energia de superfície, que é capaz de absorver moléculas de O₂, as quais se dissociam e formam a camada de óxido de titânio. Desta forma, as propriedades desta camada são consideradas importantes no comportamento deste material, quando se analisa a biocompatibilidade. As propriedades de superfície dos implantes de titânio são determinados por fina película de óxido que recobre o metal (20 ~ 70 Å). Assim, a biocompatibilidade dos implantes de titânio está associada com a superfície de óxido de titânio e não com a massa de metal de titânio (Oshida 2012). A camada de óxido superficial também é formada durante os procedimentos de preparação de implante. Durante a maquinagem dos implantes, o titânio puro é exposto ao ar e é rapidamente oxidado. Nos seguintes procedimentos de limpeza e autoclavagem, película de óxido é então modificado e cresce. A fim de obter um filme de

óxido que é reprodutível em relação à composição química, estrutura e espessura, é importante que as diversas fases de preparação do implante sejam realizadas sob condições cuidadosamente controladas. Como mencionado anteriormente, porque o óxido superficial formado ao ar é quase impenetrável, uma vez que esta película passivante fina foi formada, o oxigênio é impedido de alcançar o metal abaixo e o espessamento da camada de óxido é rapidamente interrompido porque a película de óxido é densa e semi-condutora (não como um substrato de metal condutor de elétrons). A estrutura de composição e espessura exata da camada de óxido passivante é dependente de muitos fatores associados à sua formação. Estas incluem fatores como tipo de usinagem, rugosidade da superfície, refrigerantes utilizados durante a usinagem, e procedimentos de esterilização (Oshida, 2012).

A biocompatibilidade do titânio está intimamente relacionada com as propriedades de superfícies tais como rugosidade da superfície, topografia química da superfície (Lin *et al* 2013).

A rugosidade é uma das propriedades da superfície, e é geralmente caracterizada por um dos dois descritores estatísticos da altura preconizados pela American National Standards Institute (ANSI) e da International Standardization Organization (ISO) (Anonymous, 1975, 1985). Estes são (1) R_a (rugosidade média), ou AA (média aritmética) e (2) o desvio padrão ou variância (σ), R_q ou raiz quadrada média (RMS) (Bhushan, 2001)

Outra medida de superfície de rugosidade é R_t (ou R_y , R_{max} , ou máxima altura de pico à vale ou simplesmente distância P-V). Quatro outros descritores de altura de limitado uso, são: R_p (altura máxima de pico), R_v (profundidade máxima vale), R_z (altura média de pico ao vale), e R_{pm} (altura média de pico em média) (Bhushan, 2001)

A composição e o tipo de rugosidade da superfície do titânio estão relacionadas à um aumento nas taxas de osseointegração. Os implantes com superfície rugosa, melhoram a ancoragem óssea e biomecânica, otimizando sua estabilidade, melhorando sua característica osteocondutora, promovendo a cicatrização e aposição óssea, levando à rápida fixação biológica dos implantes de titânio (Le Guehennec *et al* 2006)

Há um certo número de superfícies de titânio comercialmente disponível para implantes dentários. A maior parte destas superfícies têm comprovada eficácia clínica. No entanto, o desenvolvimento destas superfícies tem sido empírico, não requerendo testes padronizados. A rugosidade superficial pode ser dividido em três níveis, dependendo na escala das características: macro, micro, e nanotopografias. Vários métodos têm sido desenvolvidos de

modo a criar uma superfície rugosa e melhorar osseointegração de implantes de titânio (Bauer *et al* 2013).

As modificações da morfologia em nanoescala de substratos de titânio para melhorar a osseointegração, são novas maneiras de melhorar a interação com os processos biológicos. Além disso, a nanotecnologia tem proporcionado meios para alterar as funções específicas de células. Várias técnicas têm sido utilizadas para criar características topográficas em nanoescala no titânio usado em implantes endósseos. Os dados existentes confirmam a influência da nanotopografia, e sugerem que as etapas críticas na osseointegração podem ser moduladas por modificações em nanoescala da superfície do implante. A modificação em nanoescala de superfícies de implantes de titânio endósseos pode alterar as respostas celulares e teciduais que podem beneficiar de osseointegração e a terapia com implantes de titânio (Mendonça *et al* 2008).

Outras propriedades relevantes da superfície dos biomateriais são a adsorção da superfície e a molhabilidade. Os estudos que envolvem a molhabilidade das superfícies consideram a medição de ângulos de contato, para indicar o grau de humedecimento do sólido pelo líquido. Ângulos de contato menores que $\leq 90^\circ$ indicam alta molhabilidade (superfície hidrofílica), enquanto grandes ângulos de contato maiores que $\geq 90^\circ$ correspondem a baixa molhabilidade (superfície hidrofóbica) (figura 2.6) (Yuan ; Lee, 2013).

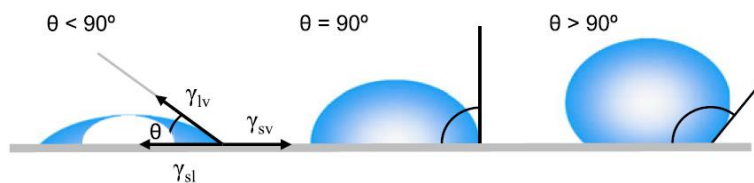


Figura 2.6: Ilustração de ângulos de contato formados por líquido em uma superfície sólida homogênea (Yuan ; Lee, 2013). Adaptada

Onde γ_{lv} , γ_{sv} e γ_{sl} representam as tensões interfaciais líquido-vapor, vapor-sólido e sólido-líquido, respectivamente.

A adsorção de íons dos fluidos corporais (por exemplo, íons de Ca e fosfatos), bem como a adsorção de biomoléculas (por exemplo, proteínas), são importantes para o desempenho biológico no processo de osseointegração. O comportamento de adsorção de espécies diferentes depende das propriedades da superfície (composição química, carga e energia) e podem ser adaptadas por modificações específicas da superfície. No que se refere a adsorção

de proteínas tem de ser considerado que em ambientes aquosos, um material hidrófilo apresenta uma energia interfacial menor do que um hidrófobo (Bauer *et al* 2013).

A adesão celular e o espalhamento das células é um parâmetro importante do desempenho do implante. A baixa eficiência do biomaterial muitas vezes é devido à falta de integração do implante com os tecidos subjacentes. A integração do tecido é condicionada à aderência e capacidade de espalhamento de células nas superfícies dos implantes. O comportamento celular nas superfícies de biomateriais depende de interações célula-implante, e das propriedades a superfície. A hidrofiliabilidade, a rugosidade, textura, composição química, carga e morfologia, afetam diretamente as respostas celulares em contato com implantes (Ponsonnet *et al* 2003).

Nas superfícies de titânio com estruturas micro e nanométricas possuem maior difusão celular e melhor adesão celular, sugerindo melhor ambiente durante interação interfacial da célula com a superfícies. A aderência celular à superfície do biomaterial é importante para o crescimento, proliferação e diferenciação celular. A melhor aderência aparente das células é benéfica para as suas atividades na superfície do biomaterial, o que leva à melhor aptidão e biocompatibilidade do titânio (Jiang *et al* 2013).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

No presente trabalho foram utilizadas amostras de Ticp4, Nb43Ti e Ti30Nb8Zr, onde foi recebido uma barra de cerca de 70cm de comprimento por 20mm de diâmetro da liga Ti30Nb8Zr, uma vara com cerca de 70cm de comprimento por 6mm de diâmetro da liga Ti43Nb e uma vara com cerca de 70cm de comprimento por 4mm de diâmetro do Ticp4.

A barra e as varas foram cortadas na cortadora modelo Brillant 210 da empresa Ziehl, para preparação dos corpos de prova em forma de discos com as seguintes dimensões: 5mm de espessura por 20mm de diâmetro da liga Ti30Nb8Zr, 5mm de espessura por 6mm de diâmetro da liga Ti43Nb e 5mm de espessura por 4mm de diâmetro do Ticp4, com obtenção no total de 13 (treze) discos para cada material a ser estudado. Deste total de discos, 10 (dez) discos de cada material foi submetido a tratamento de superfície com duplo ataque ácido (mistura HCl, HNO₃ e H₂SO₄) (Porous®).

3.2 METODOLOGIA

3.2.1 PREPARAÇÃO METALOGRÁFICA

Para a caracterização da microestrutura as amostras foram embutidas e lixadas na politriz marca Arotec, modelo Arapol E. Foram usadas as lixas de número 200, 400, 600 e 1.200. Todo o processo foi intercalado por lavagem dos discos a cada mudança de lixa e secagem final com álcool etílico PA. O polimento foi realizado com panos da marca Arotec TWI com pasta de diamante de 3 μ , pano FVL com alumina de 1 μ e pano FVL com solução de 90ml de sílica coloidal a 0,04 μ associado à 10 mL de peróxido de hidrogênio a 30%. O ataque metalográfico para revelar a microestrutura foi feito com base na norma E407-07 utilizando 10 mL de ácido fluorídrico (HF), 30 mL de ácido nítrico (HNO₃) e 50 mL de H₂O com variação do tempo para cada liga. Depois de atacadas, as amostras foram lavadas com detergente e água, enxaguadas em água corrente e secas.

3.2.1.1 TAMANHO MÉDIO DE GRÃOS

O protocolo para determinar o tamanho médio dos grãos das amostras foi orientado pela norma ASTM E 112/96, através da metodologia da interseção linear de Heyn. Para o cálculo do tamanho médio de grão considera-se o número de grãos interceptados por uma ou mais linhas traçadas sobre a imagem analisada (Figura 3.1). Em cada imagem foram traçadas 4 retas (2 diagonais , 1 vertical aleatória e 1 horizontal aleatória).

Com base na norma, cada grão interceptado era contado como uma interseção, e os grãos nas extremidades de todas as retas eram contados como meia interseção. De acordo a metodologia da interseção linear de Heyn, a equação utilizada é a seguinte:

$$TG = \frac{L}{N}$$

Onde:

TG → tamanho de grão (μm),

L → Comprimento real da reta (μm),

N → Número de grãos interceptados pela linha.

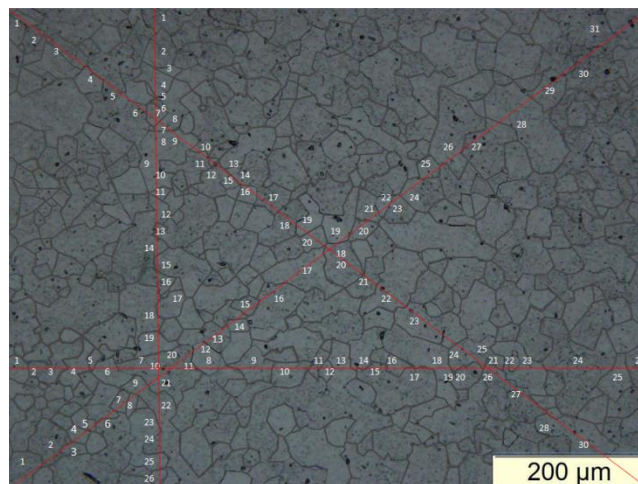


Figura 3.1: Metodologia de interseção de Heyn aplicada sobre imagem em microscopia óptica em um aumento de 200 vezes na amostra de Ti30Nb8Zr (ASTM E 112/96)

As contagens das interseções das retas com os grãos foram realizadas sobre as imagens feitas no microscópio óptico com aumento de 200 vezes.

3.2.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

As fases cristalinas das amostras estudadas foram caracterizadas por difração de raios X. A difração foi realizada com odifratômetro da PANalytical modelo X'Pert PRO com detector PIXcel, instalado no laboratório de microscopia do IME

Foram usados três discos, os quais foram posicionados lado a lado no porta amostras, de forma a obter-se uma área necessária para a varredura do feixe.

As fases identificadas nas amostras assim como a análise quantitativa foram realizadas através do *software HighScore Plus* versão 3.0e (3.0.5) 2012 da PANalytical, por comparação dos difratograma obtidos com bancos de dados PDF2-2004 do ICDD (*International Centre for Diffraction Data*), COD-Jan2012 (*Crystallography Open Database*) e ICSD (*Inorganic Crystal Structure Database*). Os dados cristalográficos das fases presentes, foram extraídos das fichas CIF (*Crystallographic Information File*).

As fases nas amostras foram identificadas com auxílio do *software HighScore Plus* versão 3.0e (3.0.5) 2012 da PANalytical, com a utilização das seguintes fichas de identificação:

- a) Ti α com código de referência 01-089-5009 e sistema cristalino hexagonal;
- b) TiO₂ com código de referência 01-088-1174 e sistema cristalino tetragonal;
- c) NbO₂ com código de referência 01-076-0682 e sistema cristalino tetragonal e,
- d) TiNb/NbTi com código de referência 03-065-9438 e sistema cristalino cúbico.

3.2.3 MICRODUREZA

Realizou-se o ensaio de microdureza Vickers, observando-se as recomendações da norma técnica ASTM E 384.

Em cada disco das ligas de Nb43Ti, Ti30Nb8Zr e Ticp4 foram realizadas 5 (cinco) indentações de forma aleatória sobre suas superfícies. Os resultados foram submetidos a análise estatística para determinar as médias aritméticas e desvios padrões. Utilizou-se um

microdurômetro da marca Buehler, modelo Micromet 2003, instalado no laboratório de ensaios mecânicos do IME, com aplicação de carga por um período de 15 segundos. O ensaio foi oHV 0,2(carga de 200gf).

3.2.4 DENSIDADE

As densidades das ligas foram determinadas pelo método de Arquimedes.

