

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS
CAMPUS POÇOS DE CALDAS**

VIRGILIO PEREIRA RICCI

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO
DO TITÂNIO COM HIDROXIAPATITA DOPADA COM NITRATO DE PRATA
E RECOBERTA COM FILME DE QUITOSANA**

Poços de Caldas/MG
2017

VIRGILIO PEREIRA RICCI

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO DO
TITÂNIO COM HIDROXIAPATITA DOPADA COM NITRATO DE PRATA E
RECOBERTA COM FILME DE QUITOSANA**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Alfenas. Área de Concentração: Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Materiais.
Orientadora: Neide A. Mariano

R491o Ricci, Virgilio Pereira.

Obtenção e caracterização do recobrimento biomimético do titânio com hidroxiapatita dopada com nitrato de prata e recoberta com filme de quitosana / Virgilio Pereira Ricci. – Poços de Caldas, 2017.
82 f. –

Orientadora: Neide A. Mariano.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) –
Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2017.
Bibliografia.

1. Titânio. 2. Hidroxiapatita. 3. Quitosana. 4. Bactericidas. 5.
Biocompatibilidade. I. Mariano, Neide A. II. Título.

CDD: 620.16

VIRGILIO PEREIRA RICCI

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO RECOBRIMENTO
BIOMIMÉTICO DO TITÂNIO COM HIDROXIAPATITA DOPADA
COM NITRATO DE PRATA E RECOBERTA COM FILME DE
QUITOSANA**

A banca examinadora abaixo-assinada,
aprova a Dissertação apresentada como
parte dos requisitos para obtenção do
título de mestre em Ciência e
Engenharia de Materiais, pelo Programa
de Pós-Graduação em Ciência e
Engenharia de Materiais da
Universidade Federal de Alfenas.

Área de Concentração:
Desenvolvimento, Caracterização e

Aprovada em: de de 20 .



Profa. Dra. Neide A. Mariano

Instituição: Universidade Federal de Alfenas, *campus* Poços de Caldas - UNIFAL -MG



Profa. Dra. Luci Cristina de Oliveira Vercik

Instituição: Universidade de São Paulo, *campus* Pirassununga – USP - SP



Profa. Dra. Maria Gabriela Nogueira Campos

Instituição: Universidade Federal de Alfenas, *campus* Poços de Caldas - UNIFAL -MG

AGRADECIMENTOS

À minha namorada Laiane, por sempre me incentivar e motivar a continuar sempre lutando, não teria conseguido sem você ao meu lado. Serei eternamente grato.

Aos meus pais, principalmente à minha mãe, por todo esforço para eu conseguir chegar até esta etapa.

À minha orientadora Profa. Dra. Neide A. Mariano por toda orientação, incentivo, confiança, conselhos e paciência durante a realização do trabalho.

À Dra. Luciola Lucena de Sousa pela enorme ajuda em todas as etapas na realização do trabalho.

À Dra. Eliana Rigo e Dra. Luci Vercik pela ajuda na realização do trabalho e pela recepção na USP, *campus* Pirassununga.

À Dra. Eliria Pallone pela realização do DRX nas amostras.

Ao Prof. Dr. Newton S. da Silva, à Profa. Cristina Soares, à mestranda Ana V. de Moraes e a UNIVAP pela realização do ensaio de viabilidade bacteriana.

À Dra. Maria do Socorro pela realização e ajuda na interpretação do ensaio de halo de inibição.

À Profa. Dra. Maria Gabriela Nogueira Campos pela ajuda na interpretação dos resultados de viabilidade bacteriana e pela ajuda na produção do recobrimento com quitosana.

Ao DEMa e os técnicos da UFSCAR onde foi realizado os MEV em todas as amostras.

Ao Prof. Dr. Renato Chaves Souza IF São João da Boa Vista, pela contribuição metalográfica.

À UNESP, *campus* Araraquara onde os ensaios de FTIR foram realizados.

A todos os professores do PPGCEM UNIFAL que contribuíram para minha formação acadêmica.

A todos técnicos da UNIFAL pela ajuda na realização das etapas do trabalho.

À UNIFAL, CAPES, FAPEMIG, FAPESP e CNPQ pelo aporte educacional e financeiro.

O Princípio do mentalismo: O TODO é
MENTE, o universo é mental.
(TRIMEGISTO, H.)

RESUMO

O titânio por possuir excelentes propriedades mecânicas, resistência à corrosão e também possui interação com o osso, entretanto é necessário um recobrimento com um material que desempenhe melhor essa função, como alternativa foi utilizado a hidroxiapatita, principal constituinte dos ossos promovendo a regeneração óssea local. Nos primeiros dias pós-implante o risco de infecções é muito elevado, e o uso de medicamentos se faz necessário, desta maneira, o uso de nitrato de prata atuando como bactericida, pode diminuir a indicação medicamentosa para este fim uma forma controlada de liberação deste bactericida é adequada, dessa forma o uso e o estudo de filmes poliméricos para essa finalidade têm sido cada vez mais estudados. Sendo assim, neste trabalho foi realizado o recobrimento do titânio com a hidroxiapatita, dopada com nitrato de prata e recobrimento com filme quitosana. Neste trabalho foi estudado o titânio comercialmente puro, grau 4, sem recobrimento (Ti c.p), o titânio c.p com recobrimento biomimético de hidroxiapatita (C0), o titânio c.p com recobrimento biomimético de hidroxiapatita dopagem de nitrato de prata (C1) e o titânio c.p com recobrimento biomimético de hidroxiapatita dopagem de nitrato de prata e recobrimento com filme de quitosana (C2). O recobrimento com hidroxiapatita, a dopagem com nitrato de prata e o recobrimento com filme de quitosana foram caracterizados através das técnicas de MEV/EDS onde os recobrimentos apresentaram a morfologia característica, no DRX os picos característicos da fase α , da hidroxiapatita e da quitosana e com o FTIR os picos referentes aos compostos presentes na hidroxiapatita e na quitosana. O ensaio de bioatividade apresentou a formação e aumento da camada de hidroxiapatita em todas as condições estudadas. Nos ensaios de corrosão, as amostras recobertas com filme de quitosana apresentou melhor resistência à corrosão. Nos ensaios microbiológicos o nitrato de prata se mostrou eficiente e o filme de quitosana foi eficiente na liberação lenta da prata.

Palavras-chave: Titânio. Hidroxiapatita. Quitosana. Bactericida. Biocompatibilidade.

ABSTRACT

The titanium has excellent mechanical properties, resistance to corrosion and also has interaction with the bone, however, it is necessary a coating with a material that better perform this function, as an alternative was used hydroxyapatite, the main constituent of the bones promoting local bone regeneration. In the first days post-implant the risk of infections is very high, and the use of medications is necessary, in this way, the use of silver nitrate acting as bactericide, can decrease the indication for this drug a controlled form of release of this bactericide is adequate, so the use and study of polymer films for this purpose have been increasingly studied. Thus, in this work the coating of titanium with hydroxyapatite, doped with silver nitrate and coating with chitosan film was carried out. In this work was studied the commercially pure titanium, grade 4, without coating (Ti cp), titanium cp with biomimetic coating of hydroxyapatite (C0), titanium cp with biomimetic coating of hydroxyapatite doping of silver nitrate (C1) and titanium cp with biomimetic coating of hydroxyapatite doping of silver nitrate and coating with chitosan film (C2). The coatings with hydroxyapatite, doping with silver nitrate and the coating with chitosan film were characterized by SEM/EDS techniques, where the coatings presented the characteristic morphology in the XRD, the characteristic peaks of phase α , hydroxyapatite and chitosan and with the FTIR the peaks referring to the compounds present in hydroxyapatite and chitosan. The bioactivity test presented the formation and increase of the hydroxyapatite layer in all conditions studied. In the corrosion tests, samples coated with chitosan film showed better resistance to corrosion. In the microbiological tests the silver nitrate was efficient and the chitosan film was efficient in the slow release of the silver.

Keywords: Titanium. Hydroxyapatite. Chitosan. Bactericide. Biocompatibility.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estruturas cristalinas do titânio. (a) hexagonal compacta, fase α ; (b) cúbica de corpo centrado, fase β	18
Figura 2 - Estrutura hexagonal da hidroxiapatita.....	20
Figura 3 - Estrutura química da quitina e quitosana.....	22
Figura 4 - Curva típica de polarização de um metal.....	25
Figura 5 - Fluxograma da metodologia utilizada no trabalho.....	27
Figura 6 - Sistema eletroquímico. (a) potenciostato; (b) Célula eletroquímica; (c) eletrodo de trabalho.....	36
Figura 7 - Extrapolação de Tafel em uma curva de polarização.....	38
Figura 8 - Micrografia do Ti c.p. (a) Obtida por MO; (b) Obtida por MEV. Reagente solução de Kroll.....	40
Figura 9 - Difratoograma de raios X do titânio c.p.....	41
Figura 10 - Curvas de DSC para do Tic.p. (a) aquecimento. (b) resfriamento.....	42
Figura 11 - Curvas de TG para do Tic.p. (a) aquecimento. (b) resfriamento... ..	42
Figura 12 - Micrografia do Ti c.p. na condição C0 (Ti c.p.+HA), obtida por MEV. (a, b) Morfologia do recobrimento C0; (c) Espectro obtido na microanálise por EDS no ponto A.....	44
Figura 13 - Difratoograma de raios X do Ti c.p. na condição C0 (Ti c.p.+HA).....	45
Figura 14 - Espectro de infravermelho da C0 (Ti c.p.+HA).....	46
Figura 15 - Micrografia do Ti c.p. na condição C1 (Ti c.p.+HA+AgNO ₃). (a,b) Morfologia do recobrimento C1 obtida por MEV.(c) Espectro obtido na microanálise por EDS no ponto A.....	47
Figura 16 - Difratoograma de raios X do Ti c.p. na condição C1 (Tic.p.+HA+AgNO ₃).....	48
Figura 17 - Espectro de infravermelho da C1 (Ti c.p.+HA+AgNO ₃).....	49
Figura 18 - Espectro de infravermelho do filme de quitosana.....	50
Figura 19 - Micrografia do Ti c.p. na condição C2 (Ti c.p.+HA+AgNO ₃ +Q), obtida por MEV. (a, b) Morfologia do recobrimento.....	51
Figura 20 - Difratoograma de raios X do Ti c.p. na condição C2 (Tic.p.+HA+AgNO ₃ +Q).....	52
Figura 21-Espectro de infravermelho da condição C2 (Ti c.p.+HA+AgNO ₃ +Q).....	53
Figura 22 - Ensaio de bioatividade do Ti c.p, (a) semana 1, (b) semana 2, (c) semana 3 e (d) semana 4.....	54
Figura 23 - (a) EDS do ponto A (Figura 22a) semana 1; EDS do ponto A (Figura 22d) semana 4.....	55
Figura 24 - Espectro de infravermelho do ensaio de bioatividade do Ti c.p.	55
Figura 25 - Ensaio de bioatividade da condição C0 (Ti c.p.+HA), (a) semana 1, (b) semana 2, (c) semana 3 e (d) semana 4.....	56
Figura 26 - (a) EDS do ponto A (Figura 25a) semana 1; EDS do ponto A (Figura 25d) semana 4.....	57
Figura 27 - Espectro de infravermelho do ensaio de bioatividade da condição C0 (Ti c.p.+HA).....	58

Figura 28 - Ensaio de bioatividade da condição C1 (Ti c.p+HA+AgNO ₃), (a) semana 1, (b) semana 2, (c) semana 3 e (d) semana 4.....	59
Figura 29 - (a) EDS do ponto A (Figura 28a) semana 1; EDS do ponto A (Figura 28d) semana 4.....	60
Figura 30 - Espectro de infravermelho do ensaio de bioatividade da condição C1 (Ti c.p+HA+AgNO ₃).	60
Figura 31 - Ensaio de bioatividade da condição C2 (Ti c.p+HA+AgNO ₃ +Q), (a) semana 1, (b) semana 2, (c) semana 3 e (d) semana 4.....	62
Figura 32 - (a) EDS do ponto A (Figura 30a) semana 1; EDS do ponto A (Figura 30d) semana 4.....	63
Figura 33 - Espectro de infravermelho do ensaio de bioatividade da condição C2 (Ti c.p+HA+AgNO ₃ +Q).....	64
Figura 34 - Potencial de circuito aberto nas amostras de titânio c.p, nas condições: C0, C1, C2 e filme de quitosana.....	65
Figura 35 - Ensaio de corrosão por polarização nas amostras de Ti c.p., nas condições: C0, C1, C2 e filme de quitosana.....	66
Figura 36 - Ensaio de viabilidade bacteriana Staphylococcus aureus.....	68
Figura 37 - Placas de petri usadas na realização do ensaio, (a) Ti c.p, controle (+) e controle (-); (b) C0 (Ti c.p+HA), controle (+) e controle (-); (c) C1 (Ti c.p+HA+AgNO ₃), C2 (Ti c.p+HA+AgNO ₃ +Q), controle (+) e controle(-).	69
Figura 38 - Resultado do ensaio de halo de inibição; (a) Ti c.p; (b) C0 (Ti c.p+HA).	70
Figura 39 - Resultado do ensaio de halo de inibição; (a) C1 (Ti c.p+HA+AgNO ₃); (b) C2 (Ti c.p+HA+AgNO ₃ +Q).	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química do Ti c.p. (% em peso).....	19
Tabela 2 - Condições das amostras empregadas neste trabalho.	28
Tabela 3 - Bandas de absorção do espectro no infravermelho para apatitas. .	30
Tabela 4 - Grupos característicos no infravermelho para a quitosana.	31
Tabela 5 - Concentração iônica das soluções para o recobrimento biomimético (mmol.dm ⁻³).	32
Tabela 6 - Reagentes utilizados para preparar as soluções de SBF e 1,5 SBF33	
Tabela 7 - Valor de médio de microdureza para o Ti c.p.....	41
Tabela 8 - Microanálise semi-quantitativa, EDS, do recobrimento da condição C0.....	45
Tabela 9 - Microanálise semi-quantitativa, EDS, do recobrimento da C1.	48
Tabela 10 - Microanálise semi-quantitativa, EDS, do recobrimento da C2.	52
Tabela 11-Parâmetros eletroquímicos para as amostras de Ti c.p. nas condições: C0, C1, C2 e filme de quitosana.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT NBR	– Associação Brasileira de Normas Técnicas.
ASTM	– <i>American Society for Testing and Materials.</i>
CCC	– Cúbica de Face Centrada.
DSC	– Calorimetria Diferencial de Varredura.
DRX	– Difração de Raios X.
ECS	– Eletrodo de Calomelano Saturado.
EDS	– Espectroscopia de Energia Dispersiva.
EP	– Eletrodo de Platina
ET	– Eletrodo de Trabalho
FTIR	– Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier por refletância difusa.
HA	– Hidroxiapatita.
HC	– Hexagonal de Corpo Centrado.
H.V.	– Microdureza Vickers
ISO	– <i>International Organization for Standardization.</i>
MEV	– Microscopia Eletrônica de Varredura.
MO	– Microscopia Óptica.
OCP	– Potencial de Circuito Aberto.
SBF	– <i>Simulated Body Fluid.</i>
S.S	– Silicato de Sódio
Ti	– Titânio.
Ti c.p.	– Titânio Comercialmente Puro.
TG	– Termogravimetria.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 BIOMATERIAIS	16
3.2 LIGAS METÁLICAS PARA IMPLANTES E PRÓTESES	17
3.3 HIDROXIAPATITA	19
3.4 TIPOS DE RECOBRIMENTOS	20
3.4.1 Recobrimento biomimético	20
3.5 QUITOSANA	21
3.6 NITRATO DE PRATA COMO BACTERICIDA	23
3.7 CORROSÃO	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL	28
4.1.1 Preparação da amostra para microscopia	28
4.1.2 Microscopia ótica	28
4.1.3 Microscopia eletrônica de varredura e Espectroscopia por energia dispersiva	28
4.1.4 Difração de raios X	29
4.1.5 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa	29
4.2 ANÁLISE TÉRMICA - CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA E TERMOGRAVIMETRIA	31
4.3 MEDIDAS DE MICRODUREZA	32
4.4 RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO	32
4.5 DOPAGEM COM NITRATO DE PRATA	34
4.6 RECOBRIMENTO COM QUITOSANA	34
4.7 ENSAIO DE BIOATIVIDADE	35
4.8 ENSAIO DE POLARIZAÇÃO POTENCIODINÂMICA	35
4.8.1 Potencial de circuito aberto	37
4.8.2 Método de extrapolação de Tafel	37
4.9 ENSAIO MICROBIOLÓGICOS	38
4.9.1 Ensaio de viabilidade bacteriana	38

4.9.2 Ensaio de difusão em Ágar	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1 CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL E MICRODUREZA DO Ti c.p.....	40
5.2 CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA	41
5.2.1 Calorimetria Diferencial de Varredura	41
5.2.2 Termogravimetria	42
5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS RECOBRIMENTOS	43
5.3.1 Recobrimento com hidroxiapatita	43
5.3.2 Recobrimento com Hidroxiapatita e dopagem com nitrato de prata	46
5.3.3 Recobrimento com hidroxiapatita - dopagem com nitrato de prata - quitosana	49
5.4 ENSAIO DE BIOATIVIDADE	53
5.4.1 Ensaio de bioatividade Ti c.p.....	53
5.4.2 Ensaio de bioatividade condição C0 - (Ti c.p+HA)	56
5.4.3 Ensaio de bioatividade condição C1 (Ti cp+HA+AgNO ₃)	58
5.4.4 Ensaio de bioatividade condição C2 (Ti c.p+HA+AgNO ₃ +Q)	61
5.5 ENSAIO DE CORROSÃO	64
5.5.1 Potencial de circuito aberto	64
5.5.2 Curvas de polarização	65
5.6 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS	68
5.6.1 Ensaio de viabilidade bacteriana	68
5.6.2 Ensaio de difusão em Ágar	69
6 CONCLUSÕES	72
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	74
REFERÊNCIAS.....	75
APÊNDICE A – PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA.....	81

1 INTRODUÇÃO

Biomaterial é um material utilizado para interagir com o organismo, podendo substituir ou melhorar tecidos, órgãos e funções no corpo. A pesquisa por biomateriais é voltada para várias áreas como: ciência, química, física, biologia e medicina. O desempenho e as aplicações de biomateriais são de extrema importância para o desenvolvimento e melhoria de implantes biomédicos e tecidos (AGRAWAL et al., 2014; KULKARNI et al., 2014; WILLIAMS, 2009).

Dentre os materiais metálicos, o titânio e suas ligas possuem grande destaque, por apresentarem boa resistência à corrosão em fluidos corporais, boas propriedades mecânicas como flexibilidade e resistência à tração. Além destas combinações, juntamente com a biocompatibilidade são muito utilizados para aplicações biomédicas, em implantes odontológicos e em próteses ortopédicas (AGRAWAL et al., 2014; KULKARNI et al., 2014).

O efeito da corrosão nos implantes é um fator determinante na escolha do material a ser utilizado, pois a liberação de íons no organismo pode ser muito prejudicial à saúde do implantado. Além de ser prejudicial à saúde, a corrosão pode acarretar outros problemas, como: desgaste excessivo do implante sendo necessária substituição antes do tempo programado, gerando um custo extra ao implantado, e perda da eficiência do implante ocorrendo à perda de material fragilizando o implante (BRONZINO; PARK, 2003).

Como em implantes e próteses, existe a necessidade do biomaterial possuir ótima biocompatibilidade, se faz necessário um recobrimento do metal para evitar possíveis danos ao implantado, como rejeição da prótese, então é realizado um recobrimento com hidroxiapatita, que é o principal constituinte dos ossos e dentes, sendo também um material bioativo, que favorece a reconstrução óssea (HENCH; WILSON, 1999; LEYENS; PETERS, 2003; SONG et al, 2010).

Uma forma de evitar infecções em implantes é através da administração de antibióticos, entretanto pode não ser efetiva a ação dos antibióticos, desta forma a liberação de antibióticos no local do implante vem sendo estudada nos últimos anos. Uma maneira da liberação local de antibióticos é através da dopagem da camada de hidroxiapatita com nitrato de prata, que é também atóxico ao organismo (EWALD et al., 2011; KULKARNI et al., 2014).

A quitosana por ser um polímero natural é muito utilizada, além de ser biocompatível, biodegradável e atóxico ao organismo. A quitosana vem sendo cada vez mais aplicada na indústria farmacêutica e na área biomédica. Pode ser um material biodegradável é capaz de liberar de maneira lenta os fármacos que serão utilizados. Outra característica, comprovada, da quitosana é sua capacidade antimicrobiana (HAZRA et al., 2015; MISHRA; KANNAN, 2014; NEVES, 2013; RAVI; KUMAR, 2000; SINHA et al., 2004).

Este trabalho teve como objetivos a obtenção e caracterização do recobrimento do titânio comercialmente puro (Ti c.p), com hidroxiapatita, dopada com nitrato de prata e recobrimento com filme de quitosana, quanto liberação lenta do nitrato de prata, bioatividade e resistência à corrosão dos recobrimentos e do titânio c.p.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral do trabalho foi obter e caracterizar o recobrimento biomimético do titânio comercialmente puro (Ti c.p), com hidroxiapatita, dopada com nitrato de prata e com recobrimento de quitosana, quanto a liberação controlada de prata, bioatividade e resistência à corrosão dos recobrimentos e do titânio comercialmente puro e ação antimicrobiana da prata.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos foram avaliar o recobrimento de quitosana no titânio recoberto com hidroxiapatita, assim como o desempenho do recobrimento de quitosana, na liberação lenta de nitrato de prata. A morfologia dos recobrimentos foi avaliada usando técnicas de caracterização como: microscópio eletrônico de varredura (MEV) acoplado com espectroscopia de energia dispersiva (EDS), difração de raios X (DRX), espectroscopia por reflectância difusa (FTIR). Avaliou-se a bioatividade nas amostras com e sem recobrimento. Foi realizado ensaio de corrosão em fluido corporal simulado (SBF), além de ensaios microbiológicos (viabilidade bacteriana e difusão em Agar).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 BIOMATERIAIS

Devido à necessidade de melhorias na reparação da capacidade motora, tecidos e órgãos, nas últimas décadas estão sendo desenvolvidos e melhorados alguns materiais para suprir esta necessidade (BASU et al., 2009, RAPHEL et al., 2016).

Os biomateriais são definidos como qualquer material, de origem natural ou sintética capaz de melhorar ou substituir partes ou funções no corpo. A diferença dos biomateriais para as outras classes de materiais, é que os biomateriais possuem a característica de permanecer em um ambiente biológico sem ser prejudicados por este ambiente e não ser afetados pelo ambiente biológico no qual estão inseridos (BASU et al., 2009; COELHO, 2013).

Para a escolha de um biomaterial, as propriedades biológicas são mais importantes que as propriedades mecânicas do material (BASU et al., 2009). Os biomateriais apresentam características muito importantes como biocompatibilidade e biofuncionalidade. Biocompatibilidade é a capacidade do biomaterial de ser aceito pelo organismo sem causar danos. Biofuncionalidade é a capacidade do biomaterial de realizar uma função específica, como a substituição de um osso (BASU et al., 2009; COELHO, 2013).

Os biomateriais podem ser divididos em:

Bioativo: Grupo de biomateriais biocompatíveis, que formam durante o estágio inicial pós implante, ligações químicas e biológicas com o organismo (BASU et al., 2009).

Bioinerte/biotolerante: Biomateriais que são aceitos pelo organismo receptor e que não induz nenhuma reação do biomaterial com o organismo (BASU et al., 2009; BRONZINO; PARK, 2003).

Bioabsorvíveis: São biomateriais que possuem a característica de ser absorvidos gradativamente, na sua totalidade, pelo organismo (BASU et al., 2009; BRONZINO; PARK, 2003).

A classe de biomateriais mais significativa são os bioativos. Através de ligações biológicas fazem parte do organismo, estas ligações impedem o contato direto do implante com organismo, formando assim um tecido compatível com a

região onde ocorreu o implante, um exemplo de material bioativo é a hidroxiapatita (BRONZINO; PARK, 2003).

Quando um material bioinerte é implantado, é formada uma proteção que evita o contato direto com o organismo, um exemplo é a alumina, zircônia e o titânio, que desenvolvem uma camada fibrosa na sua interface (BRONZINO; PARK, 2003).

Os materiais bioabsorvíveis são aqueles que se degradam ou são absorvidos pelo organismo. A taxa de degradação do biomaterial deve ser a mesma que a taxa de regeneração da região do implante, quitosana é um exemplo de material bioabsorvível (BASU et al., 2009).

Na primeira geração de implantes, as próteses foram usinadas, a fim de obter uma superfície lisa. A superfície do implante é de extrema importância nas interações com o organismo, como a osseointegração. Na segunda geração dos implantes na superfície destes materiais foram realizados recobrimentos que, aceleram e melhoram a osseointegração (SHERESTHA; JOSHI, 2014).

3.2 LIGAS METÁLICAS PARA IMPLANTES E PRÓTESES

Em geral biomateriais metálicos devem possuir características como elevada resistência mecânica, alta resistência ao desgaste excelente resistência à corrosão, biocompatibilidade, bioadesão, entre outras (BRONZINO; PARK, 2003).

