

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA POLITÉCNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA

MIRELLA FERNANDA MANOSSO DA SILVA

**EFEITO DA TEMPERATURA DE TRATAMENTO TÉRMICO NA ADESÃO DA
CAMADA DE NANOTUBOS DE TiO_2**

CURITIBA

2016

MIRELLA FERNANDA MANOSSO DA SILVA

**EFEITO DA TEMPERATURA DE TRATAMENTO TÉRMICO NA ADESÃO DA
CAMADA DE NANOTUBOS DE TiO_2**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Área de concentração: Fabricação, da Escola Politécnica, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito à obtenção do título de Mestre em Engenharia Mecânica.

Orientador: Prof. Dr. Paulo César Soares Jr.

CURITIBA

2016

**PÁGINA RESERVADA PARA FICHA CATALOGRÁFICA QUE DEVE SER
CONFECCIONADA APÓS APRESENTAÇÃO E ALTERAÇÕES SUGERIDAS
PELA BANCA EXAMINADORA.**



MIRELLA FERNANDA MANOSSO DA SILVA

**EFEITO DA TEMPERATURA DE TRATAMENTO TÉRMICO NA ADESÃO DA
CAMADA DE NANOTUBOS DE TiO_2**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito à obtenção do título de mestre em Engenharia Mecânica.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo César Soares Júnior
Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Prof^a. Dr^a. Mariana de Souza Sikora
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Ricardo Diego Torres
Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Curitiba, 04 de Novembro de 2016.

Dedico este trabalho aos meus pais,

Maria Delourdes Manosso e

Oswaldo Zacarias da Silva

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria Delourdes Manosso e Osvaldo Zacarias da Silva, por todo suporte nesses 27 anos e pelo amor que sempre dispuseram à mim.

Ao meu orientador, Paulo Cesar Soares Jr., por toda dedicação, paciência e preocupação oferecidas a mim.

À empresa Neodent, pela doação de implantes em titânio utilizados neste estudo.

Meu agradecimento à Capes, pela bolsa de estudos que possibilitou a realização do meu Mestrado.

Ao professor Ricardo Torres, pela amizade e carinho. Uma grande pessoa que me ajudou muito desde a Graduação.

Ao professor Carlos Laurindo, por todo auxílio oferecido à mim.

À Janete Rocha, Secretária do PPGEM, a qual me auxiliou e se preocupou muito comigo durante o Mestrado.

À amiga e gestora, Carolina Castro, por todo suporte para realização do Mestrado, pelo carinho e pela grande amizade.

Aos amigos do laboratório da Neodent, Andre, Elington, Jeison e Rúbia por toda ajuda.

Aos amigos Erik e Robson e à amiga Natalia por toda disponibilidade, auxílio e amizade.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

(Theodore Roosevelt)

RESUMO

Implante dentário é uma rosca em titânio, que substitui a raiz dentária. Em uma situação convencional de instalação, o procedimento é realizado em duas etapas. Inicialmente o dentista faz a incisão, instala o implante dentário e então faz a sutura. Então, há um tempo de reabertura, que gira em torno de 3 a 6 meses, para então fazer a instalação do componente protético e então aplicar carga no implante. O material comumente utilizado nos implante dentários é o titânio.

O Titânio é um material biocompatível e bioinerte, porém, não é um material bioativo, ou seja, ele não promove interação entre o tecido e o implante.

Com isso, é necessário que se promova a otimização dos implantes através da modificação de sua composição química e da topografia da superfície em escala micro e nanométrica para então torná-los bioativos. Materiais nanoestruturados melhoram a interação entre a superfície do implante e as células, devido ao aumento da área superficial e à possibilidade de se mimetizar a topografia do tecido ósseo original. Superfícies com poros ou tubos nanométricos podem ser produzidos pela anodização do titânio. Este processo depende de vários parâmetros, tais como potencial elétrico, composição do eletrólito e tempo de oxidação. Entretanto, sabe-se que a adesão da camada de nanotubos de TiO_2 tem baixa adesão ao substrato de titânio, e essa adesão é dependente do tratamento térmico de cristalização da camada amorfa. Outro problema é a falta de um estudo sistemático relacionando as diferentes técnicas para medidas de adesão em revestimentos nanométricos produzidos pela técnica de anodização.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência das temperaturas de tratamento térmico na adesão dos nanotubos de TiO_2 , através de diferentes técnicas de medidas.

Palavras-chave: implante dentário, titânio, nanotubos de TiO_2 , anodização, biomateriais, adesão.

ABSTRACT

Dental Implant is a titanium thread which replaces the dental root. In a conventional loading situation, the procedure is performed in two steps. Initially the dentist performs the incision, places the dental implant and then makes the suture. There is a reopening time, around 3 to 6 months, to then place the prosthetic component and apply load on the implant. The material commonly used in dental implants is titanium. Titanium is a biocompatible and bioinert material, but it is not bioactive, which means, it does not promote interaction between the tissue and the implant.

Because of this, it is necessary to promote the optimization of the implants by modifying their chemical composition and the surface topography on a micro and gauge scale to make them bioactive.

Nanostructured materials enhance the surface implant to cell interaction, due to the increase of surface area, and to the possibility to mimetize the bone topography. Micro and nanoscale modifications can be obtained through anodization of titanium, with different characteristics, depending on the applied voltage, electrolyte composition, and anodization time. Meanwhile, it is known that there is a lack of adhesion between the TiO₂ nanotube layer and Ti substrate, and this adhesion is dependent on the annealing carried after anodization. Also, there is no systematic study correlating different techniques for measuring the adhesion of coating produced by anodization.

The aim of this study was to evaluate the influence of annealing temperatures on the TiO₂ nanotubes adhesion, through different techniques.

Keywords: dental implant, titanium, TiO₂ nanotubes, anodization, biomaterials, adhesion.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores com formatação adaptada da norma ASTM F67-13.	20
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Camada de nanotubos de TiO ₂ após diferentes temperaturas de tratamento térmico. (Fang et al., 2011)	27
Figura 2. Esquema simplificado de anodização.	32
Figura 3. Formação dos Nanotubos de TiO ₂ . Fonte: Macak et al., 2007.....	34
Figura 4. (a) Implante e (b) placa em titânio grau 4 utilizado como substrato para crescimento.....	37
Figura 5. Placa e Implante em titânio, após anodização 60V – 6h.....	38
Figura 6. Aspecto dos implantes em titânio, após anodização 60 V por 6 h e com tratamento térmico por 10 h nas temperaturas de: (a) Sem tratamento térmico (S/T.T.); (b) 300 °C; (c) 400 °C; (d) 530 °C; (e) 600 °C; (f) 700 °C.....	38
Figura 7. Efeito da carga do nanoindentador na superfície da amostra. Fonte: Göpferich et al., 1996.....	40
Figura 8. Perfil da Indentação. Fonte: Adaptado de Oliver e Pharr, 2004.	41
Figura 9. Representação esquemática do resultado Carga X Penetração. Adaptado de Oliver e Pharr, 2004.	42
Figura 10. Escala HF baseada na Norma VDI 3198.	44
Figura 11. Exemplo de inserção em Poliuretano Sawbones. Fonte: Wu et al., 2012.	45
Figura 12. Poliuretano Sawbones cortados em cilindros.....	46
Figura 13. Poliuretano Sawbones cortado com implante após inserção.	46
Figura 14. Imagens da superfície das placas com diferentes aumentos, após anodização 60V (6h). Aumento de 10k (a), Aumento de 20k (b), Aumento de 50k (c).....	47
Figura 15. Imagens da superfície das placas após anodização 60 V / 6 h e posterior tratamento térmico nas temperaturas: (a) 300 °C, (b) 400 °C, (c) 530 °C, (d) 600 °C e (e) 700 °C.....	48
Figura 16. Imagens da superfície dos implantes, com aumento de 25Kx, após anodização a 60 V por 6 h. A imagem (a) mostra o topo de rosca dos implantes, e a imagem (b) mostra o fundo de rosca dos implantes.	49

Figura 17. Imagens da superfície dos implantes, com aumento de 25Kx, após anodização a 60 V por 6 h e tratamento térmico a 300 °C. A imagem (a) mostra o topo de rosca dos implantes, e a imagem (b) mostra o fundo de rosca dos implantes.....	49
Figura 18. Imagens da superfície dos implantes, com aumento de 25Kx, após anodização a 60 V por 6 h e tratamento térmico a 400 °C. A imagem (a) mostra o topo de rosca dos implantes, e a imagem (b) mostra o fundo de rosca dos implantes.....	50
Figura 19. Imagens da superfície dos implantes, com aumento de 25Kx, após anodização a 60 V por 6 h e tratamento térmico a 530 °C. A imagem (a) mostra o topo de rosca dos implantes, e a imagem (b) mostra o fundo de rosca dos implantes.....	50
Figura 20. Imagens da superfície dos implantes, com aumento de 25Kx, após anodização a 60 V por 6 h e tratamento térmico a 600 °C. A imagem (a) mostra o topo de rosca dos implantes, e a imagem (b) mostra o fundo de rosca dos implantes.....	51
Figura 21. Imagens da superfície dos implantes, com aumento de 25Kx, após anodização a 60 V por 6 h e tratamento térmico a 700 °C. A imagem (a) mostra o topo de rosca dos implantes, e a imagem (b) mostra o fundo de rosca dos implantes.....	51
Figura 22. Difrátogramas de Raios-X obtidos para as amostras de titânio anodizadas e tratadas em diferentes temperaturas.	52
Figura 23. Valores médios de dureza (GPa) em função da penetração na superfície (nm) obtidos por nanoindentação nas amostras de placas de titânio anodizadas a 60 V por 6h, e submetidas a diferentes tratamentos térmicos.	53
Figura 24. Valores médios de módulo de elasticidade (GPa) em função da penetração na superfície (nm) obtidos por nanoindentação nas amostras de placas de titânio anodizadas a 60 V por 6h, e submetidas a diferentes tratamentos térmicos.	54
Figura 25. Valores médios de dureza (GPa) e módulo de elasticidade (GPa) para a penetração de até 150 nm obtidos por nanoindentação nas amostras de placas de titânio anodizadas a 60 V por 6 h, e submetidas a diferentes tratamentos térmicos.	55

Figura 26. Imagens de MEV com sinal de elétrons retroespalhados dos riscos realizados no nanoindentador. Os três riscos da esquerda foram realizados com carga crescente até 10 gf, e o risco mais à direita com carga crescente até 40 gf.	56
Figura 27. Imagens das indentações Rockwell placas de Ti anodizadas a 60 V por 6 h e tratadas termicamente em diferentes temperaturas, observadas por microscopia ótica (a-f), e microscopia eletrônica de varredura (g-r).	59
Figura 28. Figura esquemática das regiões do implante anodizado avaliadas por MEV após o ensaio de inserção.....	60
Figura 29. Imagens da superfície dos implantes anodizados e após inserção em poliuretano. (a) Topo de Rosca; (b) Fundo de Rosca; (c) Câmara. Aumento de 25 kx.	60
Figura 30. Imagens da superfície dos implantes anodizados e tratados a 300 °C por 10 h, e após inserção em poliuretano. (a) Topo de Rosca; (b) Fundo de Rosca; (c) Câmara. Aumento de 25 kx.....	61
Figura 31. Imagens da superfície dos implantes anodizados e tratados a 400 °C por 10 h, e após inserção em poliuretano. (a) Topo de Rosca; (b) Fundo de Rosca; (c) Câmara. Aumento de 25 kx.....	61
Figura 32. Imagens da superfície dos implantes anodizados e tratados a 530 °C por 10 h, e após inserção em poliuretano. (a) Topo de Rosca; (b) Fundo de Rosca; (c) Câmara. Aumento de 25 kx.....	61
Figura 33. Imagens da superfície dos implantes anodizados e tratados a 600 °C por 10 h, e após inserção em poliuretano. (a) Topo de Rosca; (b) Fundo de Rosca; (c) Câmara. Aumento de 25 kx.....	62
Figura 34. Imagens da superfície dos implantes anodizados e tratados a 700 °C por 10 h, e após inserção em poliuretano. (a) Topo de Rosca; (b) Fundo de Rosca; (c) Câmara. Aumento de 25 kx.....	62
Figura 35. Imagens da seção transversal da camada de nanotubos de TiO ₂ formada. (a) S/T.T.; (b) 300 °C; (c) 400 °C; (d) 530 °C; (e) 600 °C; (f) 700 °C. Aumento de 50 kx.	63

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 OBJETIVOS	19
1.1.1 Objetivo Geral.....	19
1.1.2 Objetivos Específicos.....	19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1 TITÂNIO	20
2.2 IMPLANTES DE TITÂNIO	21
2.3 PROPRIEDADES DESEJÁVEIS PARA OSSEOINTEGRAÇÃO	22
2.3.1 Energia de Superfície	23
2.3.2 Hidrofilicidade	23
2.3.3 Rugosidade.....	24
2.3.4 Cristalinidade	26
2.3.5 Morfologia	27
2.4 MODIFICAÇÕES DE SUPERFÍCIE	28
2.4.1 Produção de nanotubos de TiO ₂ por anodização	31
2.4.2 Propriedades mecânicas e adesão de nanotubos de TiO ₂	35
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	36
3.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	36
3.2 TRATAMENTO TÉRMICO	38
3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS	39
3.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	39
3.3.2 Microscopia Ótica	39
3.3.3 Ensaios de Difração de Raios-X.....	39
3.3.4 Nanoindentação.....	40
3.3.5 Scratch Test (Ensaio de Risco)	43
3.3.6 Escala HF (Método Daimler-Benz)	43
3.3.7 Inserção em Poliuretano	44
4. RESULTADOS	47
4.1 MORFOLOGIA	47
4.1.1 Nanotubos de TiO ₂ em placas em titânio.....	47

4.1.2 Nanotubos de TiO ₂ em implantes em titânio.....	48
4.2 ESTRUTURA CRISTALINA	52
4.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	53
4.4 ADESÃO AO SUBSTRATO	55
4.4.1 Scratch Test (MEV).....	56
4.4.2 Indentação Rockwell C	57
4.4.3 Inserção em Poliuretano (MEV).....	59
4.5 AVALIAÇÃO DA SEÇÃO TRANSVERSAL DA CAMADA DE NANOTUBOS DE TiO₂.....	62
5. DISCUSSÃO.....	63
6. CONCLUSÕES.....	67
7. REFERÊNCIAS	69

1. INTRODUÇÃO

Materiais metálicos são os mais usados na área de implantes dentários e ortopédicos, sendo predominantemente produzidos em titânio e suas ligas. O titânio é o mais usado devido às suas propriedades mecânicas favoráveis como a alta resistência mecânica, rigidez, tenacidade à fratura, e também por ser um metal que é passivado instantaneamente quando exposto a um ambiente contendo oxigênio, que leva a uma alta resistência à corrosão e biocompatibilidade.

O sucesso clínico dos implantes depende da ligação firme com o osso, chamada de osseointegração. A osseointegração é definida como a ligação direta do osso vivo com a superfície de um implante submetido a uma carga funcional e essa ancoragem óssea do implante deve ocorrer sem a formação de um tecido fibroso na interface osso-implante (Elias et al., 2008).