Utilizou-se uma balança analítica da marca Gehaka modelo AG200 (Ind.e Com. Eletro-Eletronica Gehaka Ltda., Brasil) com precisão de 10^{-4} g. Esta foi zerada (tarada) com a utilização de um Becker de vidro. Cada amostra foi totalmente imersa no líquido, segura por fio de seda odontológica da marca TECHNEW do tipo 4-0.As etapas para determinar as densidades, foram as seguintes:

- (1) Determinação da massa do corpo de prova (mC), com o corpo de prova tocando o fundo do Becker;
- (2) Determinação da massa aparente (mAP), com o corpo de prova totalmente imerso no líquido, mas sem tocar o fundo do Becker.
- (3) Cálculo da densidade da água à 20°C

De acordo com método de Arquimedes, a densidade de um material é calculada pelo quociente da massa do corpo mC do material, pela sua massa aparente mAP . O produto desse valor com a densidade da água d_L^{H2O} relacionada a uma temperatura T, é a densidade (dC), conforme mostra a equação .

$$dC = \left(\frac{mC}{mAP} \right) \cdot d_L^{H2O}$$

Os resultados foram comparados com a densidade teórica obtida da seguinte forma:

- (1) Obtenção da massa de cada elemento calculado pelo percentual de cada elemento;
- (2) Cálculo do volume de cada elemento ligante, calculado pelo quociente da massa pela densidade de cada elemento;
- (3) Somando o volume de cada elemento, obtém-se o volume total da liga. A densidade teórica é o quociente da massa da amostra pelo seu volume total.

$$d = \left(\frac{m}{Vt} \right)$$

2.5MEV – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E EDS – ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA

Amostras das ligas Ti G4, Nb43Ti e Ti30Nb8Zr foram submetidas ao tratamento com ácido com composição química semelhante a adotada pela empresa Conexão Sistemas e Prótese para obter a superfície denominada Porous. Após o tratamento com ácido as amostras foram analisados no microscopia eletrônica de varredura FEI QUANTA FEG 250.

A composição química e semi-quantitativa das amostras foi determinada com o emprego da microsonda de EDS (Energy Dispersive System). Foi utilizado a microsonda Bruker e⁻ Flash, detector Centaurus acoplada ao microscópio eletrônico de varredura FEI QUANTA FEG 250 instalado no laboratório de microscopia do IME

3.2.6 RUGOSIDADE

Determinou-se a rugosidade das amostras de Ti G4, de Nb43Ti e Ti30Nb8Zr, no rugosímetro modelo NEW VIEW 7100 da empresa Zygo, instalado no laboratório de biomateriais do IME. Os valores médios de Ra (rugosidade média), Rz (rugosidade média), Rp (altura máxima do pico), Rv (altura máxima do vale) e RSm (largura média de espaçamento entre picos e vales) foram obtidos.

3.2.7 MOLHABILIDADE

O ensaio de molhabilidade foi realizado no aparelho goniômetro da marca FIRST TEN ÅNGSTRONS, modelo FTA 100, instalado no laboratório de biomateriais do IME. Foram determinados os ângulos de contato de cada liga. Todas as amostras tiveram suas superfícies tratadas com ácido (Porous®), sendo realizadas 5 (cinco) mensurações em cada superfície e calculados o desvio padrão e suas médias. O ensaio foi realizado com água deionizada na temperatura ambiente, e as gotas mantiveram uma média em seus volumes (gota plena), sendo capaz de correlacioná-las.

As medidas de ângulo de contato devem ser realizadas com controle preciso da temperatura e da umidade relativa.

3.2.8 UV- RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

Após o tratamento com ácido (Porous®) as amostras foram submetidas à radiação ultravioleta na câmara escura da marca SOLAB. Foram usados três grupos de amostra em função do tempo de exposição à radiação UV (24, 48 e 72 horas). Após a exposição, determinou-se a molhabilidade das amostras, adotando-se a mesma metodologia descrita no item 4.8.

O objetivo do tratamento com UV foi analisar a influência da radiação no ângulo de contato da superfície da amostra. Este resultado é um indicativo da maior ou menor atração intermolecular devido à variação da energia superficial.

3.2.9 CULTURA DE CÉLULAS

Três grupos de amostras de TiCp4 e das ligas de titânio Nb43Ti e Ti30Nb8Zr, após o tratamento ácido Porous® foram esterilizadas por radiação gama. As amostras foram submetidas ao teste de cultura celular, realizado no laboratório de patologia e biologia celular da Universidade São Leopoldo Mandic, Campinas, São Paulo, com linhagem de células osteoblásticas (MC3T3-E1) de camundongo, com material obtido do ATCC (*American Type Culture Collection*, ATCC, VC, EUA). Foram quantificados genes de expressão para osteopontina e colágeno tipo 1 secretados pelas células osteoblásticas nas superfícies das amostras e avaliada por imunoenaios enzimáticos (ELISA) para determinar os níveis de PGE-2.

As células osteoblásticas foram cultivadas em meio Essencial Mínimo, modificação alfa (α -MEM) suplementados com 10% de soro fetal Bovino (Cultilab®, Campinas, SP, Brasil) e 1% de solução antibiótica-antimicótica (Sigma, St. Louis, Missouri, EUA).

Todos os procedimentos foram realizados em capela de fluxo laminar para manutenção da esterilidade dos materiais e das substâncias utilizadas para o cultivo celular.

As células foram mantidas em estufa a 37°C, em atmosfera úmida contendo 95% de ar e 5% de dióxido de carbono. O meio de cultura foi trocado a cada 2-3 dias e a progressão da cultura, foi avaliada por microscopia de fase em culturas crescidas sobre poliestireno (plástico), que servirá como controle. A quantificação de osteopontina, colágeno tipo 1 e BMP2 secretada pelas células osteoblásticas plaqueadas nas diferentes superfícies foi avaliada

por Elisa. Para tal, o sobrenadante foi aspirado e centrifugado a 5000g por 15 minutos numa temperatura de 4°C. Alíquotas de cada amostra foram avaliadas por imunoensaios enzimáticos (ELISA) para determinar os níveis de PGE-2 de acordo com as recomendações do fabricante (eBioscience San Diego, CA, USA). Após isto, 100 µL do anticorpo de detecção foi adicionado a todos wells, exceto no blank, e incubado overnight (18h) numa temperatura de 4°C. As placas foram lavadas com solução tampão, para posterior adição do anticorpo padrão e amostras. Após o tempo de incubação, as placas foram lavadas novamente e incubadas com 200 µL com o anticorpo conjugado por 30 minutos em temperatura ambiente e protegidas do escuro. A reação foi encerrada pela adição de 50 µL de solução de ácido sulfúrico, e a cor foi medida em espectrofotômetro (Epoch, Biotek, Winooski, VT, USA) em comprimento de onda de 570nm. A quantidade total de metaloproteinases e seus inibidores foram determinados como picogramas (pg/mL). Os resultados foram calculados utilizando a curva padrão criada em cada ensaio.

Após o cultivo, as amostras foram preparadas para análise no MEV (microscópio eletrônico de varredura). Antes das análises no MEV as amostras foram submetidas à desidratação com álcool a 30, 50, 70 e 100% durante um minuto em cada solução. Após secagem, as amostras foram levadas ao depositador a vácuo modelo EM ACE 600, da marca Leica, para impregnação da superfície (coating) por prata para fixação das células.

3.2.10 ANÁLISE QUÍMICA (FLUORESCÊNCIA)

A análise química das amostras foi realizada por fluorescência de raios-X no Centro Brasileiro de Pesquisa Física (CBPF) com emprego do espectômetro de fluorescência de raios-X (FrX) modelo Axios Max da marca Panalytical.

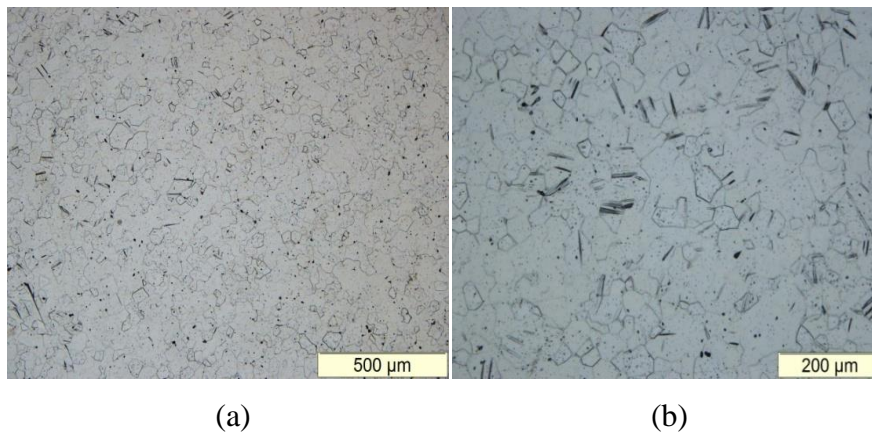
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

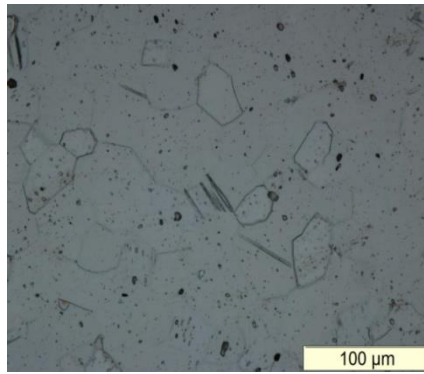
4.1 CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL

O preparo metalográfico de todas as ligas de titânio foi realizado com a mesma sequência de lixas, panos para polimento e reagente para revelação da microestrutura (reagente de Kroll). A diferença foi o tempo de ataque com ácido para revelar as microestruturas. O tempo crescente: TiCp4>Ti30Nb8Zr>Ti43Nb, com 2, 5 e 30 minutos, respectivamente. Pode haver neste comportamento de cada material, relação com resistência à corrosão, com a liga Ti43Nb se destacando por maior tempo para revelar microestrutura.

Na análise das microestruturas, como contornos, morfologia e quantidades de grãos, foram observadas algumas características que diferenciaram as ligas. Os resultados da liga Ti30Nb8Zr, quanto a tamanho médio e quantidade de grãos foram semelhantes ao TiCp4, e menores quando comparados a liga binária.

Na figura 4.1 pode-se observar que as morfologias são uniformes e com granulação fina, semelhante à observada por Mantami e Tajima 2006. Esta microestrutura apresenta características com pouca ou nenhuma evidência do produto de transformação. A presença da matriz na forma da fase α é comum no Ti comercialmente puro (TiCp4). Não foi verificada a presença de grão grosseiros da fase β como os observados por Malek (Malek *et al* 2013)



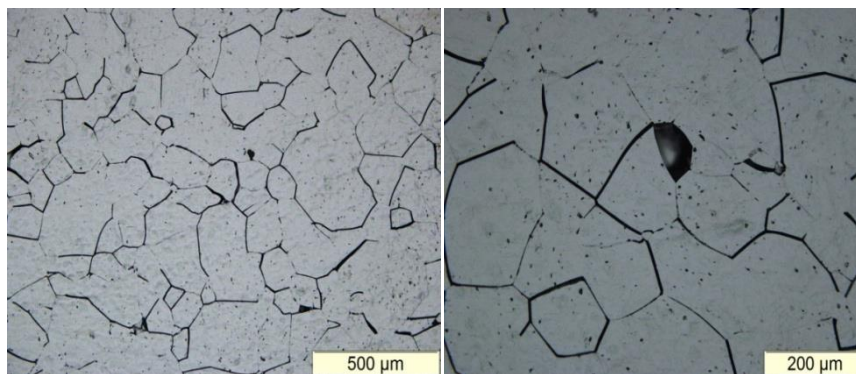


(c)

Figura 4.1: (a)(b)(c) Morfologias das superfícies das amostras de TiCp4.

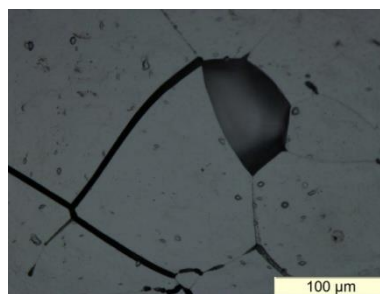
Na figura 4.2 é mostrada a morfologia das amostras Ti43Nb. Comparando-se as microestruturas das amostras de TiCp4 e Ti43Nb observa-se diferença na forma e tamanho e dos grãos.

A microestruturada liga de Ti43Nb é caracterizada pela presença de grãos equiaxiais no interior dos grãos. Grãos relativamente grosseiros.



(a)

(b)



(c)

Figura 4.2: (a)(b)(c) Morfologias das amostras da liga de Ti43Nb.

Na micrografia da amostra de Ti30Nb8Zr (figura 4.3) pode-se observar a estrutura semelhante a encontrada na amostra de Ticp4, ou seja, predominância de fase alfa, com indicação de crescimento dos grãos. Os pontos claros sugerem a formação da estrutura martensítica, contrastando com uma matriz mais escurecida.

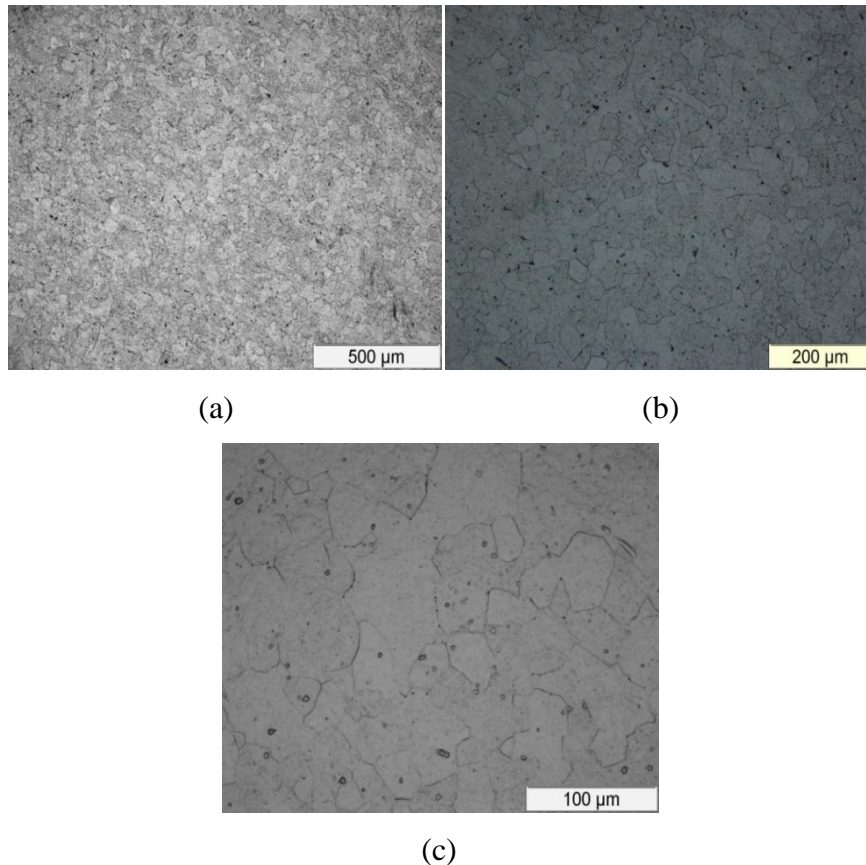


Figura 4.3: (a)(b)(c) Morfologia da liga de Ti30Nb8Zr.