A maioria destes materiais forma uma camada superficial de óxido estável que melhora a resistência à corrosão. Por conta destas características poucos metais são usados como biomateriais, entre eles, aço inoxidável; ligas a base cobalto, cromo e molibdênio (Vitalium®); liga de cobalto, níquel, cromo e molibdênio; ligas de titânio e níquel; nióbio c.p, tântalo c.p, ligas de titânio e titânio puro, que será o material utilizado para realização deste trabalho (AGRAWAL et al, 2014; BRONZINO; PARK, 2003).

O titânio e suas ligas são amplamente empregados como biomateriais. O titânio como outros materiais (Ferro, Cobalto Estanho, etc.), é um material alotrópico, ou seja, possui mais de uma estrutura cristalográfica alterando a temperatura.

Na temperatura ambiente possui estrutura cristalográfica hexagonal compacta (HC), esta fase é chamada de fase α . Em altas temperaturas, acima de 882 °C, o titânio puro sofre alteração na estrutura cristalográfica, passando a possuir estrutura

de cúbica de corpo centrado (CCC), esta fase formada é chamada de fase β . As estruturas do titânio estão representadas na Figura 1 (LEYENS; PETERS, 2003; LUO et al., 2014).

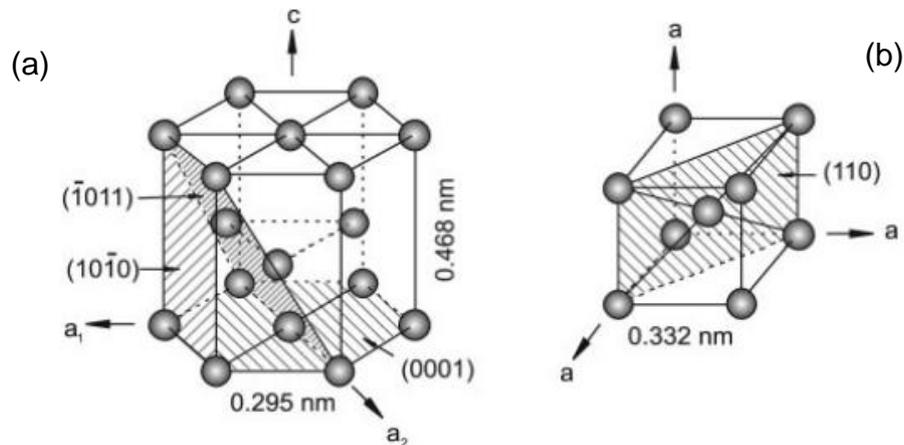


Figura 1 - Estruturas cristalinas do titânio. (a) hexagonal compacta, fase α ; (b) cúbica de corpo centrado, fase β .
Fonte: LEYENS; PETERS, (2003).

O titânio vem sendo muito utilizado em próteses e implantes, por possuir baixa densidade ($4,5 \text{ g/cm}^3$) em relação aos materiais utilizados para esta aplicação como o aço inoxidável ($7,9 \text{ g/cm}^3$). Além disso, possuem excelente resistência à corrosão, ótimas propriedades mecânicas e também é um material biocompatível (AGRAWAL et al., 2014; LEYENS; PETERS, 2003).

As primeiras tentativas de usar o titânio como material para implantes começaram na década de 1930, para substituição do fêmur em gatos (BRONZINO; PARK, 2003).

Segundo a norma ASTM F67-06 o titânio comercialmente puro (Ti c.p.), é dividido em quatro graus, conforme mostra a Tabela 1.

A compatibilidade do titânio no organismo e a resistência à corrosão, estão relacionadas à formação de uma camada muito fina de óxido de titânio (TiO_2) na superfície do material (LEYENS; PETERS, 2003). Para melhorar a biocompatibilidade do titânio no organismo, é realizado um recobrimento do metal com materiais bioativos, como a hidroxiapatita, que produzirá uma osseointegração mais rápida do organismo (BIGI et al., 2005; SONG et al., 2010).

Tabela 1 - Composição química do Ti c.p. (% em peso).

Elemento	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Nitrogênio	0,03	0,03	0,05	0,05
Carbono	0,08	0,08	0,08	0,08
Hidrogênio	0,015	0,015	0,015	0,015
Ferro	0,20	0,30	0,30	0,50
Oxigênio	0,18	0,25	0,35	0,40
Titânio	Balanço	Balanço	Balanço	Balanço

Fonte: Adaptado de ASTM F67-06, (2006).

3.3 HIDROXIAPATITA

A hidroxiapatita é o principal constituinte dos ossos e dentes e em 1926, através de difração de raios X foi comprovada esta semelhança (ALVES et al., 2000; HENCH; WILSON, 1999;). A hidroxiapatita apresenta estrutura do tipo hexagonal compacta (HC), como apresentado na Figura 2.

O termo apatita é composto por materiais com estruturas similares, porém não possui, necessariamente, a mesma composição. A hidroxiapatita estequiométrica é um composto com composição $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (HENCH; WILSON, 1999; LI et al., 2011).

Como a hidroxiapatita possui composição semelhante aos ossos e dentes e também possui biocompatibilidade, bioatividade e osseointegração. O uso de hidroxiapatita em implantes e próteses é largamente utilizado. Se tratando de um material cerâmico, as apatitas apresentam baixas propriedades mecânicas. Sendo assim seu uso é mais utilizado como recobrimento em metais, formando, desta maneira um compósito que possui as características biológicas da hidroxiapatita com as propriedades mecânicas dos metais (ALVES et al., 2000, LI et al., 2011).

Para uso biológico, é introduzido o grupo carbonato (CO_3^{2-}), podendo substituir os grupos PO_4^{3-} ou OH^- . Esta substituição altera as propriedades na estrutura da hidroxiapatita e também as características físico-químicas e biológicas (HENCH; WILSON, 1999; LI et al., 2011).

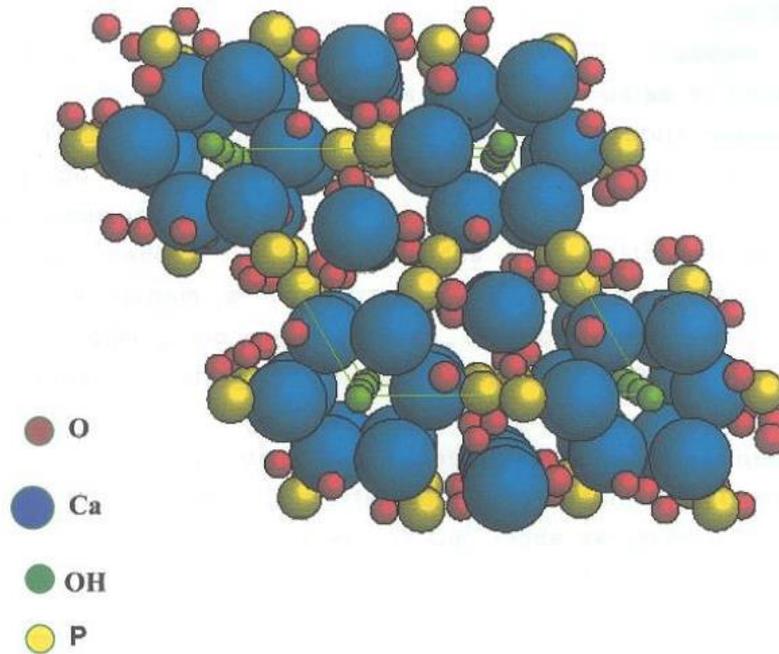


Figura 2 - Estrutura hexagonal da hidroxiapatita.
Fonte: COSTA, et al., (2009).

3.4 TIPOS DE RECOBRIMENTOS

Os recobrimentos podem ser realizados com materiais cerâmicos, podendo ser de, hidroxiapatita entres outros, estes recobrimentos devem ser materiais bioativos, pois os metais não possuem essa característica. Além de acelerar a cicatrização e evitar possíveis rejeições ao implantado, um implante com recobrimento combina as características dos metais, como a biofuncionalidade e características dos recobrimentos cerâmicos, como a bioatividade (ABE et al., 1990; LINDAHL et al., 2015; NI et al., 2008).

Existem várias técnicas para realizar o recobrimento, como: biomimético, *plasma spray*, *microarcoxidação* (LI et al., 2004; NIE et al., 2000; PAITAL; DAHOTRE, 2009; RIGO et al., 1999). Para a realização deste trabalho, foi utilizado o método biomimético.

3.4.1 Recobrimento biomimético

A técnica de recobrimento biomimético, foi desenvolvida por Abe et. al (1990), onde obtiveram uma camada de apatita semelhante ao osso. Os ensaios realizados por Abe, et al, (1990) em fluidos simularam o sangue humano (SBF- *simulated body*

fluid). O SBF apresenta pH, concentração de íons e temperatura próximas ao do sangue humano.

Para realizar o experimento Abe et al. (1990) usaram uma placa de vidro G, imersa em conjunto com um frasco de polietileno contendo SBF com pH 7,4, este aparato foi mantido por sete dias à temperatura de 36,5 °C.

O vidro G contendo íons de silicato, se dissolvem e são absorvidos pelo substrato (aço inoxidável, titânio, entre outros), onde ocorre a formação da hidroxiapatita. Depois de retirada da solução de SBF a hidroxiapatita formada, possuía espessura de aproximadamente 1µm, e foi obtida uma camada homogênea e de aparência fibrosa (ABE et al., 1990).

Atualmente, o uso do vidro G foi substituído por um tratamento alcalino com NaOH 5 M e posterior tratamento térmico à 600 °C, onde não ocorre alteração microestrutural do titânio (HENCH; WILSON, 1999).

Outra etapa é a imersão do titânio em solução de silicato de sódio. A superfície do titânio, e de alguns metais, não induz a nucleação de hidroxiapatita, então o uso do NaOH induz a formação de grupos hidroxilas (OH), formando TiOH (HENCH; WILSON, 1999).

A hidroxiapatita formada facilita a adesão celular, permitindo melhor ligação entre o implante e o osso, isto é possível, pois, melhora a estabilidade mecânica e a biointegração (ERAKOVIC et al., 2004; IQBAL et al., 2012).

3.5 QUITOSANA

A quitosana pode ser obtida de maneira natural em cogumelos, ou industrialmente através da hidrólise alcalina ou enzimática da quitina. Na Figura 3 é possível observar as estruturas da quitina e da quitosana (AGNIHOTRI et al., 2004; AGRAWAL et al., 2014; NARAYAN et al., 2009).

Quando comparada com outros polímeros naturais a quitosana possui uma grande vantagem que é a mucu adesão, devido à presença de cargas positivas. A quitosana apresenta grande número dos grupos hidroxila e amino, o que confere a este polímero elevada biodegradabilidade e grande afinidade por metais pesados, sendo assim seu uso vem sendo desenvolvido nos últimos anos para aplicações na agricultura, tratamento de água (DAMIAN et al., 2005; MOURYA; INANDAR, 2008; NEVES, 2013; OLIVEIRA JUNIOR, 2006).

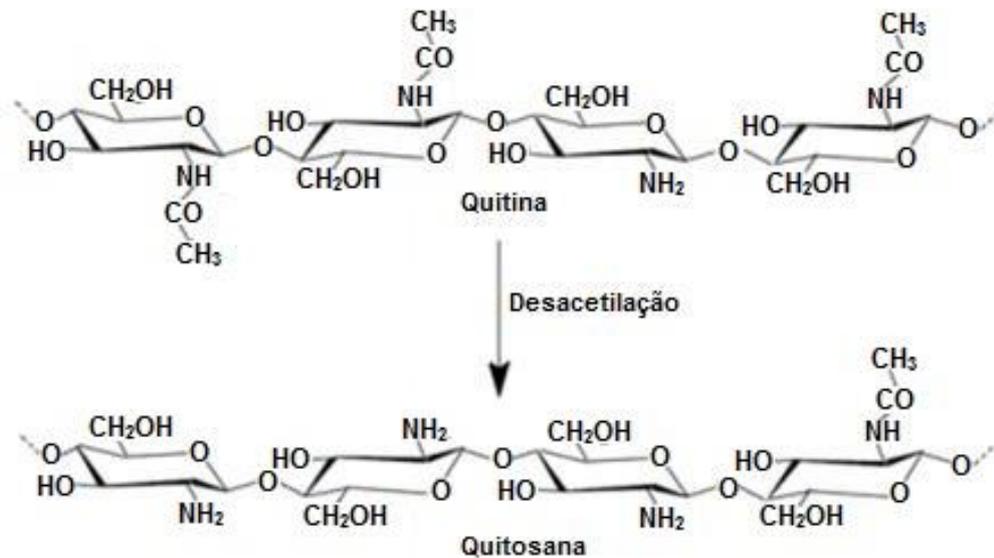


Figura 3 - Estrutura química da quitina e quitosana.
Fonte: OLIVEIRA JUNIOR, (2006).

A quitosana forma complexos quando entra em contato com metais, isto ocorre, pois, na estrutura molecular da quitosana existe a presença de grupos amino e hidroxila. Estes complexos se formam devido ao comportamento da quitosana ser básico, enquanto os íons metálicos atuam como ácido formando desta maneira ligações covalentes com os íons metálicos (CHEN et al., 2005; KIM, 2014; LI et al., 2016; WANG et al., 2004).

Neste complexo os íons metálicos se encontram ligados a vários grupos amino ou grupos hidroxila, estes grupos podem ser da mesma cadeia ou de diferentes cadeias poliméricas, o complexo formado entre a prata e a quitosana possui como forma molecular $[Ag(NH_3)_2]OH$ (BANERJEE et al., 2016; EL-NAHRAWY et al., 2016; LI et al., 2016).

Por possuir baixa toxicidade seu uso é seguro para o ser humano, e muito usado para fins farmacológicos e biomédicos (DAMIAN et al., 2005; MOURYA; INANDAR, 2008; NEVES, 2013; OLIVEIRA JUNIOR, 2006).

Implantes ortopédicos além de possuir biofuncionalidade e bioatividade, características apresentadas pelo titânio e a hidroxiapatita, respectivamente, entretanto esses materiais não apresentam característica antimicrobiana, a quitosana pode conferir esta propriedade, por ser um polímero biodegradável a quitosana possui a característica de liberar, de forma controlada bactericidas dopados na hidroxiapatita. (MOURYA; INANDAR, 2008; ZHOU et al., 2011).

Tiyyuagura et al., (2016) em ensaios corrosão realizados com ligas de magnésio, obtidos por metalurgia do pó onde foi variada a porosidade entre 14% à 40%, sem o recobrimento de quitosana e com recobrimento de quitosana observaram que o magnésio sem o recobrimento sofreu considerável degradação em meio de SBF, enquanto que as amostras com recobrimento de quitosana a degradação foi menos intensa, além de favorecer a formação de hidroxiapatita sobre a superfície da amostra, a diminuição da degradação da quitosana ocorreu devido a maior estabilidade da quitosana em meio de SBF.

3.6 NITRATO DE PRATA COMO BACTERICIDA

A prata é reconhecida como bactericida há muito tempo, alguns trabalhos vem sendo desenvolvidos para descrever esta característica da prata. A prata possui carga positiva e quando em contato com as membranas celulares que possuem cargas negativas, a prata adere à superfície das membranas, causando a morte celular e conseqüente à eliminação total ou parcial das bactérias (FIELDING et al., 2012; HANSEN; THÜNEMANN, 2016; LALUEZA et al., 2011).

A prata além de apresentar elevada atividade bactericida, também possui baixa toxicidade quando comparada com outros metais que são usados para o mesmo fim como o ouro e o cobre (CARROLL et al., 2013; LALUEZA et al., 2011; STANIC et al., 2010).

Com objetivo de diminuir as chances de infecções pós operatória, por bactérias como *Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, a prata se mostrou eficiente (CARROLL et al., 2013; MIRZAEI et al., 2016; VIEIRA, 2013).

Substratos de titânio recobertos com hidroxiapatita, dopados com soluções de nitrato de prata, contendo diferentes concentrações (20 ppm e 100 ppm). Quando submetidos à cultura de bactérias (*Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*) os substratos dopados com 20 ppm mostrou a mesma eficiência dos substratos com concentração de 100 ppm (VIEIRA, 2013).

Recobrimentos de hidroxiapatita quando dopados com prata, aumentam a quantidade dos glóbulos esféricos, característicos do recobrimento. O aumento da quantidade destes glóbulos está diretamente ligado com a formação de uma nova fase. Os íons de prata (Ag^+), bem como outros íons metálicos, substituem os íons

Ca²⁺ presentes na estrutura da hidroxiapatita (IQBAL et al., 2013; RAMESHBABU et al., 2006; VIEIRA, 2013).

A estrutura da hidroxiapatita sofre alteração com a formação de fosfato de prata (Ag₄P₂O₇), possivelmente formada através da substituição dos íons Ca²⁺ por íons de Ag⁺ (IQBAL et al., 2012; RAMESHBABU et al., 2006; VIEIRA, 2013).

3.7 CORROSÃO

A corrosão é um processo espontâneo, e influenciará diretamente, alterando as características dos metais diminuindo, assim, a vida útil do material. O processo de corrosão é baseado em reações anódica onde ocorre a oxidação do metal e catódica em que o metal sofre redução. As reações anódica e catódica estão representadas pelas equações (1) e (2), respectivamente (ASM Handbook v9, 2003; CALLISTER; RETHWISH, 2012).



A resistência à corrosão de um biomaterial deve ser um fator determinante na escolha do metal a ser implantado, pois fluidos corpóreos são ambientes muito agressivos para metais, por possuir na sua composição água, proteínas, oxigênio dissolvido e íons cloreto e hidróxido (BRONZINO; PARK, 2003).

Um dos métodos para determinar a resistência à corrosão em materiais metálicos é através da técnica de polarização potenciodinâmica, a qual é definida como a variação do potencial de um eletrodo, medido pela corrente que passa por esse eletrodo. A curva de polarização é obtida pela varredura contínua de potencial na superfície do metal e a corrente que é gerada, permitindo assim o estudo do comportamento eletroquímico (anódico e catódico) do metal (ASM Handbook, 2003 v.9; MAGNABOSCO, 2001; WOLYNEC; 2003).

A Figura 4 representa a curva típica de polarização do comportamento ativo-passivo, típico de um metal, quando exposto em meio aquoso, podem-se observar as regiões, catódica e anódica (FONTANA, 1987; MAGNABOSCO, 2001; WOLYNEC, 2003).

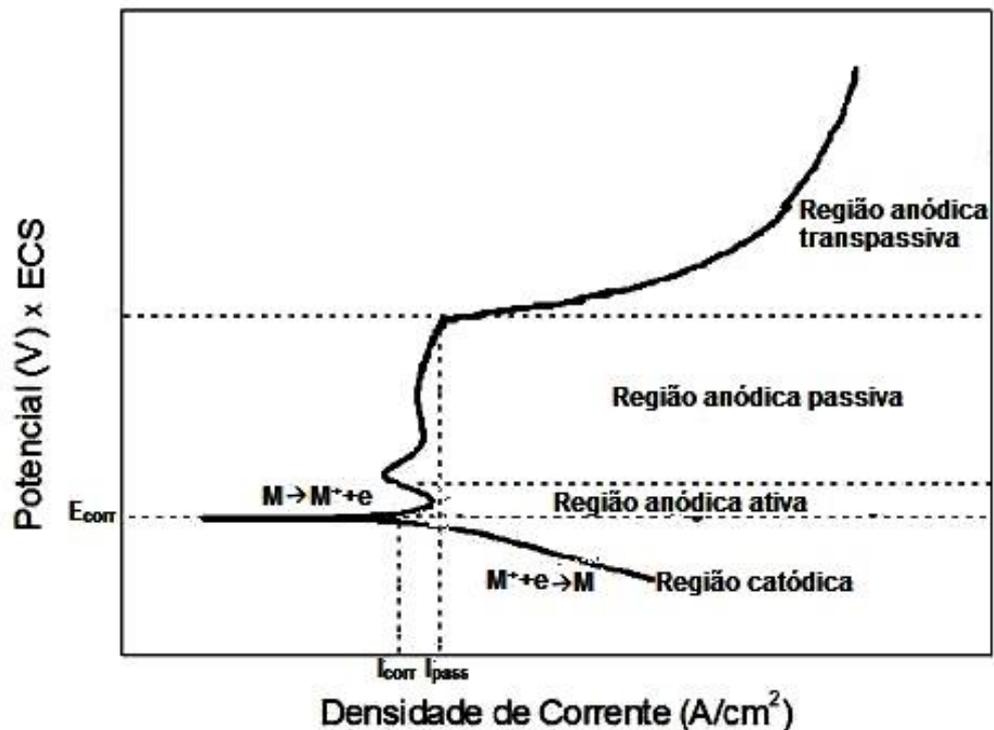


Figura 4 - Curva típica de polarização de um metal.
 Fonte: Adaptado de FONTANA, (1987).

Na região catódica da curva de polarização, determinada por valores abaixo do potencial de corrosão (E_{corr}), nesta região o metal sofre baixa taxa de dissolução, não ocorrendo corrosão, pois é predominante a incidência de reações catódicas. Aumentando o potencial tem-se o início da região anódica, representa onde o metal sofre a corrosão, o metal nesta região pode sofrer redução ou oxidação (CALLISTER; RETHWISH, 2012; FONTANA; 1987; MAGNABOSCO, 2001; WOLYNEC, 2003).

A região anódica é subdividida em três regiões: região anódica ativa, passiva e de transpassivação.

Na região anódica ativa o aumento da densidade de corrente e do potencial, é evidenciado pela corrosão do metal. O potencial de corrosão é atingido na região anódica passiva, onde em alguns metais é formado um filme fino de óxido, no caso do titânio é formado um filme de óxido de titânio. Aumentando o potencial e por sua vez a densidade de corrente, é iniciada a região anódica de transpassivação, na qual este filme de óxido é rompido e inicia a corrosão do metal.

Outros parâmetros importantes obtidos na curva de polarização são a densidade de corrente de corrosão (I_{corr}) e a densidade de corrente passiva (I_{pass}).

A densidade de corrosão de corrosão (I_{corr}) indica o valor crítico onde o potencial é aumentado para valores acima do potencial de corrosão (E_{corr}), até um

potencial chamado de potencial de passivação. Esta região é indicada na Figura 4 como região anódica ativa, onde de fato ocorre a corrosão do metal.

Quando atingido o valor da densidade de corrente passiva (I_{pass}) é formado um filme óxido, esse filme possui a característica de ser aderente e protetor. Nesta região da curva de polarização observa-se a estabilidade da densidade de corrente com ampla faixa do potencial de corrosão, reduzindo a velocidade de corrosão.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A Figura 5 mostra as etapas realizadas no desenvolvimento do trabalho. As amostras de Ti cp, após as caracterizações microestrutural e térmica foram submetidas ao recobrimento biomimético em meio de 1,5 SBF (*Simulated body fluid*), dopagem com nitrato de prata e recobrimento com filme de quitosana. Após o recobrimento biomimético, dopagem com nitrato de prata e recobrimento com filme de quitosana, as amostras foram submetidas à caracterização microestrutural, ensaios de bioatividade, corrosão e ensaios microbiológicos.

As etapas apresentadas na Figura 5 serão explicadas detalhadamente.

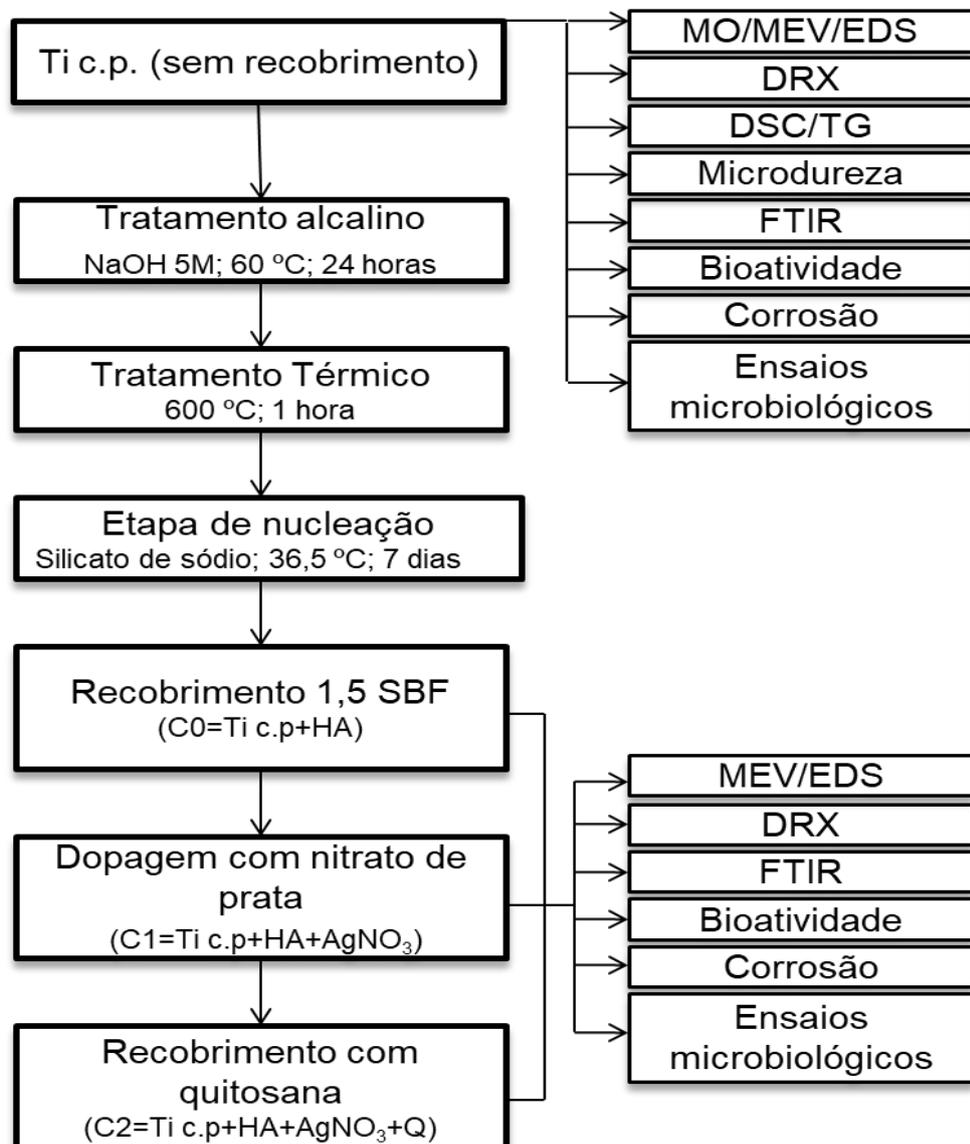


Figura 5 - Fluxograma da metodologia utilizada no trabalho.
Fonte: Do autor.