Portanto, um dos principais desafios para que haja uma melhora na cicatrização e regeneração óssea é a modificação da superfície do implante com propriedades que promovam a osseointegração. Sabe-se que a camada de óxido natural na superfície do implante de titânio desempenha um papel crucial no contato e na manutenção da ligação entre implante e osso (Wennerberg et al., 1997). Essa camada de óxido de titânio pode ser modificada por meio de diferentes técnicas como tratamento térmico, implantação iônica e anodização (Sul et al. 2003 & 2005, Jonasova et al. 2004, Kuromoto et al. 2007), com o objetivo de se obter diferentes características morfológicas, microestruturais e químicas, e consequente aceleração do processo de osseointegração (Larsson et al., 1996; Hilborn et al. 2007).

A anodização é um processo eletroquímico simples, com o qual se obtém superfícies com topografia modificada em escala micro ou nanométrica, com diferentes estruturas cristalinas, com porosidade e rugosidade controláveis, bem

como possibilita a incorporação de elementos químicos na camada do óxido dependendo dos parâmetros do processo, tais como o potencial elétrico, densidade de corrente, composição e concentração do eletrólito e tempo de oxidação (Liu et al., 2005, Laurindo et al., 2014).

Nos últimos anos, as pesquisas tem se direcionado para o estudo da modificação da superfície dos implantes em nanoescala, principalmente com a produção de nanotubos de TiO_2 produzidos por anodização. Resultados de Mendonça et al. (2009) mostraram que superfícies nanoestruturadas aumentam a diferenciação e adesão celular e a produção de matriz óssea por reproduzir características biomiméticas em relação à arquitetura da matriz óssea. Os nanotubos de TiO_2 também mostraram que a atividade celular e cicatrização óssea podem ser otimizadas devido à sua morfologia e suas propriedades físico-químicas (Bressan et al., 2013; Yang et al., 2009).

Apesar da bioatividade dos nanotubos de TiO_2 já ser bastante conhecida, o conhecimento sobre suas propriedades mecânicas e de sua adesão ao substrato não é completamente entendida. Em estudo realizado em 2014, foi observado que a camada de nanotubos de TiO_2 é facilmente removida do substrato (Yu et al., 2014). Como o processo de inserção de implante no osso pode resultar em grande atrito entre o osso e o implante, a camada de nanotubos deve estar suficientemente aderida ao substrato a ponto de não se deslocar durante a inserção, e, só assim, promover a aceleração da osseointegração ao entrar em contato com o sangue e as células ósseas.

Um dos fatores que afeta a adesão dos nanotubos é a cristalinidade da camada de óxido de titânio. A cristalinidade dos nanotubos pode ser controlada

através de diferentes temperaturas de tratamento térmico, resultando em propriedades distintas da camada de óxido de titânio (Yu et al., 2010).

Nesse contexto, a hipótese deste trabalho é que diferentes temperaturas de tratamento térmico após a anodização resultarão em camadas com diferentes cristalinidades, e que conseqüentemente afetarão as propriedades mecânicas e a adesão dos nanotubos ao substrato.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho é avaliar a influência das temperaturas de tratamento térmico nas propriedades mecânicas dos nanotubos de TiO_2 e na adesão dos nanotubos ao substrato.

1.1.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos do trabalho são:

- a) Avaliar as fases cristalinas dos nanotubos de TiO_2 formadas após o tratamento térmico em diferentes temperaturas;
- b) Avaliar o efeito das temperaturas de tratamento térmico nas propriedades mecânicas dos nanotubos de TiO_2 ;
- c) Avaliar o efeito das temperaturas de tratamento térmico na adesão dos nanotubos de TiO_2 .

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TITÂNIO

As propriedades físicas do titânio comercialmente puro (Ti-cp) podem variar de acordo com o grau de impureza de elementos, tais como: oxigênio, ferro, nitrogênio, carbono e hidrogênio. O Ti-cp pode ser classificado em quatro diferentes tipos, de acordo com os traços dos elementos considerados como impurezas (nitrogênio, ferro, oxigênio, carbono e hidrogênio), como indicados na Tabela 1 (ASTM F67-13).

Tabela 1. Valores com formatação adaptada da norma ASTM F67-13.

Valor Mínimo das Propriedades do Ti, de acordo com o grau de pureza.							
Grau	Limites Máximos de impurezas (%)					Resistência à Tração (MPa)	Alongamento (%)
	N	Fe	O	C	H		
Grau 1	0,03	0,2	0,18	0,08	0,01	240	24
Grau 2	0,03	0,3	0,25	0,08	0,01	345	20
Grau 3	0,05	0,3	0,35	0,08	0,01	450	18
Grau 4	0,05	0,5	0,4	0,08	0,01	550	15

A excelente resistência à corrosão do titânio e suas ligas está associada à presença de um filme de óxido superficial com grande estabilidade, denso, contínuo e altamente aderente formado espontaneamente pela reação do titânio com o oxigênio (Textor, 2001). Esta característica permite que o titânio seja usado em diferentes aplicações, desde equipamentos de processamento químico, materiais

para a indústria aeroespacial e automotiva, implantes cirúrgicos e aparelhos protéticos.

2.2 IMPLANTES DE TITÂNIO

O sucesso clínico do titânio e de suas ligas se dá devido às suas propriedades mecânicas, resistência à corrosão e excelente biocompatibilidade e deste modo, estão sendo empregados com grande sucesso no campo dos implantes ortopédicos, cardiovasculares e dentários (Wanget al., 1996). Em função dessas propriedades e características, atualmente, o titânio é o material mais utilizado na fabricação de implantes dentários. Branemark introduziu o uso do titânio em implantes dentários ao mesmo tempo em que crescia o uso do metal em próteses femorais (Branemark, 1969).

Com a apresentação do sistema de implantes Branemark à comunidade científica, a Odontologia possibilitou aos pacientes uma nova alternativa para as reabilitações do sistema que identifica um conjunto de estruturas bucais que desenvolvem funções comuns, os quais melhoraram significativamente a saúde e a qualidade de vida dos pacientes, restabelecendo a função, fonética e estética perdida. No Brasil, os implantes foram introduzidos no final da década de 80, e com o passar dos anos, os implantes tornaram-se cada vez mais acessíveis aos pacientes (do Carmo Filho et al., 2005).

O sucesso clínico de implantes dentários está relacionado à sua osseointegração, conceito biológico que envolve a incorporação de um material instalado ao osso, com fixação e estabilidade quando sujeito à cargas funcionais. Para que a osseointegração em implantes dentários ocorra, deve haver adesão das

células à superfície do material. As características da superfície dos implantes são capazes de modular a adsorção de proteínas nos fluidos dos tecidos. Além da camada de óxido de titânio já presente na superfície dos implantes produzidos em titânio, as características da topografia da superfície são muito importantes para o sucesso clínico dos implantes dentários (Elias et al., 2013).

Após a implantação, os implantes de titânio interagem com os fluidos e tecidos biológicos e podem gerar dois tipos de resposta. O primeiro tipo envolve a formação de uma cápsula fibrosa de tecido mole ao redor do implante, que não assegura a fixação biomecânica adequada e conduz ao fracasso clínico do implante dentário. O segundo tipo está relacionado ao contato direto entre osso-implante sem camada intermediária do tecido conjuntivo. Isto é conhecido como osseointegração.

2.3 PROPRIEDADES DESEJÁVEIS PARA OSSEOINTEGRAÇÃO

Camadas com topografia alterada em nanoescala têm sido propostas com o objetivo de melhorar a interface osso-implante, e conseqüentemente, acelerar o processo de osseointegração. Os implantes produzidos em titânio devem influenciar na formação de uma matriz óssea interfacial, denominada de neo-óssea, com composição, estrutura e propriedades biomecânicas adequadas e semelhantes às da matriz óssea original. Estas adequações permitem a fixação estável entre o osso-implante, e possibilitam aplicação de carga mecânica mastigatória de modo imediato sobre o implante (Mendonça et al., 2011).

Quando um material é inicialmente implantado em um organismo, as proteínas e os fluidos corporais são adsorvidos em sua superfície em menos de um segundo (Shokuhfar et al., 2014). Há vários fatores que afetam a adesão das proteínas e

consequentemente a existência do contato osso-implante, como: composição química da superfície, energia de superfície, hidrofiliabilidade, rugosidade e cristalinidade.

2.3.1 Energia de Superfície

Segundo estudo realizado por Brandão et al. (2010), as características químicas das superfícies dizem respeito à energia de superfície. Uma elevada energia de superfície apresenta melhor molhabilidade e uma maior afinidade por absorção de fluidos que contribuirão para acelerar o processo de osseointegração. Isto determina se a superfície é hidrofílica ou hidrofóbica.

Em testes *in vitro* e *in vivo* observou-se que a proliferação celular de osteoblastos (células responsáveis pela neoformação óssea), é elevada com a molhabilidade da superfície do titânio. (Georgi, et. al., 1996). Além disso, os fibroblastos possuem maior adesão e espalhamento na superfície hidrofílica que na hidrofóbica (Webb, et. al., 1998). Sendo assim, teoricamente, implantes com alta energia de superfície apresentam uma osseointegração maior do que implantes com baixa energia de superfície, devido à maior adsorção de proteínas.

Quanto maior é a energia de superfície de um material, maior é a possibilidade de surgirem reações entre o biomaterial e o tecido vivo circundante através da adsorção de átomos e moléculas (Coutinho et al. 2007; Vitos et al., 1998).

2.3.2 Hidrofiliabilidade

Hidrofiliabilidade é uma importante propriedade de substratos sólidos, governada pela composição química e estrutura geométrica dos mesmos. (Liu et al., 2010). A hidrofiliabilidade de um implante tem sido identificada como um fator importante que pode influenciar a resposta óssea (Buser et al., 2004). Sendo assim,

quanto maior a hidrofiliçidade, maior é a possibilidade de osseointegração, ou seja, moléculas orgânicas (proteínas, lipoproteínas, peptídeos) e inorgânicas (cálcio, fosfato) serem prontamente atraídas do sangue para a superfície do TiO₂, com alto grau de molhabilidade (Buser et al., 2004).

Várias investigações *in vitro* demonstraram efeitos sobre células em termos de ligação, proliferação, diferenciação e a expressão do gene em favor da superfície superhidrófila quando comparadas às superfícies hidrofóbicas de implantes (Jimbo et al., 2008). A partir de investigações *in vivo*, resultados publicados sugerem uma cicatrização óssea acelerada para implantes superhidrofílicos (Hirakawa et al . 2013).

2.3.3 Rugosidade

Em relação às propriedades superficiais, a rugosidade é considerada um dos parâmetros mais importantes para alteração da atividade celular (Lincks et al., 1998), consequentemente, importante para o sucesso clínico de implantes dentários e a formação de contato direto entre osso-implante. A qualidade da interface osso-implante é diretamente influenciada pela rugosidade da superfície do implante (Cooper et al., 2000; Elias et al., 2001).

O nível de rugosidade deve ser controlado devido ao fato das células necessitarem de pontos de ancoragem na superfície do implante para iniciar a proliferação e garantir a fixação. Por um lado, se a superfície possui rugosidade muito menor que o tamanho das células, poderá ocorrer ausência dos pontos de fixação. Por outro lado, se o implante possuir grandes números de picos e/ou vales, mas estes possuem superfícies lisas em relação às células, igualmente, não poderão se fixar.

Vários parâmetros são utilizados para medição de rugosidade superficial. Alguns dos parâmetros de avaliação medem a variação vertical (amplitude do perfil) ou a variação horizontal (espaçamento). Os parâmetros de campo são baseados em estatística, e são utilizados para classificar as médias, desvios e características específicas de uma superfície de mesma escala. Os parâmetros de característica determinam um novo conceito para a textura da superfície e são definidos por meio de subconjuntos de características pré-definidas a partir de uma superfície de mesma escala, usando a segmentação como base para o reconhecimento de padrões. Este conceito dominante permite examinar as características topográficas.

Albrektsson e Wennerberg (2009), determinaram que as superfícies lisas possuem valores de S_a (rugosidade média), menor que $0,5 \mu\text{m}$; superfícies minimamente rugosas foram identificadas com o S_a entre $0,5$ e $1 \mu\text{m}$; superfícies moderadamente rugosas com S_a entre 1 e $2 \mu\text{m}$ e superfícies rugosas com um S_a maior que $2 \mu\text{m}$. Cooper et al. (2000) afirmam que os implantes que apresentam rugosidade em sua superfície melhoram a integração com osso quando comparado a implantes com superfície usinada.

Têm-se estudado em como alterações na superfície podem potencializar a diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos (R. Olivares-Navarrete et al. 2013). Em estudo prévio, observou-se que a combinação do aumento da rugosidade superficial e da hidrofobicidade, interagem sinergicamente para proporcionar diminuição do tempo de cicatrização e aumentar a osseointegração (Hotchkiss et al., 2016).

Zhu et al. (2004) concluíram que as células osteoblásticas aderem mais rapidamente em superfícies rugosas de titânio, onde há proliferação mais acentuada da síntese de matriz extracelular, do que em superfícies lisas. A microrrugosidade

ideal para formação óssea é obtida em implantes moderadamente rugosos, com o R_a igual a $1,5 \mu\text{m}$. (Meirelles, 2010). A rugosidade em nanoescala, por sua vez, tem grande influencia na proliferação celular, pois tem a mesma dimensão dos filopódios (extensões finas de células formadas de fibras de actina, a qual é uma proteína que participa do início da cascata de osseointegração). (Mendonça et al., 2009).

2.3.4 Cristalinidade

O TiO_2 pode apresentar diferentes estruturas cristalinas, podendo também ser amorfo, sendo que as estruturas cristalinas apresentam-se em três fases distintas: anatase (tetragonal), rutilo (tetragonal) e broquita (ortorrômbica). A fase broquita não é interessante para estudos e para outros fins devido à sua grande instabilidade (Costa, et. al., 2006). O rutilo é a forma do titânio mais comum de ser encontrada.

Resultados de Uchida et al. (2003) mostraram que a fase anatase apresenta uma elevada capacidade de formação de hidroxiapatita. A hidroxiapatita (HA) representa de 30 a 70% da massa dos ossos e dentes e é o principal constituinte mineral destas estruturas (Rigo et. al., 2007). A HA possui propriedades de biocompatibilidade e bioatividade. Desta forma, favorece o crescimento ósseo nos locais onde se encontra (osseocondutividade), estabelece ligações de natureza química entre ela e o tecido ósseo (bioatividade), permitindo assim, a proliferação das células ósseas (osteoblastos, fibroblastos e outras).

No que se refere a nanotubos de TiO_2 , a cristalização das camadas ocorre a partir de um tratamento térmico posterior à anodização. Dependendo das condições de tratamento térmico, a estrutura cristalina resultante pode ser anatase, rutilo, ou a mistura das duas fases.

Okada et al. (2012) relataram que o TiO_2 pode ser transformado em anatase ($300^\circ\text{C} - 500^\circ\text{C}$) ou rutilo ($> 550^\circ\text{C}$) através da realização de tratamento térmico. Zhao et al. (2007) realizaram experimentos com amostras de titânio comercialmente puro, anodizadas, e então tratadas termicamente entre 300°C e 700°C durante 3 horas. Neste estudo, foi observado que a formação de anatase cristalina ocorre a partir de 300°C . Em torno de 480°C o rutilo começa a nuclear e o filme de óxido passa a ser constituído das fases rutilo e anatase. Acima desta temperatura a fase anatase se transformou na fase rutilo gradualmente.