Ligas ternárias de titânio, que possuem em sua composição, elementos de liga como Nb e Zr (Ti13Nb13Zr), apresentam em sua microestrutura a fase α finamente precipitada na matriz de fase β , e dentro desta microestrutura, um contorno de grão, em sua grande parte acicular. Nesta liga, a fase α é enriquecida pelo Zr (elemento neutro). Os elementos neutros não têm efeito marcante sobre estabilidade de qualquer fase, mas formam solução sólida com titânio. O Zr adicionado às ligas de titânio, também age no endurecimento por solução sólida e no efeito de refinado grão, afetando os parâmetros de rede da liga. O Nb age estabilizando a fase β nesta liga (β -estabilizador). (Hernández-López *et al* 2015)

Neste estudo, ao compararmos as ligas de TiNb e TiNbZr, pode-se observar que ocorreu diminuição do tamanho dos grãos da liga ternária, quando comparada com a binária. Em estudo de Jeong *et al* (2012), com ligas binárias Ti35Nb com adição de 10% de Zr

foi observado alteração nas propriedades mecânicas e na microestrutura, com diminuição do módulo de elasticidade e tamanho de grãos.

A adição de Zr a liga Ti-30Nb induziu o refino considerável dos grãos e estabilizou a fase β , com o teor de 8% Zr. Isto está de acordo com o que Martins *et al* 2008 encontraram em seu estudo, onde foi induzida uma microestrutura fina favorecendo as propriedades mecânicas. Eles verificaram que com as adições de Zr na liga Ti-30Nb há o refino da matriz dendrítica, fornecendo estabilização de fase β (7.5Zr e 15Zr). Com estruturas dendríticas houve distribuição mais homogênea região mais nobre (região rica em Ti) fornecendo proteção de barreira ao longo dos contornos de grão e regiões interdendríticas, com exibição de uma película de óxido mais homogênea e consequente melhoria na resistência à corrosão.

4.1.1 TAMANHO MÉDIO DE GRÃOS

A liga de Ti43Nb apresentou maior tamanho e variação de grãos, com tamanho médio de grãos 4 (quatro) vezes o tamanho médio das outras ligas (tabela 4.1)

Tabela 4.1: Tamanho médio de grãos em μm das ligas

TAMANHO MÉDIO DE GRÃOS EM μm			
	Ticp4	Ti43Nb	Ti 30Nb 8Zr
Desvio padrão	7,78	27,43	5,37
Média	28,02	92,18	23,67

Alguns processos que envolvem a produção do Ti, como laminação a quente e a frio, induzem transformações microestruturais que envolvem a nucleação e crescimento de grãos (recuperação, recristalização e crescimento de grãos). Tais fenômenos influenciam as propriedades físicas e mecânicas do Ti para evitar problemas decorrentes destas transformações, sendo necessário um rigoroso controle da microestrutura (Leyens e Peters 2003)

Quanto ao tamanho de grãos, a liga Ti43Nb apresenta grãos maiores quando comparada aos demais materiais. Isto se deve ao fato desta liga apresentar em sua microestrutura a fase β .

4.2 DIFRAÇÃO DE RX

Nos espectros da difração de raios-X das amostras foi possível identificar as fases, com respectivas estruturas cristalinas presentes nas amostras das ligas à temperatura ambiente. As amostras de Ticp4 apresentaram apenas a presença da fase α . Na liga ternária foi identificada a presença de TiO_2 na superfície. Este óxido apresentou estrutura cristalina tetragonal, caracterizando o óxido na forma de anastase. Os espectros apresentaram também picos característicos de TiNb, com estrutura cristalina cúbica de corpo centrado (CCC), com retenção de fase β neste material.

Quanto a liga binária Ti43Nb identificou-se a formação do óxido de nióbio (NbO_2) com estrutura cristalina tetragonal. Assim como a liga ternária, picos característicos de TiNb, com estrutura cristalina cúbica de corpo centrado (CCC), com retenção de fase β .

No presente trabalho não foi identificada a formação da fase ω na liga de Ti, o que é desejável já que essa fase pode levar ao aumento na dureza e módulo de elasticidade. Esta fase também é responsável pela maior fragilidade do material (Lin *et al* 2002).

Além da alta concentração do β -estabilizador Nb na liga, a ausência da precipitação da fase ω é uma característica proveniente da adição do elemento Zr em sua composição, embora seja considerado um elemento neutro (Ribeiro *et al* 2009).

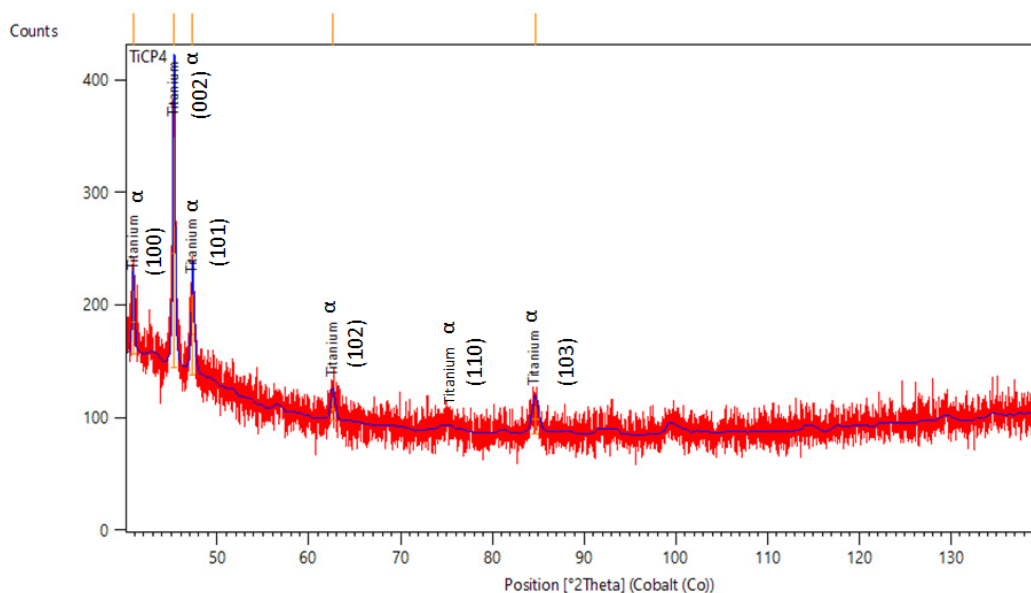


Figura 4.4 : Espectro de difração de raios-X da amostra de Ticp4.

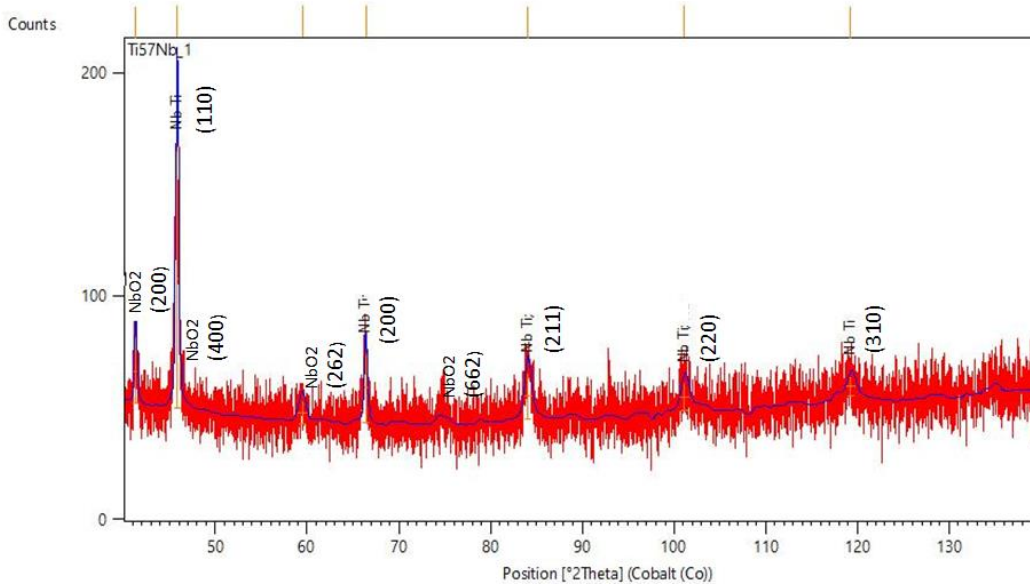


Figura 4.5: Espectro de difração de raios-X da amostrada liga de Ti43Nb.

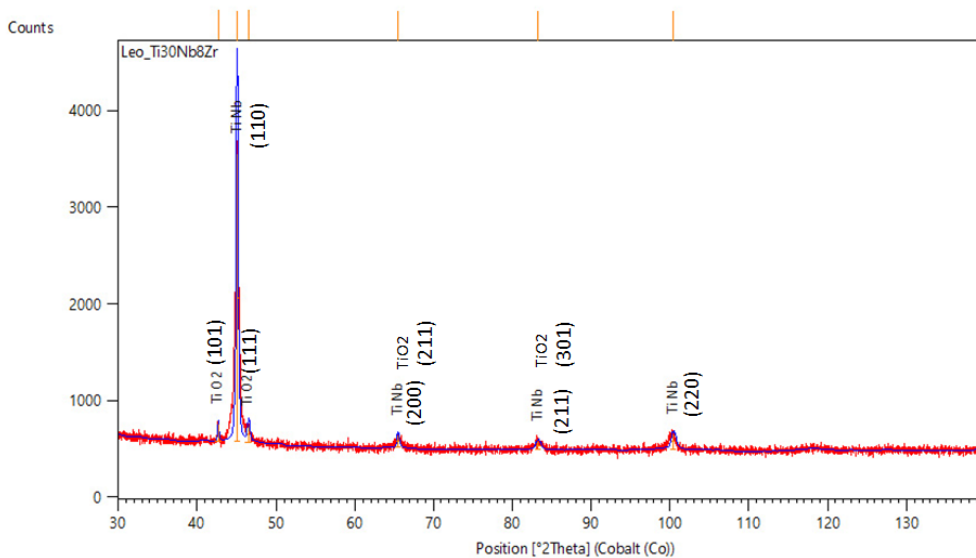


Figura 4.6: Espectro de difração de raios-X da amostra da liga de Ti30Nb8Zr.

O espectro de difração mostrado na figura 4.5 indica que a fase predominante na liga Ti43Nb é CCC. Este resultado está coerente com as fases mostradas no diagrama binário Ti-Nb (figura 4.7), no qual para o teor de nióbio à maior que 55%, a estrutura estável a temperatura ambiente é a microestrutura CCC do Ti β (ASM-Metals- Hand Book – 1992).

Os percentuais dos elementos de liga nas amostras Ti-30Nb-8Zr foram suficientes para reter a microestrutura Ti- β .

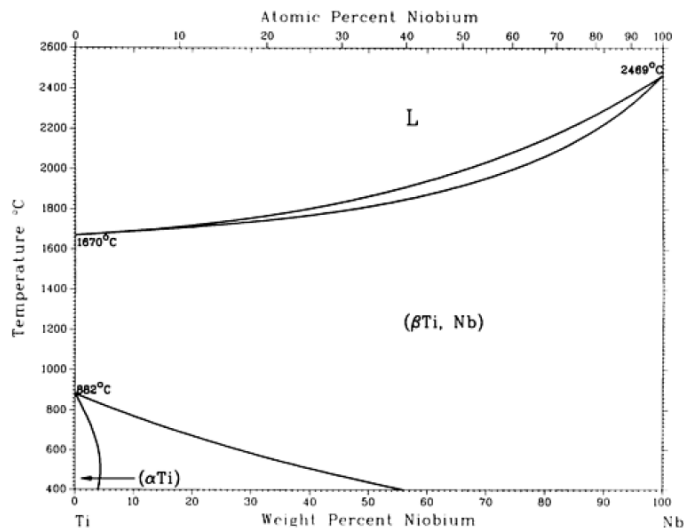


Figura 4.7: Diagrama de fases Nb-Ti (ASM-Metals- Hand Book – 1992).

Em um estudo das ligas Ti35Nb5Zr e Ti35Nb10Zr (Ribeiro *et al* 2009) constatou que há precipitação das fases α e β na liga Ti-35Nb-5Zr, e apenas de fase β liga Ti-35Nb-10Zr. Na liga Ti-35Nb-5Zr há a precipitação da fase α durante o resfriamento a partir de tratamento térmico realizado no campo β , ou seja, acima da β -transus. Na liga que possui maior concentração de Zr, possivelmente não houve a precipitação da fase ω . Isso sugere que o Zr, em maior quantidade, inibe a precipitação de tal fase, e também pode atuar como β -estabilizador. No presente estudo não houve a formação de fases metaestáveis, o que é desejável já que essas fases podem levar ao aumento do módulo de elasticidade. Além disso, por fragilizarem as ligas, essas fases devem ser evitadas. Normalmente, as fases metaestáveis se formam durante o resfriamento após o tratamento térmico quando a liga possui quantidades limitadas de elementos β -estabilizadores.

Em um estudo de Geetha *et al* 2009, para a classificação das ligas de titânio, as ligas contendo somente estabilizadores α possuem microestrutura inteiramente da fase α . Estas ligas são conhecidas como ligas α . Ligas com 1-2% à 5-10% de fase β são denominadas como “semelhantes a ligas α ”. Ligas com maiores quantidades de β estabilizadores, como o Nb contido nas ligas analisadas no presente trabalho, as microestruturas são conhecidas como ligas $\alpha+\beta$. A maior parte do titânio das ligas biomédicas possuem microestrutura $\alpha+\beta$ ou classe β metaestável (Geetha *et al* 2009).