Foi utilizado o titânio comercialmente puro (Ti c.p.) grau 4, em forma de discos com 5 mm de diâmetro e 3 mm de espessura. As amostras de titânio foram divididas em quatro condições, como mostradas na Tabela 2.

Tabela 2 - Condições das amostras empregadas neste trabalho.

Condição	Descrição dos recobrimentos
Ti c.p.	Sem recobrimento
C0	Ti c.p.+Hidroxiapatita (Ti c.p.+HA)
C1	Ti c.p.+Hidroxiapatita+10ppm AgNO ₃ (Ti c.p.+HA+AgNO ₃)
C2	Ti c.p.+Hidroxiapatita+10ppmAgNO ₃ +Quitosana Tic.p.+HA+AgNO ₃ +Q)

Fonte: Do autor.

4.1 CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL

4.1.1 Preparação da amostra para microscopia

A preparação da amostra para a observação da microestrutura, nos microscópios, ótico e de varredura, foi realizada de acordo com a norma ASTM E3-01. Inicialmente as amostras foram embutidas em baquelite, com posterior lixamento em lixas de 180 a 1500 mesh. Para a realização do polimento, o abrasivo usado foi alumina de 1,0 µm, 0,5 µm e 0,3 µm. O ataque químico foi realizado com reagente Kroll (2 ml de ácido fluorídrico, 1 ml de ácido nítrico e 2 ml de água destilada).

4.1.2 Microscopia ótica

Foi utilizado o microscópio ótico com analisador de imagens da marca Zeiss, modelo Axio Scope A1, acoplado à câmera de vídeo AxioCam ICC3 e placa digitalizadora conectada a um computador equipado com software Axio Vision 4.8.2 SP2, do LABMAT, na UNIFAL-MG, *campus* de Poços de Caldas.

4.1.3 Microscopia eletrônica de varredura e Espectroscopia por energia dispersiva

Foi utilizada a Microscopia Eletrônica de Varredura para caracterizar a morfologia, defeitos, homogeneidade do recobrimento, assim como no titânio sem recobrimento. O equipamento empregado foi o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) da marca FEI, modelo Inspect 550, acoplado a um detector de Espectroscopia por energia dispersiva (EDS) da marca EDAX, modelo Apollo X, do LCE, na UFSCar.

4.1.4 Difração de raios X

Os raios X são ondas eletromagnéticas que, por possuir elevada energia o seu comprimento de onda é pequeno. Os raios X, quando incidido sobre a amostra seus elétrons são acelerados, passando assim a reemitir radiação eletromagnética em todas as direções, com mesmo comprimento de onda. Como os materiais cristalinos possuem um arranjo a curto e longo alcance, ocorre difração somente em determinados ângulos que obedecem à Lei de Bragg, como mostrado na Equação (3).

$$n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \sin(\theta) \quad (3)$$

onde:

n: ordem de reflexão;

λ : comprimento de onda;

d: distância interplanar;

θ : ângulo de difração.

Como cada material possui um padrão de difração único, a técnica de difração de raios X, foi necessária para determinar a presença de fases no material e determinar a formação da hidroxiapatita no substrato de titânio. O equipamento para realizar esta etapa foi o difratômetro de raios X da marca Rigaku, modelo Miniflex 600na USP - *campus* Pirassununga. As análises foram realizadas com radiação Cu $K\alpha$, em uma faixa de 2θ de 20° a 90° , com passo de $0,02^\circ$ por 2 s/ passo.

4.1.5 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa

O Infravermelho é uma técnica muito utilizada para a determinação de grupos funcionais de um dado material. Isto é possível, pois cada grupo fornece bandas de absorção em frequência característica de radiação, na região do infravermelho. A Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância difusa (FTIR) possui uma grande vantagem devido a sua habilidade em analisar recobrimentos.

O uso da espectroscopia no infravermelho permite avaliar nos recobrimentos de apatitas, possíveis bandas de absorções para os grupos fosfato (PO_4^{3-}), carbonato (CO_3^{2-}) e hidroxilas (OH^-), o que permite acompanhar o desenvolvimento da camada de hidroxiapatita carbonatada sobre o metal, como mostrado na Tabela 3.

Tabela 3 - Bandas de absorção do espectro no infravermelho para apatitas.

Banda de Absorção	Número de onda (cm^{-1})	Ligação química
PO_4^{3-}	1200-1000	Estiramento assimétrico do fosfato
	960-950	Estiramento simétrico do fosfato
	570-560	Vibração da ligação assimétrica do fosfato
OH^-	3670-3570	Vibração de estiramento do ion OH^-
	630	Vibração de estiramento do ion OH^-
$\text{OH}^-(\text{H}_2\text{O})$	3000-3700	Deformação da ligação H_2O
	1600-1650	
CO_3^{2-} do tipo A	1450,1514	Estiramento assimétrico da ligação do carbonato
	880	Vibração da ligação fora do plano do carbonato
CO_3^{2-} do tipo B	1412, 1465	Estiramento assimétrico da ligação do carbonato
	870	Vibração da ligação fora do plano do carbonato

Fonte: LAFRON, 2008.

A técnica de espectroscopia no infravermelho também permite avaliar as possíveis bandas de absorção recobrimento com quitosana para os grupos hidroxila (OH), metila (CH), amina (NH), nitrila (CN), carbonila ($\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})$), éter (C-O-C), apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Grupos característicos no infravermelho para a quitosana.

Bandas de absorção	Número de onda (cm^{-1})	Ligação química
OH	3570-3200	Estiramento do grupo OH
CH	2955-2845	Estiramento assimétrico
	2878	Estiramento simétrico
NH	1658-1630	Dobramento assimétrico
	1570-1515	Dobramento simétrico
CH_2	1423	Dobramento do grupo CH_2
$\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})$	1406	Dobramento do grupo C=O
CN	1340-1250; 1379	Dobramento do grupo CN
	1321	Estiramento do grupo CN
	1260	Estiramento do grupo CN
C-O-C	1154 e 896	Estiramento do grupo C-O-C

Fonte: BISPO, 2009.

O ensaio foi realizado usando o equipamento da marca Perkin Elmer, modelo Spectrum 100 FTIR Spectrometer, na UNESP, *campus* Araraquara, com número de onda variando entre 500 a 4000 cm^{-1} .

4.2 ANÁLISE TÉRMICA - CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA E TERMOGRAVIMETRIA

Os ensaios de calorimetria diferencial de varredura (DSC) e termogravimetria (TG) foram realizados na seguinte condição: o Ti cp foi aquecido a 1100 °C, com

taxa de aquecimento de 10°C/min e uma isoterma em 1100 °C durante 10 minutos, seguido de resfriamento à temperatura ambiente, com taxa de resfriamento de 10°C/min, foi usado como gás de arraste o argônio. A aquisição dos dados foi obtida através de um microcomputador acoplado a um calorímetro da marca Netzsch, modelo STA 449F3, do LABMAT, na UNIFAL-MG, *campus* de Poços de Caldas.

4.3 MEDIDAS DE MICRODUREZA

As medidas de microdureza Vickers (H.V) do Ti c.p foram realizadas com auxílio de um microdurômetro, do LABMAT, na UNIFAL-MG *campus* Poços de Caldas, da marca Shimadzu, modelo HMV2, com carga de 0,1 Kgf, durante 15 segundos. Foram realizadas dez medições.

4.4 RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO

Para realizar o recobrimento biomimético foram utilizadas soluções de: NaOH 5M (etapa do tratamento alcalino); solução de silicato de sódio (S.S) (etapa de nucleação) e solução de 1,5 SBF (formação da hidroxiapatita). A concentração iônica das soluções utilizadas está representada na Tabela 5.

Tabela 5 - Concentração iônica das soluções para o recobrimento biomimético (mmol.dm⁻³).

Condições	Na+	K+	Ca ²⁺	Mg ²⁺	HCO ³⁻ ₂₋	Cl-	HPO ⁴⁻ ₂₋	SO ⁴⁻ ₂₋	SiO ³⁻ ₂₋
Plasma	142,0	5,0	2,5	1,5	27,0	103,0	1,0	0,50	-
SBF	142,0	5,0	2,5	1,5	4,2	147,8	1,0	0,50	-
1,5 SBF	213,0	7,5	3,8	2,3	6,3	221,7	1,5	0,75	-
S.S	2,0	-	-	-	-	1,0	-	-	3,6

Fonte: ABNT NBR ISO 23317:2013.

Na preparação da solução de NaOH 5M foi dissolvido 200 g de NaOH em 1 litro de água destilada e deionizada.

A solução de silicato de sódio foi preparada dissolvendo 0,276 gramas de (Na₂O)SiO₂ em 1 litro de água destilada e deionizada.

Na Tabela 6 está descrito a quantidade dos reagentes utilizados para preparar a solução de 1,5 SBF (SBF 50% mais concentrado), segundo a norma ABNT NBR ISSO 23317:2013, onde foi dissolvido quantidades determinadas de: cloreto de sódio (NaCl), bicarbonato de sódio (NaHCO₃), cloreto de potássio (KCl), hidrofosfato dipotássico tri-hidratado (K₂HPO₄·3H₂O), cloreto de magnésio hexaidratado (MgCl₂·6H₂O), ácido clorídrico 1M (HCl-1M), cloreto de cálcio (CaCl₂·2H₂O), sulfato de sódio (Na₂SO₄), tris-hidroximetil amino metano [(CH₂OH)₃CNH₂], em 1 litro de água destilada e deionizada.

O pH da solução foi ajustado para 7,40 na temperatura de 36,5°C, utilizando soluções de HCl 1M e tris-hidroximetil amino metano 0,05M. O HCl 1M também foi utilizado para corrigir o pH da solução para o recobrimento com quitosana.

Tabela 6 - Reagentes utilizados para preparar as soluções de SBF e 1,5 SBF.

Reagentes	SBF	1,5SBF
NaCl	8,035 g	12,053 g
NaHCO ₃	0,355 g	0,533 g
KCl	0,225 g	0,338 g
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0,176 g	0,264 g
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,311 g	0,467 g
HCl 1M	39,0 ml	58,0 ml
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,386 g	0,579 g
Na ₂ SO ₄	0,072 g	0,108 g
(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	6,118 g	9,177 g
HCl 1M	0 ml a 5 ml	0 ml à 7,5 ml

Fonte: Adaptado de ABNT NBR ISO 23317:2013.

As amostras para o recobrimento biomimético foram lixadas com lixas de 180 mesh. Esta etapa foi necessária para facilitar a formação de apatitas aumentando a energia superficial e área específica. (VERCIK, 2003). Posteriormente ao lixamento

as amostras foram lavadas em banho ultrassônico, utilizando álcool etílico 98% e água destilada, a secagem das amostras foi realizada em um dessecador à temperatura ambiente. Após a etapa de secagem, iniciou-se o tratamento alcalino, com uma solução de NaOH 5M, as amostras, permaneceram em estufa por 24 horas na temperatura de 60 °C.

Em seguida as amostras foram lavadas com água destilada e deionizadas e secas no dessecador em temperatura ambiente. O tratamento alcalino é necessário para formar sítios ativos (OH), que favorecem a formação de hidroxiapatita.

Após o tratamento alcalino, foi realizado um tratamento térmico em um forno do tipo mufla, na temperatura de 600 °C pelo período de uma hora, com resfriamento ao ar. O tratamento térmico foi necessário para eliminar a camada hidratada que é formada no tratamento alcalino, desta forma melhorando a estabilidade desta camada.

Na etapa seguinte, a de nucleação, foi utilizado em béquer plástico no qual as amostras foram mantidas imersas em solução de silicato de sódio por sete dias em estufa a 36,5 °C, após a imersão, as amostras foram secas em temperatura ambiente, no dessecador.

A última etapa do recobrimento biomimético foi à imersão das amostras em solução de 1,5 SBF. Para realizar esta etapa as amostras permaneceram imersas em solução de 1,5 de SBF em estufa a 36,5°C, durante sete dias. A solução de 1,5 SBF foi trocada a cada 48 horas para favorecer a supersaturação da solução, acelerando a formação da camada de hidroxiapatita. Após esse período as amostras foram lavadas com água deionizada e secas em dessecador à temperatura ambiente.

4.5 DOPAGEM COM NITRATO DE PRATA

Após o recobrimento biomimético, as amostras C1 e C2 foram dopadas com 10ppm de AgNO₃. As amostras foram colocadas em béqueres contendo 50 ml da solução e mantidas em estufa a 37 °C por 48 horas. As amostras das condições C1 e C2 foram secas em temperatura ambiente dentro do dessecador.

4.6 RECOBRIMENTO COM QUITOSANA

Após a dopagem com nitrato de prata, as amostras C2 passaram pela etapa de recobrimento com quitosana. Inicialmente foi preparada uma solução de água e com 1% de ácido acético.

Após preparada a solução de ácido acético e água, foi solubilizada 1% em peso de quitosana com médio peso molecular. A quitosana foi dissolvida utilizando um agitador magnético, onde a solução permaneceu por 1 hora para homogeneizar totalmente a solução.

O recobrimento das amostras C2 foi realizado por imersão manual (três vezes), de modo a evitar a formação de bolhas sobre o recobrimento de hidroxiapatita dopado com AgNO_3 . As amostras após a imersão foram secas por 48 horas em temperatura ambiente dentro do dessecador.

4.7 ENSAIO DE BIOATIVIDADE

O ensaio de bioatividade foi realizado de acordo com a norma ISO 23317:2014.

As amostras das condições C0, C1 e C2 foram imersas em SBF à 36,5 °C por períodos de uma, duas, três e quatro semanas. Segundo a norma, materiais com osseointegração formam apatitas em até 4 semanas.

O ensaio de bioatividade também foi realizado no Ti c.p. sem recobrimento a fim de avaliar a bioatividade do metal sem tratamento alcalino, térmico e recobrimento. Ao final de cada período as amostras foram retiradas dos recipientes, lavadas com água destilada e secas no dessecador. Para posterior avaliação do crescimento das apatitas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Reflectância Difusa (FTIR). O ensaio de bioatividade foi realizado na UNIFAL, *campus* Poços de Caldas no laboratório Multiusuário VII.

4.8 ENSAIO DE POLARIZAÇÃO POTENCIODINÂMICA

As amostras de titânio sem recobrimento e com os recobrimentos foram submetidas ao ensaio de corrosão por polarização potenciodinâmica linear e por circuito aberto (OCP). Para a realização dos ensaios de corrosão, foi utilizado o potenciostato da marca Metrohm, modelo Autolab/PGSTART302, conectado a um

microcomputador controlado pelo programa NOVA 1.8, do mesmo fabricante, instalado no LABMAT na UNIFAL-MG, *campus* Poços de Caldas. A Figura 6 mostra o sistema eletroquímico utilizado para a obtenção dos resultados de corrosão.

Os ensaios foram realizados utilizando como solução eletrolítica o SBF com pH 7,4 na temperatura de 36,5 °C. Nos ensaios foi utilizado uma célula eletroquímica, conforme apresentado na Figura 6b, eletrodo de trabalho (ET), contra-eletródo de platina (EP) e o eletrodo de referência de calomelano saturado (ECS), além de em termômetro.

As amostras de titânio sem recobrimento foram lixadas com lixas até 800 mesh para retirar qualquer camada de óxido, que poderia interferir nos resultados. Na Figura 6c está mostrado o eletrodo de trabalho, onde as amostras foram fixadas.

Os ensaios de corrosão foram iniciados com a técnica de potencial de circuito aberto, com tempos de 1200 segundos. As curvas de polarização foram obtidas variando o potencial (E) de -1,5 V (ECS) a + 3,0 V com passo de 0,001 V e velocidade de varredura de 0,001 V/segundo. Para validação dos resultados o ensaio foi realizado em triplicata.

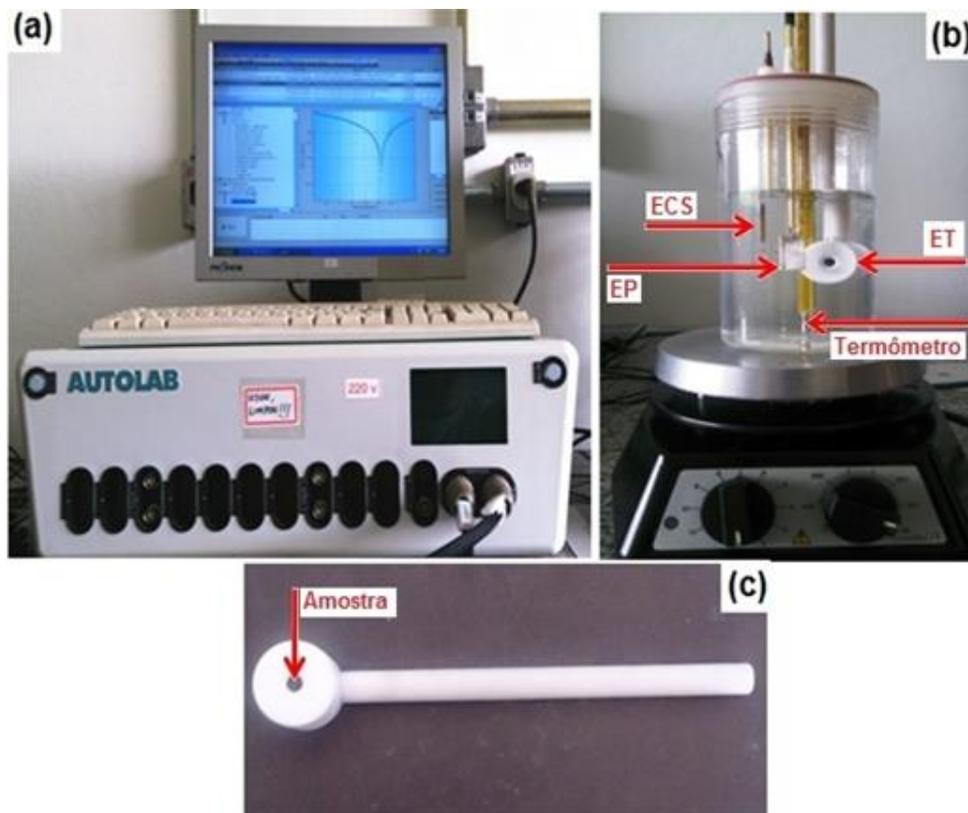


Figura 6 - Sistema eletroquímico. (a) potenciostato; (b) Célula eletroquímica; (c) eletrodo de trabalho.

Fonte: Do autor.

4.8.1 Potencial de circuito aberto

O potencial de circuito aberto é determinado pela variação do potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, quando o eletrodo de trabalho é imerso em solução eletrolítica em função do tempo.

Quando iniciada a indução, a solução metal/solução se caracteriza por uma distribuição de cargas homogênea, com o tempo processos de transferências de cargas, como a adsorção de moléculas do solvente, íons do eletrólito e de moléculas presentes no meio, nestas condições, a célula é estabilizada (SOUZA et al., 2009).

Esta técnica é utilizada para analisar o comportamento do material quanto à formação de filmes passivos na superfície do implante. Uma variação do potencial no sentido positivo indica a formação de um filme protetor, no caso do titânio um filme de óxido de titânio (TiO_2). A manutenção do potencial em função do tempo indica a manutenção e estabilização desta camada, caso aconteça variação negativa no potencial de corrosão indica a quebra ou dissolução do filme, podendo ainda ser possível que não ocorra formação do filme, somente dissolução do implante (WANG et al., 2016).

4.8.2 Método de extrapolação de Tafel

As informações quantitativas do processo de corrosão podem ser obtidas pelo método de extrapolação de Tafel (“método de inserção”), através das conhecidas curvas de Tafel, como ilustra a Figura 7 (FONTANA, 1987).

A representação gráfica da lei de Tafel é feita através da curva de polarização (potencial *versus* log da densidade de corrente), onde é feita uma extrapolação dos ramos, região anódica e catódica. A extrapolação dos referidos ramos, que culmina com sua interseção, gera um par de valores coordenados, os quais são: o potencial de corrosão (E_{corr}) e a densidade de corrente de corrosão (I_{corr}) do sistema (FONTANA, 1987).

A vantagem em utilizar a representação da densidade de corrente em escala logarítmica é que, nestas curvas, a parte em que é válida a equação de Tafel é reta (FONTANA, 1987).

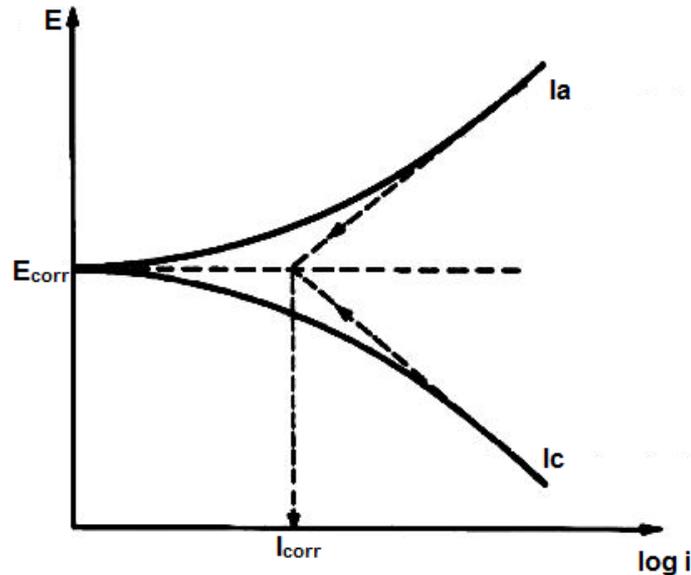


Figura 7 - Extrapolação de Tafel em uma curva de polarização.
Fonte: Adaptado de FONTANA, (1987).

4.9 ENSAIO MICROBIOLÓGICOS

Os ensaios microbiológicos foram realizados em dois meios distintos, meio líquido (viabilidade bacteriana) e meio sólido (difusão em Ágar).

4.9.1 Ensaio de viabilidade bacteriana

As amostras de titânio c.p e com os recobrimentos (C0, C1 e C2) foram submetidos ao ensaio de cultura de bactérias, com a intenção de avaliar a viabilidade das bactérias e o biofilme de bactérias formado sobre as amostras, as bactérias utilizadas para realização do ensaio foram do tipo *Staphylococcus aureus*, a amostra de controle foi a placa de Polietileno (PE).

Para realização do ensaio foi utilizado uma placa com 24 poços onde cada amostra foi colocada separadamente e adicionado 1000 μ l em meio LB em cada poço, adicionou-se 5 μ l da cultura bacteriana em cada poço.

As amostras foram incubadas por 24 horas. Após o período de 24 horas o líquido sobrenadante foi retirado e transferido para outra placa com 24 poços, nesta etapa foi realizada a viabilidade.

Para a realização dos ensaios foi utilizado um espectrofotômetro da marca Elisa Spectra CountTM Packard, da UNIVAP, São José dos Campos.

4.9.2 Ensaio de difusão em Ágar

Para a realização do ensaio de difusão em Ágar as amostras de Ti c.p, C0, C1 e C2 foram esterilizadas por exposição à luz ultravioleta por 30 minutos. Foi utilizado cloroxidena 0,12% como antibiótico de referência (controle positivo) onde foi gotejado em discos de papel, para controle negativo foi utilizado H₂O que também foi gotejado sobre discos de papel, estes discos também foram esterilizados por exposição à luz ultravioleta.

A preparação da placa de Petri foi realizada adicionando 15ml de solução de Agar Miller-Hilton, estas foram incubadas a 37° C por 24 horas para certificação de ausência de contaminação.

Após o período de 24 horas, com o auxílio de uma alça de *drigalski* foi espalhado por toda a placa de Petri 10µl da cultura bacteriana *staphylococcus aureus*, as amostras (Ti c.p. C0, C1 e C2) e os controles, positivo e negativo foram colocados com a ajuda de uma pinça flambada sobre a placa de Petri.