Fang et al. (2011) observaram que em temperaturas maiores que 600°C a célula unitária do rutilo é maior que a parede do nanotubo (Figura 1), o que faz com que haja a fratura dos nanotubos após tratamento térmico em temperaturas em que haja prevalência da fase cristalina rutilo. E relacionando cristalinidade com energia de superfície, no caso de cristais de anatase, a energia de superfície é mais baixa do que para o rutilo (Zhao et al., 2007).

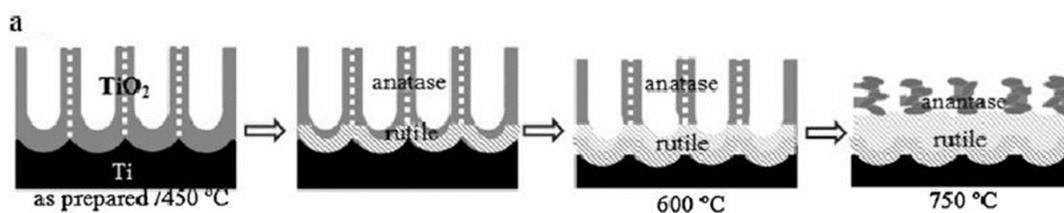


Figura 1: Camada de nanotubos de TiO_2 após diferentes temperaturas de tratamento térmico. (Fang et al., 2011)

2.3.5 Morfologia

Com o intuito de maximizar a quantidade e qualidade da interface osso-implante, inúmeras alterações de superfície têm sido propostas, na sua maioria baseadas na teoria de que uma melhor e mais rápida osseointegração pode ser

alcançada através da alteração da topografia ou rugosidade do implante (Klokkevold et al., 1997).

Os eventos celulares que ocorrem após a adsorção de proteínas na superfície incluem a formação de ligações entre os receptores de superfície celular e os grupos funcionais de proteínas (Massia et al., 1999).

A osseointegração é alcançada por uma ligação entre a superfície do implante e o tecido ósseo (Junker et al., 2009). A resposta de osteoblastos a implantes de titânio depende não apenas da característica química da superfície, mas também das propriedades físicas, como a microtopografia e a rugosidade. Autores demonstraram que a topografia da superfície de implantes influencia a expressão gênica em osteoblastos, resultando em diferentes respostas celulares (Perrotti et al., 2013).

2.4 MODIFICAÇÕES DE SUPERFÍCIE

A camada amorfa de TiO_2 formada espontaneamente sobre o titânio não tem a capacidade de estimular a osseointegração, ou seja, não é bioativa (Kim et al., 2009). Portanto, é necessário produzir modificações na camada de óxido para estimular o crescimento de tecido ósseo em sua superfície.

Esses tratamentos superficiais alteram as propriedades descritas anteriormente, como a composição, estrutura e morfologia da superfície, enquanto as propriedades do interior do material permanecem inalteradas. Um tratamento superficial adequado forma uma camada passiva estável com propriedades essenciais, tais como rugosidade, módulo de elasticidade adequado e molhabilidade (Cassinelli et al., 2003; Hanawa et al., 2011; Minagar et al., 2012), resultando em maior área de contato osso-implante após o período de osseointegração,

principalmente menos estáveis e mais porosos, onde o sucesso da osseointegração é mais crítico (Romanos et al., 2002).

Para melhorar a osseointegração de implantes, vários tratamentos têm sido desenvolvidos para modificar a composição química da superfície, propriedades físicas e topografia. Alguns dos tratamentos mais utilizados são plasma *spray*, laser, jateamento e ataque ácido, e oxidação anódica.

Elias et al. (2008) avaliaram a osseointegração do titânio em função das características superficiais após submetidas a alguns tratamentos comercialmente disponíveis:

- **Superfície usinada**: Permite o processo de mineralização do osso em direção ao implante, mas não possui uma superfície que induz crescimento ósseo;
- **Superfície de *plasma spray***: Caracteriza um tratamento de superfície que forma uma macro-rugosidade, com padrões regulares de rugosidade de 10 – 11,6 μm (Gaggl et al., 2000). A osseointegração é mais rápida do que para os implantes sem tratamento de superfície (Sul et al., 2002);
- **Superfície tratada a laser**: É um método que produz, com um alto grau de pureza, rugosidade eficiente para uma boa osseointegração (Gaggl et al., 2000; Traini et al., 2008).
- **Superfícies tratadas com ácido**: Os ácidos mais comumente utilizados são: o fluorídrico (HF), o nítrico (HNO_3), o sulfúrico (H_2SO_4), e o clorídrico (HCl), ou a combinação de alguns destes, e é realizado para homogeneizar a superfície e remover resíduos das partículas do jateamento (Dohan Ehrenfest et al., 2010). São superfícies que apresentam uma morfologia superficial que varia com as condições de tratamento (tipo de ácido, tempo de ataque químico,

temperatura, etc). Através do ataque ácido é possível controlar a rugosidade, o número e tamanho da distribuição porosa em micrômetros e em escalas nanométricas;

- **Superfície jateada**: O jateamento com partículas de vários diâmetros é outro método frequentemente utilizado. Este altera a morfologia da superfície do implante, a fim de se obter uma macrotextrização superficial. A superfície do implante é jateada por partículas, como sílica, óxido de alumínio (Al_2O_3), óxido de titânio (TiO_2) e vidro, criando, por meio de abrasão, uma superfície com ranhuras irregulares, que variam de acordo com o tamanho e a forma das partículas e também de parâmetros de jateamento, como pressão, distância do bico do jato à superfície e tempo de jateamento. A rugosidade média (S_a) pode variar entre 1,15 e 1,77 μm (Ivanoff et al., 2001). A rugosidade da superfície depois do jateamento é mais rugosa do que após tratamento de ataque ácido;
- **Superfície com oxidação eletrolítica**: É o tratamento, que dependendo das condições utilizadas, pode proporcionar uma camada de óxido compacta e espessa. Dentre as técnicas de modificações da superfície de implantes de titânio, a oxidação por micro-arco (*MAO, micro-arc oxidation*) se destaca por sua capacidade de produção de camadas de óxido de titânio com características controláveis, com alta adesão ao substrato de metal (Sul et al., 2002). É baseada na oxidação convencional de metais em soluções aquosas de eletrólitos em uma condição de descarga do plasma, que excede os valores críticos de potencial de polarização. Essa condição de oxidação causa a ruptura dielétrica do filme de óxido formado, gerando altas temperaturas localizadas, observáveis pela formação de faíscas (*sparks*) (Yerokhin et al.,

1999; Laurindo et al., 2014). Ocorre então a fusão e solidificação do metal e a reação com os íons presentes no eletrólito, formando o óxido e incorporando os íons de interesse, como por exemplo, o Ca e o P (Zhu et al., 2004).

- **Superfície anodizada para formação de nanotubos:** Utilizando anodização com baixas tensões aplicadas, e incluindo íons fluoreto no eletrólito formam-se os nanotubos. Yang et al. (2009) obteve uma camada nanométrica de TiO₂, a qual melhorou significativamente a coagulação do sangue e de proliferação de células. Devido à simplicidade de fabricação das superfícies nanoestruturadas as mesmas ganham grande destaque no âmbito ciência (Balaur et al., 2005). A síntese de óxido de titânio nanoestruturado por meio de oxidação anódica para aplicações biomédicas foi investigada por vários autores, devido às suas características de grande área de superfície, biocompatibilidade e propriedades bioativas, não toxicidade, resistência à corrosão e as propriedades mecânicas adequadas (Reclaru et al. 2003; Schmidt-Stein et al., 2010; Munirathinam et al. 2015). Outros autores também têm observado diferença na resposta inflamatória que resulta em aumento da osseointegração (Jang et al., 2015; Lü et al., 2015) e maior estabilidade de implantes (Jang et al., 2015) com superfície de nanotubos quando comparados a outras superfícies.

2.4.1 Produção de nanotubos de TiO₂ por anodização

Anodização é uma das formas mais simples para produzir nanoestruturas ordenadas na superfície de titânio (Chanmance et al., 2007). É uma técnica que pode, sob as condições ideais, resultar em sistemas nanométricos altamente ordenados (Macak et al., 2007).

A anodização é realizada através da utilização de um ânodo de titânio e um cátodo de platina, prata ou aço inoxidável (Figura 2), com o objetivo de produzir uma camada de óxido estável e biocompatível sobre a superfície do substrato (Tsuchiya et al., 2005; Chanmance et al., 2007). Quando uma corrente ou tensão é aplicada entre o ânodo e o cátodo, as reações de oxidação e redução, em combinação com a difusão de íons orientada pelo campo elétrico que é estabelecido, resultam na formação de uma camada de óxido na superfície do ânodo (Brunette et al., 2001).

O processo de anodização pode ser feito principalmente pelos seguintes modos: potenciostático (tensão constante), e galvanostático (corrente constante) e um modo de crescimento conjunto, no qual uma corrente constante passa pelo eletrólito até que o potencial do anodo atinja um valor predefinido, o qual é mantido por determinado período (Mantzila et al., 2005).

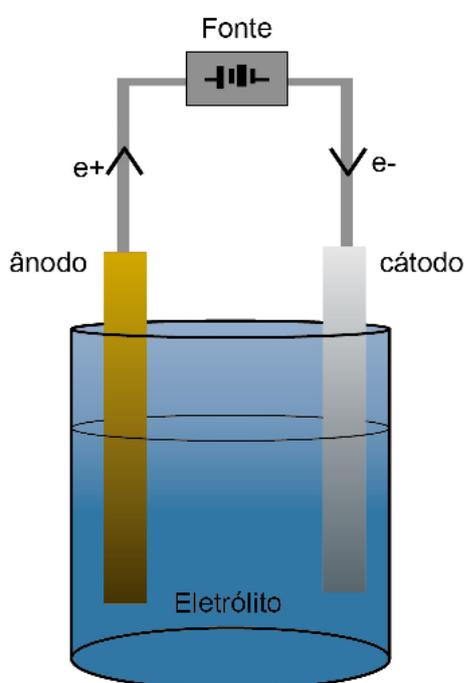


Figura 2. Esquema simplificado de anodização.

A anodização para formar nanotubos é geralmente realizada pela aplicação de uma tensão constante entre 10-30 V em um eletrólito à base de água, ou 5-150 V em eletrólitos à base de glicerol, contendo aproximadamente 0,1 a 1 % peso de íons de flúor. Enquanto o tempo de anodização e a composição do eletrólito definem o comprimento dos tubos, o diâmetro é controlado pela tensão aplicada e a espessura de parede do tubo pelo pH (Roy et al., 2011).

Oh et al. (2006) estudaram o efeito dos nanotubos de TiO_2 no comportamento *in vitro* de superfícies modificadas em escala nanométrica, e observaram um aumento significativo da adesão de osteoblastos.

A primeira pesquisa que apresentou a produção de óxido de titânio nanométrico por anodização foi reportada por Zwilling et al. (1999). Os autores utilizaram um eletrólito de ácido crômico contendo ácido fluorídrico, e reconheceram que pequenas quantidades de íons de flúor adicionados ao eletrólito são essenciais para a formação de estruturas organizadas de óxido de titânio. Resultados de Gong et al. (2001) mostraram que eletrólitos contendo componentes à base de flúor tais como HF, KF, NaF e NH_4F produzem camadas de nanotubos de TiO_2 . Esses resultados deram início a uma intensa pesquisa sobre esse tipo de material e impulsionaram a publicação de inúmeros de trabalhos relacionados à produção e aplicação de nanotubos de TiO_2 , não somente como biomateriais, mas também nas áreas de fotocatalise, fotoeletrocatalise, sensores e células solares (Brammer et al., 2009; Roy et al., 2011).

Brammer et al. (2011) definiram o mecanismo de formação dos nanotubos de TiO_2 de uma forma sistemática a partir de oxidação anódica em eletrólitos a base de íons flúor apresentado como:

- Antes da anodização, uma camada passiva de TiO_2 ;

- Quando a tensão constante é aplicada, um “poço” é formado na camada de TiO₂;
- À medida que o tempo de anodização aumenta, o poço cresce e então começam a se formar os nanoporos;
- Nanoporos e poços pequenos passam pela formação de barreira contínua;
- Com o tempo de anodização, os nanotubos são formados por completo na superfície do titânio.

Macak et al. (2007) demonstram esquematicamente a formação dos nanotubos de TiO₂ a partir da figura (Figura 3) abaixo:

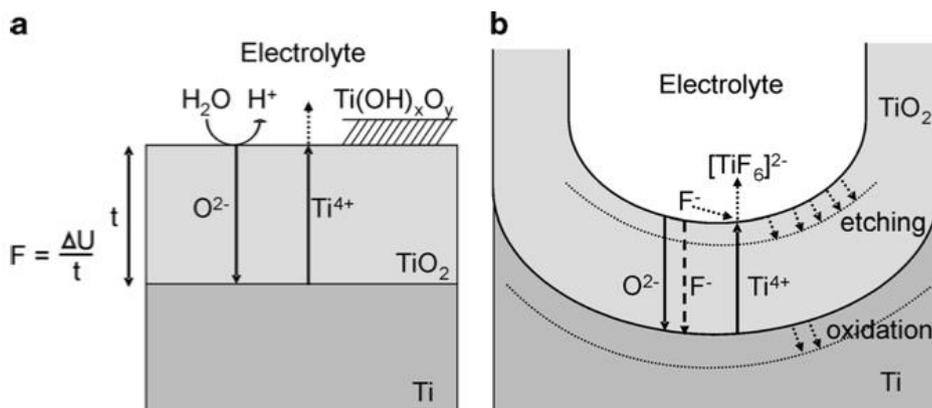


Figura 3. Formação dos Nanotubos de TiO₂. Fonte: Macak et al., 2007.

No início do processo, no qual a tensão está promovendo a ionização, o substrato está imerso no eletrólito e, ainda, não sofreu influência do mesmo. Com o aumento dos íons OH⁻ na solução aquosa, é promovido o crescimento anódico de óxidos na superfície do metal e ganho adicional pelo movimento de íons O²⁻ e Ti⁴⁺ no óxido em crescimento (Macak et al., 2007).

Os nanotubos de TiO₂ produzidos por anodização são geralmente amorfos, e podem ser convertidos nas fases cristalinas anatase ou rutilo após tratamento térmico. Resultados de Yu et al. (2010) mostraram que a estrutura dos nanotubos é

afetada quando tratada termicamente em temperaturas acima ou igual a 650 °C. A fase anatase é obtida a 450 °C, e uma mistura das duas fases (anatase e rutilo) a 550 °C.

Resultados da literatura mostram que camadas de nanotubos de TiO₂ apresentam melhora na hidrofiliabilidade, adesão dos osteoblastos e adsorção de proteínas. Além disso, a adesão da camada de nanotubos de TiO₂ com o substrato foi avaliada por Xiong et al. (2011), e verificaram que houve melhora significativa após as amostras serem tratadas termicamente a 500 °C durante 5 e 10 h.

2.4.2 Propriedades mecânicas e adesão de nanotubos de TiO₂

As propriedades mecânicas dos materiais são cruciais para o sucesso de sua aplicação (Katz et al.1996; Crawford et al., 2007). Em especial, para materiais de implantes ósseos, nos quais a estabilidade estrutural *in vivo* a longo prazo é de extrema importância. A reabsorção óssea ocorre muitas vezes devido à incompatibilidade das propriedades mecânicas, tais como o módulo de elasticidade, entre o osso e o material de implante, causando a perda do implante por possível falha de osseointegração (Huiskes et al., 1992).