4.3 MICRODUREZA

Nos estudos de Zhu *et al*(2014), As características das microdureza são relacionadas à microestrutura. Com base nos resultados apresentados na figura 4.8, pode-se observar que houve diferença entre as durezas das amostras de Ticp4, Ti43Nb e Ti30Nb8Zr. A liga Ti43Nb apresentou menor microdureza entre os grupos analisados. Para fins de comparação com resultados disponíveis na literatura, na figura 4.8 foram colocados os resultados obtidos por Ozan *et al*(2015) para as ligas Ticp, Ti6Al4V e Ti13Nb13Zr. Pode-se observar que entre as microdurezas das seis ligas mostradas, o Ti-6Al-4V apresenta a maior microdureza (280 HV). A liga Ti30Nb8Zr testada no presente trabalho tem dureza semelhante (251 HV) a da liga Ti G5.

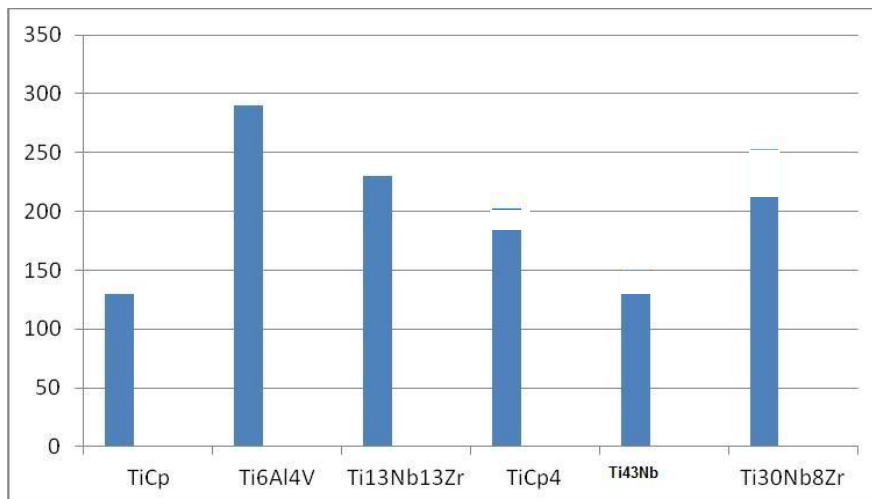


Figura 4.8: Valores médios da microdureza Vickers das amostras testadas no presente trabalho (Ticp4, Ti43Nb e Ti30Nb8Zr dos obtidos por (TiCp/Ti6Al4V/Ti13Nb13Zr) do estudo de Ozan et al 2015 para as ligas Ticp, Ti6Al4V e Ti13Nb13Zr.

As microdurezas estão relacionadas as microestruturas. O aumento da resistência e o endurecimento dos metais podem ser obtidos pela adição de átomos de liga, os quais formam solução sólida intersticial.

Isto está de acordo com os resultados obtidos nos ensaios de dureza. Os valores relativamente baixos de microdureza provavelmente se devem ao fato da liga β estudada (Ti43Nb), apresentar grãos grandes em relação às microestruturas α e $\alpha+\beta$ das demais ligas, pois sabe-se que a microdureza de uma fase diminui quando se aumenta tamanho de grão,

indicando microestruturas com grãos grosseiros. Os resultados do T1cp4 e Ti30Nb8Zr de microdureza foram semelhantes, onde houve semelhança da microestrutura dessas ligas.

Uma microestrutura com granulação fina (que possui grãos pequenos) é mais dura e mais resistente do que uma que possui uma granulação grosseira (grãos maiores). O que tem uma granulação fina possui uma maior área de contornos de grão dificultando o movimento das discordâncias. Uma das razões do aumento da microdureza é a solução sólida, que na liga Ti30Nb8Zr, é mais elevada que o T1cp4 devido ao efeito do Zr, por se tratar de um endurecedor em solução sólida (Zhu *et al* 2014).

Lee *et al*(2002)relataram valores de microdureza similares aos da liga TiNbZr com composição química semelhante a estudada no presente trabalho. Kobayashi *et al* 1998 atribuíram o aumento da dureza das suas amostras de TiNbZr à presença da mistura das fases $\alpha+\beta$, a qual endurece as ligas de Ti. Enquanto que as ligas que possuem matriz formada somente pela fase β há redução da dureza da liga. Isso está de acordo com os resultados obtidos entre as ligas de Nb43Ti, que reteve a fase β e que apresentou a menor microdureza Vickers (127 HV), em comparação à liga Ti30Nb8Zr com dureza 216 HV. O Zr ao ligar-se com titânio comporta-se como elemento substitucional, pois em alguns aspectos se assemelha ao próprio titânio, sendo assim um endurecedor em solução sólida.

Uma das formas para aumentar a resistência mecânica dos materiais policristalinos, é aumentar a densidade de contornos de grão para dificultar o movimento das discordâncias. Uma das maneiras mais eficazes de se aumentar a densidade destes contornos é diminuir o tamanho dos grãos, aumentando conseqüentemente a área de contornos de grãos. Isto implica em aumentar a área total de interface entre os grãos e, por conseqüência, há o aumento da resistência mecânica.

A importância das propriedades mecânicas, como dureza, tenacidade, ductilidade e resistência a tração e a fadiga está diretamente ligada a sua utilização. Estas propriedades são importantes nas ligas usadas na fabricação de próteses ortopédicas (quadril e joelho) e odontológicas. Esses biomateriais restauram a função de estruturas comprometidas, e ficam submetidos a tensão e número de ciclos (fadiga), que podem acarretar na falha do material.

Os valores da microdureza da liga Ti30Nb8Zr estão próximos ao do Ti6Al4V. A liga Ti G5 possui microdureza superior ao T1cp4, material utilizado como implantes dentários.

Outra razão é que a solubilidade da liga Ti30Nb8Zr é mais elevada do que a liga Nb43Ti. O maior percentual em solução sólida aumenta o endurecimento, por conseguinte, a

microdureza superior é obtida. A microestrutura β lamelar transformada diminui drasticamente, resultando em um declínio acentuado na microdureza.

4.4 DENSIDADE

Com a utilização da equação para determinar a densidade das amostras das ligas de titânio, e a equação para cálculo da densidade teórica, foram obtidos os seguintes resultados:

Determinação da densidade da amostra de Ticp4:

$$d_{\text{Ticp4}} = 4,4746 \text{ g/cm}^3$$

Determinação da densidade da amostra de Ti30Nb8Zr:

$$d_{\text{Ti30Nb8Zr}} = 5,5132 \text{ g/cm}^3$$

Densidade teórica da amostra de Ti30Nb8Zr:

$$d = \left(\frac{m}{V_t} \right)$$

Com massa do disco de $m = 9,220\text{g}$,

E as seguintes massas por elemento de:

a) Ti 62% = 5,716g,

b) Nb 30% = 2,766g

c) Zr 8% = 0,737g

O volume de cada elemento químico na liga é o quociente da massa com a sua densidade;

$$\text{Vol.Ti} = \left(\frac{5,716}{4,55} \right) = 1,256 \text{ cm}^3$$

$$\text{Vol.Nb} = \left(\frac{2,766}{8,57} \right) = 0,322 \text{ cm}^3$$

$$\text{Vol.Zr} = \left(\frac{0,737}{6,51} \right) = 0,113 \text{ cm}^3$$

Com a soma desses valores é obtido o volume total $1,691 \text{ cm}^3$. A densidade teórica desta liga é o quociente da sua massa pelo volume total;

$$d_{\text{TiNbZr}} = \left(\frac{9,220}{1,691} \right) = 5,45 \text{ g/cm}^3$$

Determinação da densidade da amostra de Ti43Nb:

$$m_{\text{c Ti43Nb}} = 0,8585\text{g}$$

$$d \text{ Ti43Nb} = 4,8747 \text{ g/cm}^3$$

Densidade teórica da amostra de Ti43Nb:

Com massa do disco de $m = 0,846\text{g}$,

E as seguintes massas por elemento de:

$$\text{a) Nb } 43\% = 0,363\text{g}$$

$$\text{b) Ti } 57\% = 0,483\text{g}$$

O volume de cada elemento químico na liga é o quociente da massa com a sua densidade;

$$\text{Vol.Ti} = \frac{0,483}{4,55} = 0,106 \text{ cm}^3$$

$$\text{Vol.Nb} = \frac{0,363}{8,57} = 0,042 \text{ cm}^3$$

Com a soma desses valores obtém-se o volume total $0,148 \text{ cm}^3$. A densidade teórica desta liga é o quociente da sua massa pelo volume total;

$$d \text{ TiNb} = \frac{0,846}{0,146} = 5,716 \text{ g/cm}^3$$

Após obtenção dos resultados, a densidade de cada amostra foi comparada com as respectivas densidades teóricas (tabela 4.2). Os valores estão semelhantes com exceção da amostra da liga Ti43Nb que apresentou valor de densidade menor que a densidade teórica.

Analisando cada elemento quanto a sua massa, a liga Ti30Nb8Zr apresentou uma estrutura mais densa, pois provavelmente, ao ligar-se com Nb, que possui massa atômica de $92,9 \text{ g/mol}$ e Zr com massa atômica de $91,22 \text{ g/mol}$, ocorreu uma diminuição do teor de Ti, que possui massa atômica inferior, $47,9 \text{ g/mol}$.

Uma liga metálica ideal para implante, deve exibir algumas propriedades, tais como: biocompatibilidade, densidade menor que a do osso humano ($1,5 \text{ g/cm}^3$), alta resistência mecânica, resistência à fadiga, baixo módulo de elasticidade e boa resistência ao desgaste (Nie *et al* 2014).

Estudos sobre as características estruturais das ligas de titânio demonstraram que a microestrutura β tem boas propriedades específicas, por causa da sua baixa densidade, excelente resistência à corrosão e baixo módulo de elasticidade em comparação com as ligas de titânio α e $\alpha + \beta$. (Dalmau *et al* 2015), as ligas de Ti com estas fases apresentam propriedades mecânicas que as diferem da fase β , como maior dureza, módulo de elasticidade, menor resistência à corrosão e maior densidade.

Tabela 4.2: Valores de densidades das amostras

Ligas	Densidade em g/cm^3	Densidade teórica em g/cm^3
Ticp4	4,474	4,551
Nb 43Ti	4,874	5,716
Ti30Nb8Zr	5,513	5,452

4.5 MICROSCOPIA ELETÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As amostras de Ticp4, Ti43Nb e Ti30Nb8Zr; foram tratadas com ácido (Porous) e analisadas no microscópio eletrônico de varredura - MEV (FEI QUANTA FEG 250).

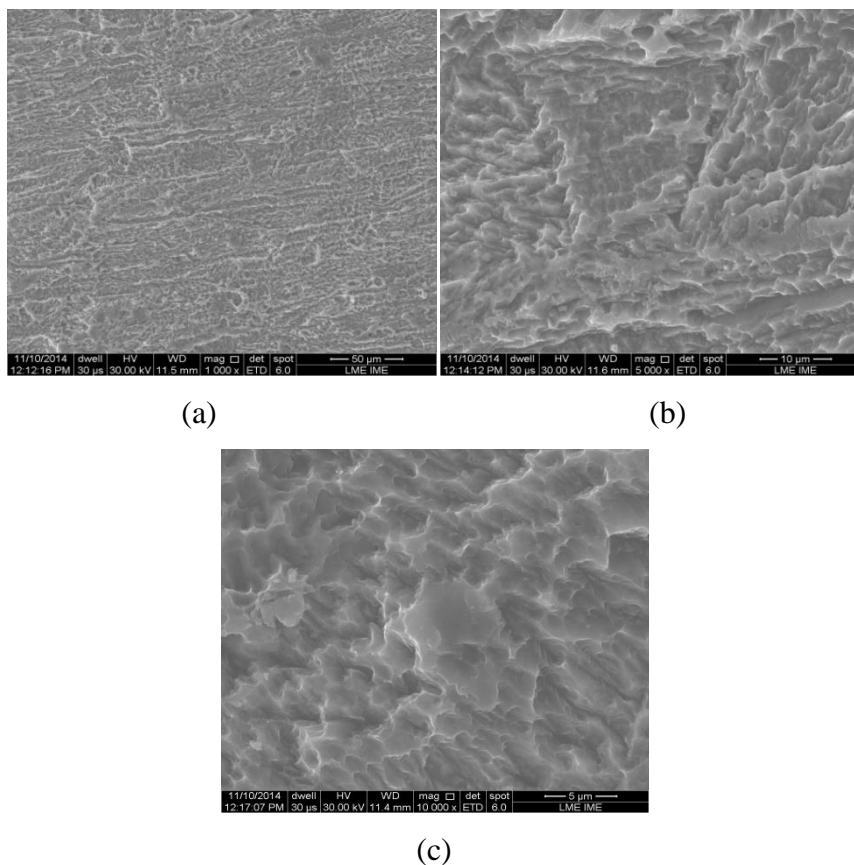
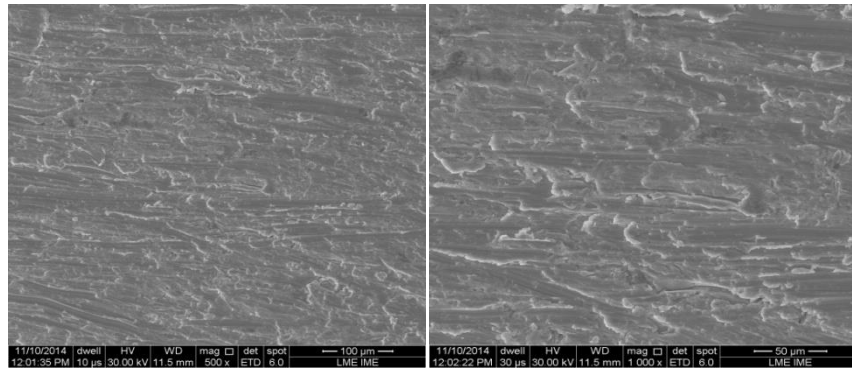


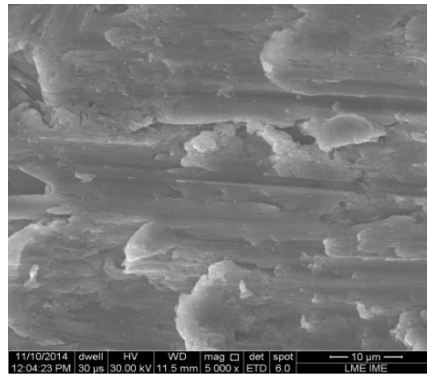
Figura 4.9: (a)(b)(c) Morfologia da superfície dos discos de Ticp4

Pode-se observar na figura 4.9 que a amostra de Ticp4 após tratamento com ácido apresenta morfologia caracterizada pela presença de microcavidades. Com maior aumento (10.000x) é possível observar a presença de estruturas nanométricas.