As placas foram levadas a estufa à 37°C durante o período de 24 horas. Após o período de incubação os resultados foram fotografados onde foi observada a formação ou não do halo de inibição de crescimento bacteriano, o ensaio foi realizado em triplicata. O ensaio foi realizado na UNIFAL, *campus* Poços de Caldas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL E MICRODUREZA DO Ti c.p

As micrografias das amostras do titânio comercialmente puro (Ti c.p.), obtidas por microscopia ótica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) estão apresentadas na Figura 8.

É possível observar uma distribuição homogênea com estrutura granular equiaxial e a presença de maclas, que são um tipo de defeito superficial cristalino, onde ocorre um pequeno deslocamento dos átomos de suas posições regulares, isto é uma característica da fase α do titânio. Essa fase pode ser confirmada através do difratograma de raios X, apresentado na Figura 9, esse resultado também foi observado por Wang et al. (2013).

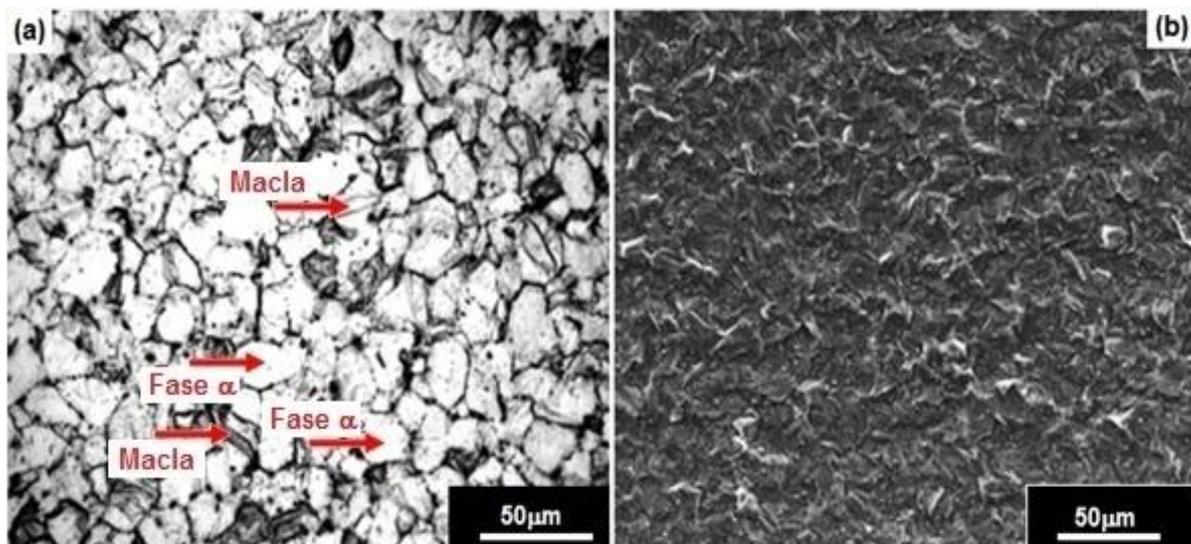


Figura 8 - Micrografia do Ti c.p. (a) Obtida por MO; (b) Obtida por MEV. Reagente solução de Kroll. Fonte: Do autor.

Na Tabela 7 está apresentado o valor médio obtido no ensaio de microdureza Vickers para o Ti c.p. O resultado obtido está de acordo com a literatura, (286,1HV) indicando que quando submetido a forças de tração, compressão ou cisalhamento o material não terá um comportamento frágil, sendo assim o titânio sofrerá deformações elástica e plástica (BAUER, 2007; LEYES; PETERS, 2003).

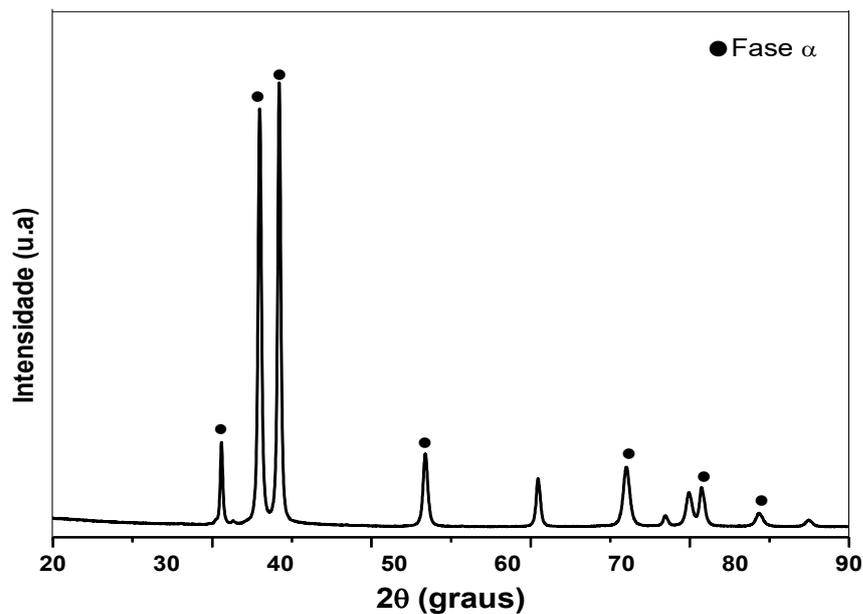


Figura 9 - Difratoograma de raios X do titânio c.p.
Fonte: Do autor.

Tabela 7 - Valor de médio de microdureza para o Ti c.p.

Amostra	Microdureza (HV)
Ti c.p	283,7±13,6
Literatura (BAUER, 2007)	286,1

Fonte: Do autor.

5.2 CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA

5.2.1 Calorimetria Diferencial de Varredura

A Figura 10 mostra as curvas de DSC para do Tic.p. em atmosfera de argônio, observa-se na Figura 10a, que na temperatura de aproximadamente 118°C ocorre um pico, indicando a perda de água molecular presente no sistema (forno e Ti c.p.)

Na Figura 10a em aproximadamente 907°C ocorre a transformação da fase α para fase β . A fase α do Ti c.p. é caracterizada por possuir estrutura cristalina HC, enquanto a fase β é constituída de estrutura cristalina CCC. A diferença entre os valores obtido e o teórico da transformação alotrópica (882°C) ocorre pelo fato do titânio grau 4, empregado neste trabalho, possuir elementos de liga (N, C, H, Fe, O) que podem distorcer o parâmetro de rede em relação ao valor teórico do titânio de

elevada pureza (BOYER; WELSCH; COLLINGS, 1994; PATRICIO, 2014). Ainda, observa-se a aproximadamente 675 °C, um pico de transformação, que indica a transformação do TiO_2 de anatásio para rutilo, apesar da atmosfera ser inerte (argônio), ainda ocorre a presença de oxigênio no sistema. Essas transformações também são observadas na curva de resfriamento Figura 10b.

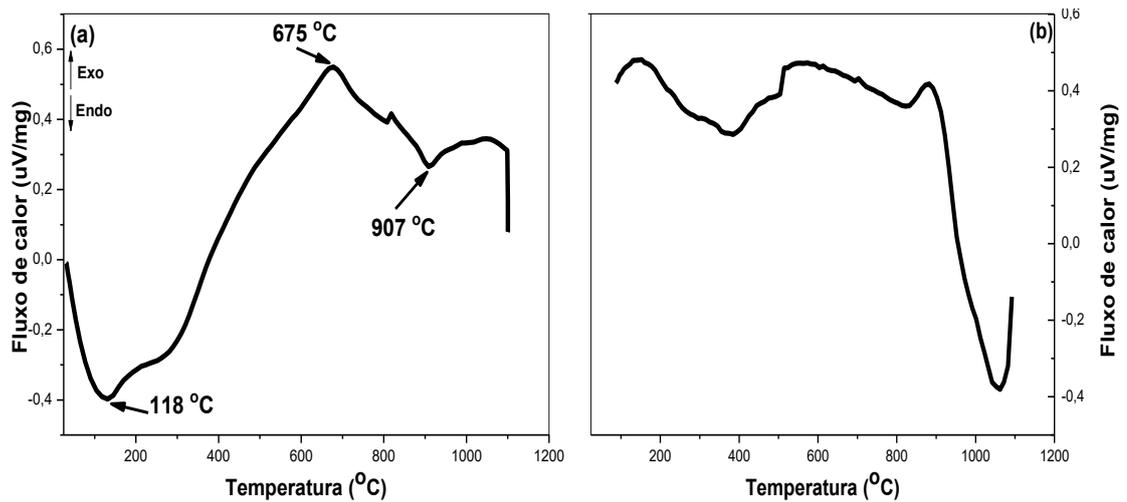


Figura 10 - Curvas de DSC para do Tic.p. (a) aquecimento. (b) resfriamento.
Fonte: Do autor.

5.2.2 Termogravimetria

As curvas dos ensaios de termogravimetria (TG) para o Ti c.p., estão apresentados na Figura 11.

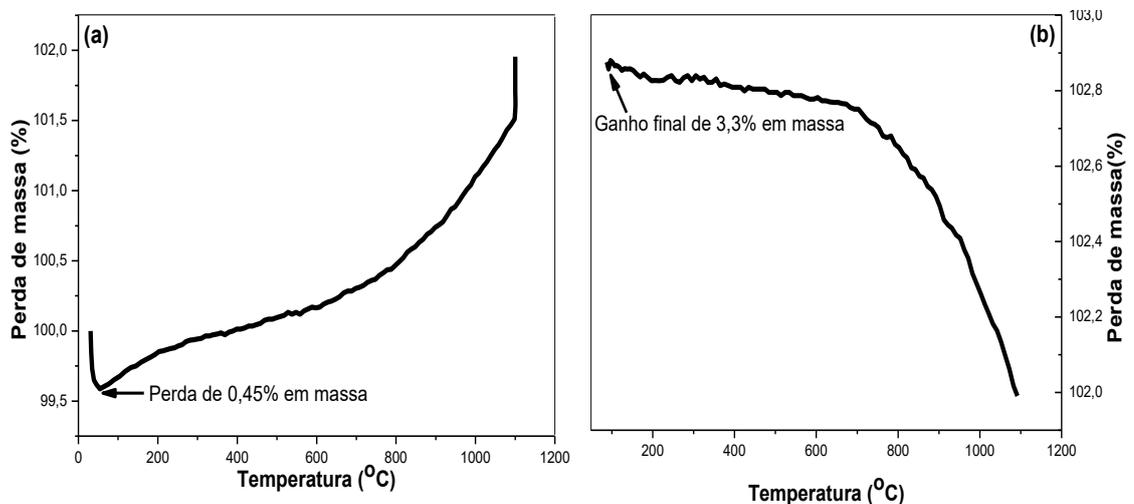


Figura 11 - Curvas de TG para do Tic.p. (a) aquecimento. (b) resfriamento.
Fonte: Do autor.

Observa-se um aumento na massa final da amostra de aproximadamente 3,3% (em massa), em decorrência da formação de TiO_2 na superfície do material.

A diminuição inicial de massa de aproximadamente 0,45% (em massa) indica a perda de água molecular presente no sistema (forno e Ti c.p.). O aumento de massa do Ti c.p, mostrado na Figura 11, coincide com a temperatura da formação de TiO_2 , mostrado na Figura 10.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS RECOBRIMENTOS

5.3.1 Recobrimento com hidroxiapatita

A Figura 12 apresenta as micrografias obtidas por MEV e o espectro obtido por EDS, da amostra com recobrimento na condição C0. Nas Figuras 12a e 12b é possível notar a formação de uma estrutura globular, característica dos recobrimentos com hidroxiapatita. Também é possível observar um recobrimento homogêneo sobre o Ti c.p. A imersão em 1,5 SBF foi determinante para formar esta camada homogênea observada também por vários pesquisadores (COELHO, 2013; ERAKOVIC et al., 2004; RAUCCI; GUARINO; AMBROSIO, 2012; VIEIRA, 2013).

Este recobrimento homogêneo é devido aos tratamentos prévios, o tratamento alcalino e o tratamento térmico.

No tratamento alcalino os sítios ativos, de TiOH reagem com o cálcio e fósforo elevam a taxa de nucleação da hidroxiapatita, enquanto o tratamento térmico estabiliza na forma de titanato de sódio ($\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$), parcialmente cristalizada sendo responsável pela aceleração do crescimento da hidroxiapatita (ADAWY, 2009; JONÁSOVÁ et al., 2002; VERCÍK et al., 2003).

Como indicado na Figura 12 é possível observar a formação de três camadas de hidroxiapatita. Conforme ocorre a sobreposição das camadas observa-se que a estrutura do recobrimento possui um formato mais globular e estes glóbulos possuem maior diâmetro em relação à camada anterior, isto indica que conforme ocorre a sobreposição, a camada que se forma posteriormente limita o crescimento da camada anterior.

Na primeira camada a estrutura do recobrimento não possui um formato globular e está mais porosa, pois seu crescimento foi limitado pela segunda camada,

a qual apresenta menor porosidade, porém não possui formato globular, pois seu crescimento foi limitado pela terceira camada.

Na terceira camada nota-se que a estrutura formada possui maior densidade que as demais camadas, com formato globular de aproximadamente $3\mu\text{m}$. Este crescimento mais homogêneo ocorreu, pois, a terceira camada não teve seu crescimento limitado como nas demais

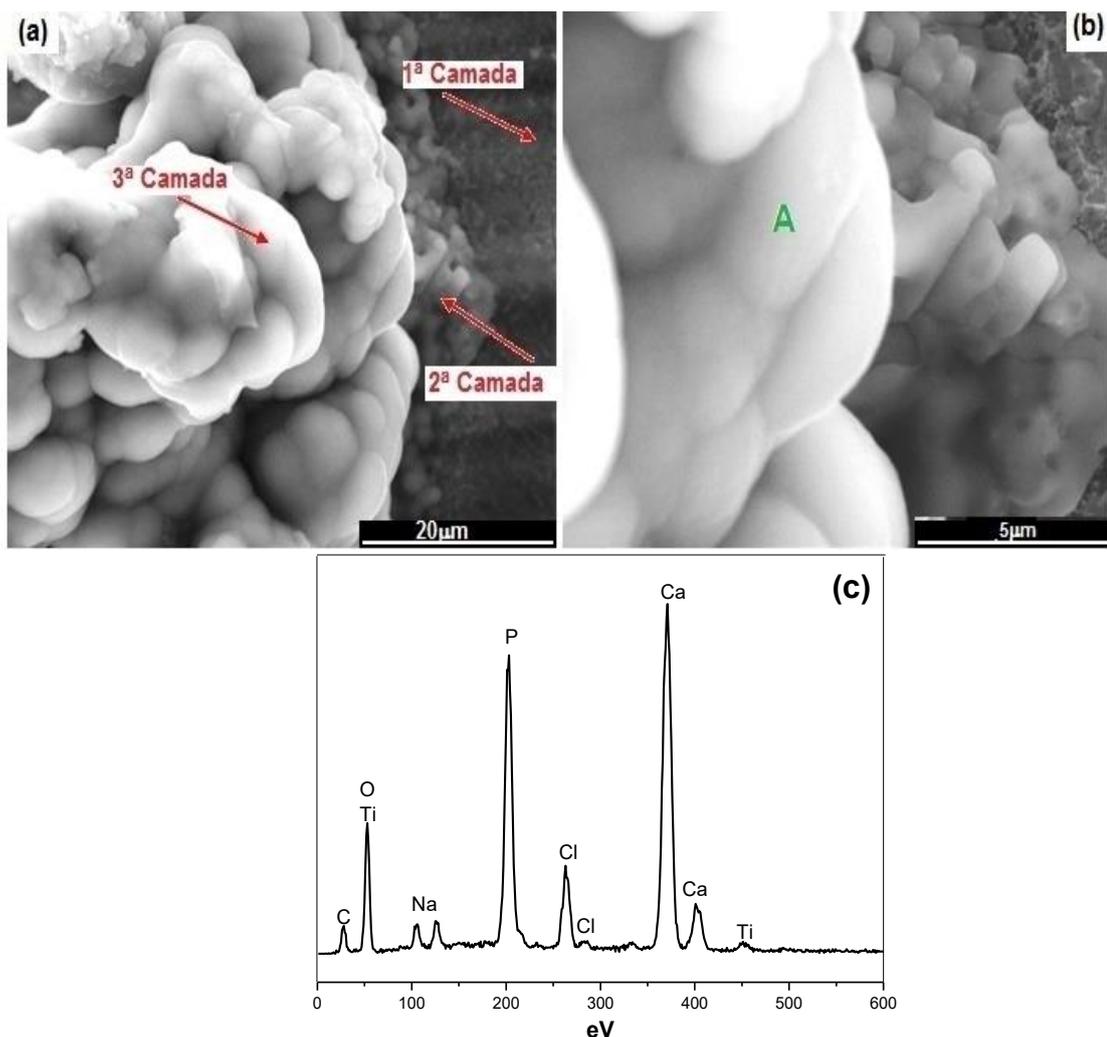


Figura 12 - Micrografia do Ti c.p. na condição C0 (Ti c.p.+HA), obtida por MEV. (a, b) Morfologia do recobrimento C0; (c) Espectro obtido na microanálise por EDS no ponto A.

Fonte: Do autor.

A Figura 12c apresenta o espectro obtido por EDS e a Tabela 8 mostra os resultados da microanálise semi-quantitativa, por EDS, e observa-se a presença de Ca, P e O, presentes na estrutura da hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. A presença de cloro pode ser proveniente do HCl, NaCl, e outros compostos contendo cloro, que foram utilizados para preparar a solução de 1,5 SBF.

A presença de sódio pode ser decorrente do tratamento alcalino, ao qual as amostras são submetidas previamente ao recobrimento biomimético, podendo ser também em decorrência do NaCl presente em grande quantidade (12,053g) na preparação da solução de 1,5 SBF.

Tabela 8 - Microanálise semi-quantitativa, EDS, do recobrimento da condição C0.

Elemento	% em peso
Carbono (C)	8,68
Oxigênio (O)	35,65
Titânio (Ti)	1,03
Sódio (Na)	2,95
Fósforo (P)	16,03
Cloro (Cl)	5,47
Cálcio (Ca)	30,19

Fonte: Do autor.

A Figura 13 mostra o difratograma de raios X do substrato com recobrimento na condição C0 (Ti c.p+HA). Analisando o DRX observa-se a formação de hidroxiapatita e os picos característicos da fase α . Os resultados também foram observados por Coelho (2013), Erakovic et al., (2004).

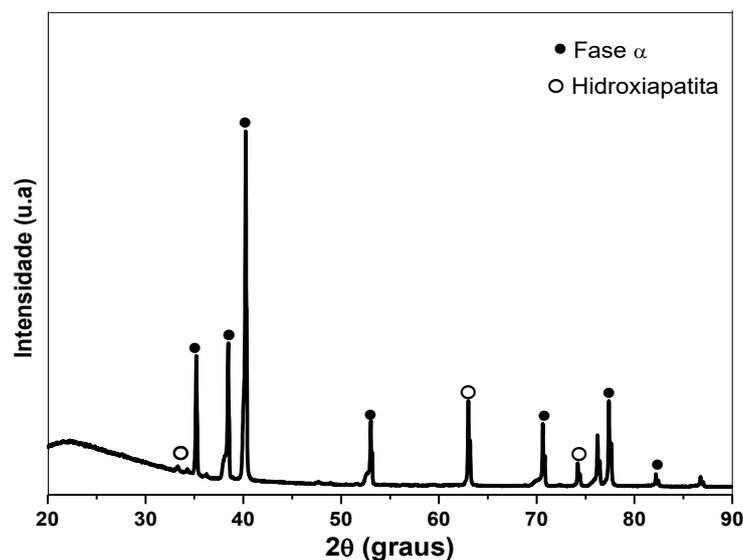


Figura 13 - Difratograma de raios X do Ti c.p. na condição C0 (Ti c.p+HA).

Fonte: Do autor.

O espectro do infravermelho da C0 (Ti c.p.+HA) está apresentado na Figura 14, e confirma os resultados do MEV/EDS e DRX (difratograma de raios X), com a identificação da hidroxiapatita através das bandas de absorção referentes a vibração dos grupos PO_4^{3-} ($1013, 575 \text{ cm}^{-1}$) e OH^- ($3630, 630 \text{ cm}^{-1}$). O pico em 1611 cm^{-1} referente à água absorvida pela amostra. Os picos em 1412 cm^{-1} e 880 cm^{-1} são referentes, respectivamente, ao estiramento e vibração do grupo CO_3^{2-} do tipo A e B, caracterizando assim a hidroxiapatita do tipo AB (COELHO, 2013; LAFRON, 2008).

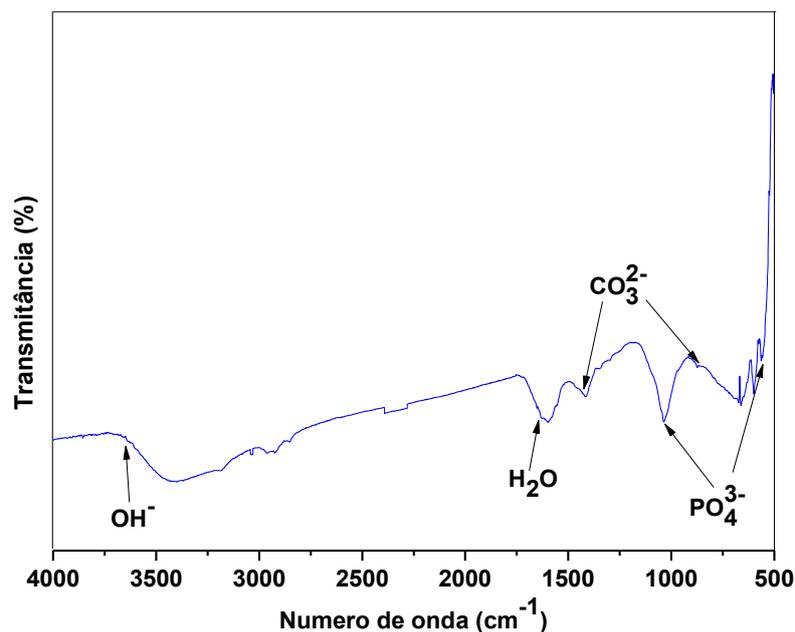


Figura 14 - Espectro de infravermelho da C0 (Ti c.p.+HA).
Fonte: Do autor.

5.3.2 Recobrimento com Hidroxiapatita e dopagem com nitrato de prata

A Figura 15 apresenta as micrografias obtidas por MEV da amostra com recobrimento na condição C1 (Ti c.p.+HA+AgNO₃). A dopagem com 10ppm de nitrato de prata promoveu um aumento da homogeneidade da camada de hidroxiapatita, formando uma rede mais densa. Isto ocorreu em função da possível, substituição na rede de hidroxiapatita por íons de Ag⁺ (EWALD, et al., 2011; LALUEZA, et al., 2011; STANIC et al., 2010; VIEIRA, 2013). A estrutura da hidroxiapatita possui íons Ca⁺ que podem ser substituídos por cátions metálicos (Ag⁺, Cu²⁺, Zn²⁺) dos bactericidas.

Esta substituição altera características como, textura e cristalinidade da camada superficial (EL-NARAHWY, 2016; STANIC et al., 2010). A Figura 15c

apresenta o espectro obtido por EDS e indica a presença de Ag na estrutura da hidroxiapatita.