Caracterização mecânica de filmes finos, como camada de nanotubos de TiO₂ é um desafio, devido às pequenas escalas de espessura envolvidas. Considerando este desafio, a nanoindentação é uma técnica adequada para estes materiais, devido à sua baixa carga (mN) e pequeno deslocamento (1 nM) de resolução (Oliver e Pharr et al., 1992).

Crawford et al. (2007) conduziram uma investigação sistemática da microestrutura e comportamento mecânico de filmes de nanotubos, com o objetivo

de fazer uma relação entre caracterização microestrutural e comportamento de deformação por nanoindentação do filme de nanotubos de TiO_2 sobre substrato de titânio.

Como já foi dito, uma propriedade importante é o módulo de elasticidade da camada de nanotubos. O mesmo desempenha um papel importante na estabilidade a longo prazo dos implantes. A nanoindentação é a técnica mais adequada para determinar o módulo de elasticidade dos filmes finos (Santos et al., 2014). Recentemente, Xu et al (2015) estudou as propriedades de nanotubos de TiO_2 por nanoindentação, e concluíram que a resposta dos nanotubos ao carregamento depende fortemente do tipo de indentador utilizado. Um indentador do tipo Berkovich gera mais fratura lateral dos nanotubos que um indentador cônico, o qual gera mais densificação dos nanotubos sob compressão.

Conforme citado no item 2.4.1, no que diz respeito à adesão, camadas de nanotubos de TiO_2 produzidas por Xiong et al. (2011) apresentaram má aderência ao substrato quando avaliadas pela escala HF (indentação Rockwell C), mas quando submetidas a tratamento térmico, melhoraram a adesão ao substrato. A temperatura definida no estudo citado, só apresentava uma temperatura de tratamento térmico (500 °C), e, portanto, não foi avaliado o efeito das diferentes fases cristalinas devido ao tratamento térmico na adesão os nanotubos.

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Placas (Acnis do Brasil) e implantes (Neodent – Alvim Ø4.3 x 13 mm) de titânio comercialmente puro grau 4, sem tratamento de superfície prévio, foram utilizados

como substrato para o crescimento de camadas de nanotubos de TiO_2 (Figura 4). As placas com a dimensão de $30 \times 20 \times 1 \text{ mm}^3$ foram lixadas com lixas de SiC de granulometria #1200, limpas em banho ultrasônico em acetona, álcool isopropílico e água deionizada (diH_2O), por 10 minutos em cada banho. A anodização foi realizada em uma célula convencional com dois eletrodos, sendo o contra-eletródo de platina. As amostras foram anodizadas utilizando uma fonte de tensão programável (Chroma 600-8P), usando um eletrólito contendo 79,3 %vol. de DEG (Dietileno-glicol), 20 % vol. de diH_2O e 0,7 %vol. de HF (ácido fluorídrico), no método potencioestático com tensão de 60 V e tempo de oxidação de 6 horas. Após a anodização, as placas e os implantes foram limpos com água deionizada (Figura 5). Essas condições de anodização foram escolhidas com base em resultados prévios obtidos por nosso grupo de pesquisa.

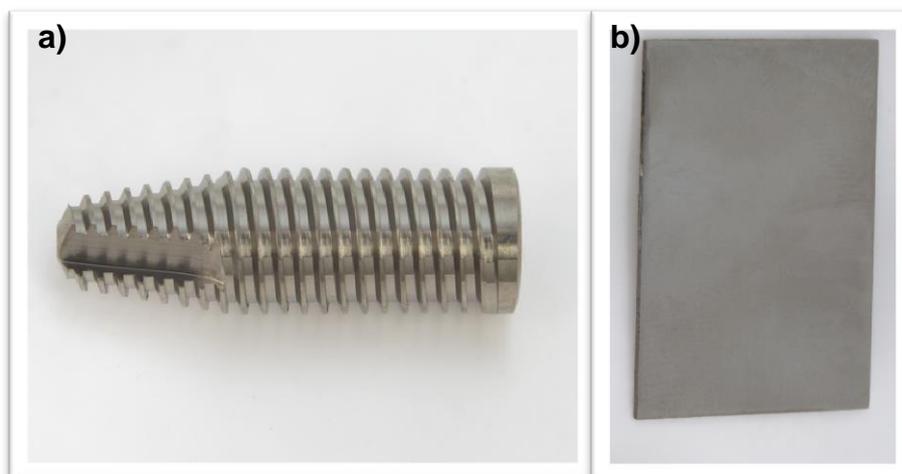


Figura 4. (a) Implante e (b) placa em titânio grau 4 utilizado como substrato para crescimento.



Figura 5. Placa e Implante em titânio, após anodização 60V – 6h.

3.2 TRATAMENTO TÉRMICO

A fim de verificar o efeito do tratamento térmico nas propriedades da camada de nanotubos, as amostras foram tratadas termicamente a 300 °C, 400 °C, 530 °C, 600 °C e 700 °C pelo tempo de 10 horas, utilizando um forno tipo mufla (EDG 3000), com rampa de aquecimento com velocidade de 2°/min.

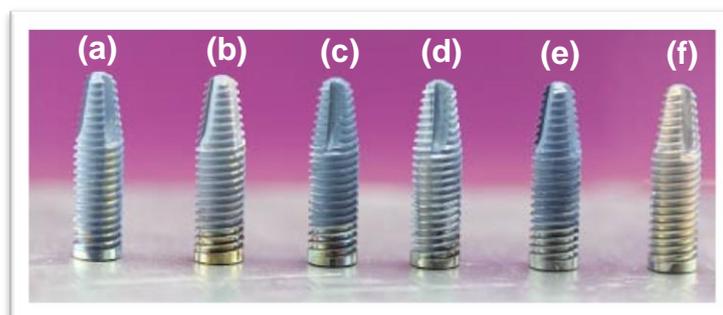


Figura 6. Aspecto dos implantes em titânio, após anodização 60 V por 6 h e com tratamento térmico por 10 h nas temperaturas de: (a) Sem tratamento térmico (S/T.T.); (b) 300 °C; (c) 400 °C; (d) 530 °C; (e) 600 °C; (f) 700 °C.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

3.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para caracterização morfológica da camada de nanotubos, foi utilizado o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV - Tescan Vega 3). O objetivo da técnica foi analisar a morfologia da superfície das amostras anodizadas, a homogeneidade da camada de nanotubos formada inicialmente e verificação após os tratamentos térmicos propostos, além de visualizar a superfície das placas e implantes após os ensaios realizados. Nas técnicas de Indentação Rockwell C e *Scratch Test*, o MEV auxiliou na verificação de trincas e possíveis deslocamentos posteriores às indentações. Após a inserção dos implantes em poliuretano foi possível observar a superfície dos mesmos após inseridos e possibilitou a avaliação da integridade da camada de nanotubos.

3.3.2 Microscopia Ótica

Para avaliação por meio da escala HF, da Indentação Rockwell C, foram realizadas imagens com o Microscópio Ótico Zeiss Imager.A1m, do Laboratório Integrado de Materiais (LIM) da Empresa de Implantes Dentários - Neodent. Foram realizadas imagens com ampliação de 100 x.

3.3.3 Ensaios de Difração de Raios-X

Para determinação das estruturas cristalinas formadas em cada tratamento térmico, foi utilizada a técnica de difração de raios-X (DRX) utilizando um equipamento Shimadzu XRD-7000, operando na geometria de filmes finos. A análise foi feita utilizando uma fonte de radiação de $\text{CuK}\alpha$, na região de 20 a 80°, ângulo de incidência de 5°, e velocidade de varredura de 2 °/min. Os difratogramas foram

indexados usando o software Match! (Versão 3.0) com os padrões do ICDD No. #21-1272 para a fase anatase, #21-1276 para o rutilo, e #44-1294 para o titânio.

3.3.4 Nanoindentação

Estudar dureza em superfícies modificadas muito finas ou revestidas com filmes finos requer a aplicação de pequenas cargas para que o campo de deformação plástica causado não atinja o substrato. (Souza et al., 2001).

O nanoindentador mede continuamente a carga, o deslocamento e o tempo. Relacionando-se essas grandezas através de um algoritmo próprio do nanoindentador, determina-se a dureza e o módulo de elasticidade do material do material da amostra (Oliver e Pharr et al., 1992). Neste ensaio as cargas aplicadas são entre 10 μN e 400 mN, com resolução de 500 nN, e a profundidade alcançada pela ponta pode ser medida com precisão de 0,04 nm. Com isso é possível determinar as propriedades mecânicas em superfícies modificadas ou filmes finos. A Figura 7 ilustra o funcionamento da técnica de nanoindentação.

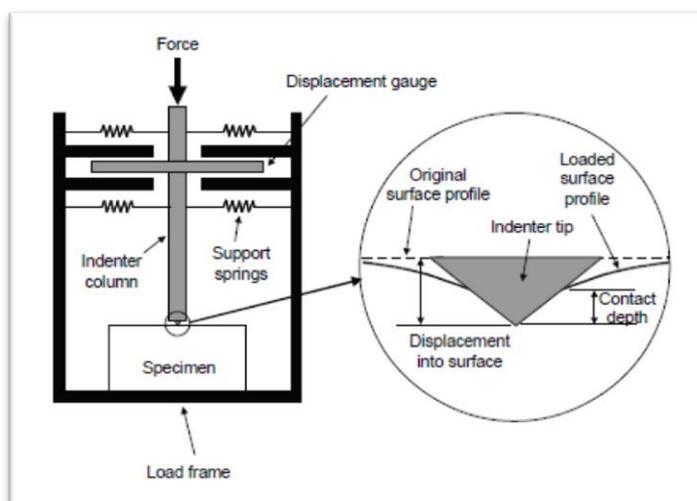


Figura 7. Efeito da carga do nanoindentador na superfície da amostra. Fonte: Göpferich et al., 1996.

Durante o carregamento, a ponta de diamante penetra no material, e ocorre o registo dos valores de carga aplicada e da profundidade de penetração.

Quando a carga máxima é aplicada, cria-se a profundidade de indentação h , como pode ser visto na Figura 8. J a a terceira etapa (descarregamento) deixa a altura h_f na superfície da amostra, que representa a deforma o plástica residual, ou seja, a diferença entre h e h_f pode ser considerada a deforma o elástica do material da amostra, j a que esta região retrocede a sua forma original.

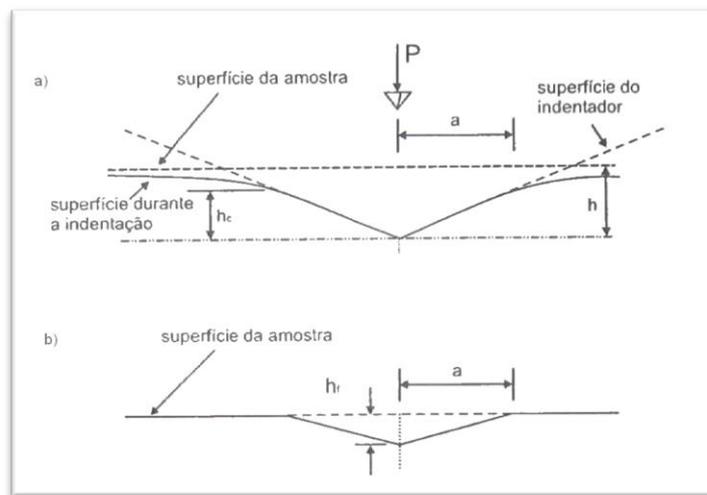


Figura 8. Perfil da Indenta o. Fonte: Adaptado de Oliver e Pharr, 2004.

Também   possível obter curvas de carga em fun o da profundidade, podendo assim, analisar o comportamento elástico-plástico do material, como mostra a Figura 9.

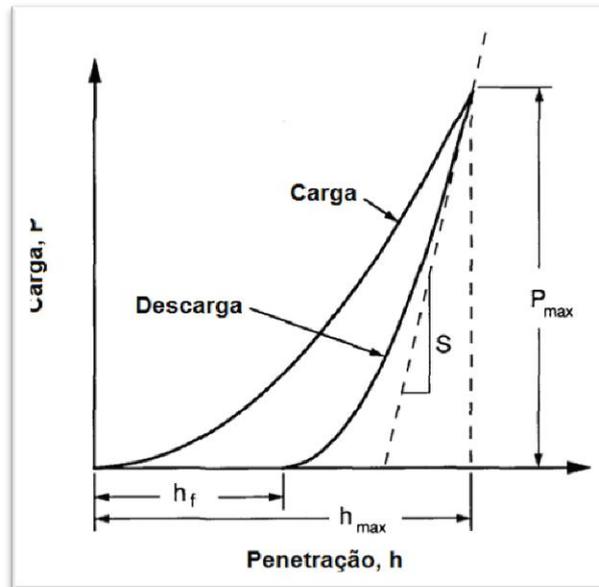


Figura 9. Representação esquemática do resultado Carga X Penetração. Adaptado de Oliver e Pharr, 2004.

A caracterização das propriedades mecânicas da camada de nanotubos foi realizada utilizando um nanoindentador (Nanoindenter XP), do LabNano – Laboratório de Propriedades Nanomecânicas de Superfícies e Filmes Finos da Universidade Federal do Paraná, a fim de avaliar a influência das fases cristalinas nas propriedades mecânicas da camada de nanotubos de TiO_2 . A dureza e o módulo de elasticidade foram calculados através do método de Oliver e Pharr (Oliver; Pharr, 2004). Os ensaios de nanoindentação fora

m realizados com uma ponta Berkovich, com 10 ciclos de carregamento-descarregamento, e carga máxima de 100 mN. Foram realizadas 12 indentações por amostra tratadas em diferentes temperaturas.

3.3.5 Scratch Test (Ensaio de Risco)

Com o objetivo de avaliar qualitativamente a adesão da camada de nanotubos, foi realizado Ensaio de *Scratch Test*, utilizando um Nanoindentador. Utilizou-se a ponta de diamante tipo Berkovich, a qual consiste numa pirâmide de base triangular. Uma carga é aplicada, de modo progressivo e com profundidade controlada.

Através do risco realizado por esse tipo de ensaio, é possível avaliar visualmente a qualidade do filme formado. Um filme com boa adesão ao substrato não demonstra deslocamento ou exposição ao substrato.

Para realização do ensaio de risco, foi utilizado o Nanoindenter XP. Foram realizados três riscos de 1000 μm de comprimento e carga crescente de 0 a 100 mN e um risco de 1000 μm de comprimento e carga crescente de 0 a 400 mN, em velocidade constante, em cada uma das amostras representativas de cada grupo avaliado.

3.3.6 Escala HF (Método Daimler-Benz)

A adesão das camadas de nanotubos foi investigada qualitativamente usando um teste Rockwell C (indentação gerada com carga e tempo de aplicação padrão Rockwell C) e avaliada de acordo com a norma VDI 3198 (Método Daimler-Benz).

Uma ponta cônica Rockwell C foi indentada nas camadas de nanotubos induzindo o cisalhamento na interface da camada de nanotubos / substrato. A adesão das camadas foi avaliada através da escala HF a qual é determinada pela comparação dos danos de qualidade de adesão definida por HF 1 - HF 6 (Figura 10). De acordo com a norma VDI 3198, as escalas HF 1 - HF 4 representam uma boa aderência com trincas menores ou delaminação da camada de revestimento,

enquanto HF 5 e HF 6 indicam má aderência com grande área de delaminação do revestimento em torno do entalhe.