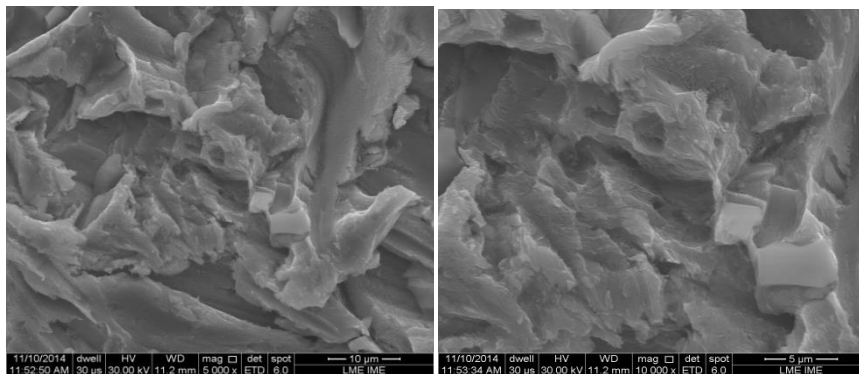
(a)

(b)



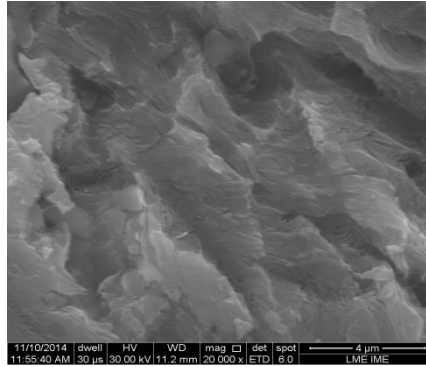
(c)

Figura 4.10: (a)(b)(c)Morfologia da superfície do disco de Ti43Nb:



(a)

(b)



(c)

Figura 4.11:(a)(b)(c)Morfologia da superfície do disco de Ti30Nb8Zr:

Analisando as superfícies dos discos das ligas de Ti43Nb e Ti30Nb8Zr figuras 4.10 e 4.11 respectivamente, observou-se que as amostras possuem microcavidades diferentes das Ticp4. É possível observar algumas regiões mais planas, quando comparada com a amostra de Ticp4, pois todas as amostras foram tratadas com ácido (Porous) e, superfícies das ligas têm aspecto de “superfície jateada”. Essa análise sugere que as ligas de titânio possuem maior resistência à corrosão em comparação ao disco de titânio puro.

4.6 RUGOSIDADE

Com relação aos valores médios dos parâmetros da rugosidade mostrados na tabela 4.3, a análise estatística mostrou que houve diferença significativa em relação à média de todos os grupos.

Tabela 4.3: Parâmetros da rugosidade superficial das amostras tratadas

Amostra	Ra (μm)	Rv (μm)	Rp (μm)	rms (μm)
	Média/DP	Média/DP	Média/DP	Média/DP
Ticp4	0,93/0,27	4,26/1,22	3,38/0,87	1,2/0,3
Ti43Nb	0,4/0,03	2,02/0,5	1,68/0,67	0,52/0,05
Ti30Nb8Zr	0,28/0,05	1,4/0,46	1,8/0,82	0,4/0,03

O parâmetro de rugosidade que apresentou a maior diferença entre as 3 (três) amostras foi o do perfil do vale(Rv). Este parâmetro quantifica a profundidade média dos vales. O valor médio de Rv da amostra de Ticp4 foi 2 (duas) vezes maior que o valor da amostra de Ti43Nb. O valor médio de RV da amostra Ti30Nb8Zr foi 3 (três) vezes menor que os da amostra de Ticp4.

Quanto aos valores dos parâmetros de amplitude, os valores mantiveram praticamente a mesma proporção. As amostras de Ticp4, foram 2 (vezes) maiores que o da amostra Ti43Nb e 3 (três) vezes maiores que o da amostra Ti30Nb8Zr. É importante ressaltar que todas as amostras receberam o mesmo tipo tratamento superficial de ataque ácido. Os valores dos parâmetros Rp (altura máxima do pico) e Rv (profundidade máxima do vale) a amostra Ti30Nb8Zr apresentou as maiores discrepâncias em relação as demais.

Para fins de comparação com resultados existentes na literatura, na figura 4.12 são mostrados os valores de Ra obtidos no presente trabalho e os descritos por Bigi *et al* 2007.

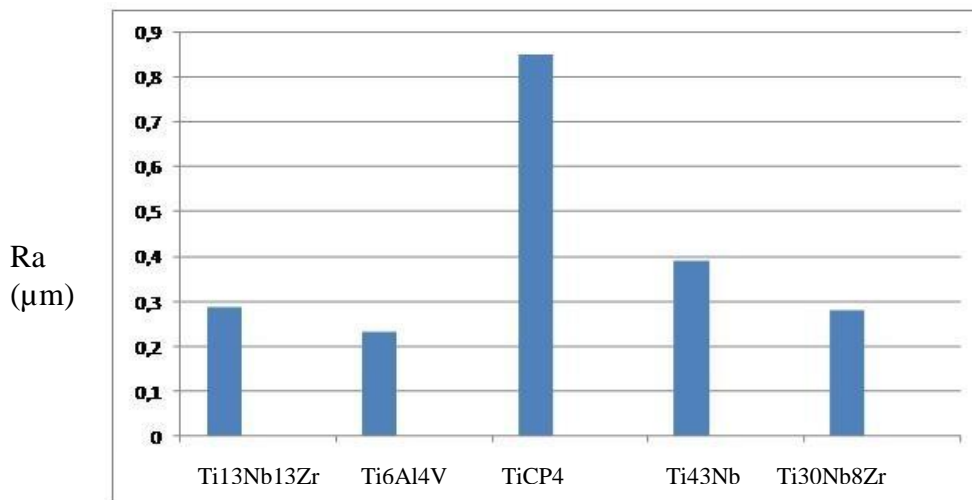


Figura 4.12: Valores médios de Ra das amostras analisadas no presente trabalho e os obtidos por Bigi *et al* 2007 para as amostras das ligas Ti13Nb13Zr e Ti6Al4V).

As amostras de Ticp4 apresentaram Ra superior à todas as ligas de Ti (figura 4.13). As ligas contendo Nb e Zr não apresentaram diferença significativa no valor de Ra. Entre todas as amostras, a liga de Ti6Al4V, foi a que apresentou menor Ra.

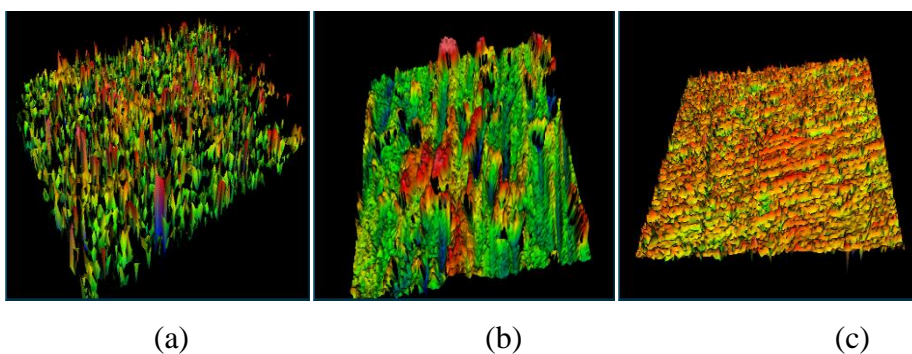


Figura 4.13: Morfologias representativas das superfícies das amostras obtidas no rugosímetro Zygo: (a) Ticp4 (b) Ti43Nbe (c) Ti30Nb8Zr.

A correlação entre os resultados de rugosidade da superfície e adesão celular mensurada no ensaio de cultura de células foi demonstrada nesse estudo. Levando-se em conta a rugosidade, pode existir um limite de aspereza (entre 0,28 e 1 μm) sobre os quais a proliferação celular foi mensurada através dos marcadores de expressão. Apesar do elevado número de parâmetros condicionados a adesão e proliferação celular, a rugosidade pode alterar fortemente as relações destas propriedades.

Em um estudo de Jiang *et al* 2013, foram avaliadas a adesão e proliferação de células MG63 para biocompatibilidade das superfícies de Ti em escala nano-micro e somente nanoestruturada. Nas nanoestruturadas, as células exibiram mais extensões filopódicas, e alargaram com uma forma poligonal firmemente ligada ao substrato, indicando uma aderência muito melhor e espalhada, com aparência comparada a forma fusiforme e agregada de células na superfície da amostra de Ti. A aderência celular à superfície do biomaterial é importante para o subsequente crescimento, proliferação e diferenciação celular. A melhor aderência aparente das células é benéfico para as suas atividades na superfície do biomaterial, o que leva à melhor aptidão e biocompatibilidade do titânio na área biomédica.

4.7 COMPOSIÇÃO QUÍMICA SEMI-QUANTITATIVA: EDS

As figuras 4.14, 4.15 e 4.16 mostram as morfologias das superfícies das amostras e os espectros obtidos nas análises com EDS. Os valores médios das composições das ligas são mostrados na tabela 4.4.

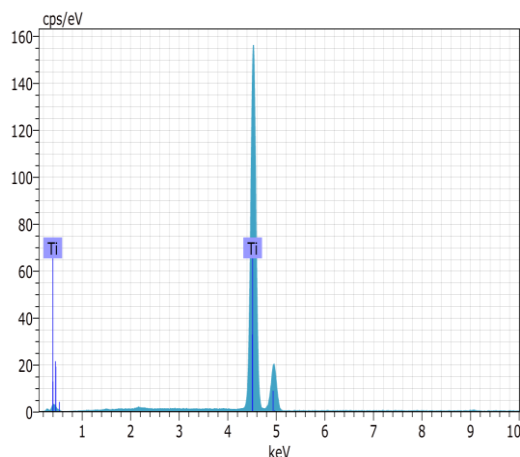


Figura 4.14:espectro obtido na microanálise da amostra de Ticp4 e.Por se tratar de um material comercialmente puro, observa-se somente o espectro do titânio.

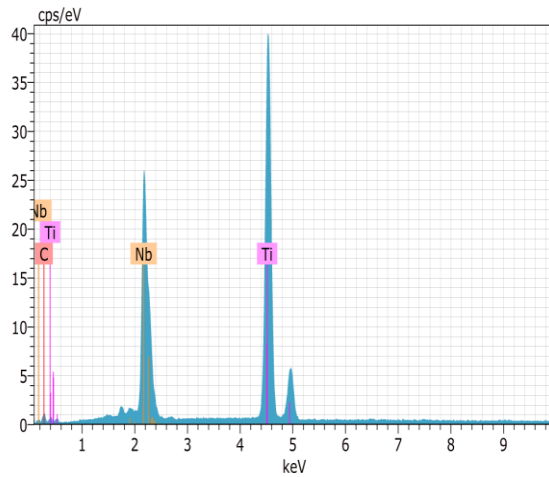


Figura 4.15: espectro do EDS da amostra de Ti43Nb.

Os picos do Nb da liga Ti43Nb foram menores que os de Ti (figura 4.14). A composição química desta liga foi confirmada pelos valores médios de cada elemento químico presente.

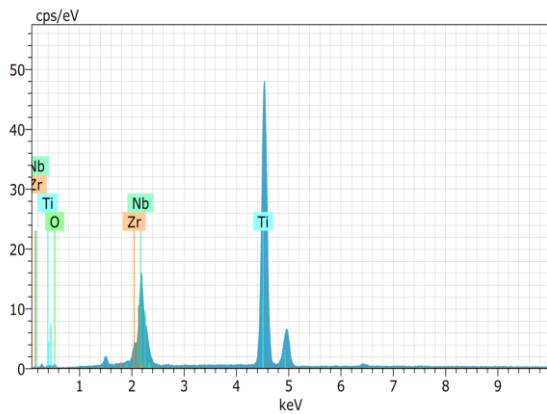


Figura 4.16: espectro EDS da amostra de Ti30Nb8Zr.

Tabela 4.4: Composição química (% peso) das ligas. Valores determinados com EDS.

Liga	Ti	Nb	Zr
Ti43Nb	57,92%	37,13%	-
Ti30Nb8Zr	46,07%	39,25%	11,95%

4.8 MOLHABILIDADE

Os valores médios dos ângulos de contato são mostrados na tabela 4.5. Todas as amostras tiveram ângulos de contato inferior à 90° . Este resultado indica que as superfícies possuem comportamento hidrofílico, o qual é favorável para o espalhamento de líquidos na superfície. Quanto mais hidrofílica for a superfície, maior a adsorção de proteínas e outras macromoléculas que participam nos mecanismos envolvidos na osseointegração.

O resultado do ângulo de contato (figura 4.17) obtido na amostra de Ticp4 com superfície tratada com ácido (Porous®) foi semelhante ao citado na literatura (Elias *et al* 2008).

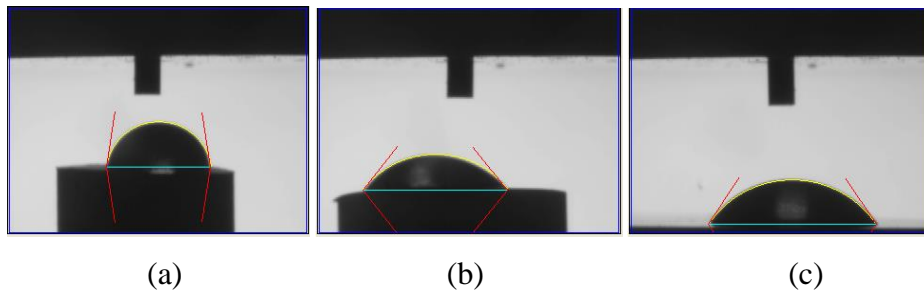


Figura 4.17: Imagens representativas da gota de água sobre a superfície das amostras. (a) Ticp4; (b) Ti43Nb e (c) Ti30Nb8Zr.