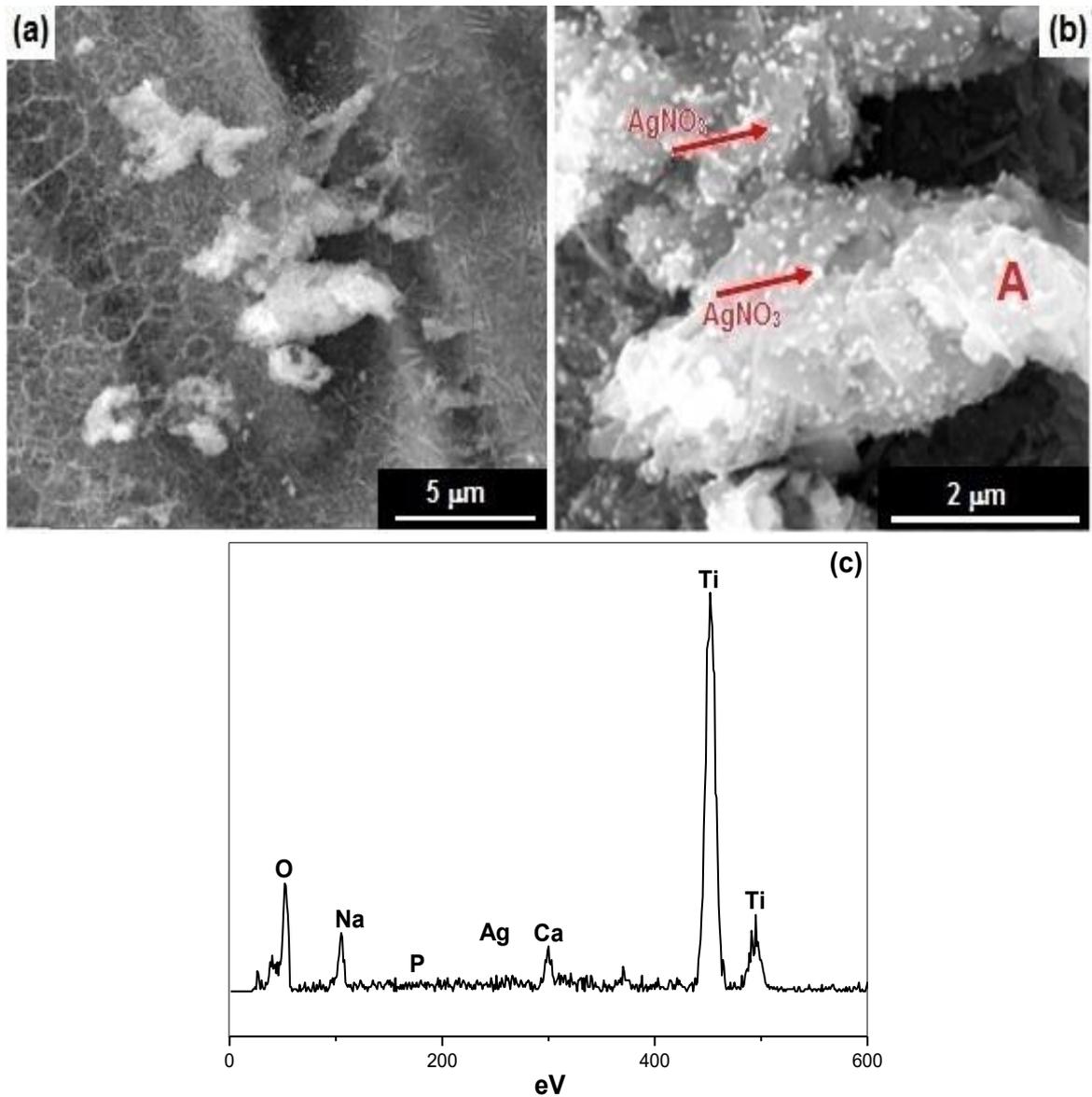


Figura 15 - Micrografia do Ti c.p. na condição C1 (Ti c.p.+HA+AgNO₃). (a,b) Morfologia do recobrimento C1 obtida por MEV.(c) Espectro obtido na microanálise por EDS no ponto A.

Fonte: Do autor.

A Tabela 9 mostra os resultados da microanálise semi quantitativa do EDS no ponto A, onde indica a presença dos elementos O, P, e O (37,65%, 0,37% e 0,84%, respectivamente), presentes na estrutura da hidroxiapatita e de prata (5,47%).

Tabela 9 - Microanálise semi-quantitativa, EDS, do recobrimento da C1.

Elemento	% em peso
Oxigênio (O)	37,65
Sódio (Na)	7,69
Fósforo (P)	0,37
Prata (Ag)	5,47
Cálcio (Ca)	0,84
Titânio (Ti)	47,98

Fonte: Do autor.

Na Figura 16 está representado o difratograma de raios X do substrato com recobrimento na condição C1 (Ti c.p.+HA+AgNO₃). Analisando o difratograma de raios X observa-se a formação de hidroxiapatita, picos característicos da fase α e também é possível identificar um pico, com baixa intensidade, referente à prata. Apesar do nitrato de prata deixar a estrutura da hidroxiapatita mais densa, como observado nas Figuras 15a e 15b, não altera os planos cristalinos da estrutura, devido a isso os picos da hidroxiapatita não foram alterados.

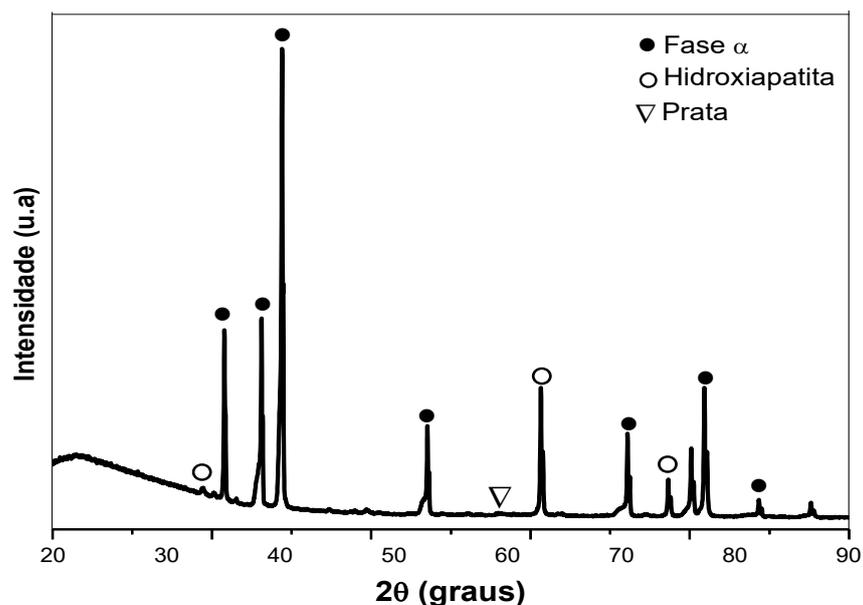


Figura 16 - Difratograma de raios X do Ti c.p. na condição C1 (Ti c.p.+HA+AgNO₃).

Fonte: Do autor.

Este comportamento foi observado por Vieira (2013), através de difratogramas de raios X para amostras de Ti c.p. com recobrimento de hidroxiapatita e dopadas com 20 e 100 ppm de AgNO_3 . A partir desses resultados pode-se verificar que aumentando a quantidade de nitrato de prata os picos referentes à prata aumentam de intensidade e alteram a estrutura da hidroxiapatita.

A Figura 17 apresenta o espectro de infravermelho da condição C1 (Ti c.p.+HA+ AgNO_3).

Os picos em 1031 e 955 cm^{-1} são referentes a vibração do grupo PO_4^{3-} , enquanto o pico em 567 cm^{-1} refere-se ao estiramento do grupo PO_4^{3-} . A vibração do grupo OH^- é referente ao pico em 3662 cm^{-1} . Em 1621 cm^{-1} referente a deformação do grupo H_2O . Os picos em 1514 e 880 cm^{-1} são referentes, respectivamente, ao estiramento e vibração do CO_3^{2-} do tipo A, enquanto o pico em 1465 cm^{-1} é referente ao estiramento do grupo CO_3^{2-} , confirmando os resultados obtidos no MEV/EDS e DRX da condição C1. A presença do grupo CO_3^{2-} do tipo A e B caracterizam a hidroxiapatita do tipo AB (VIEIRA, 2013).

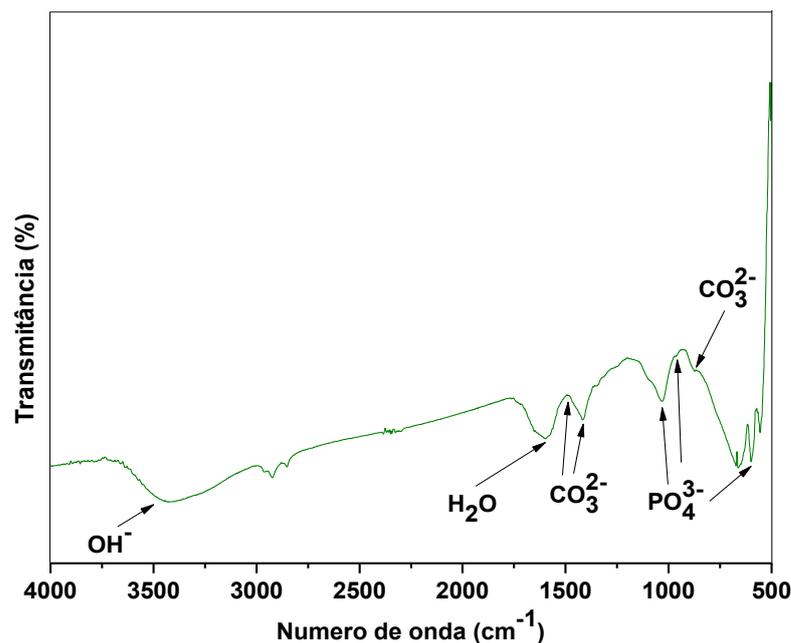


Figura 17 - Espectro de infravermelho da C1 (Ti c.p.+HA+ AgNO_3).
Fonte: Do autor.

5.3.3 Recobrimento com hidroxiapatita - dopagem com nitrato de prata - quitosana

Como descrito na literatura, a quitosana quando em contato com íons metálicos, neste caso íons Ag^+ , sofre uma alteração combinando os grupos hidroxila e/ou grupos amino, então uma caracterização prévia da quitosana se faz necessária.

O espectro de infravermelho do filme de quitosana está apresentado na Figura 18. Os picos em 3259 cm^{-1} referentes ao estiramento do grupo OH. Com numero de onda em 2919 e 2878 cm^{-1} os picos referentes ao estiramento do grupo CH. Os picos referentes ao dobramento do grupo N-H estão identificados em 1647 e 1545 cm^{-1} . O pico em 1406 cm^{-1} é referente ao estiramento do grupo $\text{CH}_2(\text{C}=\text{O})$. O pico em 1331 cm^{-1} é referente ao dobramento do grupo C-N, enquanto em 1321 e 1260 cm^{-1} é relacionado ao estiramento do grupo C-N. O pico em 1154 e 896 cm^{-1} refere-se ao estiramento do grupo C-O-C (BISPO, 2009).

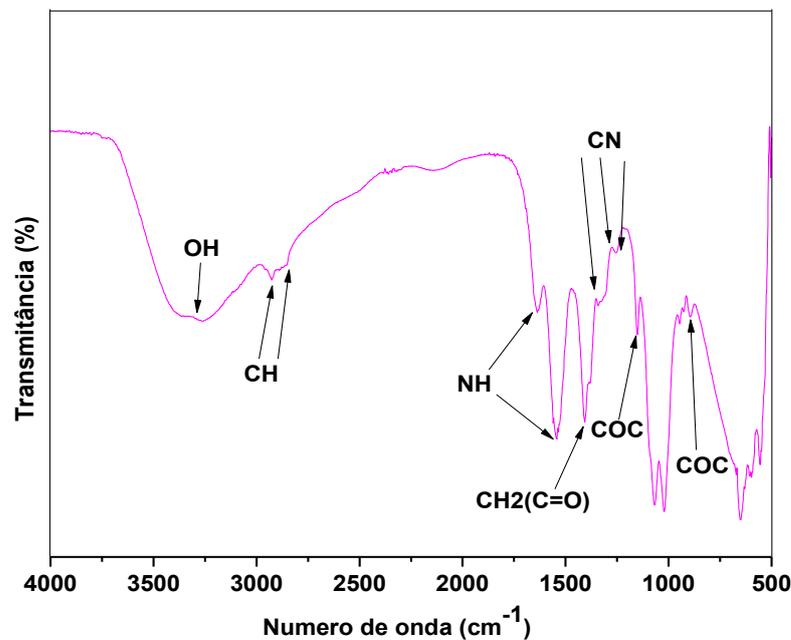


Figura 18 - Espectro de infravermelho do filme de quitosana.
Fonte: Do autor

A Figura 19 apresenta as micrografias obtidas por MEV da amostra com recobrimento na condição C2 ($\text{Ti c.p} + \text{HA} + \text{AgNO}_3 + \text{Q}$), observa-se a presença de aglomerados de quitosana, hidroxiapatita e nitrato de prata. Estes aglomerados são formados devido à capacidade da quitosana em formar complexos com íons metálicos, neste caso íons de prata, além do recobrimento com hidroxiapatita possuir estrutura porosa e rugosidade na superfície.

Também pode ser notada uma camada homogênea e sem a presença de poros sobre o recobrimento de hidroxiapatita dopado com nitrato de prata (LU, et. al., 2007; TANG, et. al., 2014).

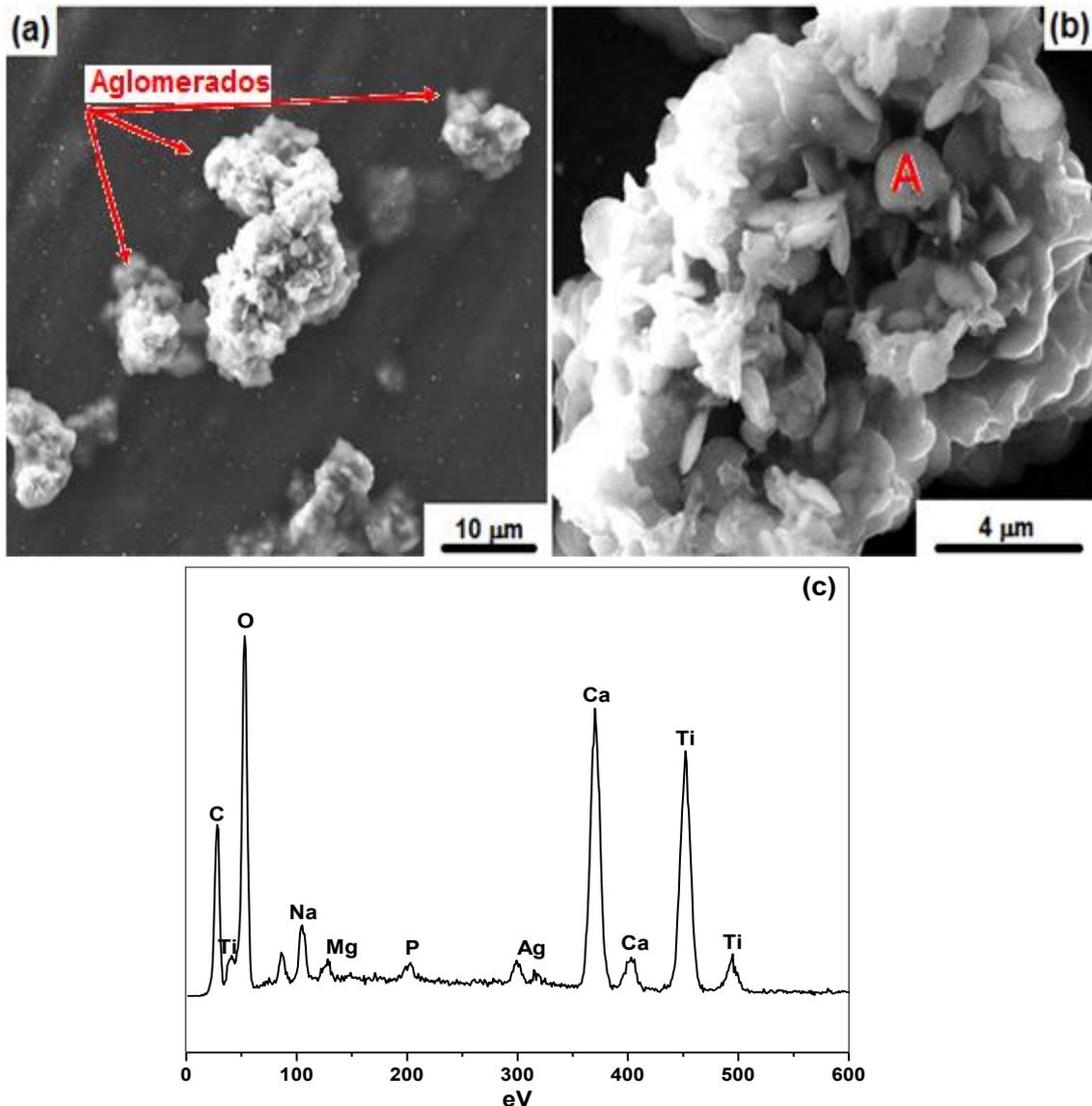


Figura 19 - Micrografia do Ti c.p. na condição C2 (Ti c.p.+HA+AgNO₃+Q), obtida por MEV. (a, b) Morfologia do recobrimento.

Fonte: Do autor.

A Figura 19c representa o EDS do recobrimento no ponto A da Figura 19b e a Tabela 10, apresenta os valores da microanálise semi-quantitativa de EDS, sendo possível observar a presença dos elementos carbono (C) e oxigênio (O), pertencentes à estrutura molecular da quitosana, o oxigênio também está presente na estrutura da hidroxiapatita, bem como os elementos fósforo (P) e cálcio (Ca). O

íon prata (Ag) presente no EDS é referente a dopagem com nitrato de prata. O sódio (Na) e magnésio (Mg) são provenientes da solução de 1,5 SBF.

Tabela 10 - Microanálise semi-quantitativa, EDS, do recobrimento da C2.

Elemento	% em peso
Carbono (C)	5,13
Oxigênio (O)	31,25
Titânio (Ti)	30,25
Sódio (Na)	2,90
Fósforo (P)	2,80
Prata (Ag)	3,46
Magnésio (Mg)	22,32
Cálcio (Ca)	30,19

Fonte: Do autor.

O difratograma de raios X da condição C2 (Ti c.p.+HA+AgNO₃+Q) está representado na Figura 20. E observa-se, a presença dos picos característicos da HA e fase α do titânio e em torno de $2\theta=20^\circ$ é observado o pico de difração característico da quitosana, confirmando o que foi observado nas Figuras 19a e 19b e na Figura 19c referente ao EDS

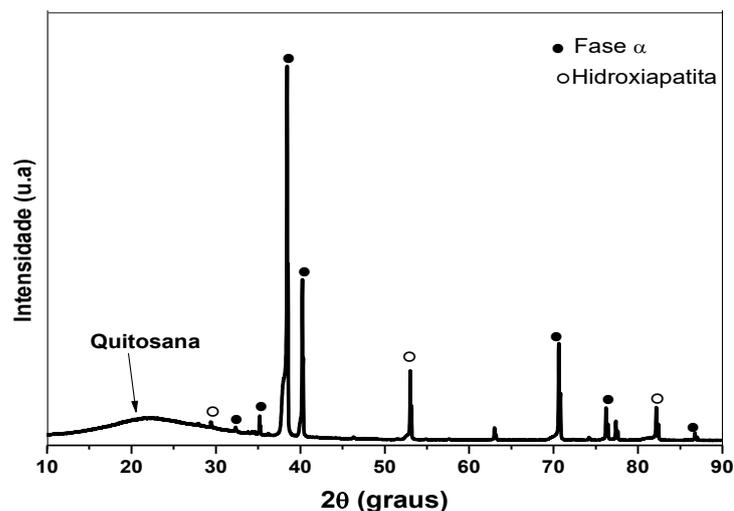


Figura 20 - Difratograma de raios X do Ti c.p. na condição C2 (Ti c.p.+HA+AgNO₃+Q).

Fonte: Do autor.

Estes resultados referentes ao pico da quitosana em torno de $2\theta=20^\circ$ também foi observado por Zhou et al., (2011).

O espectro de infravermelho da condição C2 (Ti c.p+HA+AgNO₃+Q) está representado na Figura 21. As bandas em 3439 cm⁻¹ referente ao estiramento do OH, em 2849 cm⁻¹ refere-se ao estiramento do grupo CH, em 1568 e em 1650 cm⁻¹ o dobramento grupo NH, em 1423 cm⁻¹ dobramento do grupo CH₂, em 1406 cm⁻¹ dobramento grupo C=O, 1379 cm⁻¹ dobramento grupo CN, em 1154 cm⁻¹, estiramento do grupo COC, estas bandas são referentes à quitosana.

As bandas referentes à hidroxiapatita são identificadas em 1514 cm⁻¹ estiramento do grupo CO₃²⁻ Tipo A, em 870 cm⁻¹ vibração do grupo CO₃²⁻ tipo B, caracterizando assim a hidroxiapatita formada é do tipo AB em 1059 cm⁻¹ estiramento, em 566 cm⁻¹ vibração do grupo PO₄³⁻ e em 630 cm⁻¹ a vibração do grupo OH⁻.

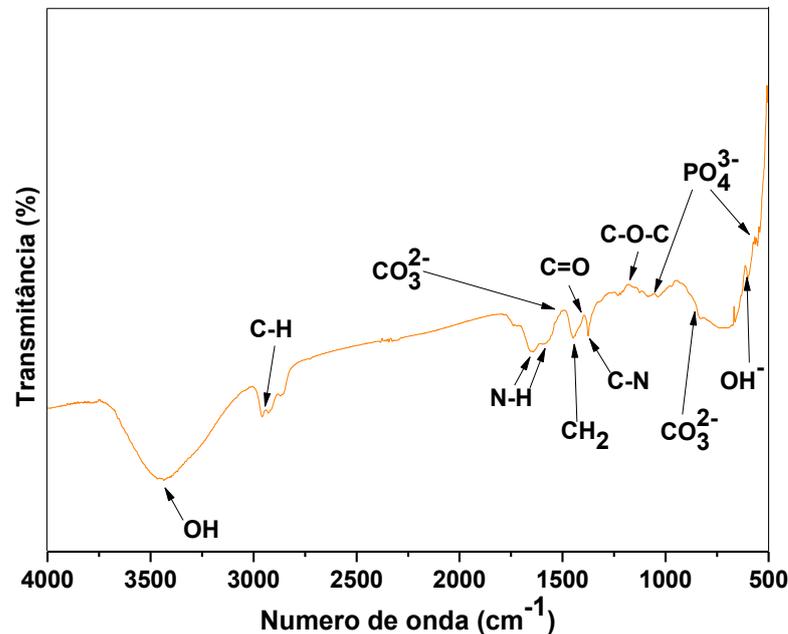


Figura 21 - Espectro de infravermelho da condição C2 (Ti c.p+HA+AgNO₃+Q).
Fonte: Do autor.

5.4 ENSAIO DE BIOATIVIDADE

5.4.1 Ensaio de bioatividade Ti c.p

No ensaio de bioatividade do Ti c.p, foi possível observar que na semana 1 (Figura 22a) não ocorre a formação de hidroxiapatita, nas semanas 2, 3 e 4 (Figuras 22b, 22c e 22d, respectivamente) é possível notar a presença de aglomerados compactos de hidroxiapatita com diâmetro de aproximadamente 3 μm além de uma camada de hidroxiapatita homogênea e com trincas, indicando que ocorreu elevada compactação nesta camada.

No EDS da Figura 23a realizado no ponto A da Figura 23a referente a semana 1, indica a que durante a semana 1 não ocorre a formação de hidroxiapatita, pois o EDS apresenta somente os picos referentes ao titânio. No EDS da Figura 23b, realizado no ponto A da Figura 22d, referente a semana 4, indica a formação da camada de hidroxiapatita pela presença dos picos referentes ao fósforo (P), cálcio (Ca) e oxigênio (O).

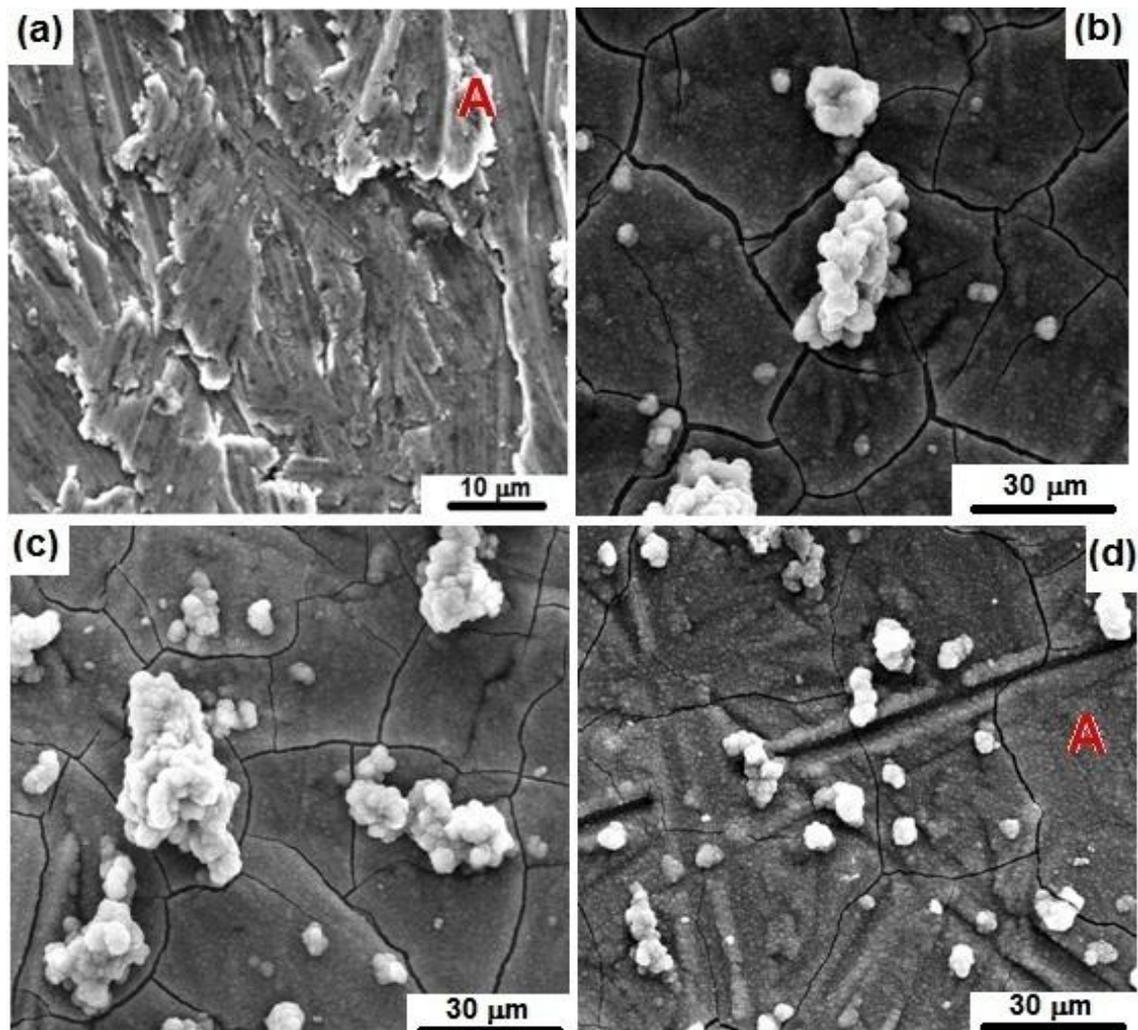


Figura 22 - Ensaio de bioatividade do Ti c.p, (a) semana 1, (b) semana 2, (c) semana 3 e (d) semana 4.