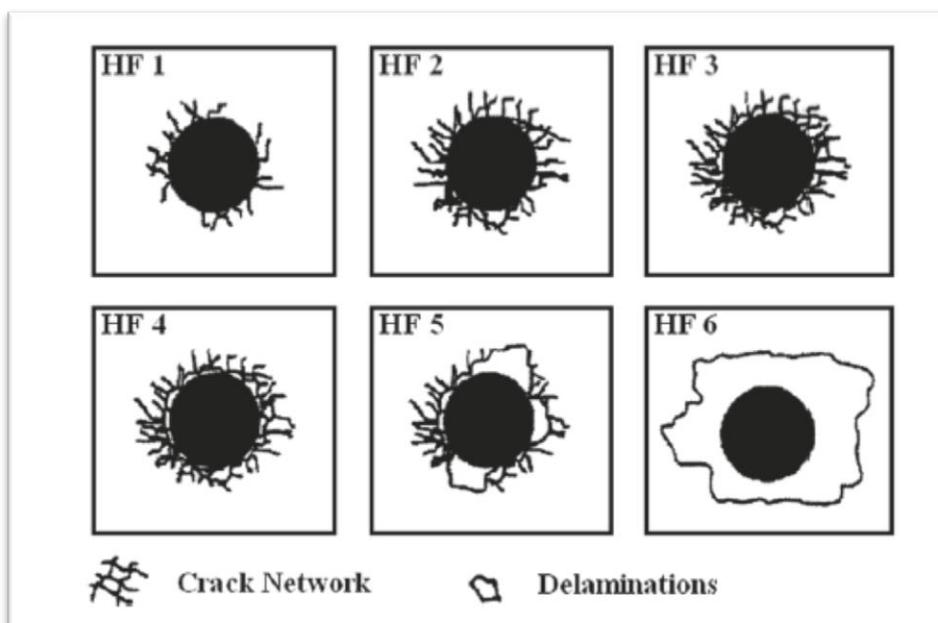


Figura 10. Escala HF baseada na Norma VDI 3198.

O teste Rockwell C foi realizado utilizando o Durômetro Mitutoyo Hardness Tester 963-102, do Laboratório Integrado de Materiais (LIM), da empresa Neodent. Foram realizadas cinco indentações em cada uma das amostras representativas de cada grupo avaliado.

As imagens resultantes das indentações foram analisadas em Microscópio Eletrônico de Varredura e Microscópio óptico.

3.3.7 Inserção em Poliuretano

Com referência à norma ASTM F1839, que contém os requisitos destinados a especificar tecnicamente um material consistente e uniforme, com propriedades equivalentes a de osso humano, o rosqueamento foi realizado em blocos de Poliuretano *Sawbones* (10 Pcf – unidade utilizada para quantificar a densidade do

material “*Pound per cubic*”) (Wu et al., 2012). Em função de suas características, podem ser utilizados como base de teste para avaliação da adesão da camada de nanotubos de TiO₂, quando em situação equivalente a implantes dentários quando inseridos em ossos maxilares. A figura abaixo (Figura 11) mostra um esquema simplificado da inserção em dois formatos de roscas de implantes.

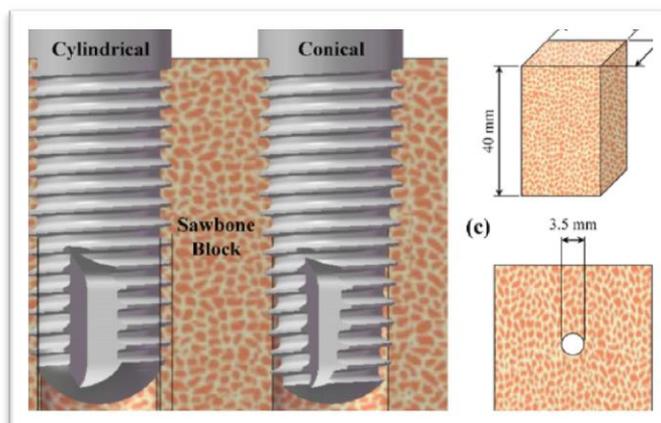


Figura 11. Exemplo de inserção em Poliuretano Sawbones. Fonte: Wu et al., 2012.

Para simular um processo cirúrgico, foi realizado ensaio de inserção em polímero com densidade e microestrutura similar ao osso maxilar. Implantes modelo Alvim (3.75 x 13mm Lote: 12.135), usinados foram utilizados como corpos de prova. Após a anodização, os Implantes Neodent foram inseridos em blocos de Poliuretano Sawbones (Figura 12) com densidade de 10 Pcf. O poliuretano foi cortado e retirado o implante do seu interior (Figura 13). Com isso, foi feita avaliação da superfície dos implantes em Microscópio Eletrônico de Varredura quanto à adesão da camada de nanotubos.

Para auxiliar na inserção dos implantes, foi utilizado um dispositivo associado a um motor, que controla direção, velocidade e torque de inserção.

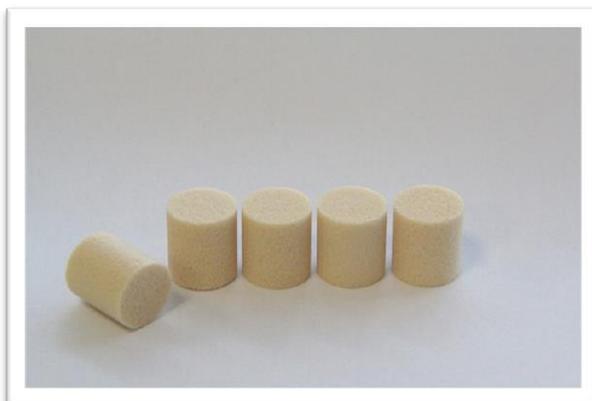


Figura 12. Poliuretano Sawbones cortados em cilindros.



Figura 13. Poliuretano Sawbones cortado com implante após inserção.

4. RESULTADOS

4.1 MORFOLOGIA

A camada de nanotubos de TiO_2 produzida por meio de anodização proposta neste estudo, associada a diferentes tratamentos térmicos, resultou na formação de nanotubos sobre placas (Figura 14 e Figura 15) e implantes (Figura 16 à Figura 21) de Titânio CP Grau 4, para todas as condições avaliadas.

4.1.1 Nanotubos de TiO_2 em placas em titânio

A Figura 14 mostra a camada de nanotubos de TiO_2 produzidos na placa de Ti, com tensão de 60 V durante 6 h, antes do tratamento térmico. Podemos observar uma camada homogênea de nanotubos cobrindo toda a superfície da placa de Ti.

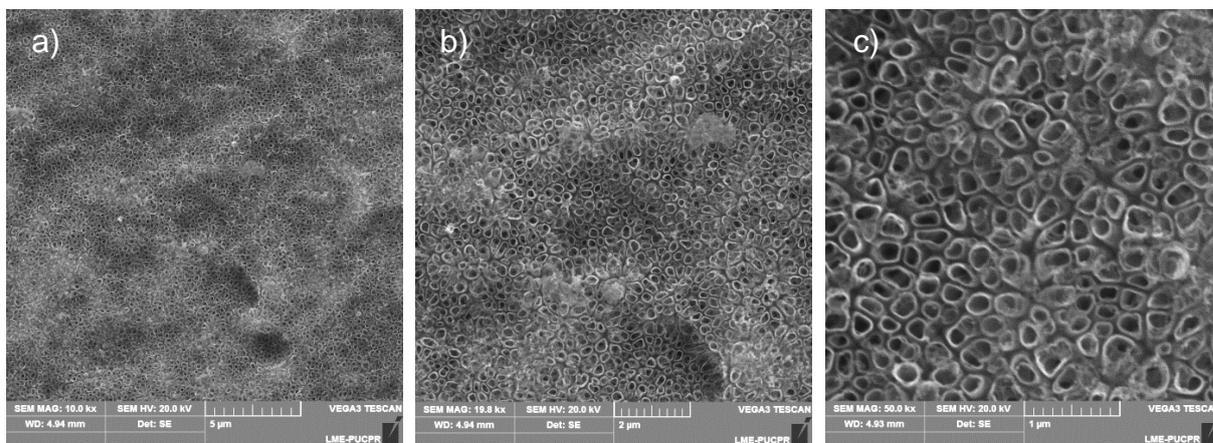


Figura 14. Imagens da superfície das placas com diferentes aumentos, após anodização 60V (6h). Aumento de 10k (a), Aumento de 20k (b), Aumento de 50k (c).

A Figura 15 mostra a morfologia dos nanotubos de TiO_2 após o tratamento térmico nas diferentes temperaturas. Podemos observar há similaridade entre os nanotubos tratados em 300 a 600 °C. Entretanto, para a amostra tratada a 700 °C (Figura 15d) podemos observar o aparecimento de cristais de rutilo, e a degradação dos nanotubos.

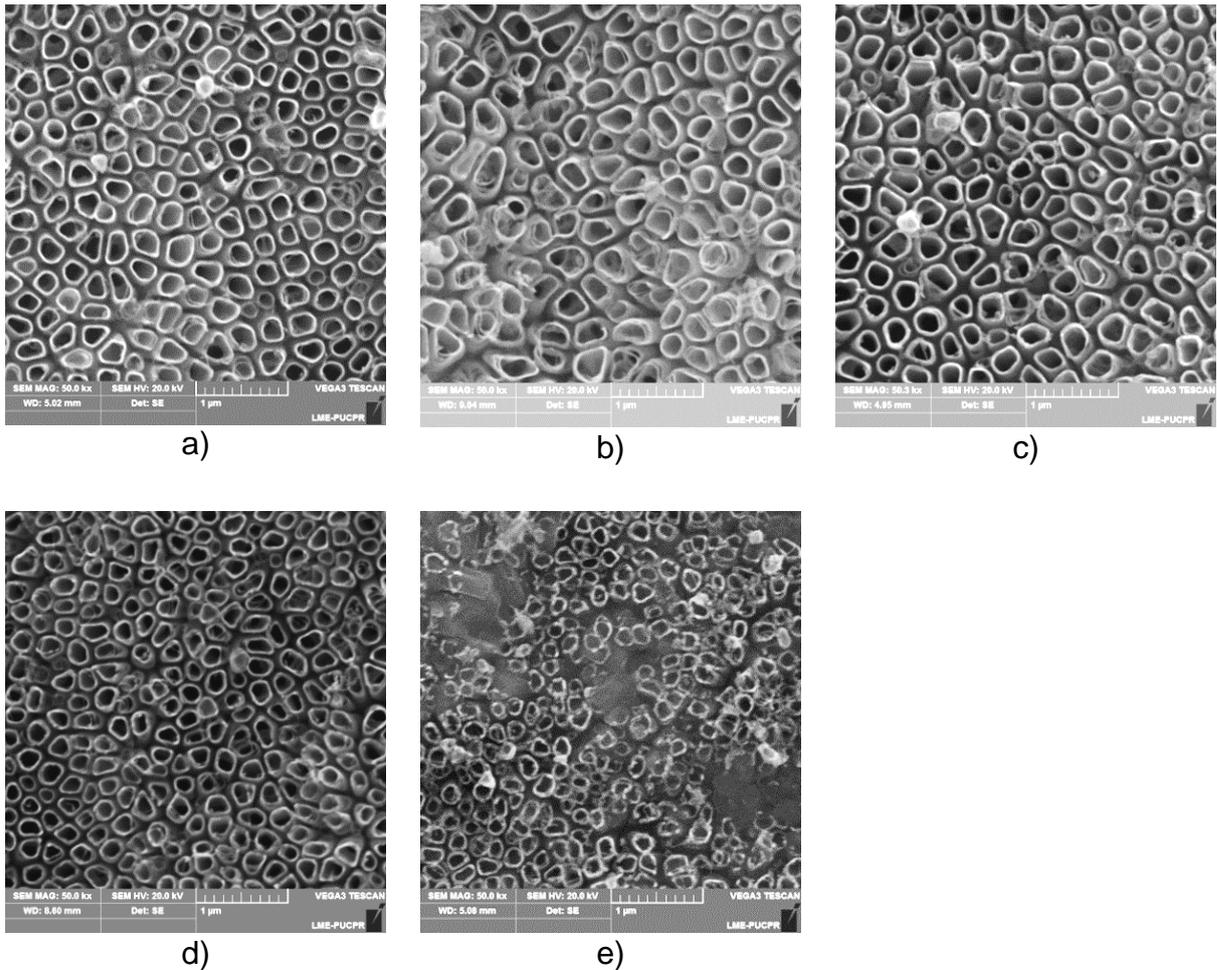
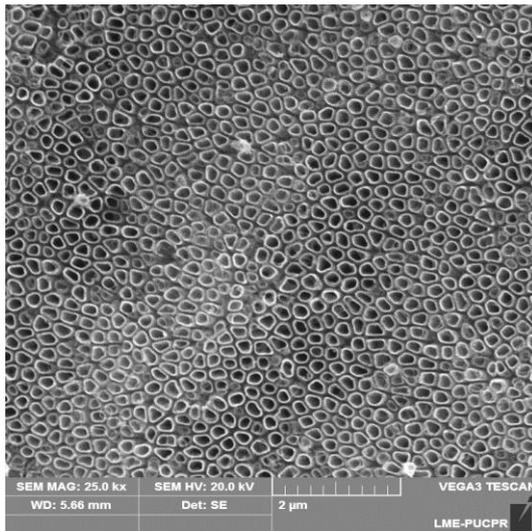


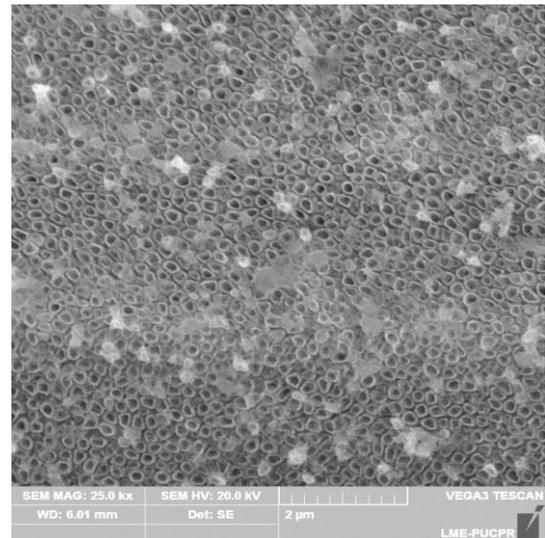
Figura 15. Imagens da superfície das placas após anodização 60 V / 6 h e posterior tratamento térmico nas temperaturas: (a) 300 °C, (b) 400 °C, (c) 530 °C, (d) 600 °C e (e) 700 °C.

4.1.2 Nanotubos de TiO_2 em implantes em titânio

A figura abaixo (Figura 16) mostra as imagens dos nanotubos de TiO_2 produzidos nos implantes antes do tratamento térmico. A Figura 16a mostra os nanotubos no topo da rosca na região central do implante, e a Figura 16b, mostra os nanotubos no fundo da rosca. Podemos observar que os nanotubos são similares nas duas regiões do implante, e que a geometria da rosca não afeta a morfologia dos nanotubos. Na Figura 16b, pode-se observar que o processo de dissolução do óxido não ocorre de forma homogênea (pontos brancos na imagem), em função da falta de mobilidade do eletrólito.