Tabela 4.5: Valores médios e desvios padrões dos ângulos de contato da água com as superfícies das amostras.

	Ticp4	Ti43Nb	Ti30Nb8Zr
Média	80,98	51,9	56,28
Desvio Padrão	2,412	8,544	3,247

O resultado do ângulo de contato da amostra de Ti43Nb foi quase 40% menor que o da amostra de Ticp4. Este resultado indica que possivelmente, a energia superficial desta liga após o tratamento com ácido é maior que a do Ticp4. O aumento nas interações entre a superfície o líquido, dado pela tensão das interfaces sólido-líquido e líquido-ar, favorece a biocompatibilidade. O ângulo de contato da água com a amostra de Ti30Nb8Zr foi semelhantes ao da amostra de Ti43Nb.

A adesão e o espalhamento celular em superfícies de liga à base de titânio são parâmetros importantes, quanto ao comportamento celular na tecnologia de implantes. A hidrofobicidade do substrato e a rugosidade são propriedades da superfície que determinam qual destes parâmetros predominam no espalhamento de células ósseas (Ponsonnet *et al* 2003).

A relação entre o método paramedição do ângulo de contato, com verificação da sua molhabilidade, e a aspereza da superfície, com mensuração da rugosidade, estão intimamente ligados. A rugosidade modifica fortemente a molhabilidade, e para caracterizar as superfícies quanto a essas propriedades superficiais, neste estudo, foram ensaiadas superfícies lisas, pois a SFE não é mensurada a partir da morfologia topográfica da superfície, mas é uma indicação da tensão superficial da superfície sólida. Assim, os cálculos da SFE não podem ser executados a partir de medições usando superfícies ásperas. Neste estudo, quanto aos resultados de rugosidade e molhabilidade da liga Ti30Nb8Zr obtidos, houve correlação, pois quando comparados às demais ligas, esta obteve menores valores.

A adsorção de proteínas pela superfície, no meio de cultura, é influenciada pelos componentes de superfície de cada uma das superfícies. O contato inicial das células com estas proteínas é um parâmetro importante para a adesão e proliferação de células. Vários estudos propõem que a adsorção de proteínas pelas superfícies tratadas dos implantes de titânio, alteram seu comportamento quanto a biocompatibilidade, transformando superfícies bioinertes em bioativas, assumindo um papel mediador na resposta das células pré-osteoblásticas (Park *et al* 2006) (Wei *et al* 2009) (Roy *et al* 2011).

4.9 UV- RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

Na tabela 4.6 são mostrados os ângulos de contato da água com as superfícies das amostras após a exposição à radiação ultravioleta. Pode-se observar que a fotoativação por radiação ultravioleta altera o ângulo de contato das amostras.

Tabela 4.6: Ângulo de contato (grau) da água com a superfície das amostras após a fotoativação com UV.

		UV 24h	UV 48h	UV 72h	inicial
Ticp4	Média	75,29	73,14	69,79	80,98
	Desvio padrão	2,618	2,836	1,017	2,41
Ti43Nb	Média	49,21	48,89	46,96	51,90
	Desvio padrão	4,589	1,34	1,92	8,54
Ti30Nb8Zr	Média	38,87	33,93	27,08	56,28
	Desvio padrão	3,39	4,83	4,75	3,24

Mostra-se na figura 4.18 a variação do ângulo de contato com o tempo de exposição da amostra à radiação UV. Pode-se observar que o ângulo de contato reduz com a fotoativação. Este resultado pode ser associado ao aumento da energia superficial da amostra.

Na amostra da liga Ti43Nb ficou caracterizado, assim como na amostra de Ticp4, que após a exposição à radiação UV, a molhabilidade aumenta com o aumento do tempo de exposição.

Entre as 3 (três) ligas analisadas, a liga de Ti30Nb8Zr foi a que apresentou melhores resultados da molhabilidade. Após receber radiação UV as amostras apresentaram comportamento hidrofílico. Segundo Yuan e Lee (2013), quando os ângulos de contato tendem a zero, ocorre favorecimento ao umedecimento de grande área da superfície.

Vários estudos *in vivo* demonstraram os efeitos hidrofílicos das superfícies sobre células em termos de proliferação, diferenciação e gen de expressão. Os resultados obtidos em ensaios *in vivo* sugerem uma maior cicatrização óssea dos implantes com superfícies hidrofílica (Jimbo *et al*2011).

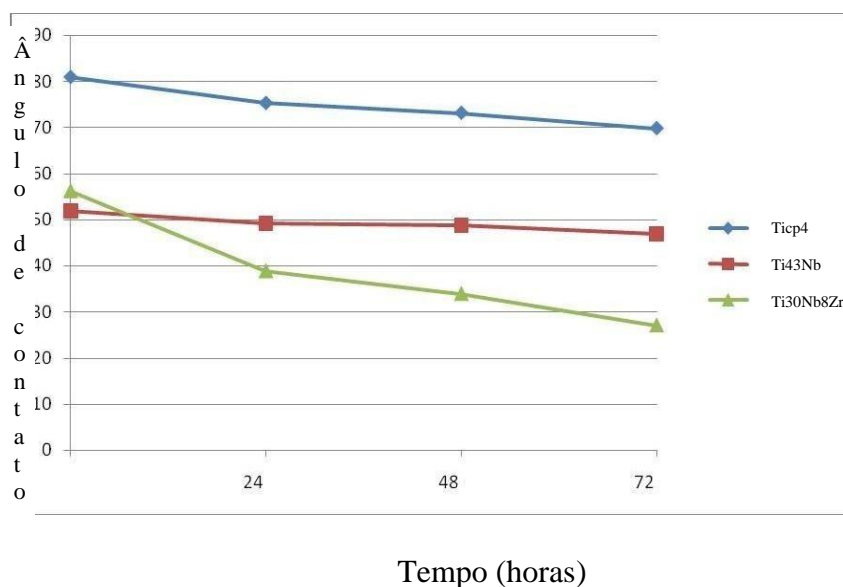


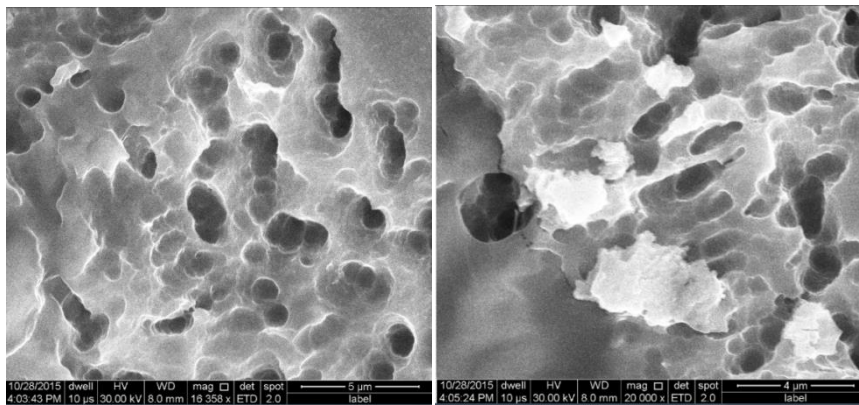
Figura 4.18: Análise comparativa da molhabilidade da amostra de Ticp4/Ti43Nb/Ti30Nb8Zr

Quanto ao comportamento biocompatível dos implantes de titânio, este é devido à formação de uma película de dióxido de titânio (TiO_2) sobre sua superfície. Com a caracterização através da difração de raio-x da formação da camada de óxido na superfície da liga Ti30Nb8Zr, o TiO_2 na presença de luz ultravioleta atua como catalisador de reações químicas. Este fenômeno pode ser utilizado para quebrar ligações de moléculas de água e hidrocarbonetos formando dióxido de carbono e água. A quebra de molécula de água possibilita a formação de uma camada de grupos hidroxila (OH^-) adsorvida capaz de aumentar a energia livre da superfície, tornando-a hidrofílica. Confirmando os resultados após

ensaio de radiação U.V. dessas amostras com diminuição dos ângulos de contato, caracterizando comportamento hidrofílico dessa liga.

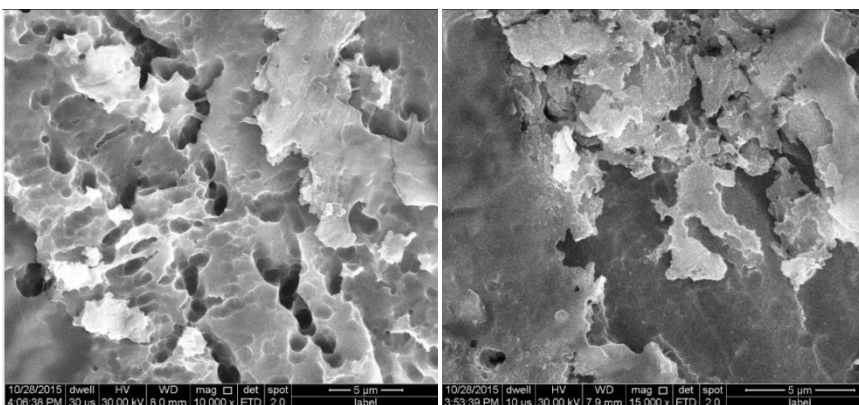
4.10 ESTUDO PILOTO DE CULTURA DE CÉLULAS

Os resultados dos ensaios da cultura com células osteoblásticas MC3T3 de camundongos mostraram que em todas as amostras ocorreu adesão, proliferação, diferenciação e espalhamento celular. Com base nestes resultados podemos supor que as superfícies ensaiadas apresentam comportamento biocompatível. Mostra-se na figura 4.19 as imagens das amostras de Ticp4. Pode-se observar o espalhamento e os prolongamentos osteoblásticos pelos vales criados com o tratamento ácido Porous®. Em algumas regiões a interação e o número de células ósseas unidas ocuparam uma grande área. Em algumas regiões não foi possível visualizar a superfície da amostra.



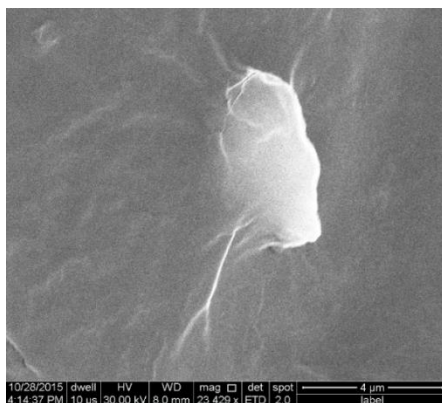
(a)

(b)



(c)

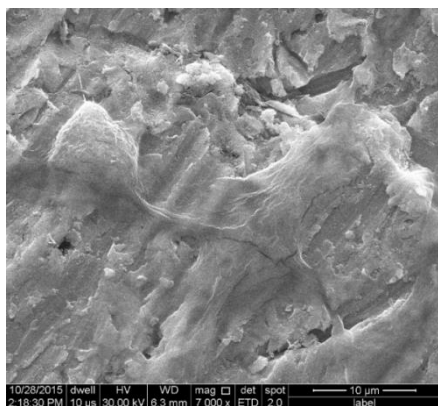
(d)



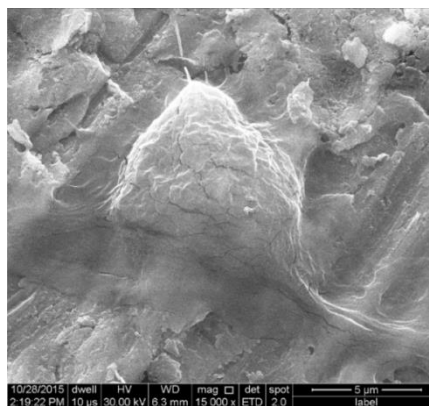
(e)

Figura 4.19: (a) Morfologia da superfície da amostra de Ticp4 tratada com Porous®. (b) Visualização de alguns osteoblastos (imagens claras) na superfície tratada de Ticp4 (c) Maior quantidade de células ósseas, com formação de colônias de osteoblastos (d) Observa-se maior quantidade de osteoblasto. (e) Osteoblasto.

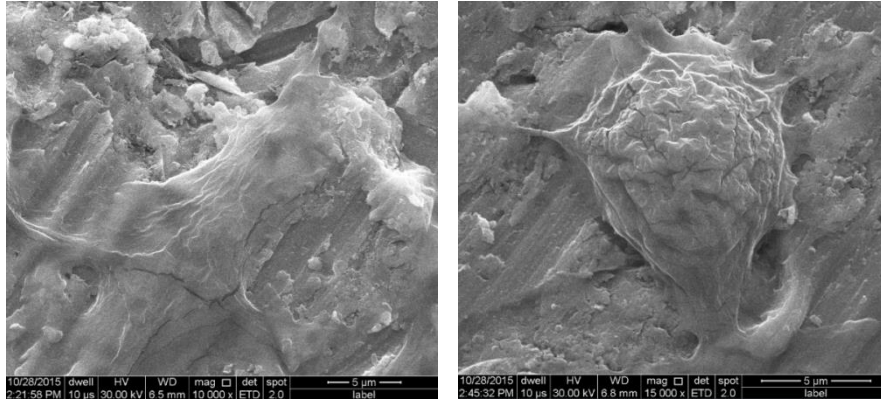
Nas amostras de Ti43Nb (figura 4.20) foi possível observar unidade de células ósseas, com corpo e seus prolongamentos. Nesta amostra houve a identificação de espalhamento celular, mas em alguns casos, foi verificado que os osteoblastos apresentavam-se de forma imatura, com corpo celular mais arredondado.