Fonte: Do autor.

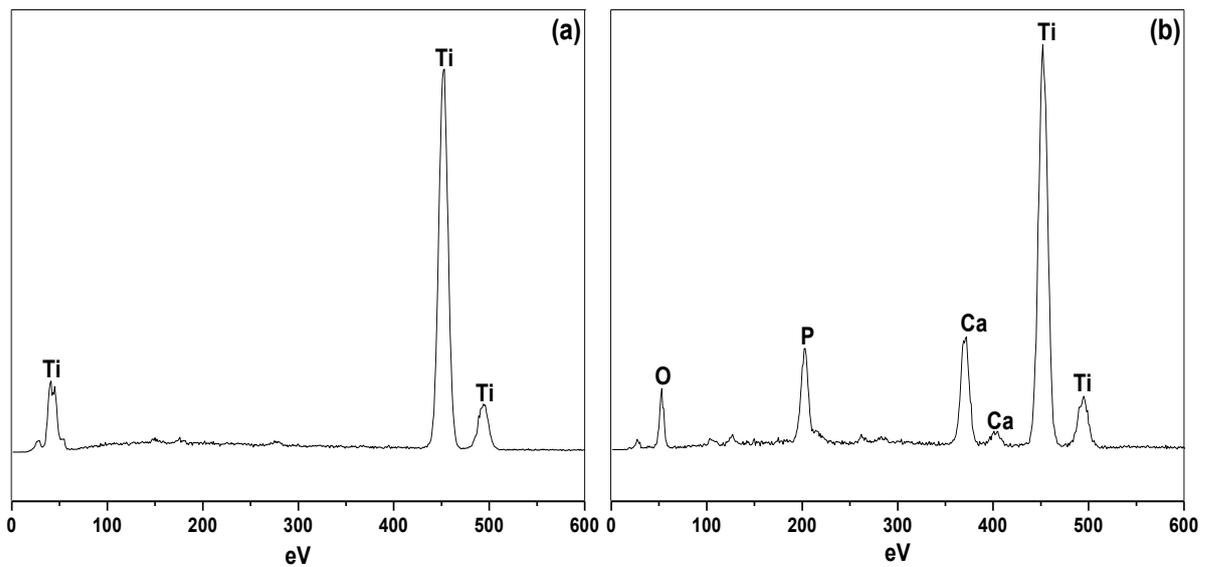


Figura 23 - (a) EDS do ponto A (Figura 22a) semana 1; EDS do ponto A (Figura 22d) semana 4.
Fonte: Do autor.

Na Figura 24 está apresentado espectro no infravermelho do ensaio de bioatividade referente ao Ti c.p. Nota-se que o pico em 3619 cm^{-1} é referente à vibração do íon OH^- . O pico em 1514 cm^{-1} refere-se ao estiramento do grupo CO_3^{2-} do tipo A, enquanto em 1412 cm^{-1} é referente ao estiramento do grupo CO_3^{2-} do tipo B, indicando dessa forma a formação de hidroxiapatita AB. Os picos com número de onda de 1196 e 1022 cm^{-1} são referentes ao estiramento do grupo fosfato (PO_4^{3-}) e em 563 cm^{-1} referente à vibração do grupo fosfato.

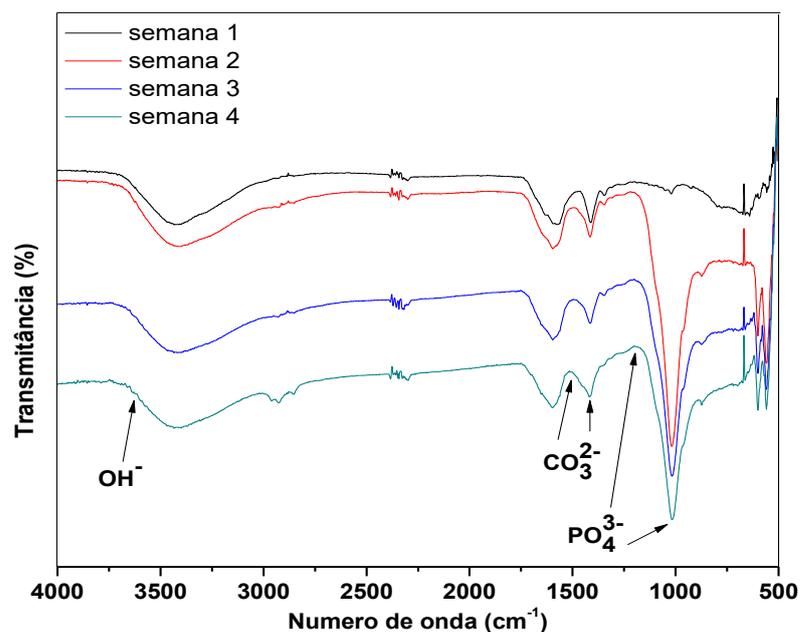


Figura 24 - Espectro de infravermelho do ensaio de bioatividade do Ti c.p.
Fonte: Do autor.

5.4.2 Ensaio de bioatividade condição C0 - (Ti c.p+HA)

A Figura 25 mostra a superfície no decorrer das semanas do ensaio de bioatividade da condição C0 (Ti c.p+HA).

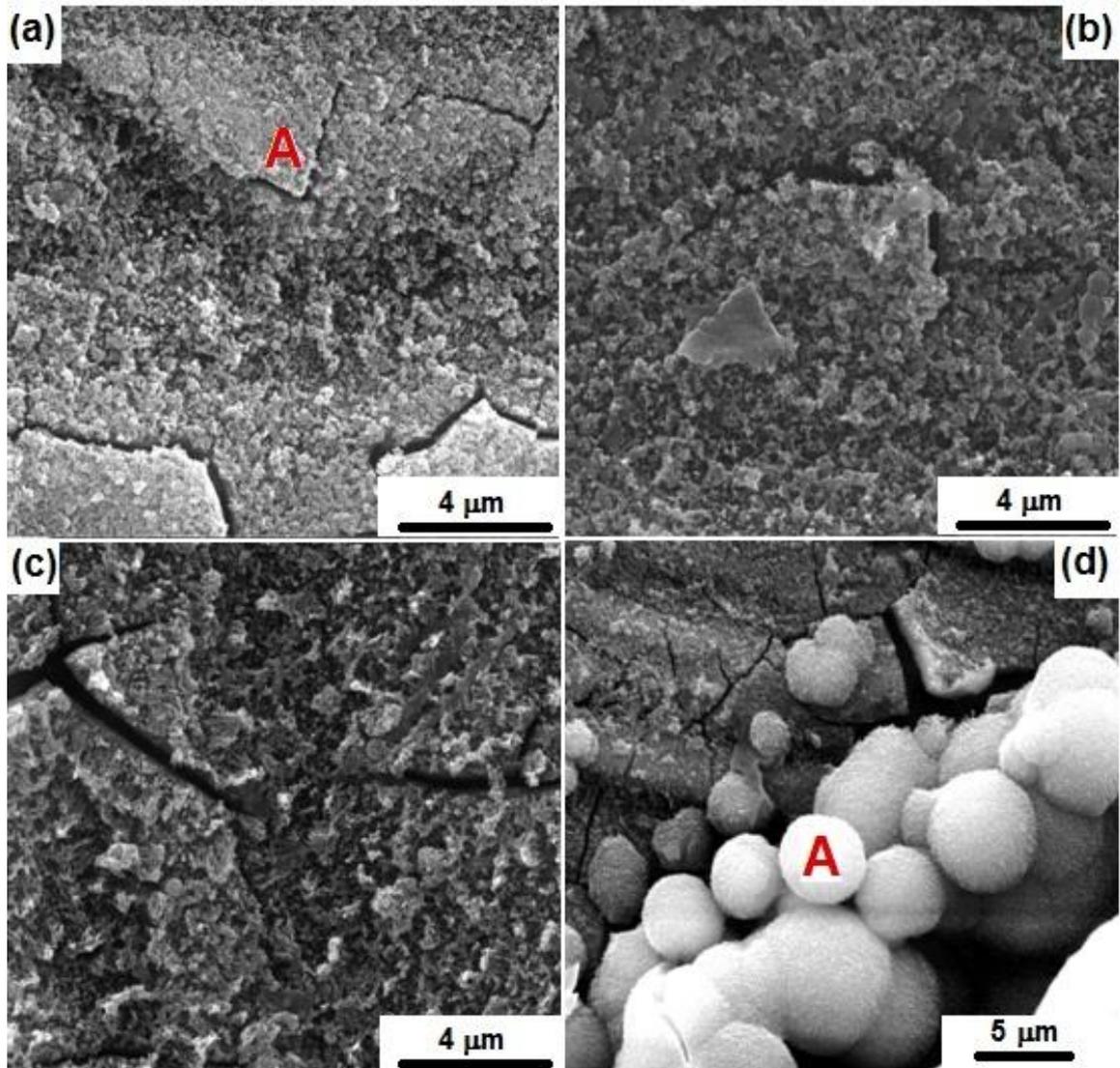


Figura 25 - Ensaio de bioatividade da condição C0 (Ti c.p+HA), (a) semana 1, (b) semana 2, (c) semana 3 e (d) semana 4.

Fonte: Do autor.

Observa-se a presença de elevada quantidade de glóbulos de hidroxiapatita distribuída homogeneamente e com presença de trincas, na Figura 25d referente a semana 4 é possível notar a sobreposição das camadas de hidroxiapatita, sendo que os glóbulos da camada mais externa possui diâmetro de aproximadamente 4 μm .

Este aumento na quantidade de hidroxiapatita pode ser confirmado comparando os EDS das semanas 1 e 4, Figura 26a e 26b, respectivamente, e pode-se observar a presença de hidroxiapatita carbonatada pelos picos dos elementos de fósforo (P), cálcio (Ca) e oxigênio (O), apresentados com maior intensidade na Figura 26b. Com o aumento da quantidade de hidroxiapatita indica que quando o biomaterial for implantado facilitará a osseointegração.

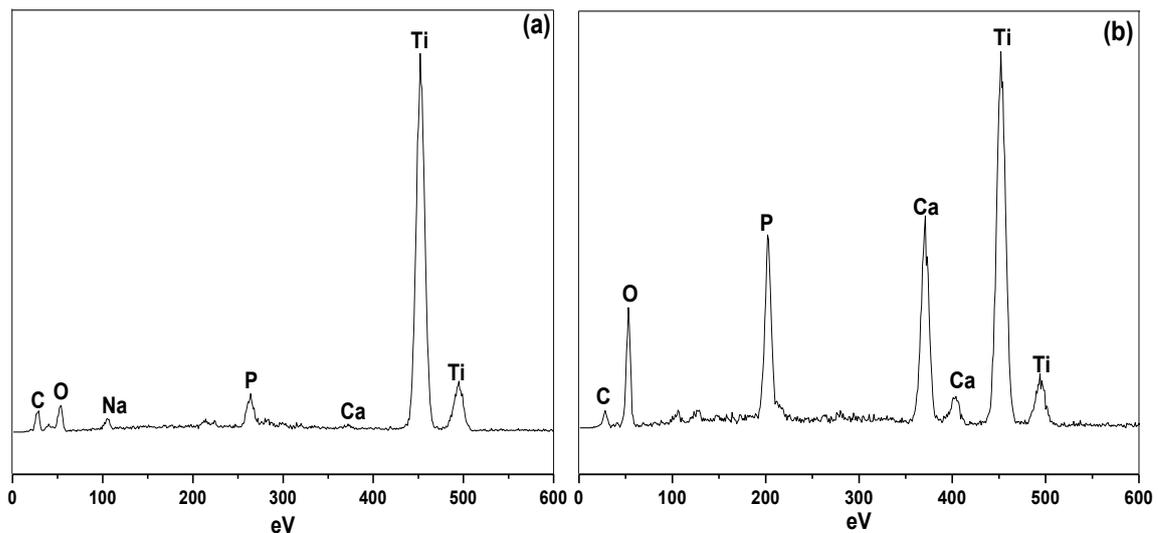


Figura 26 - (a) EDS do ponto A (Figura 25a) semana 1; EDS do ponto A (Figura 25d) semana 4. Fonte: Do autor.

Na Figura 27 está apresentado o espectro de infravermelho do ensaio de bioatividade para a condição C0 (Ti c.p+HA).

É possível observar as bandas características do grupo PO_4^{3-} em 1002, 1140, 565 cm^{-1} , em 1450 cm^{-1} a banda referente ao estiramento grupo CO_3^{2-} do tipo A e em 870 cm^{-1} referente à vibração do grupo CO_3^{2-} do tipo B e em 3648 cm^{-1} vibração do grupo OH^- .

Estas bandas aparecem nas quatro semanas do ensaio, estando assim coerente com as Figuras 25a a 25d, onde ocorre a formação de hidroxiapatita nas quatro semanas do ensaio.

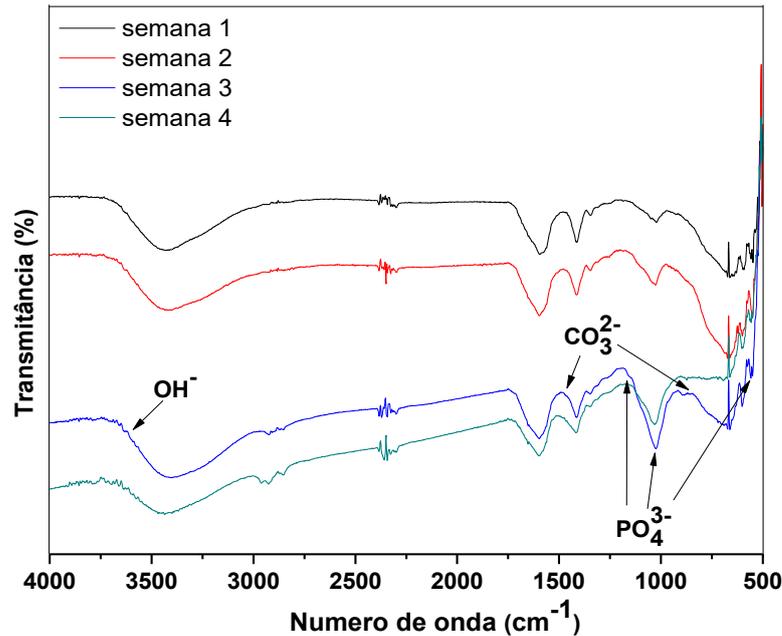


Figura 27 - Espectro de infravermelho do ensaio de bioatividade da condição C0 (Ti c.p+HA).

Fonte: Do autor.

5.4.3 Ensaio de bioatividade condição C1 (Ti cp+HA+AgNO₃)

Na Figura 28 está apresentado o ensaio de bioatividade da condição C1 (Ti cp+HA+AgNO₃). Na Figura 28a referente à semana 1 ainda é possível identificar a estrutura do recobrimento alterada pela presença de prata, sendo identificada no EDS (Figura 29a). Na Figura 28b, referente à semana 2 é possível notar a estrutura globular, característica, da hidroxiapatita, sendo que esta estrutura está distribuída de maneira homogênea por toda superfície.

Na semana 3, Figura 28c, observa-se uma estrutura homogênea com presença de trincas na estrutura da hidroxiapatita. Na Figura 28d referente a semana 4, nota-se a presença de uma estrutura globular distribuída homogeneamente e com presença de trincas, observa-se também a sobreposição de camadas, com glóbulos de diâmetro de aproximadamente 3 μm .

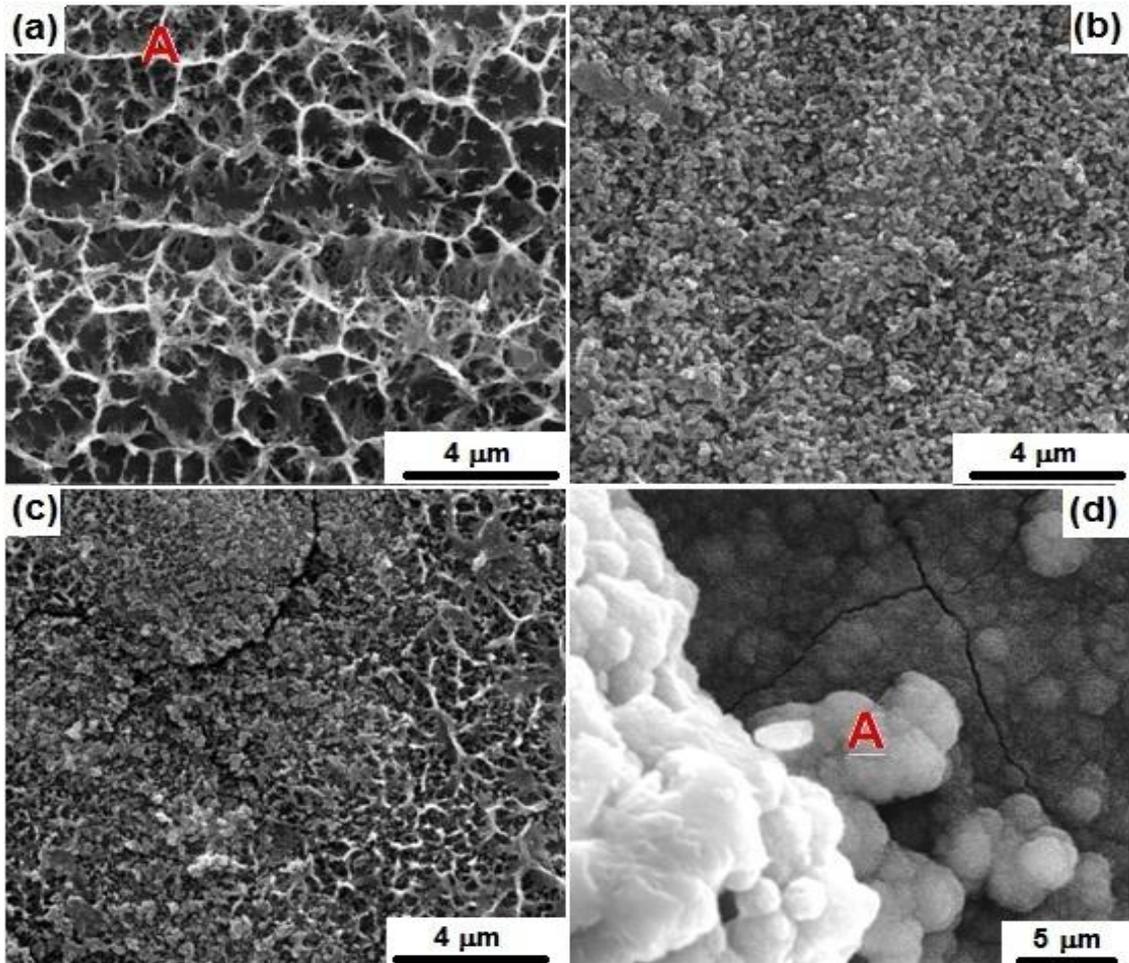


Figura 28 - Ensaio de bioatividade da condição C1 (Ti c.p.+HA+AgNO₃), (a) semana 1, (b) semana 2, (c) semana 3 e (d) semana 4.

Fonte: Do autor.

Na Figura 29 está apresentado o EDS referente aos pontos A das Figuras 28a e 28d, o aumento da quantidade de hidroxiapatita durante o período de quatro semanas pode ser confirmado pelo EDS da Figura 29b, onde os picos referentes ao fósforo (P), cálcio (Ca) e oxigênio (O) possuem maior intensidade quando comparado com a Figura 29a, com a maior intensidade dos picos de Ca e P, ocorreu um aumento na espessura da camada de hidroxiapatita, levando a não detecção do pico referente a prata (Ag), como foi observado na Figura 29a.

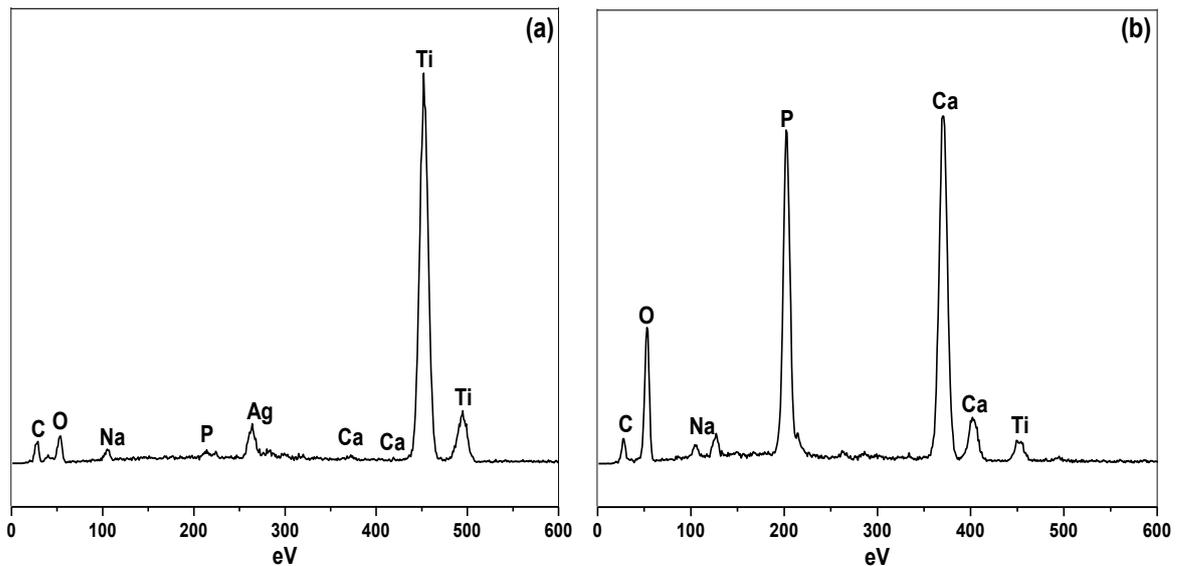


Figura 29 - (a) EDS do ponto A (Figura 28a) semana 1; EDS do ponto A (Figura 28d) semana 4.
Fonte: Do autor.

A Figura 30 apresenta o espectro de infravermelho para o ensaio de bioatividade da condição C1 (Ti c.p+HA+AgNO₃).

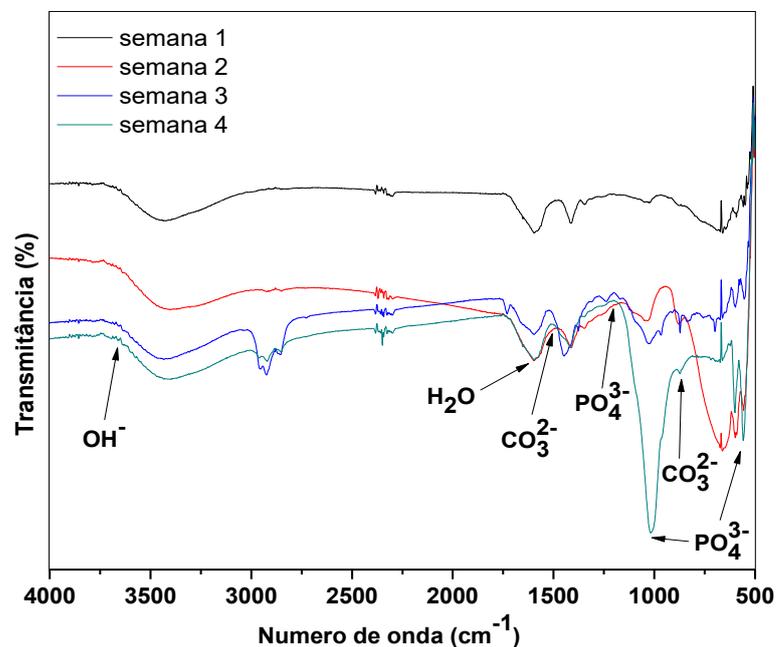


Figura 30 - Espectro de infravermelho do ensaio de bioatividade da condição C1 (Ti c.p+HA+AgNO₃).

Fonte: Do autor.

É possível perceber as bandas em 1020 e 1185 cm⁻¹ referentes à vibração do grupo PO₄³⁻ em 563 cm⁻¹ ao estiramento do grupo PO₄³⁻.