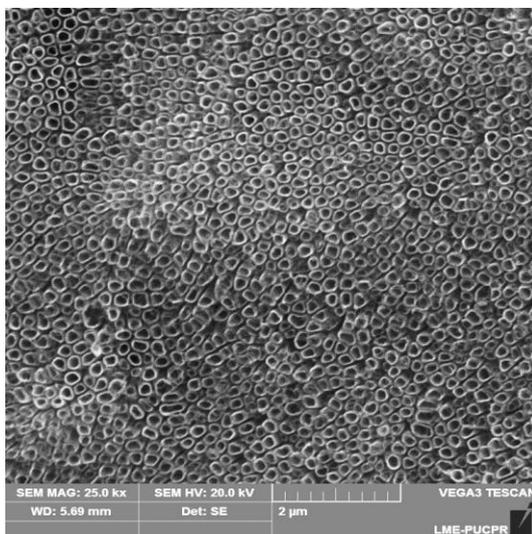
a)



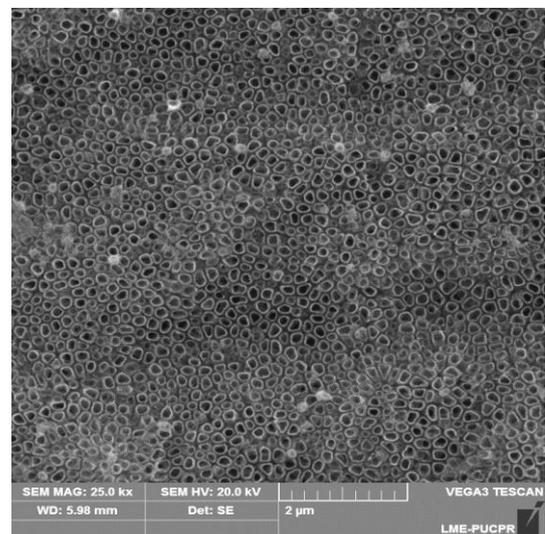
b)

Figura 16. Imagens da superfície dos implantes, com aumento de 25Kx, após anodização a 60 V por 6 h. A imagem (a) mostra o topo de rosca dos implantes, e a imagem (b) mostra o fundo de rosca dos implantes.

As figuras a seguir (Figura 17 à Figura 20) mostram os nanotubos de TiO_2 obtidos nos implantes e submetidos às diferentes temperaturas de tratamento térmico.

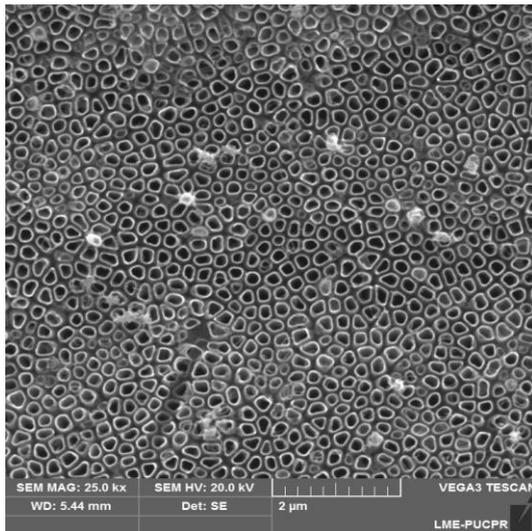


a)

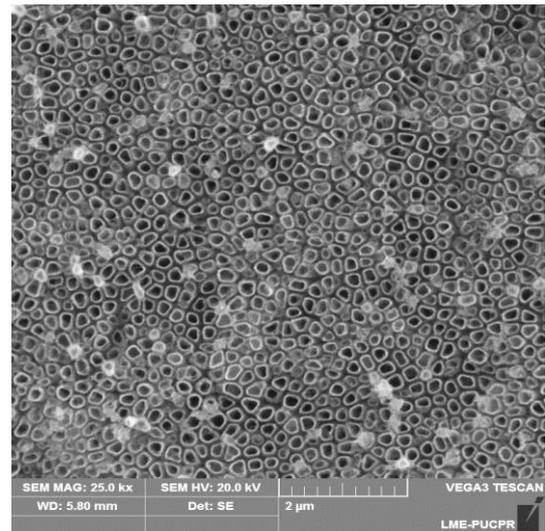


b)

Figura 17. Imagens da superfície dos implantes, com aumento de 25Kx, após anodização a 60 V por 6 h e tratamento térmico a 300 °C. A imagem (a) mostra o topo de rosca dos implantes, e a imagem (b) mostra o fundo de rosca dos implantes.

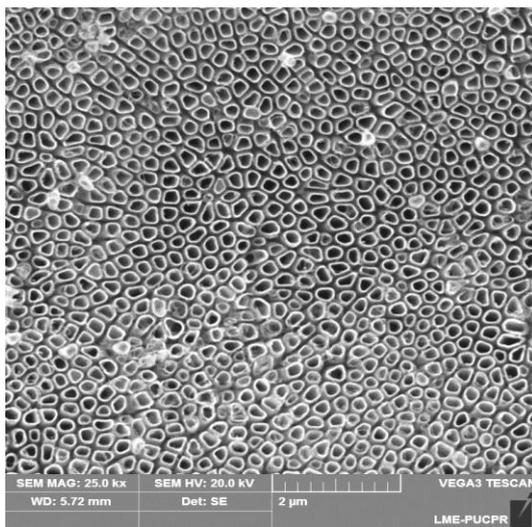


a)

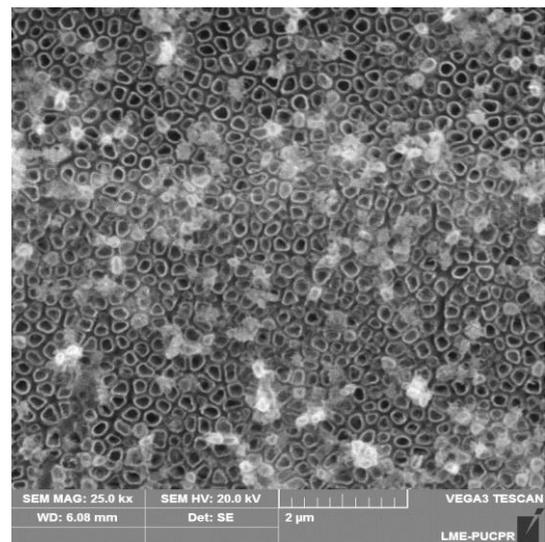


b)

Figura 18. Imagens da superfície dos implantes, com aumento de 25Kx, após anodização a 60 V por 6 h e tratamento térmico a 400 °C. A imagem (a) mostra o topo de rosca dos implantes, e a imagem (b) mostra o fundo de rosca dos implantes.



a)



b)

Figura 19. Imagens da superfície dos implantes, com aumento de 25Kx, após anodização a 60 V por 6 h e tratamento térmico a 530 °C. A imagem (a) mostra o topo de rosca dos implantes, e a imagem (b) mostra o fundo de rosca dos implantes.

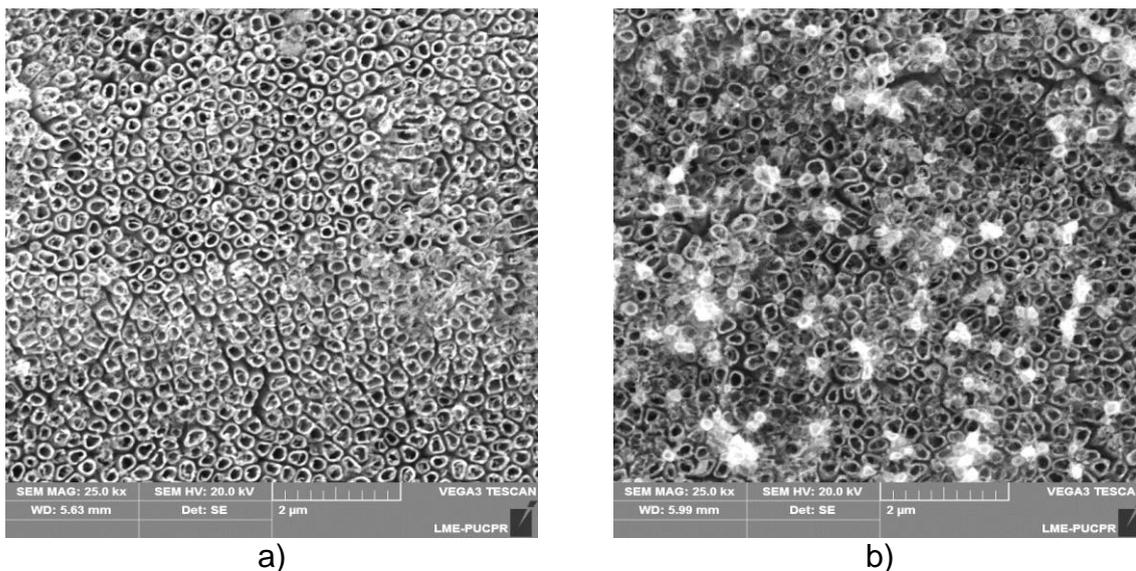


Figura 20. Imagens da superfície dos implantes, com aumento de 25Kx, após anodização a 60 V por 6 h e tratamento térmico a 600 °C. A imagem (a) mostra o topo de rosca dos implantes, e a imagem (b) mostra o fundo de rosca dos implantes.

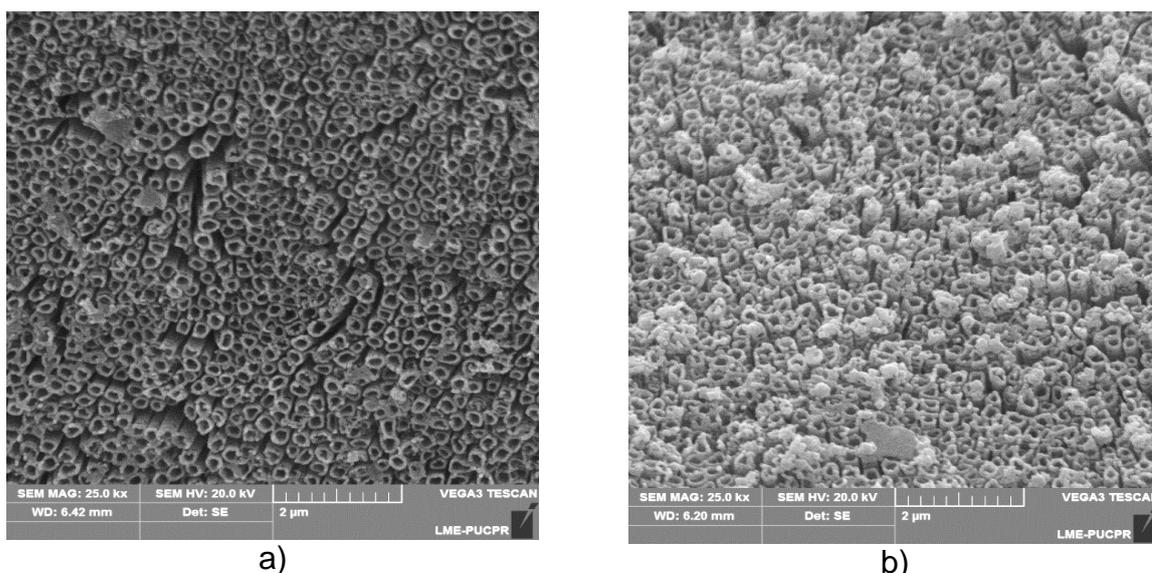


Figura 21. Imagens da superfície dos implantes, com aumento de 25Kx, após anodização a 60 V por 6 h e tratamento térmico a 700 °C. A imagem (a) mostra o topo de rosca dos implantes, e a imagem (b) mostra o fundo de rosca dos implantes.

Podemos observar (Figura 16b à Figura 21b) que a anodização não é tão eficiente no fundo de rosca, pela presença de regiões (mais claras e arredondadas) junto aos nanotubos. Essas regiões são camadas de óxido não dissolvidas pelo HF. Nas amostras tratadas a 700 °C é possível observar a degradação dos nanotubos, e

a presença de aberturas na camada de nanotubos (Figura 21a), possivelmente ocasionadas pela cristalização da camada abaixo dos nanotubos que deforma a camada superior dos nanotubos.

4.2 ESTRUTURA CRISTALINA

Por meio da técnica de DRX, verificou-se influência da temperatura de tratamento térmico na formação das fases cristalinas dos nanotubos de TiO_2 . Nas amostras sem tratamento térmico observou-se apenas o titânio (Figura 22). A partir de 300 °C já é possível observar a presença de picos da fase cristalina anatase. Para a temperatura de 530 °C foi possível observar predominância da fase anatase. A partir de 600 °C observamos picos das fases cristalinas anatase e da fase rutilo, com aumento crescente dos picos de rutilo, seguindo assim até a temperatura de 700 °C, onde verificou-se apenas a fase cristalina rutilo.

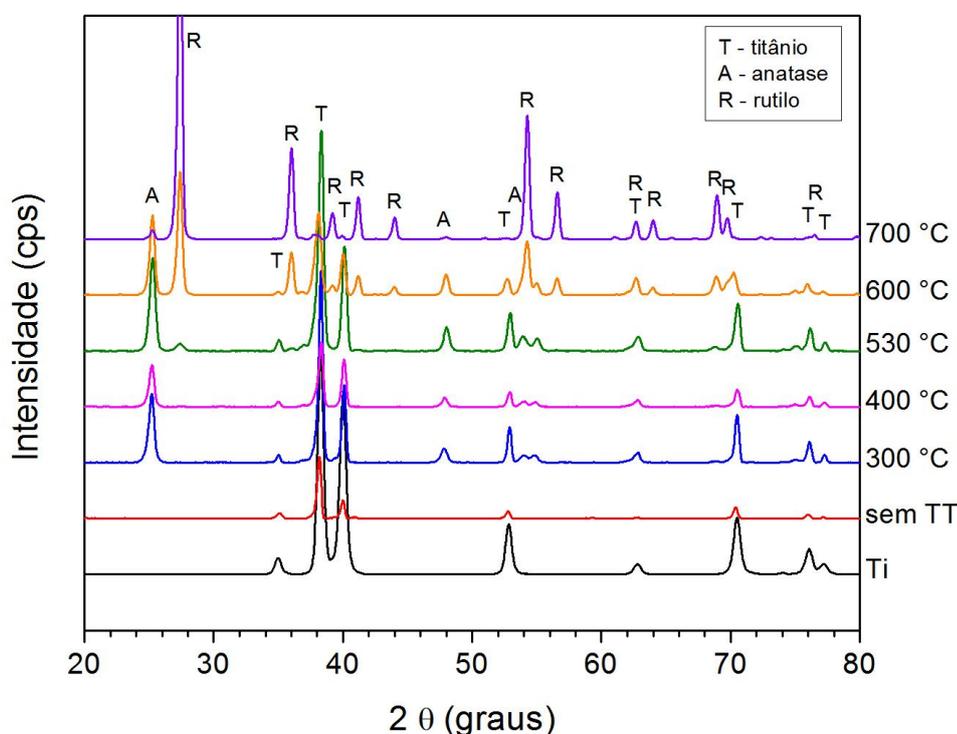


Figura 22. Difratogramas de Raios-X obtidos para as amostras de titânio anodizadas e tratadas em diferentes temperaturas.