(a)



(b)



(c)

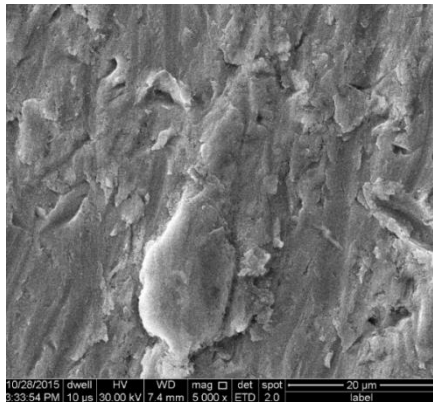
(d)



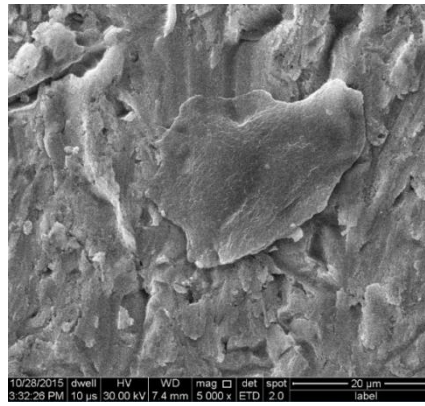
(e)

Figura 4.20: (a) Fotomicrografia de 2 (dois) osteoblastos unidos por seus prolongamentos (b)(c)(d) osteoblastos com corpo de aspecto mais achatado e prolongamentos amplos e estendidos (e) Unidade osteoblástica com corpo mais arredondado, caracterizando menor maturidade celular.

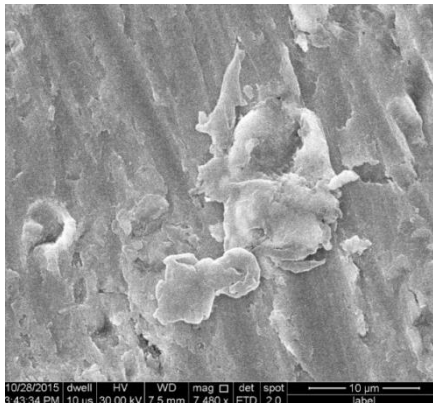
A cultura celular realizada nas amostras da liga Ti30Nb8Zr (figura 4.21) mostrou que o tratamento de superfície com Porous®, induziu características miméticas. Houve grande difusão e espalhamento celular. Em algumas amostras ocorreu dificuldade na análise superficial, pois, a textura caracterizada pela superfície do material era semelhante a superfície da colônia de osteoblastos.



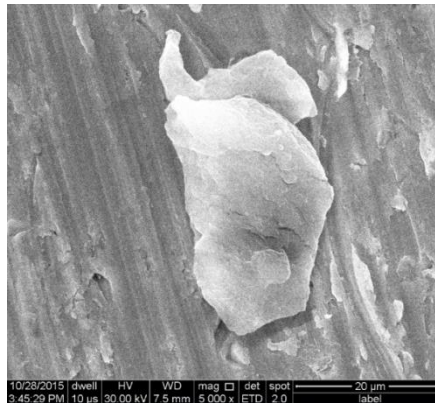
(a)



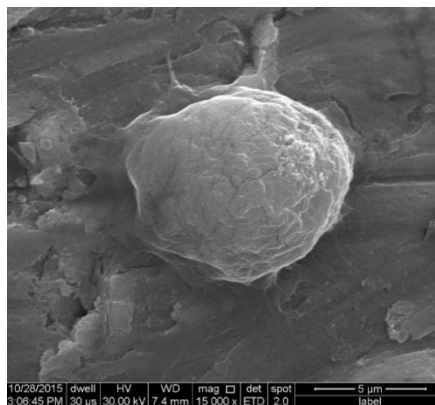
(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 4.21: (a)(b) Nestas imagens os osteoblastos após processo de maturidade celular assumem características semelhantes à superfície do material. (c)(d) Na análise superficial o que diferencia material da célula óssea é que esta está em posição diferente às estrias superficiais do material. (e) Osteoblasto.

Os resultados dos marcadores de expressão foram realizados através de teste de

anticorpos (Elisa). Um dos marcadores pesquisados foi a osteopontina(OPN), que é uma proteína glicosilada altamente fosforilada e encontrada em todos os líquidos corpóreos e na matriz extracelular dos tecidos mineralizados. Os resultados das contagens de osteopontina nas amostras de titânio e das ligas de titânio são mostrados na figura 4.22. A principal função da OPN é facilitar a recuperação do organismo após a lesão ou infecção, o que geralmente provoca um aumento da sua expressão. É também essencial para algumas formas de remodelação óssea. A OPN estimula vias de sinalização celular através de vários receptores encontrados na maioria dos tipos de células e pode incentivar a migração celular.(Denhardt e Noda 1998).

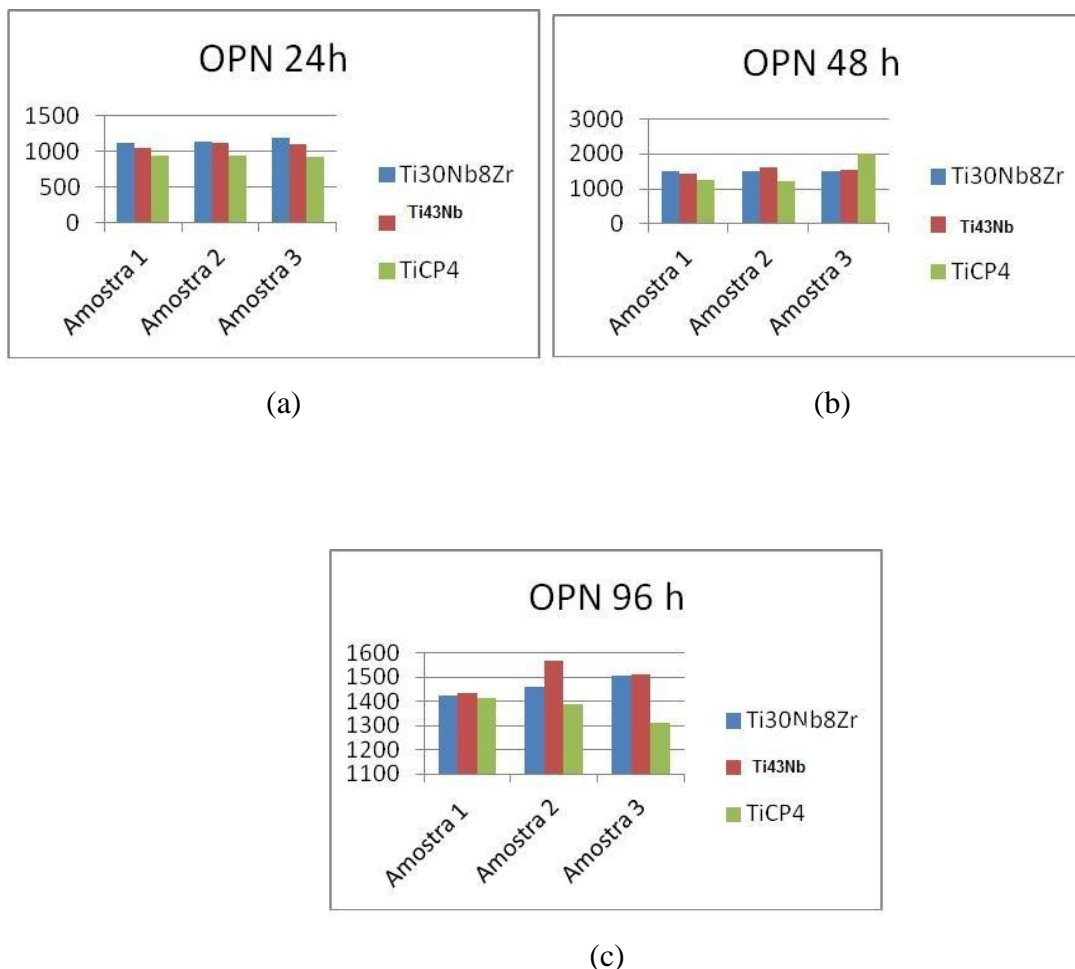


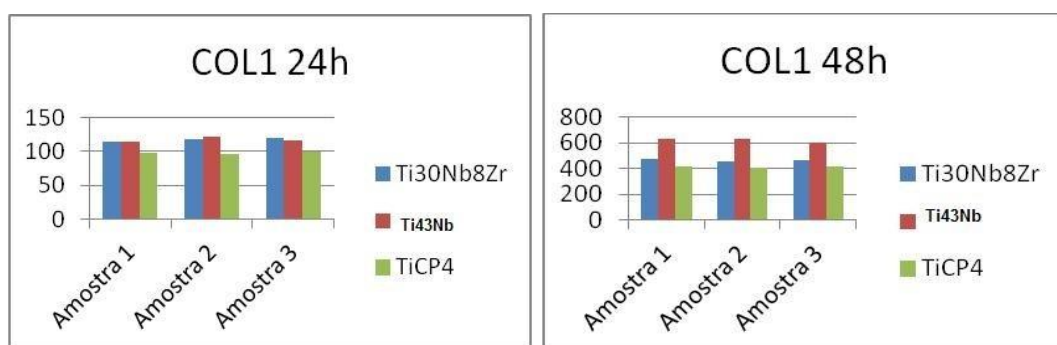
Figura 4.22: Concentração de osteopontina após (a)24(b)48(c)96 horas de cultura celular

Na primeira mensuração de osteopontina realizada com 24(vinte e quatro) horas, foi observado que houve maior produção na superfície dos discos da liga Ti30Nb8Zr, com quantidade média de 1151,38 pg/ml.

Excetuando uma única amostra de Ticp4, todas as amostras deste material em 48 (quarenta e oito) horas, mostraram menor quantidade de osteopontina em relação às amostras das ligas. Em compensação, foi observado um aumento significativos nos resultados das ligas de titânio, que foram semelhantes neste período, próximos à 1.500pg/mL, com quantidade média para a liga de Ti43Nb de 1523,22 pg/ml e 1506,16 pg/ml para Ti30Nb8Zr.

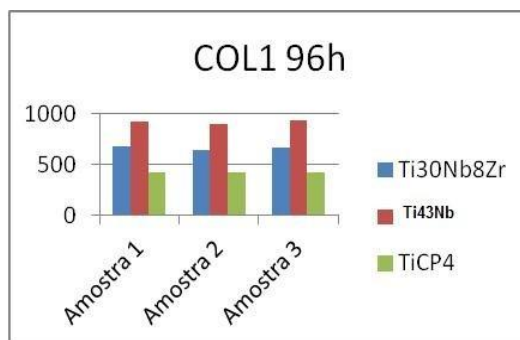
No período de 96 (noventa e seis) horas, houve pouca alteração na quantidade de osteopontina produzida pelos osteoblastos na superfície das amostras. Realizando uma análise comparativa entre a produção de osteopontina em cada amostra, não houve diferença significativa entre as ligas de titânio pesquisadas neste estudo. As ligas mostraram resultados superiores em relação as amostras de Ticp4.

Outro marcador de células ósseas, expressado neste estudo, foi o Colágeno tipoI (figura 4.23).Diferentes tipos celulares podem sintetizar colágeno, dependendo de cada tecido. O colágeno tipo I é o principal produto de secreção do osteoblasto, célula responsável pela síntese da matriz óssea orgânica. Cerca de 90% da matriz extracelular óssea é constituída por colágeno tipo I, e os 10% restantes por proteínas não colágenas, como a osteocalcina, osteonectina e outras como alguns fatores de crescimento.



(a)

(b)



(c)

Figura 4.23: Concentração de Colágeno tipo 1 (a)24(b)48(c)96 horas de cultura celular.

Após 24 (vinte e quatro) horas de cultura foi observado que a quantidade de colágeno tipo I na amostra de Ticp4 foi menor em relação as ligas de titânio com aproximadamente 97 pg/ml. Entre as ligas de Ti43Nb e Ti30Nb8Zr não houve diferença significativa, com média de 117,27 pg/mL para a liga de Nb43Ti e 117,55 para Ti30Nb8Zr. No período de 48 (quarenta e oito) horas observou-se uma diferença maior entre as ligas de titânio. A liga de Nb43Ti teve maior quantidade de colágeno sobre a superfície (620 pg/mL). Em relação a quantidade inicial houve crescimento de mais de 5 (cinco) vezes em relação a quantidade inicial. Após 96 (noventa e seis) horas, a quantidade de colágeno nas amostras de Ti43Nb continuou crescendo, com média de 918 pg/mL, ou seja, aproximadamente 50% de crescimento, comparado à mensuração anterior. Houve também um crescimento na amostra de Ti30Nb8Zr ao compararmos o período de 48 à 96 horas, de 464 pg/mL à 658 pg/mL. Em todos os períodos, na amostra de Ticp4, houve uma menor produção de colágeno tipo I. Com melhores resultados das ligas de Ti quanto a rugosidade e molhabilidade, quando comparados com o Ticp4, Observou-se que no ensaio de cultura de células com linhagem de células osteoblásticas (MC3T3-E1) de camundongo, com quantificação de gens de expressão para osteopontina e colágeno tipo 1, estas ligas apresentaram valores superiores de produção destas proteínas pelos osteoblastos cultivados nas superfícies. Em um estudo sobre a adesão inicial de células osteoblásticas (Wei *et al* 2009), esta aumentou, com o aumento da molhabilidade da superfície, em particular, numa superfície hidrofílica, que se correlacionou bem com a adsorção de proteínas (fibronectina). Estes resultados sugerem que a adsorção de proteínas pode ser responsável pelo aumento da adesão celular em superfícies hidrofílicas num fluido corporal ou meio de cultura sob condições fisiológicas.

4.11 ANÁLISE QUÍMICA (FLUORESCÊNCIA)

Os resultados das análises químicas das amostras por fluorescência de raios-X, são mostrados na tabela 4.7. Pode-se observar que as composições químicas são próximas as planejadas.