Em 1514 cm^{-1} é verificado o estiramento do grupo CO_3^{2-} do tipo A, enquanto em 870 cm^{-1} corresponde a vibração do grupo CO_3^{2-} . A banda em 1606 cm^{-1} é referente à deformação da ligação H_2O absorvida nas amostras. A banda de vibração do grupo OH^- corresponde ao pico em 3621 cm^{-1} . Este comportamento é verificado durante as quatro semanas do ensaio de bioatividade, estando de acordo com as Figuras 28a a 28d.

5.4.4 Ensaio de bioatividade condição C2 (Ti c.p+HA+AgNO₃+Q)

Na Figura 31 está apresentado o ensaio de bioatividade da condição C2 (Ti c.p+HA+AgNO₃+Q).

Na semana 1 (Figura 31a) é possível notar a presença de hidroxiapatita sendo formada sobre a camada de quitosana, podendo dizer que após o período de uma semana a quitosana ainda está presente no material, a formação de hidroxiapatita sobre este recobrimento indica que a quitosana possui bioatividade.

Na Figura 31b, referente à semana 2, nota-se o aumento na quantidade e diâmetro dos glóbulos de hidroxiapatita. Também pode ser notada a sobreposição de camadas e a presença de trincas características de materiais frágeis. Ainda é possível perceber a presença de regiões com a presença de poucos e pequenos glóbulos de hidroxiapatita sobre a camada de quitosana.

Nas semanas 3 e 4 (Figuras 31c e 31d), identifica-se uma sobreposição de camadas, quando comparada com a Figura 31b, sendo possível perceber o aumento na quantidade e do diâmetro dos glóbulos de hidroxiapatita. Assim como na Figura 31d, percebe-se a presença de trincas e regiões onde a hidroxiapatita está sendo formada sobre a camada de quitosana.

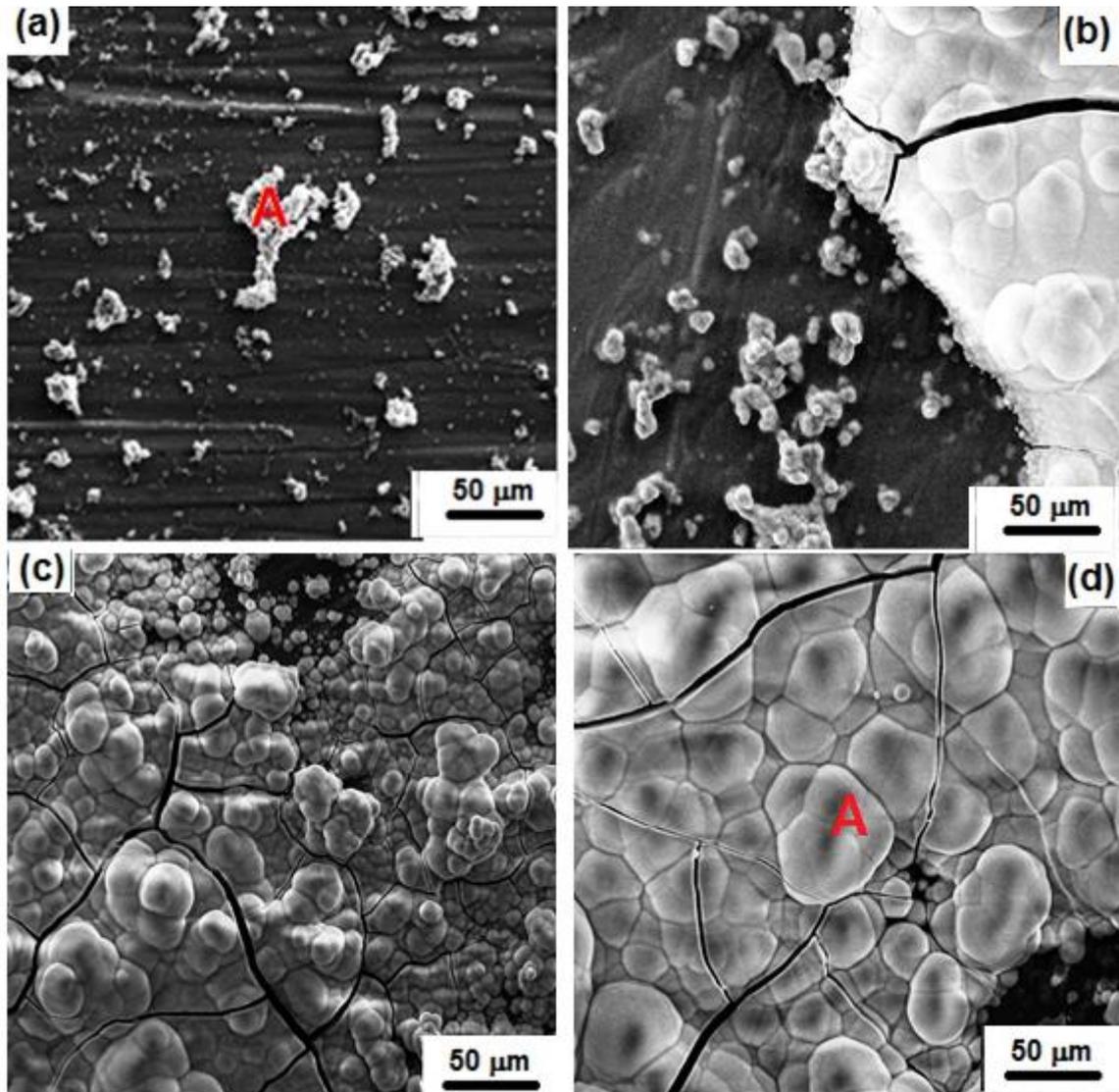


Figura 31 - Ensaio de bioatividade da condição C2 (Ti c.p+HA+AgNO₃+Q), (a) semana 1, (b) semana 2, (c) semana 3 e (d) semana 4.

Fonte: Do autor.

Na Figura 32 está apresentado o EDS dos pontos A das Figuras 31a e 31d, referentes as semanas 1 e 4 do ensaio de bioatividade da condição C2 (Ti c.p+HA+AgNO₃+Q).

Na Figura 32a é possível identificar a presença dos elementos cálcio (Ca), fósforo (P) e oxigênio, confirmando assim a formação de hidroxiapatita sobre a quitosana que é confirmada pela presença de carbono (C) e oxigênio (O). Após a semana 1 foi possível identificar a presença de prata (Ag) na estrutura do recobrimento, indicando que após o período de uma semana a quitosana não foi totalmente dissolvida.

O EDS referente a semana 4, Figura 32b, apresenta os picos referentes ao fósforo (P), cálcio (Ca) e oxigênio (O) confirmando a presença de hidroxiapatita

durante a realização do ensaio de bioatividade, isto confirma que as amostras com recobrimento de quitosana quando implantadas a osseointegração será favorecida. Nota-se também que, ao final do ensaio de bioatividade não é possível observar a presença do pico referente à prata.

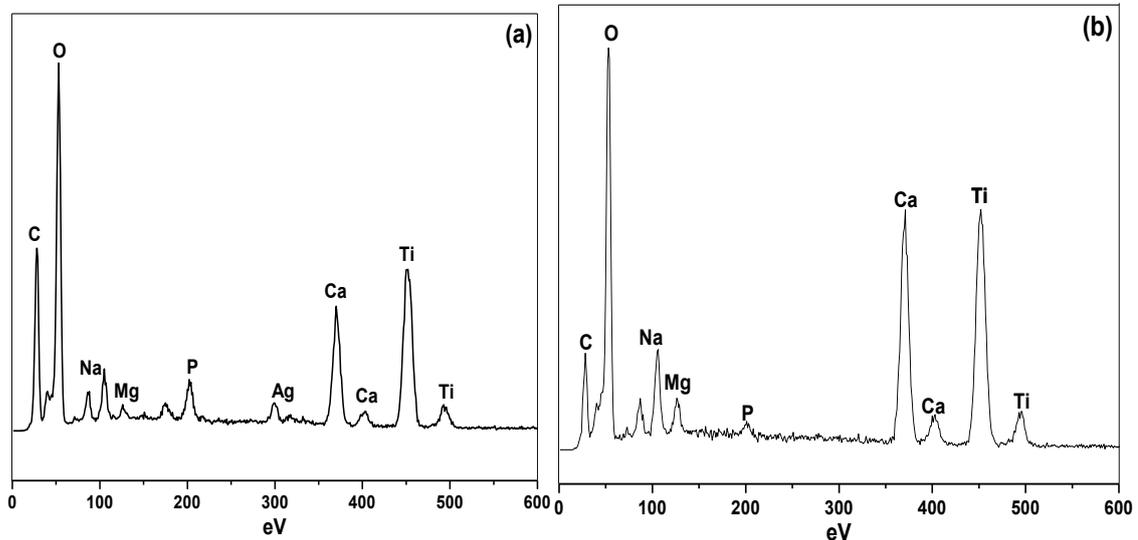


Figura 32 - (a) EDS do ponto A (Figura 31a) semana 1; EDS do ponto A (Figura 31d) semana 4. Fonte: Do autor.

Na Figura 33 está apresentado o espectro de infravermelho da condição C2 (Ti c.p+HA+AgNO₃+Q).

É possível observar a banda em 3658 cm⁻¹ referente a vibração do grupo OH⁻. O pico referente a deformação da água (H₂O) possui valor de 3010 cm⁻¹.

O estiramento do grupo PO₄³⁻ está representado em 1022 e 1177 cm⁻¹, a banda em 566 cm⁻¹ representa a vibração do grupo PO₄³⁻. A banda característica em 1514 cm⁻¹ refere-se ao estiramento do grupo CO₃²⁻ do tipo A, enquanto a vibração do grupo CO₃²⁻ do tipo B ocorre em 1412 cm⁻¹, indicando a formação de hidroxiapatita do tipo AB, isto confirma o que foi apresentado nas Figuras 34b a 34d.

Na Figura 33 observa-se na curva referente à semana 1 o pico em 2943 e em 1643 cm⁻¹ que são referentes ao dobramento do grupo CH e NH, respectivamente. O dobramento do grupo C=O, a presença destes grupos indica a presença da quitosana na estrutura do recobrimento após o período de uma semana, assim como observado na Figura 31a.

Analisando os resultados do ensaio de bioatividade das condições estudadas é possível observar que somente para o Ti c.p. não ocorreu a formação de hidroxiapatita na 1ª semana, indicando assim a menor bioatividade do metal quando

comparada com o recobrimento biomimético e o recobrimento com filme de quitosana. Na 1ª semana ainda observa-se a presença do filme de quitosana onde é iniciada a formação de uma camada de hidroxiapatita. Nas semanas 2, 3 e 4 observa-se, em todas as condições, o aumento na quantidade de hidroxiapatita.

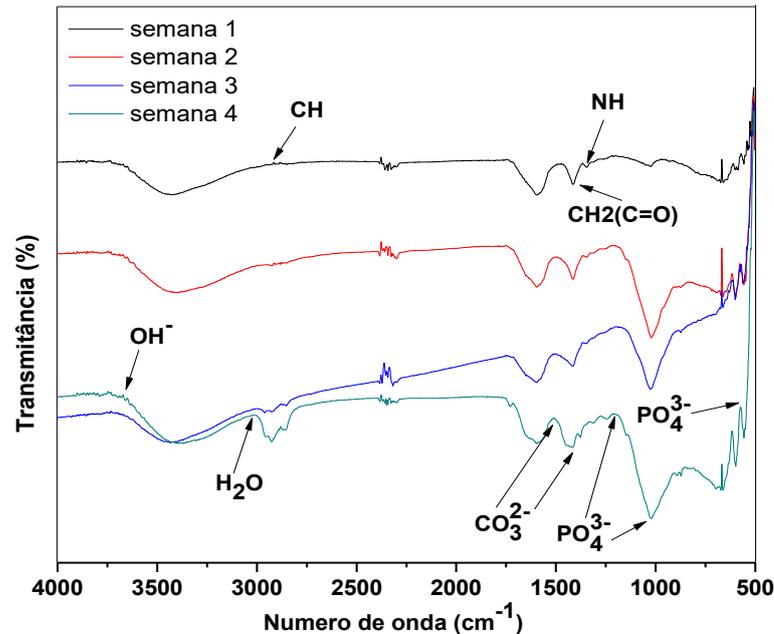


Figura 33 - Espectro de infravermelho do ensaio de bioatividade da condição C2 (Ti c.p.+HA+AgNO₃+Q).

Fonte: Do autor.

5.5 ENSAIO DE CORROSÃO

5.5.1 Potencial de circuito aberto

Na Figura 34 estão apresentados os resultados referentes ao ensaio de potencial de circuito aberto para as amostras de titânio nas condições: Ti c.p., C0, C1, C2 e quitosana.

Na amostra de titânio c.p. é possível perceber uma pequena variação no sentido positivo do potencial, indicando a formação de uma camada passiva, de óxido de titânio, na superfície do material. Esta camada tende a proteger o material por ser mais estável que o metal puro.

Nas amostras C0, C1, C2 e filme de quitosana pura o potencial se manteve constante em função do tempo, que indica a estabilidade dos recobrimentos e também sugere que estes recobrimentos estão aderentes a superfície do titânio nas

condições C0 e C1 enquanto na condição C2 o recobrimento está aderente na superfície da hidroxiapatita com dopagem de nitrato de prata.

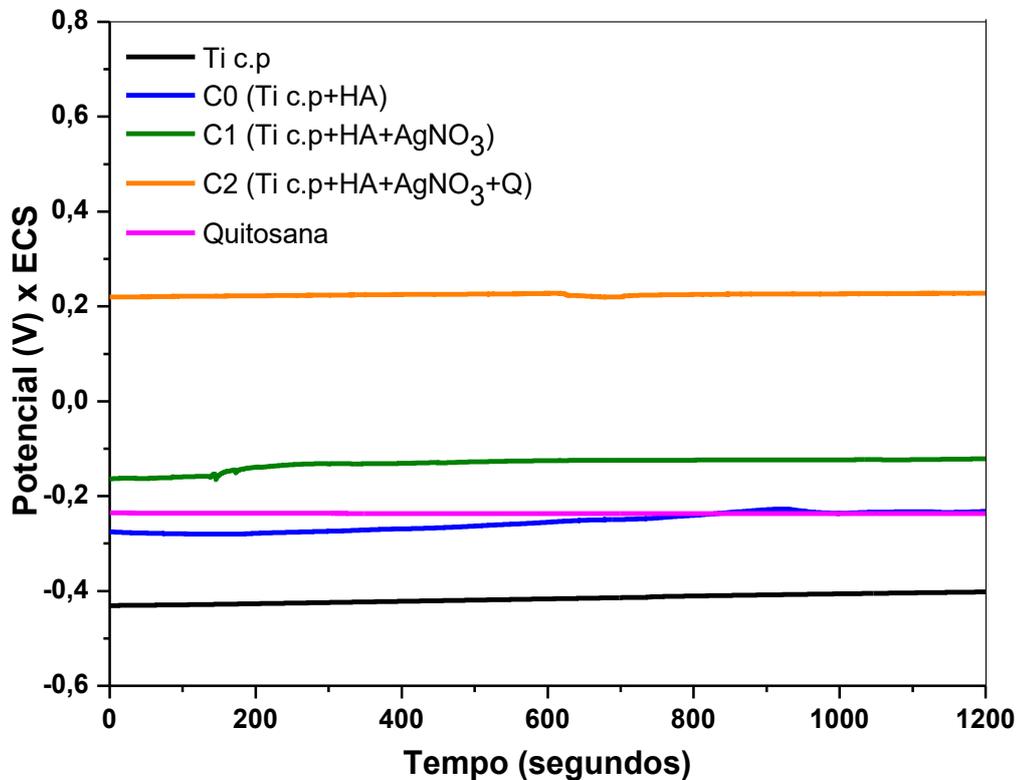


Figura 34 - Potencial de circuito aberto nas amostras de titânio c.p., nas condições: C0, C1, C2 e filme de quitosana.

Fonte: Do autor.

5.5.2 Curvas de polarização

Na Figura 35 estão apresentados os resultados referentes ao ensaio de corrosão por polarização das amostras do Ti c.p., nas condições: C0, C1, C2 e filme de quitosana.

Com a análise das curvas de polarização foi possível obter, utilizando o método de extrapolação de Tafel, os valores médios e desvio padrão do potencial de corrosão (E_{corr}), densidade de corrente de corrosão (I_{corr}) e também a densidade de corrente de passivação (I_{pass}), conforme apresentado na Tabela 11.

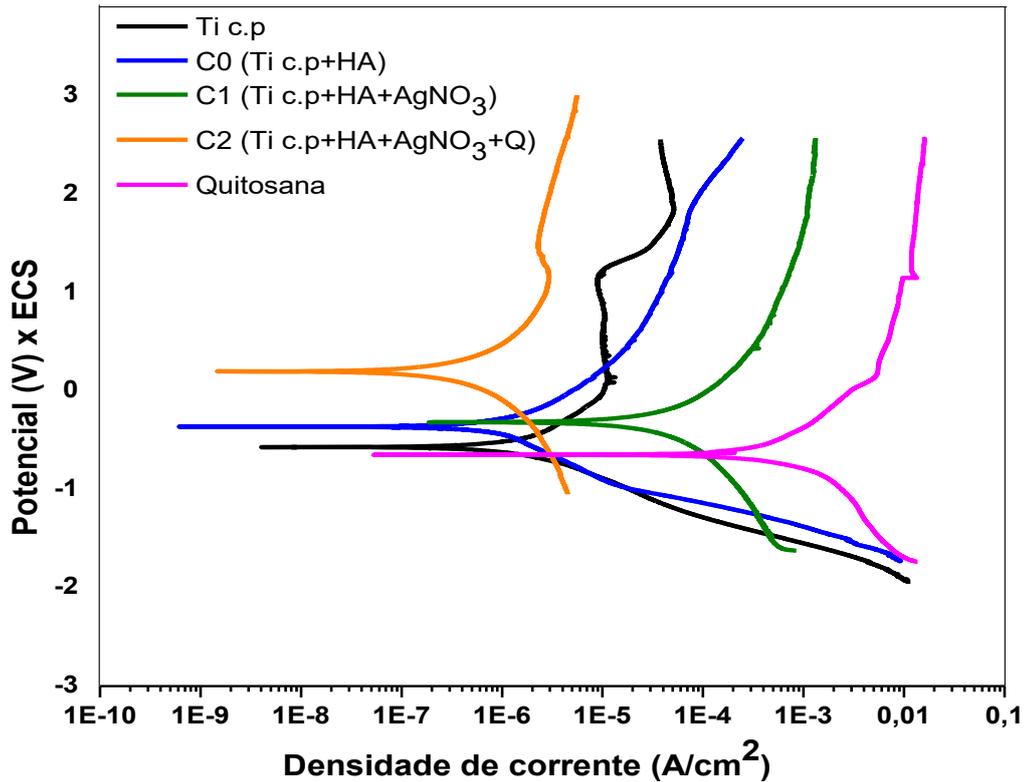


Figura 35 - Ensaio de corrosão por polarização nas amostras de Ti c.p., nas condições: C0, C1, C2 e filme de quitosana.

Fonte: Do autor.

Tabela 11 - Parâmetros eletroquímicos para as amostras de Ti c.p. nas condições: C0, C1, C2 e filme de quitosana.

Condição	E_{corr} (V)	I_{corr} (A/cm ²)	I_{pass} (A/cm ²)
Ti c.p	-0,526±0,052	$7,867 \times 10^{-7} \pm 2,465 \times 10^{-8}$	$1,116 \times 10^{-5} \pm 1,626 \times 10^{-6}$
C0	-0,321±0,077	$8,404 \times 10^{-7} \pm 1,983 \times 10^{-8}$	$5,472 \times 10^{-5} \pm 1,937 \times 10^{-6}$
C1	-0,341±0,031	$5,190 \times 10^{-6} \pm 2,605 \times 10^{-7}$	$4,495 \times 10^{-4} \pm 1,893 \times 10^{-5}$
C2	0,190±0,012	$1,701 \times 10^{-7} \pm 3,982 \times 10^{-8}$	$2,398 \times 10^{-6} \pm 7,517 \times 10^{-7}$
Quitosana	-0,732±0,150	$2,335 \times 10^{-4} \pm 4,632 \times 10^{-5}$	$2,583 \times 10^{-3} \pm 3,861 \times 10^{-4}$

E_{corr} =potencial de corrosão; I_{corr} =densidade de corrente de corrosão; I_{pass} = densidade de corrente passiva

Fonte: Do autor.

Quando comparado os resultados obtidos nas condições C0 e C1, a maior densidade de corrente de corrosão ($8,404 \times 10^{-7} \text{ A/cm}^2$; $5,190 \times 10^{-6} \text{ A/cm}^2$) e densidade de corrente passiva ($5,472 \times 10^{-5} \text{ A/cm}^2$, $4,495 \times 10^{-4} \text{ A/cm}^2$) ocorreu na C1 (Ti cp+HA+AgNO₃), proveniente da interação do nitrato de prata com a hidroxiapatita, que altera a estrutura do recobrimento, deixando o recobrimento mais rugoso.

A condição C2, onde a amostra foi recoberta com quitosana, observou-se o maior potencial de corrosão em relação às demais condições, o que mostra que o recobrimento com quitosana se mostrou mais eficiente que a hidroxiapatita, este comportamento é devido à maior estabilidade e homogeneidade do recobrimento.

O filme de quitosana, quando comparada com a condição C2, possui maior densidade de corrente ($2,335 \times 10^{-4} \text{A/cm}^2$, $1,701 \times 10^{-7} \text{A/cm}^2$, respectivamente) indicando que o recobrimento é mais estável que o filme de quitosana pura.

Foi possível observar que na amostra de Ti c.p. (sem recobrimento), assim como na literatura, há uma nítida região passiva, onde a densidade de corrente se manteve constante enquanto os valores do potencial de corrosão sofreram grande variação. Este comportamento indica que uma camada de óxido de titânio é formada, protegendo o material. Com o aumento do potencial, ocorre a quebra da camada passiva formada sobre o Ti c.p. Quando atingido o potencial de 1,573V uma camada de óxido é novamente formada, indicando que o óxido de titânio formado estava aderente e estável na superfície do Ti c.p.

Nas amostras condições C0 e C1 não é observada esta região passiva, sugerindo que o recobrimento está aderente na superfície do Ti c.p.

Com os dados da curva de polarização da condição C2, foi possível perceber que o potencial de corrosão possui valor de 0,198V, acima deste potencial é iniciado o processo de corrosão do filme de quitosana. Quando atingido o valor de densidade corrente passiva ($2,929 \times 10^{-6} \text{A/cm}^2$) e potencial de 1,233V ocorre a quebra do filme de quitosana, iniciando assim o processo de corrosão no recobrimento de hidroxiapatita dopado com nitrato de prata.

O aumento do potencial de corrosão da C2 (Ti c.p.+HA+AgNO₃+Q) ocorre devido ao fato da quitosana ser mais inerte em meio de SBF quando comparado com o recobrimento biomimético, estes resultados também foram observados por Tiyyuagura (2016).

Para as condições estudadas (Ti c.p., C0, C1, C2 e filme de quitosana) o potencial de circuito aberto apresentou valores mais elevados do que o potencial de corrosão nas curvas de polarização. Esta variação dos potenciais pode estar ligada ao fato de que nas curvas de polarização, o ensaio foi iniciado em potenciais mais negativos, sugerindo que filme óxido e/ou os recobrimentos foram parcialmente removidos.

5.6 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

5.6.1 Ensaio de viabilidade bacteriana

Os resultados obtidos no ensaio de viabilidade bacteriana estão apresentados na Figura 36.

É possível observar que ocorreu uma diminuição da viabilidade bacteriana em todas as amostras em relação à amostra de controle (própria placa de PE)

A menor viabilidade, como previsto devido a ação antimicrobiana, foi apresentada pela amostra da C1 (Ti c.p+HA+AgNO₃) com diminuição de aproximadamente 81% da viabilidade bacteriana em relação a amostras de controle.

A amostra C2 (Ti c.p+HA+AgNO₃+Q) quando comparada com a amostra controle, observa-se uma diminuição na viabilidade bacteriana de aproximadamente 42,5%, indicando que o filme de quitosana foi parcialmente degradado liberando íons prata e diminuindo desta maneira a viabilidade bacteriana.

A diminuição da viabilidade em todas as condições, Ti c.p (9,2%), C0 (12,2%), C1 (81%) e C2 (42,5%) em relação à amostra de controle indica que as amostras estudadas se implantadas, apresentam menor chance de infecções devido à diminuição da viabilidade bacteriana.