4.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS

Por meio da técnica de nanoindentação, observou-se que as propriedades mecânicas dos nanotubos de TiO_2 foram influenciadas pelo tratamento térmico (Figura 23 e Figura 24).

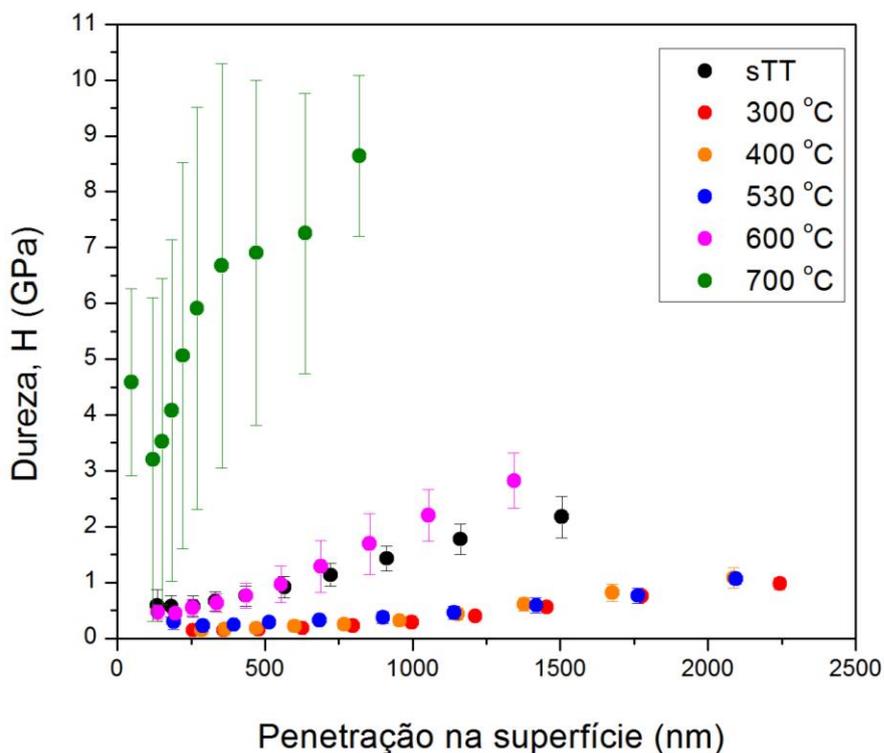


Figura 23. Valores médios de dureza (GPa) em função da penetração na superfície (nm) obtidos por nanoindentação nas amostras de placas de titânio anodizadas a 60 V por 6h, e submetidas a diferentes tratamentos térmicos.

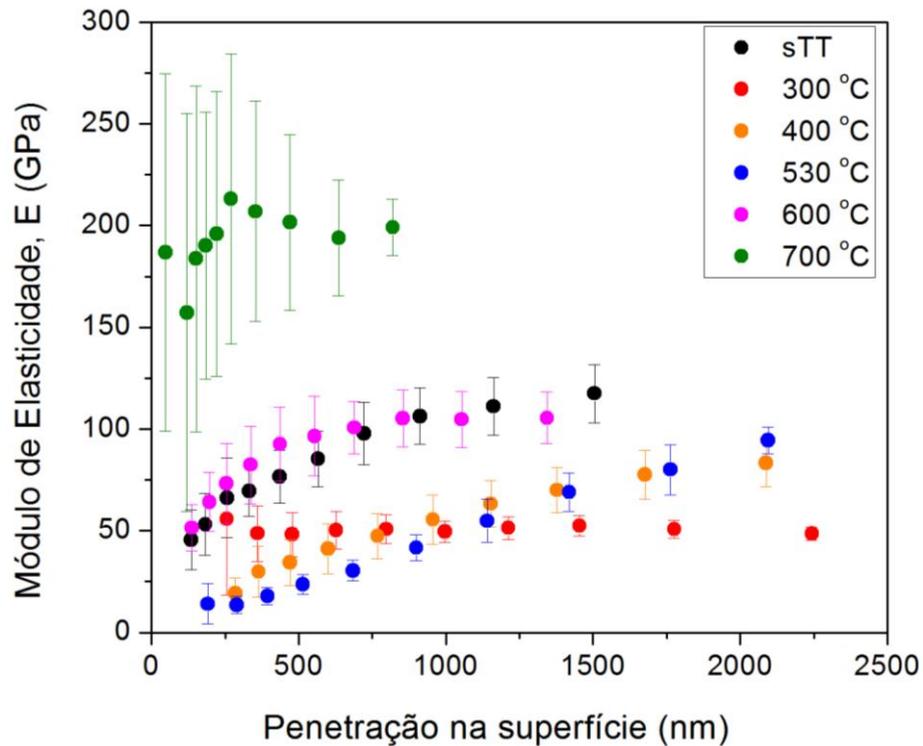


Figura 24. Valores médios de módulo de elasticidade (GPa) em função da penetração na superfície (nm) obtidos por nanoindentação nas amostras de placas de titânio anodizadas a 60 V por 6h, e submetidas a diferentes tratamentos térmicos.

Tanto para a dureza quanto para o módulo de elasticidade, os valores observados nas figuras 23 e 24 seguem uma mesma tendência. Nas amostras com nanotubos de TiO_2 sem tratamento térmico, os valores de dureza e módulo para baixas penetrações (primeiros carregamentos) são baixos, e tendem para os valores do substrato de titânio ($H \approx 4$ GPa, e $E \approx 120$ GPa). À medida que a fase anatase é obtida nos nanotubos, os valores de dureza e módulo de elasticidade diminuem. Isso pode ser porque começa a ocorrer a fratura dos nanotubos à medida que a ponta do indentador penetra na camada de nanotubos. A partir de 600 °C, com o aparecimento da fase rutilo, a dureza e módulo de elasticidade aumentam, atingindo um valor muito maior para as amostras tratadas a 700 °C, quando há uma predominância da fase rutilo.

Se considerarmos os valores de H e E para a profundidade de penetração de 150 nm (10% da espessura da camada de nanotubos), obtemos as seguintes figuras (Figura 25).

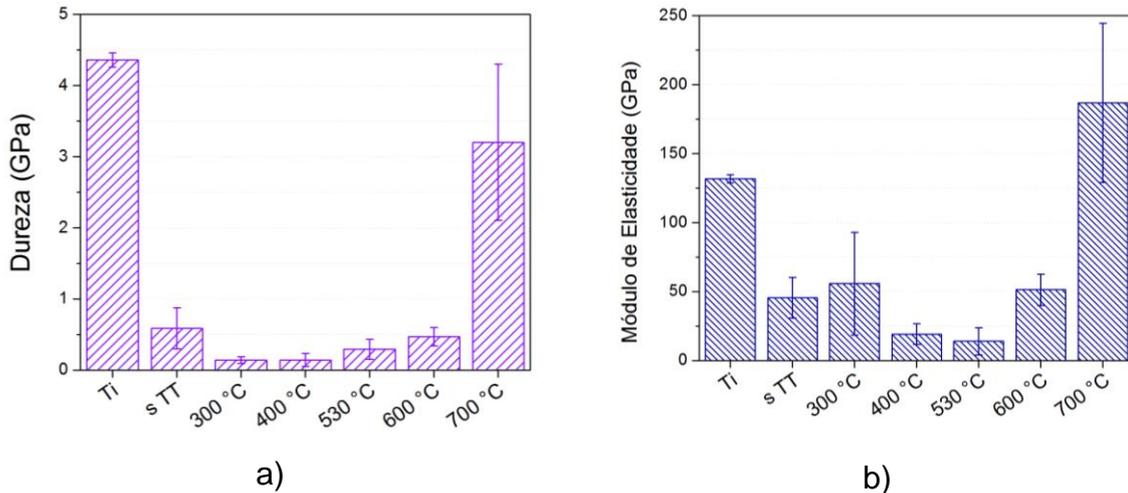


Figura 25. Valores médios de dureza (GPa) e módulo de elasticidade (GPa) para a penetração de até 150 nm obtidos por nanoindentação nas amostras de placas de titânio anodizadas a 60 V por 6 h, e submetidas a diferentes tratamentos térmicos.

Na Figura 25, podemos observar que as amostras anodizadas apresentam os menores valores de dureza para o tratamento térmico nas temperaturas de 300 °C e 400 °C, o menor valor de módulo para o tratamento a 530 °C, e os maiores valores de dureza e módulo para 700 °C. Os maiores valores para esta temperatura se deve à formação da camada de rutilo sob a camada de nanotubos, como observado nas imagens de MEV.

4.4 ADESÃO AO SUBSTRATO

Para análise da adesão da camada de nanotubos de TiO_2 , utilizou-se três técnicas diferentes: *Scratch Test*, Inserção em Poliuretano e Escala HF (Método Daimler-Benz).

4.4.1 Scratch Test (MEV)

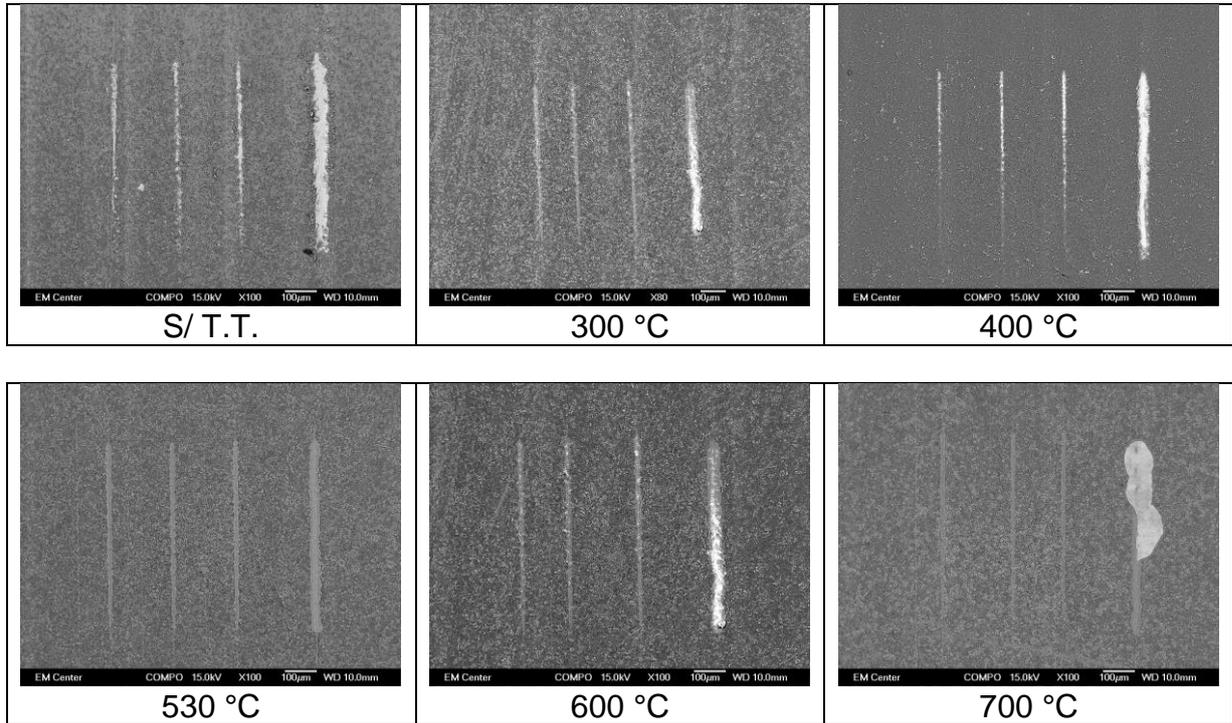
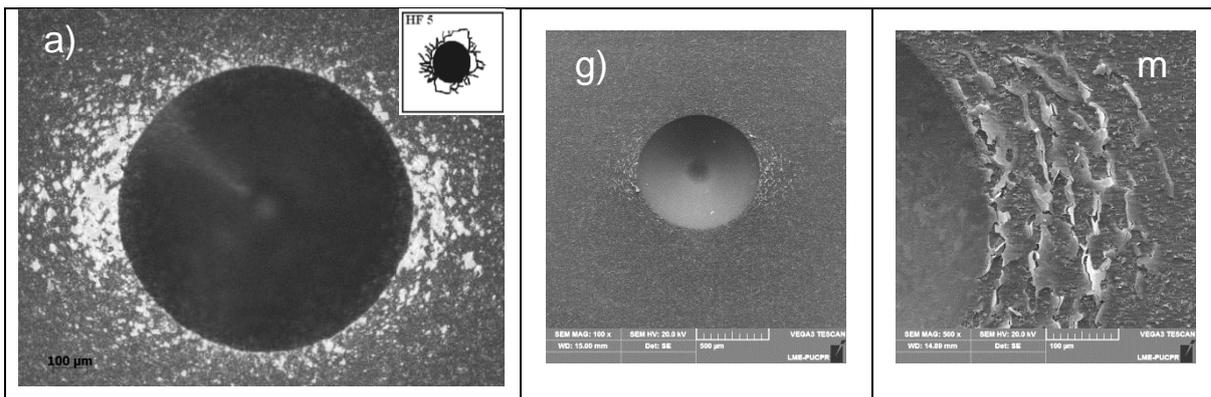


Figura 26. Imagens de MEV com sinal de elétrons retroespalhados dos riscos realizados no nanoindentador. Os três riscos da esquerda foram realizados com carga crescente até 10 gf, e o risco mais à direita com carga crescente até 40 gf.

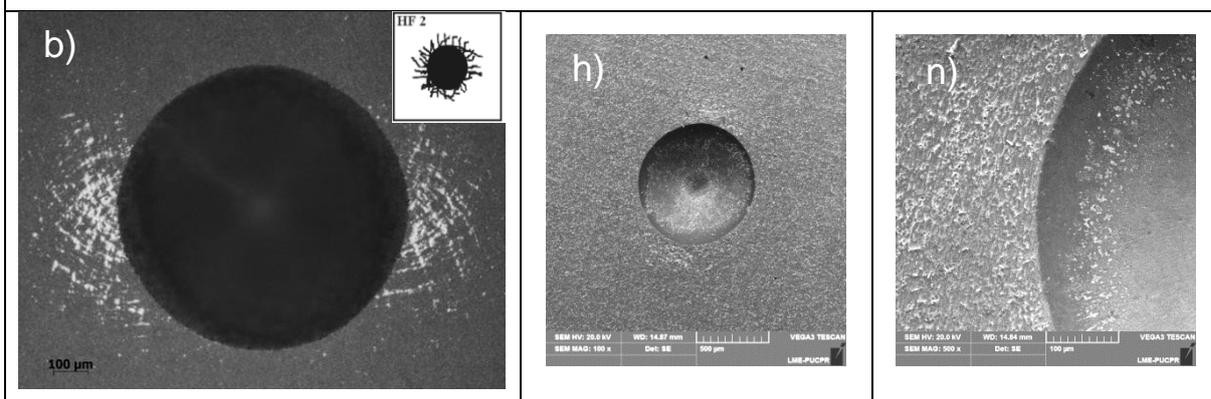
Podemos observar na Figura 26, que para os riscos com menor carga, houve exposição do substrato nas amostras sem tratamento, e tratadas a 300 °C e 400 °C. Nas amostras com a presença da fase rutilo (a partir de 530 °C) a carga de 10 gf não foi suficiente para expor o substrato. Para a carga de 40 gf, a única condição que não expôs o substrato foi o tratamento de 530 °C. Para a amostra tratada a 700 °C houve um deslocamento da camada de nanotubos, mostrando a característica frágil da camada de rutilo sobre o substrato.