Tabela 4.7: Composições químicas (% peso) das amostras. Análises por fluorescência de raios-X

		Concentração (%)	Erro absoluto (%)
Ti 30Nb 8Zr	Ti	63,4	0,4
	Nb	30,3	0,2
	Zr	6,35	0,07
Ti43Nb	Ti	50,2	0,4
	Nb	49,8	0,2

5. CONCLUSÃO

O desenvolvimento de novas ligas de Ti para utilização como biomateriais mostraram resultados iniciais promissores quanto a resistência mecânica e biocompatibilidade. Analisando o comportamento dessas ligas, pode-se concluir que:

a) A microestrutura da liga Ti30Nb8Zr, apresentou menor tamanho de grãos e retenção de fase β . O teor de 30% de Nb, pode ser responsável pelo resultado de microdureza Vickers elevado desta liga, caracterizando maior resistência mecânica deste material, quando comparado com o Ti6Al4V.

b) A adição de 8% de Zr na liga Ti30Nb aumentou a dureza e, em consequência, a resistência mecânica, por endurecimento por solução sólida.

c) Quanto a superfície das amostras, as ligas de Ti apresentaram comportamentos que favorecem a biocompatibilidade dos materiais, como:

1) Rugosidade das amostras com RA entre 0,28 à 0,40 μm , caracterizando uma superfície micro-nanoestruturada, otimizando a aderência, proliferação e diferenciação celular, o que leva a um favorecimento no comportamento bioativo do material.

2) As superfícies das amostras em contato com líquido, apresentaram baixo ângulo de contato ($< 90^\circ$) e foram caracterizadas como superfícies hidrofílicas. Após radiação U.V., ocorreu aumento na energia superficial, com diminuição dos ângulos de contato, aumentando a hidrofiliabilidade destas ligas.

d) Quanto aos resultados da cultura de células ósseas e quantificação dos marcadores de expressão, as ligas de Ti apresentaram resultados superiores ao Ti6Al4V, que é um material que possui como uma das suas principais características a alta biocompatibilidade.

6. SUGESTÕES

É necessário que haja continuidade nos estudos e pesquisas destes materiais, como ensaios mecânicos de tração para quantificação do módulo de elasticidade e comportamento dúctil-frágil e teste de ciclagem para avaliação de fratura por fadiga, e ensaios in vivo com animais. Os resultados iniciais dos ensaios para o desenvolvimento de novas ligas de Ti, mostraram-se promissores quanto a algumas propriedades mecânicas e biocompatibilidade in vitro.

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ANDERSON, JAMES M., A. ATALA, R. LANZA, J.A. THOMSON, R.M. NEREM.

Biocompatibility and Bioresponse to Biomaterials, in Principles of Regenerative Medicine, editors, Elsevier/Academic Press, 2008, pp. 704-723.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. ASTM E 384:**Standard test method for microindentation hardness of materials**. West Conshohocken: ASTM; 2008.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. ASTM F 136-13:**Standard Specification for Wrought Titanium-6Aluminum-4Vanadium ELI (Extra Low Interstitial) Alloy for Surgical Implant Applications**. West Conshohocken: ASTM; 2013.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. ASTM F 67-13:**Standard Specification for Unalloyed Titanium, for Surgical Implant Applications**. West Conshohocken: ASTM; 2013.

BRAILOVSKI V., PROKOSHKIN S., GAUTHIER M., INAEKYANA K., DUBINSKIY S.. **Mechanical properties of porous metastable beta Ti-Nb-Zr alloys for biomedical applications**. Journal of Alloys and Compounds 577S (2013) S413–S417.

CALLISTER JR. W.D., RETHWISCH D.G.. **Ciência e Engenharia de Materiais uma introdução**. Gen/LTC 8ª edição 2012.

CHRAPONSKI J., SZKLINIARZ W..**Quantitative metallography of two-phase titanium alloys**. Materials Characterization 46 (2001) 149– 154

CHEN Q., THOUAS G. A.. **Metallic implant biomaterials**. Materials Science and Engineering R 87 (2015) 1–57

CHIAPASCO M., CASENTINI P., ZANIBONI M., CORSI E., ANELLO T.. **Titanium–zirconium alloy narrow diameter implants (Straumann Roxolid®) for the rehabilitation of horizontally deficient edentulous ridges: prospective study on 18 consecutive patients.** Clin. Oral Impl. Res. 23, 2012, 1136–1141 doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02296.

CREMASCO A., ANDRADE P.N., CONTIERI R.J. , LOPES E.S.N. , AFONSO C.R.M., CARAM R.*Correlations between aging heat treatment, α phase precipitation and mechanical properties of a cast Ti–Nb alloy.*Materials and Design 32 (2011) 2387–2390

CVIJOVIC´-ALAGIC´ I., CVIJOVIC´ Z. , BAJAT J., RAKIN M.**Composition and processing effects on the electrochemical characteristics of biomedical titanium alloys.**Corrosion Science 83 (2014) 245–254

DALMAU A., GUIÑÓN PINA V., DEVESA F., AMIGÓ V., IGUAL MUÑOZ A..**Electrochemical behavior of near-beta titanium biomedical alloys in Phosphate buffer saline solution.**Materials Science and Engineering C 48 (2015) 55–62

DENHARDT D.T., NODA M..**Osteopontin Expression and Function:Role in Bone Remodeling.**Journal of Cellular Biochemistry Supplements 30/31:92–102 (1998)

DEPPRICH R., OMMERBORN M., ZIPPRICH H., NAUJOKS C., HANDSCHEL J., WIESMANN H.P., KÜBLER N.R., MEYER U..**Behavior of osteoblastic cells cultured On titanium and structured zirconia surfaces.** Head and Face medicine 2008, 4:29
Doi:10.1186/1746-160X-4-29

DURACCIO D., MUSSANO F., FAGA M.G..**Biomaterials for dental implants: current and future trends.**J Mater Sci (2015) 50:4779–4812 DOI 10.1007/s10853-015-9056-3

ELIAS C.N., **Titanium dental implant surfaces**. Revista Matéria, v. 15, n. 2, pp. 138–142, 2010.

ELIAS C.N., BUSQUIM T., LIMA J.H.C., MULLER C.A. **Dental implant with bioactive surface**. Rev. bras. odontol., Rio de Janeiro, v. 65, n. 2, p.273-279, jul./dez. 2008

GEETHA M., SINGH A.K., GOGIA A.K., ASOKAMANI R. **Effect of thermomechanical processing on evolution of various phases in Ti–Nb–Zr alloys**. Journal of Alloys and Compounds 384 (2004) 131–144

GEETHA M., SINGH A.K., ASOKAMANI R., GOGIA A.K. **Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review**. Progress in Materials Science 54 (2009) 397–425

GEPREEL M.A., NIINOMI M. **Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation**. journal of the mechanical behavior of biomedical materials 20 (2013) 4 0 7 – 4 1 5

HERNÁNDEZ-LÓPEZ J.M., CONDE A., DE DAMBORENEA J., ARENAS M.A. **Correlation of the nanostructure of the anodic layers fabricated on Ti₁₃Nb₁₃Zr with the electrochemical impedance response**. Corrosion Science 94 (2015) 61–69.

KIM J.I., KIM H.Y., INAMURA T., HOSODA H., MIYAZAKI S. **Shape memory characteristics of Ti–22Nb–(2–8)Zr(at.%) biomedical alloys**. Materials Science and Engineering A 403 (2005) 334–339

JEONG Y.H., CHOE H.C., BRANTLEY W.A. **Electrochemical and surface behavior of hydroxyapatite/Ti film on nanotubular Ti–35Nb–xZr alloys**. Applied Surface Science 258 (2012) 2129– 2136

JIMBO R., ONO D., HIRAKAWA Y., ODATSU T., TANAKA T., SAWASE T. **Accelerated Photo-Induced Hydrophilicity Promotes Osseointegration: An Animal Study**.

LEE C.M., JU C.P., CHERN LIN J.H.. **Structure-Property relationship of cast Ti-Nb alloys.** Journal of oral rehabilitation 2002 **29**; 314-322

LEYENS C., PETERS M.. **Titanium and Titanium Alloys. Fundamentals and Applications.** Edited by Christoph Leyens, Manfred Peters Copyright © 2003 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim ISBN: 3-527-30534-3

LIN D. J., CHERN LIN J.H., JU C.P.. **Effect of omega phase on deformation behavior of Ti-7.5Mo-xFe alloys.** Materials Chemistry and Physics 76 (2002) 191-197

LIN Z., WANG Y., WANG D., ZHAO B., LI J.. **Porous structure preparation and wettability control on titanium implant.** Surface & Coatings Technology 228 (2013) S131-S136

LIU X , CHU P.K., DING C.. **Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications.** Materials Science and Engineering R 47 (2004) 49-121

MAJUMDAR P., SINGH S.B., CHAKRABORTY M.. **The role of heat treatment on microstructure and mechanical properties of Ti-13Zr-13Nb alloy for biomedical load bearing applications.** Journal of the mechanical behavior of biomedical materials 4 (2011) 1132 - 1144

MALEK J., HNILICA F., VESELÝ J.. **The influence of Zr on microstructure of beta-titanium alloys.** 15. - 17. 5. 2013, Brno, Czech Republic, EU.

MANTANI Y., TAJIMA M. . **Phase transformation of quenched α " martensite by aging in Ti-Nb alloys.** Materials Science and Engineering A 438-440 (2006) 315-319

MARTINS D.Q., OSÓRIO W.R., SOUZA M.P., CARAM R., GARCIA A.. **Effects of Zr content on microstructure and corrosion resistance of Ti-30Nb-Zr casting alloys for**

- biomedical applications.** *Electrochimica Acta* 53 (2008) 2809–2817
- MCMAHON R.E., MA J., VERKHOTUROV S.V., MUNOZ-PINTO D., KARAMAN I., RUBITSCHKEK F., MAIER H.J., HAHN M.S.. **A comparative study of the cytotoxicity and corrosion resistance of nickel–titanium and titanium–niobium shape memory alloys.** *Acta Biomaterialia* 8 (2012) 2863–2870
- MORENO J. M. C., P., VASILESCU C., ANASTASESCU M., DROB S. J., POPA M.. **Obtaining, structural and corrosion characterization of anodized nanolayers on Ti-20Zr alloy surface.** *Surface & Coatings Technology* 235 (2013) 792–802
- NIE L., ZHAN Y., HU T., CHEN X., WANG C.. **β -Type Zr–Nb–Ti biomedical materials with high plasticity and low modulus for hard tissue replacements.** *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* 29 (2014) 1–6
- NIINOMI M.. **Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications.** *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* 1(2008)30–42
- NING C., DING D., DAI K., ZHAI W., LEI CHEN L.. **The effect of Zr content on the microstructure, mechanical properties and cell attachment of Ti–35Nb–xZr alloys.** *Biomed. Mater.* 5 (2010) 045006 (8pp) doi:10.1088/1748-6041/5/4/045006
- NOYAMA Y., MIURA T., ISHIMOTO T., ITAYA T., NIINOMI M., NAKANO T.. **Bone Loss and Reduced Bone Quality of the Human Femur after Total Hip Arthroplasty under Stress-Shielding Effects by Titanium-Based Implant.** *Materials Transactions*, Vol. 53, No. 3 (2012) pp. 565 to 570 ©2012 The Japan Institute of Metals
- OSHIDA Y.. **Role of Titanium Oxides in Implantology.** *Int. J. Biomaterials* 2012
- PARK J M, KOAK J Y, JANG J H, HAN C H, KIM S K, HEO S J. **Osseointegration of Anodized Titanium Implants Coated with Fibroblast Growth Factor–Fibronectin (FGF-FN) Fusion Protein.** *INT J ORAL MAXILLOFAC IMPLANTS* 2006;21:859–866

PARK J., TUSTUSMI Y. , LEE C.S. , PARK C.H. , KIM Y. , JANG J., KHANG D., IM Y., DOI H., N NOMURA N., HANAWA T. **Surface structures and osteoblast response of hydrothermally produced CaTiO₃ thin film on Ti–13Nb–13Zr alloy.** Applied Surface Science 257 (2011) 7856–7863.

PONSONNET L., REYBIER K., JAFFREZIC N., COMTE V., LAGNEAU C., LISSAC M., N MARTELET C. **Relationship between surface properties (roughness, wettability) of titanium and titanium alloys and cell behavior.** Materials Science and Engineering C 23 (2003) 551–560.

RIBEIRO A. L. R., JUNIOR R. C., CARDOSO F. F., FILHO R. B. F., VAZ L. G.. **Mechanical, physical, and chemical characterization of Ti–35Nb–5Zr and Ti–35Nb–10Zr casting alloys.** J Mater Sci: Mater Med (2009) 20:1629–1636 DOI 10.1007/s10856-009-3737-x

ROY D C, MOUNTS S J W, HOCKING D C. **Chimeric fibronectin matrix mimetic as a functional growth- and migration promoting adhesive substrate.** Biomaterials 32 (2011) 2077e2087

THOMA D. S., JONES A. A., DARD M., GRIZE L., OBRECHT M., COCHRAN D. L.. **Tissue Integration of a New Titanium–Zirconium Dental Implant: A Comparative Histologic and Radiographic Study in the Canine.** J Periodontol • October 2011 Volume 82 • Number 10

TOBE H., KIM H.Y., INAMURA T., HOSODA H., NAM T.H., MIYAZAKI S. **Effect of Nb content on deformation behavior and shape memory properties of Ti–Nb alloys.** Journal of Alloys and Compounds 577S (2013) S435–S438

TRIFFITT J. T. **The special proteins of bone tissue.** Clinical Science (1987) 72, 399-408.

- WEI J, IGARASHI T, OKUMORI N, IGARASHI TA, MAETANI T, LIU B, YOSHINARI M. **Influence of surface wettability on competitive protein adsorption and initial attachment of osteoblasts.** *Biomed. Mater.* **4** (2009) 045002 (7pp)
- WILLIAMS D. F.. **On the mechanisms of biocompatibility.** *Biomaterials* **29** (2008) 2941–2953
- YU Z., YUXUAN L., XIANJIN Y., ZHENDUO C., SHENGLI Z.. **Influence of Zr content on phase transformation, microstructure and mechanical properties of Ti75-xNb25Zrx (x = 0–6) alloys.** *Journal of Alloys and Compounds* **486** (2009) 628–632
- ZHU Y., LI J., TIAN X., WANG H., LIU D.. **Microstructure and mechanical properties of hybrid fabricated Ti–6.5Al–3.5Mo–1.5Zr–0.3Si titanium alloy by laser additive manufacturing.** *Materials Science & Engineering A607* (2014) 427–434