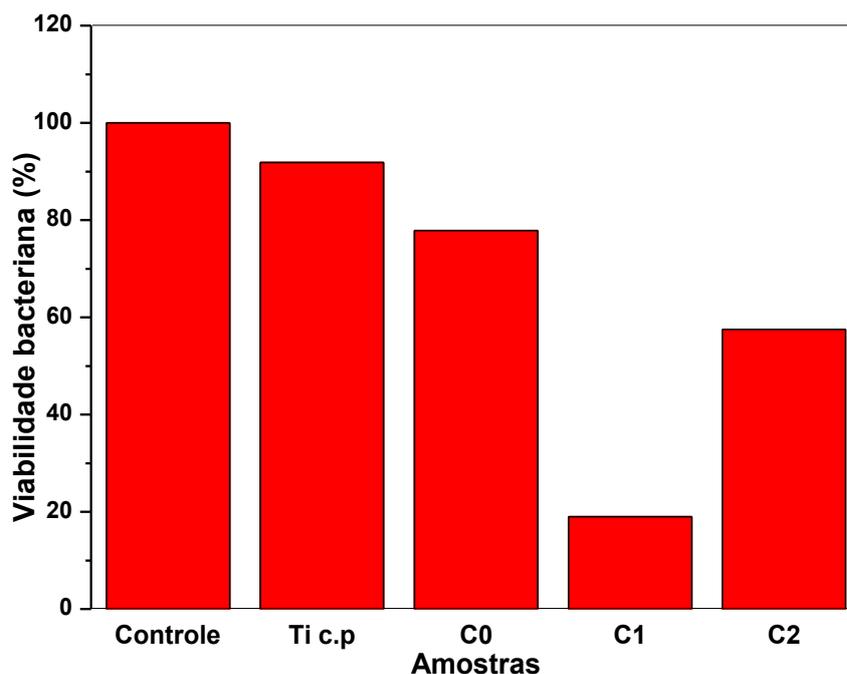


Figura 36 - Ensaio de viabilidade bacteriana *Staphylococcus aureus*.
Fonte: Do autor.

Laluzza et al. (2011), avaliou o efeito bactericida da prata em diferentes materiais, para as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os autores observaram que para ambas as bactérias ocorreram à diminuição da viabilidade bacteriana. A eficiência bactericida estava diretamente ligada com a quantidade de prata.

Em estudo realizado por Ewald et al. (2011) observaram redução de aproximadamente 98% na viabilidade bacteriana de *Staphylococcus aureus* e para a bactéria *Staphylococcus epidermids* a redução foi de 85%. Os autores concluíram que com uma dosagem inicial correta é possível obter amostras com baixas concentrações, dessa forma as bactérias seriam combatidas e evitaria a morte celular.

5.6.2 Ensaio de difusão em Ágar

Na Figura 37 (a, b e c) estão apresentadas as placas de *petri* usadas no ensaio de difusão em Ágar.

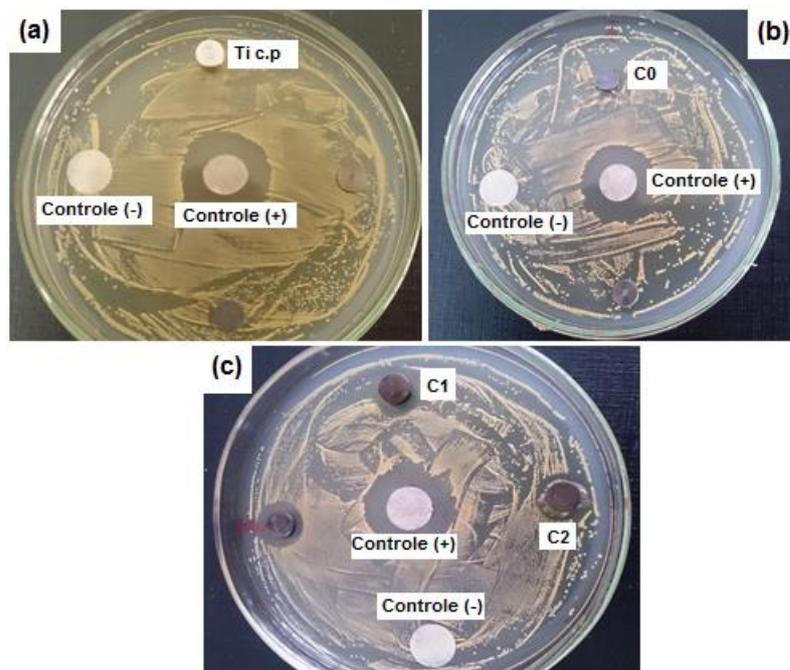


Figura 37 - Placas de petri usadas na realização do ensaio, (a) Ti c.p, controle (+) e controle (-); (b) C0 (Ti c.p+HA), controle (+) e controle (-); (c) C1 (Ti c.p+HA+AgNO₃), C2 (Ti c.p+HA+AgNO₃+Q), controle (+) e controle(-).

Fonte: Do autor.

Foi possível observar que o disco referente ao controle negativo (H_2O) não ocorreu formação de halo inibitório, e no disco de controle positivo (Cloroxiedina 0,12%) foi formado halo de inibição, com diâmetro médio de aproximadamente 1,7 cm, confirmando a eficiência do antibiótico cloroxiedina no combate a bactéria *Staphylococcus aureus*.

Na Figura 38 está apresentado o resultado do ensaio de halo de inibição do Ti c.p (Figura 38a) e na Figura 38b a condição C0 (Ti c.p+HA)

Nas amostras de Ti c.p e C0 observou-se que não ocorreu, como esperado, a formação de halo, pois, estes materiais não possuem características bactericidas.



Figura 38 - Resultado do ensaio de halo de inibição; (a) Ti c.p; (b) C0 (Ti c.p+HA).
Fonte: Do autor.

Na Figura 39 estão apresentados os resultados obtidos no ensaio de halo de inibição das condições C1 e C2.

Na Figura 39a, referente à amostra da condição C1 (Ti cp+HA+AgNO₃) observa-se um halo com diâmetro médio de aproximadamente 0,9 cm, indicando que a prata possui ação bactericida contra a bactéria *Staphylococcus aureus*.

Como descrito na literatura, a ação bactericida do nitrato de prata ocorre devido a prata possuir carga positiva e quando em contato com as membranas celulares que, por sua vez, possuem cargas negativas, a prata adere à superfície das membranas, causando eliminação total ou parcial das bactérias (HANSEN; THÜNEMANN, 2016).

Outro fator importante no efeito bacteriano da prata está diretamente ligado com a homogeneidade do recobrimento, como os íons de Ag estão incorporados na estrutura da hidroxiapatita, uma melhor distribuição dos íons de prata sobre o

recobrimento aumentará a área de contato da prata com o meio, aumentando seu efeito bacteriano (VIEIRA, 2013.).

Observando a Figura 39b onde está apresentado o halo formado na amostra da condição C2 (Ti cp+HA+AgNO₃+Q) é possível perceber a formação de um halo de diâmetro médio de aproximadamente 0,4 cm, indicando que a prata foi liberada de maneira lenta devido ao rompimento parcial do filme de quitosana. Nota-se também que o recobrimento de quitosana permanece sobre a amostra.



Figura 39 - Resultado do ensaio de halo de inibição; (a) C1 (Ti c.p+HA+AgNO₃); (b) C2 (Ti c.p+HA+AgNO₃+Q).

Fonte: Do autor.

6 CONCLUSÕES

Através da micrografia e da difração de raios X, foi possível concluir que o titânio sem recobrimento possui em sua estrutura a fase α , característica do Ti c.p.

Com os ensaios de DSC e TG foi possível concluir que o Ti cp., sofre transformação de fase α para fase β , além de formar sobre sua superfície uma camada de óxido de titânio.

O tratamento álcali-térmico, bem como a imersão dos substratos em solução de silicato de sódio mostrou eficiência para formar a camada de hidroxiapatita.

A formação da camada de hidroxiapatita foi confirmada através dos difratogramas de raios X, das micrografias, EDS, e FTIR evidenciando a eficiência do recobrimento biomimético. Assim como a dopagem com nitrato de prata, o recobrimento de quitosana apresentou estrutura porosa, devido à baixa quantidade de quitosana dissolvida.

No ensaio de bioatividade concluiu-se que ao final das quatro semanas as amostras das condições C0, C1 e C2, além do Ti c.p apresentaram formação e desenvolvimento com o aumento na quantidade de hidroxiapatita. Dentre as amostras estudadas as que apresentaram o melhor resultado quanto a bioatividade foram as amostras das condições C0 e C1.

No ensaio de corrosão foi possível concluir que o potencial de circuito aberto no Ti c.p. apresenta variação do potencial com o decorrer do tempo, fato que indica a formação de uma camada de óxido de titânio. Para as condições C0, C1, C2 e quitosana o potencial se manteve, praticamente, constante podendo concluir que os recobrimentos se mostram estáveis e aderentes à superfície.

Com as curvas de polarização foi possível determinar que o Ti c.p. apresentou menores valores de I_{corr} e I_{pass} indicando que o óxido formado está mais aderente e compacto na superfície do Ti c.p., quando comparado com os recobrimentos utilizados.

No ensaio de corrosão por polarização na condição C2, ocorreu um rompimento do filme quando atingido o valor da corrente passiva.

Com os resultados obtidos no ensaio de corrosão (circuito aberto e polarização) concluiu-se que a amostra da condição C2 (Ti cp+HA+AgNO₃+Q) apresentou os melhores resultados, pois, possui os maiores valores de potencial de corrosão, densidade de corrente de corrosão e densidade passiva de corrosão.

No ensaio de viabilidade bacteriana foi possível concluir que a amostra da condição C1 reduz a quantidade de bactérias em 81% mostrando assim a eficiência da prata como bactericida, na condição C2 a redução na quantidade de bactérias indicou a liberação parcial da prata.

Com o ensaio de difusão em Ágar foi possível concluir que o Ti c.p e a C0 (Ti c.p+HA) não mostraram ação bactericida, pois não apresentou halo de inibição. As condições, C1 (Ti c.p+HA+AgNO₃) e C2 (Ti c.p+HA+AgNO₃+Q) apresentaram o halo de inibição. O halo de maior diâmetro da C1 em relação à C2 é resultado da liberação lenta da prata com o rompimento parcial do filme quitosana.

Com os resultados obtidos no trabalho foi possível concluir que a condição C2 (Ti c.p+HA+AgNO₃+Q) se mostrou a mais indicada, com os ensaios microbiológicos, na liberação lenta de prata, além de apresentar os melhores resultados no ensaio de corrosão e também se mostrou eficiente quanto a formação da camada de hidroxiapatita no ensaio de biotividade.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- a) Realizar o recobrimento com quitosana de baixo e alto peso molecular,
- b) Utilizar outras ligas metálicas para realizar o recobrimento biomimético e com quitosana,
- c) Testar outros bactericidas,
- d) Realizar ensaio de adesão,
- e) Quantificar a prata ao final do recobrimento,
- f) Ensaio de nanodureza no recobrimento,
- g) Ensaio de solubilidade da quitosana em meio de SBF,
- h) Estudo detalhado da interação da prata com a hidroxiapatita,

REFERÊNCIAS

- ABE, Y.; KOKUBO, T.; YAMAMURO, T. Apatite coating on ceramics, metals and polymers utilizing a biological process. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 1, n.4, p. 233-238, 1990.
- ABNT NBR ISO 23317, **Implantes para cirurgia - Avaliação *in vitro* da capacidade de formação de apatita de materiais de implante**. ABNT, Rio de Janeiro, RJ, 2013.
- AGNIHOTRI, S. A.; MALLIKARJUNA, N. N.; AMINABHAVI, T. M. Recent advances on chitosan based micro and nanoparticles in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 10, p. 5-28, 2004.
- AGRAWAL, C. M; et al. **Introduction to biomaterials: basic theory and engineering applications**. United Kingdom: Ed. Cambridge University, 2014.
- ALVES, O. et al. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar, **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 518-522, 2000.
- AMERICAN SOCIETY FOR METALS. **ASM HANDBOOK: Corrosion: fundamentals, testing, and protection**. Ohio: Materials Park, 2003. v. 13A.
- AMERICAN SOCIETY FOR METALS. **ASM HANDBOOK: Metallography and Microstructures**. Ohio: Materials Park, 2003. v. 9.
- ASTM Standard F67, 2006, **Standard Specification for Unalloyed Titanium, for Surgical Implant Applications (UNS R50250, UNS R50400, UNS R50550, UNS R50700)**, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2006, DOI: 10.1520/F0067-06.
- BANERJEE, S., L. et al. Modified chitosan encapsulated core-shell Ag Nps for superior antimicrobial and anticancer activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 157–167, 2016.
- BAUER, J.R.O. **Propriedades mecânicas do titânio comercialmente puro e da liga Ti-6Al-4V fundidos em diferentes ambientes**. 2007. 62 f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2007.
- BASU, B; KATTI, D; KUMAR, A. **Advanced materials fundamentals: processing and applications**. New Jersey: Ed. A. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, 2009.
- BIGI, A et al. Nanocrystalline hydroxiapatite coatings on titanium: a new fast biomimetic method. **Biomaterials**, v. 26, p. 4085-4089. 2005.

BISPO, V., M.; MANSUR, A., A., P.; MANSUR, H., S. Caracterização por espectroscopia de infravermelho de filmes de quitosana com diferentes quantidades de agente reticulante. In: Congresso Brasileiro de Polímeros, 10, 2009, Foz do Iguaçu. **Anais...**, Foz do Iguaçu, 2009.

BRONZINO, J. D; PARK, J.B. **Biomaterials: principles and applications**. New York: Ed. CRC, 2003.

CALLISTER, W. D. Jr., RETHWISH, D. G. **Ciência e engenharia de materiais: uma introdução**. 8. Rio de Janeiro: ed., LTC, 2012.

CARROLL, J., P.; QUILTY, B.; DEVERY, R. Non-cytotoxic and antimicrobial plasma sprayed coatings for orthopedic application. **Materials Letters**, v. 112, p. 54–57, 2013.

CHEN, S., WU, G., ZENG, H. Preparation of high antimicrobial activity thiourea chitosan–Ag⁺ complex. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 33–38, 2005.

COELHO, M. F. C. **Recobrimento biomimético em superfícies de titânio e aço inoxidável austenítico**. 2013. 83 f. Dissertação (Mestrado em ciências e engenharia de materiais) – Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL, Poços de Caldas, Minas Gerais, 2013.

COSTA, A. C. F. M. et al. Hidroxiapatita: obtenção, caracterização e aplicações. **Revista eletrônica de Materiais e Processos**, v. 4, n. 3, p. 29-38, 2009.

EL-NAHRAWY, A. et al. Influences of Ag-NPs doping chitosan/calcium silicate nanocomposites for optical and antibacterial activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 267–275, 2016

ERAKOVIC, S. et al. Corrosion stability and bioactivity in simulated body fluid of silver/hydroxyapatite and silver/hydroxyapatite/lignin coatings on titanium obtained by electrophoretic deposition. **The Journal of physical chemistry B**, v. 117, p. 1633-1643, 2004.

EWALD, A. et al. Silver-doped calcium phosphate cements with antimicrobial activity. **Acta Biomaterialia**, v 7, p. 4064-4070, 2011.

FIELDING, G., A. et al. Antibacterial and biological characteristics of silver containing and strontium doped plasma sprayed hydroxyapatite coatings. **Acta Biomaterialia**, v. 8, p. 3144–3152, 2012.

FONTANA, M., G. **Corrosion Engineering**. Singapura: Ed. McGraw-Hill Book Co., 1987.

HAZRA, M et al. Designing polymeric microparticulate drug delivery system for hydrophobic drug quercetin. **Saudi pharmaceutical journal**, v. 23, p. 429-436.

HENCH, L. L; WILSON, J. **An introduction to bioceramics**. New York: Ed. Word Scientific Publishing Co., 1999.

IQBAL, N et al. Rapid microwave assisted synthesis and characterization of nanosized silver-doped hydroxyapatite with antibacterial properties. **Materials Letters**, v. 89, p. 118–122, 2012.

IQBAL, N et al. Characterization and antibacterial properties of stable silver substituted hydroxyapatite nanoparticles synthesized through surfactant assisted microwave process. **Materials Research Bulletin**, v. 48, p. 3172–3177, 2013.

KIM, S., K. **Chitin and chitosan derivatives: advances in drug discovery and developments**. Florida: Ed. CRC, 2014

KULKARNI, M. et al. Biomaterial surface modification of titanium and titanium alloys for medical applications. **Nanomedicine**. UK: Central Press; 2014, p. 11–136.

LAFRON, J. P.; CHAMPION, E.; BERNACHE-ASSOLLANT, D. Processing of AB-type carbonated hydroxyapatite $\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_6-x(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_{2-x-2y}(\text{CO}_3)_y$ ceramics with controlled composition, **Journal of the European Ceramic Society**, v.28, n. 1, p. 139-147, 2008.

LALUEZA, P. et al. Bactericidal effects of different silver-containing materials. **Materials Research Bulletin**, v. 46, p. 2070–2076, 2011.

LEYENS, C; PETERS, M. **Titanium and titanium alloys: fundamentals and applications**. New Jersey: Ed. Wiley-VHC GmbH & Co., 2003.

LI, H-L., et. al. Improved biological performance of Ti implants due to surface modification by micro-arc oxidation. **Biomaterials**, v. 25, p. 2867-2875, 2004.

LI, J. et al. Biomimetic multicomponent polysaccharide/nano-hydroxyapatite composites for bone tissue engineering. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, p. 885–894, 2011.

Li, Z. et al. Preparation of silver nanoparticles immobilized onto chitin nanocrystals and their application to cellulose paper for imparting antimicrobial activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 834–840, 2016.

LINDAHL, C. et al. Biomimetic calcium phosphate coating of additively manufactured porous CoCr implants. **Applied Surface Science**, v. 353, p. 40–47, 2015.

LUO, L. et al. **Surface modification of titanium and its alloys for biomedical applications**. Wollongong: University of Wollongong. 2014.

MAGNABOSCO, R. **Influência da microestrutura no comportamento eletroquímico do aço inoxidável UNS S31803 (SAF 2205)**. 2001. 181 f. Tese (Doutorado em Engenharia) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2001.

MIRZAEI, M.; VAEZI, M.; PALIZDAR, Y. Synthesis and characterization of silver doped hydroxyapatite nanocomposite coatings and evaluation of their antibacterial and corrosion resistance properties in simulated body fluid. **Materials Science and Engineering C**, v. 69, p. 675–684, 2016.

MISHRA, S. K; KANNAN, S. Development, mechanical evaluation and surface characteristics of chitosan/polyvinyl alcohol based polymer composite coatings on titanium metal. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 40, p. 314-324. 2014.

MOURYA V. K, INAMDAR N. M. Chitosan modifications and applications: opportunities galores. **Reactive & functional polymers**, v. 28, p. 1013-1051. 2008.

NARAYAN, B.; JONATHAN, G.; ZHANG, M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, p. 83-99, 2009.

NEVES, A. L. P. **Preparação e caracterização de nanopartículas de quitosana incorporadas com zinco com potencial atividade cicatrizante e antimicrobiana**. 2013. 150 f. Tese (Doutorado em engenharia química). Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, Florianópolis, Santa Catarina, 2013

NI, J-H. et al. Preparation of hydroxyapatite-containing titânia coating on titanium substrate by micro arcoxidation. **Materials Research Bulletin**, v. 43, p. 45-53, 2008.

NIE, X.; LEYLAND, A.; MATTHEWS, A. Deposition of layered bioceramic hydroxyapatite/TiO₂ coatings on titanium alloys using a hybrid technique of micro-arc oxidation and electrophoresis. **Surface and Coatings Technology**, v. 125, p. 407-414, 2000.

OLIVEIRA JUNIOR, E. N. **Caracterização dos efeitos de quitosana na inibição de fungos fitopatogênicos**. 2006. 132 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, São Paulo, 2006.

PAITAL, S. R.; DAHOTRE, N. B. Calcium phosphate coatings for bioimplant applications: materials, performance factors, and methodologies. **Materials Science and Engineering R**, v. 66, p. 1-70, 2009.

PARK, J; LAKES, R.S. **Biomaterials**: an introduction. New York. Ed. LLC, 2007.

RAMESHBABU, N. et al. Antibacterial nanosized silver substituted hydroxyapatite: Synthesis and characterization. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 80, p. 581-891, 2006.

RAPHEL, J. et al. Multifunctional coatings to simultaneously promote osseointegration and prevent infection of orthopaedic implants. **Biomaterials**, v. 84, p. 301-314, 2016.

RAVI KUMAR, M. N. V. A. A review chitosan applications. **Reactive and functional polymers**, v. 46, p. 1-27, 2000.

SHERESTHA, S.; JOSHI, S. Current concepts in biomaterials in dental implant. **Science Research**, v. 2, n. 1, p. 7-12, 2014.

RIGO, E. C.S. et al. Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita, **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 15, n. 1-2, p. 21-29, 1999.

SINHA, V. R. et al. Chitosan microspheres as a potencial carrier for drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 274, n. 1-2, p. 1-33, 2004.

SONG, L. et al. Antibacterial hydroxyapatite/ chitosan complex coatings with superior osteoblastic cell response. **Materials Letters**, v. 65, p. 974-977. 2010.

SOUZA, A. R. et al. Medidas de potencial de circuito aberto: um experimento para o ensaio de eletroquímica. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32, 2009, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Química, 2009.

STANIC, V. et al. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper and zinc-doped hydroxyapatite nanopowders. **Applied Surface Science**, v. 256, p. 6083–6089, 2010.

TIYYUAGURA, H., R. et al. V. The chitosan coating and processing effect on the physiological corrosion behaviour of porous magnesium monoliths. **Progress in Organic Coatings**, v. 99, p. 147–156, 2016.

VIEIRA, J. O. **Recobrimento biomimético de HA dopado com Ag sobre superfície de Ti c.p.** 2013. 79 f. Dissertação (mestrado em bioengenharia) – Universidade de São Paulo, USP, São Carlos, São Paulo, 2013.

WANG, Q. et al. Microstructure and corrosion resistance of pure titanium surface modified by double-glow plasma surface alloying. **Materials and Design**, v. 49, p. 1042–1047, 2013.

WANG, X.; DU, Y.; LIU, H. Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan–Zn complex. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, p. 21–26, 2004.

WANG, Z., B. et al X. Comparison of the corrosion behavior of pure titanium and its alloys in fluoride-containing sulfuric acid. **Corrosion Science**, v. 103, p. 50–65, 2016.

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

WOLYNEC, S. **Técnicas eletroquímicas em corrosão**; São Paulo - Universidade de São Paulo, USP, 2003.

ZHOU, J. et al. Release behaviors of drug loaded chitosan/calcium phosphate coatings on titanium. **Thin solids films**, v. 519, p. 4658-4662. 2011.

APÊNDICE A – PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

A - Trabalhos apresentados em Eventos Científicos

1-MARIANO, N. A.; FERREIRA, G. V.; VERCIK, L. C. O.; RIGO, E. C. S.; CAMPOS, M. G. N.; FERNANDES, M. C. S.; SOUSA, L. L.; **RICCI, V. P.** Silver nanoparticles in recoating for biomaterials. In: **XV Brazilian Materials Research Society SBP Mat Brazil**. Campinas, SP. 2016.

2-SOUSA, L. L.; Prado, D. G.; COELHO, M. F. C.; **RICCI, V. P.**; FERREIRA, G. V.; RIGO, E. C. S.; FERNANDES, M. C. S.; MARIANO, N. A. Avaliação das propriedades bactericidas do recobrimento biomimético de HA dopado com AgNO₃. In: **22º Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais (Cbecimat)**, Natal, RN, 2016.

3-SOUSA, L. L.; **RICCI, V. P.**; FERREIRA, G. V.; VERCIK, L. C. O.; RIGO, E. C. S.; FERNANDES, M. C. S.; MARIANO, N. A. Efeito de bactericida em recobrimento de hidroxiapatita e quitosana em superfície metálica. In: **22º Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais (Cbecimat)**, Natal, RN, 2016.

4-SOUSA, L.L.; FERREIRA, G.V.; RUSSI, L.G.C.; **RICCI, V.P.**; RIGO, E.C. da S.; MARIANO, N.A. Doping of silver nanoparticles in alloys for biomaterials. In: **7º Latin American Conference on Metastable and Nanostructured Materials (Nanomat)**, Brotas, SP, 2017.

5-FERREIRA, C.C.; SOUSA, L.L.; **RICCI, V.P.**; MARIANO, N.A.; CAMPOS, M.G.N. Recovery of titanium with polycaprolactone for potential application in heart valves. In: **7º Latin American Conference on Metastable and Nanostructured Materials (Nanomat)**, Brotas, SP, 2017.

6-FERREIRA, C.C.; SOUSA, L.L.; **RICCI, V.P.**; MARIANO, N.A.; CAMPOS, M.G.N. Study of the biomimetic coating of Ti c.p. with chitosan and polycaprolactone for application in implants. In: **7º Latin American Conference on Metastable and Nanostructured Materials (Nanomat)**, Brotas, SP, 2017.

B - Artigos em periódicos da área

1-SOUSA, L. L.; Prado, D. G.; COELHO, M. F. C.; **RICCI, V. P.**; FERREIRA, G. V.; RIGO, E. C. S.; FERNANDES, M. C. S.; MARIANO, N. A. Evaluation of the bactericidal properties of biomimetic coating HA doped with AgNO₃. **Materials Science Forum** (Aceito).

2-SOUSA, L. L.; **RICCI, V. P.**; FERREIRA, G. V.; VERCIK, L. C. O.; RIGO, E. C. S.; FERNANDES, M. C. S.; MARIANO, N. A. Bactericidal Effect of chitosan and hydroxyapatite coating on metallic. **Materials Research** (submetido).