4.4.2 Indentação Rockwell C

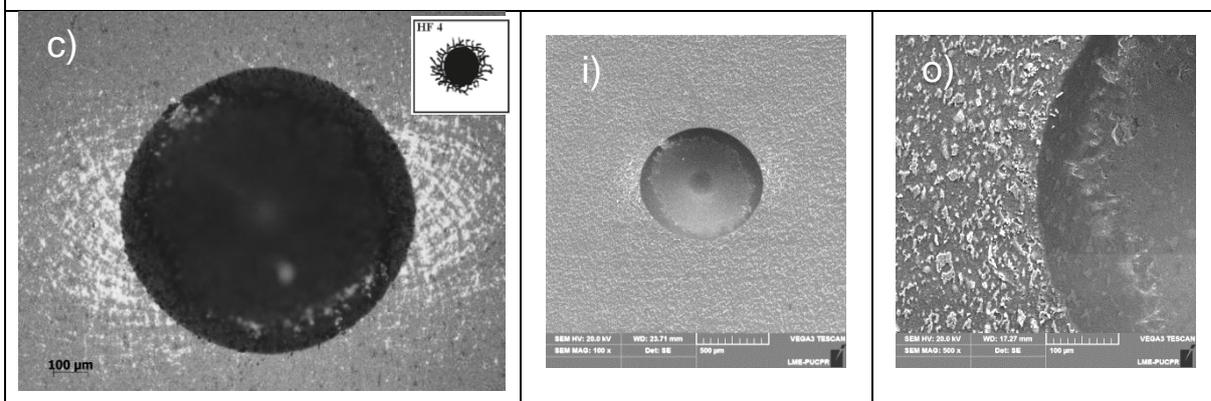
Pela técnica de Indentação Rockwell C com avaliação pela escala HF, observou-se a presença de deslocamento da camada de nanotubos de TiO_2 para todas as temperaturas de tratamento térmico, exceto para a de 530 °C. Entretanto, é possível observar dois comportamentos pelas imagens de microscopia ótica. Nas amostras sem tratamento e tratadas em 300 °C e 400 °C ocorre a formação de várias trincas laterais, expondo o substrato. Na amostra tratada a 530 °C, as trincas são radiais, como observado na imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura (Figura 27p), sem ocorrência da exposição do substrato. Nas amostras tratadas a 600 °C e 700 °C ocorre um deslocamento da camada de nanotubos. Esses resultados estão de acordo com os resultados de riscos por nanoindentação.



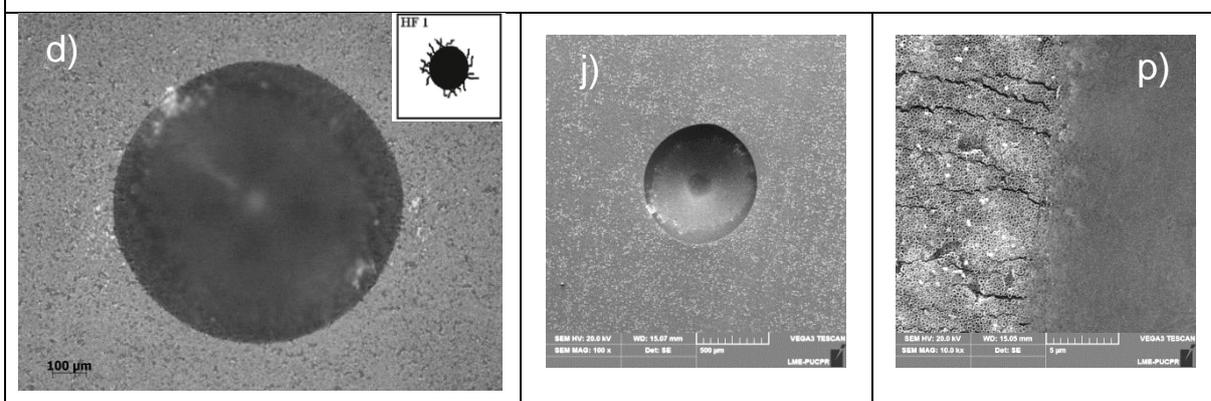
S/ T.T.



300 °C



400 °C



530 °C

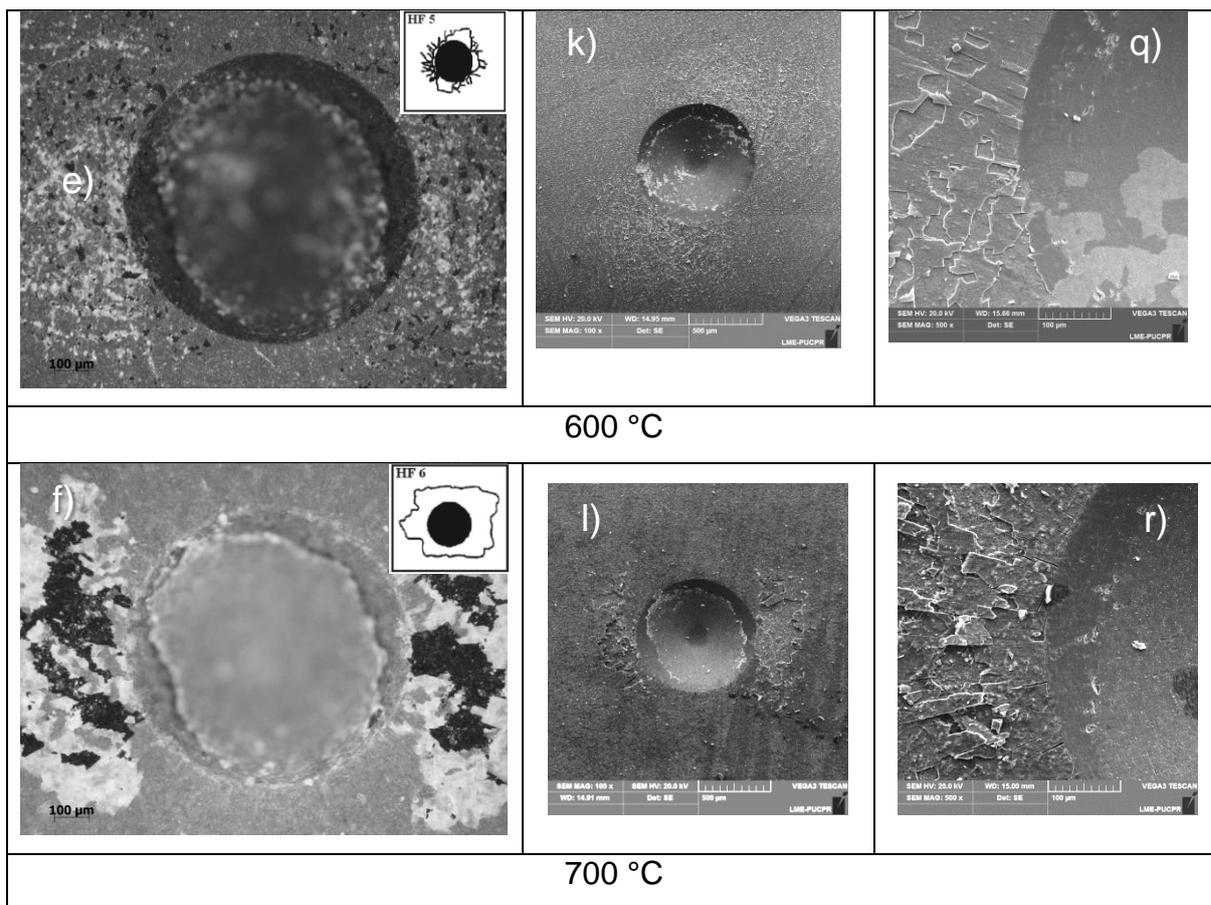


Figura 27. Imagens das indentações Rockwell placas de Ti anodizadas a 60 V por 6 h e tratadas termicamente em diferentes temperaturas, observadas por microscopia ótica (a-f), e microscopia eletrônica de varredura (g-r).

4.4.3 Inserção em Poliuretano (MEV)

Após a Inserção em poliuretano, as regiões de câmara, topo de rosca e fundo de rosca dos implantes (Figura 28. foram avaliadas por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura.

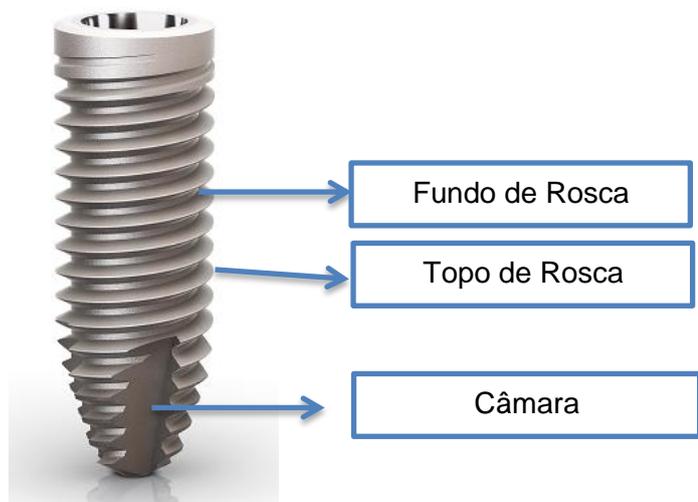


Figura 28. Figura esquemática das regiões do implante anodizado avaliadas por MEV após o ensaio de inserção.

Por meio da inserção em poliuretano, observou-se que, independente da temperatura de tratamento térmico, apenas nas câmaras dos implantes, os nanotubos se mantiveram íntegros após a inserção (Figura 29 à Figura 34).

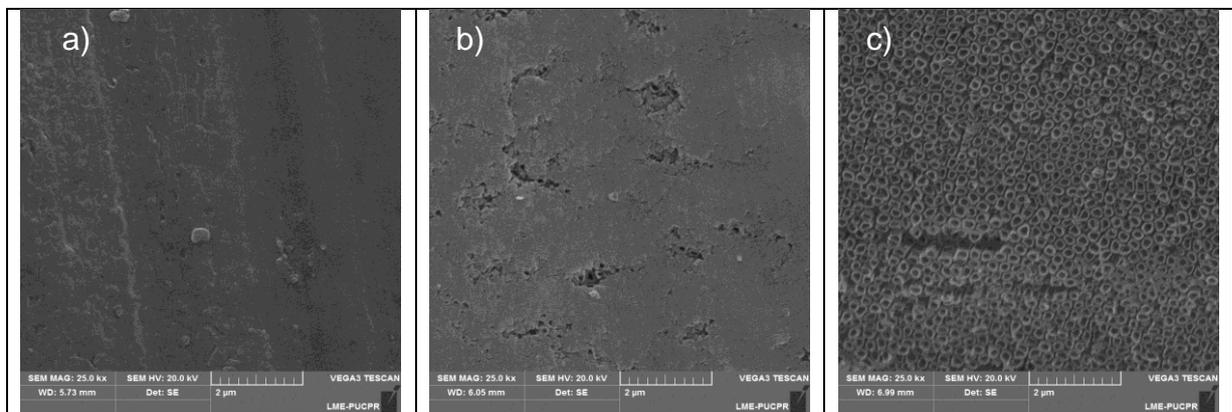


Figura 29. Imagens da superfície dos implantes anodizados e após inserção em poliuretano. (a) Topo de Rosca; (b) Fundo de Rosca; (c) Câmara. Aumento de 25 kx.

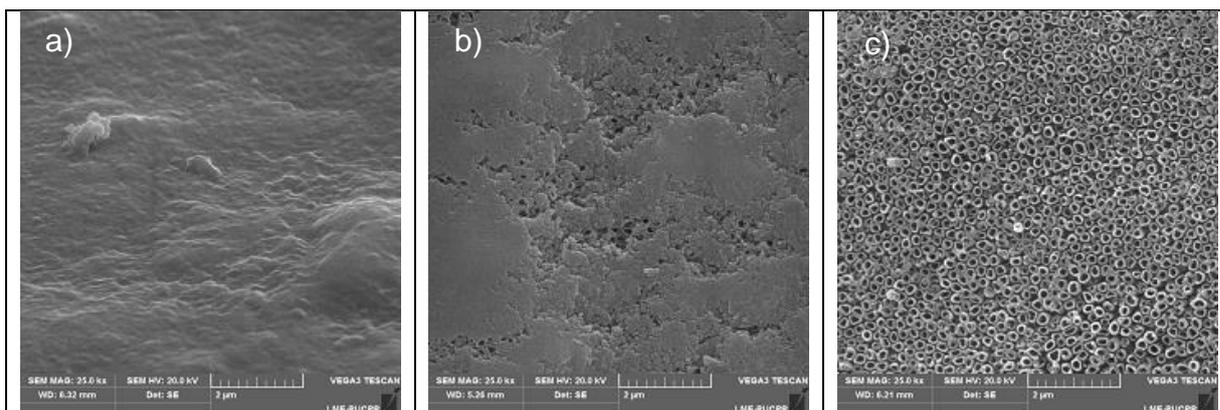


Figura 30. Imagens da superfície dos implantes anodizados e tratados a 300 °C por 10 h, e após inserção em poliuretano. (a) Topo de Rosca; (b) Fundo de Rosca; (c) Câmara.
Aumento de 25 kx.

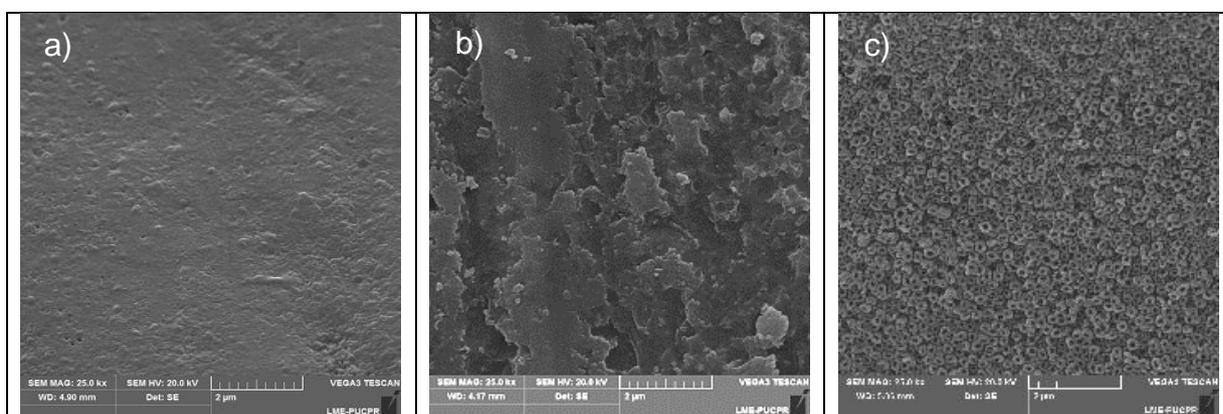


Figura 31. Imagens da superfície dos implantes anodizados e tratados a 400 °C por 10 h, e após inserção em poliuretano. (a) Topo de Rosca; (b) Fundo de Rosca; (c) Câmara.
Aumento de 25 kx.

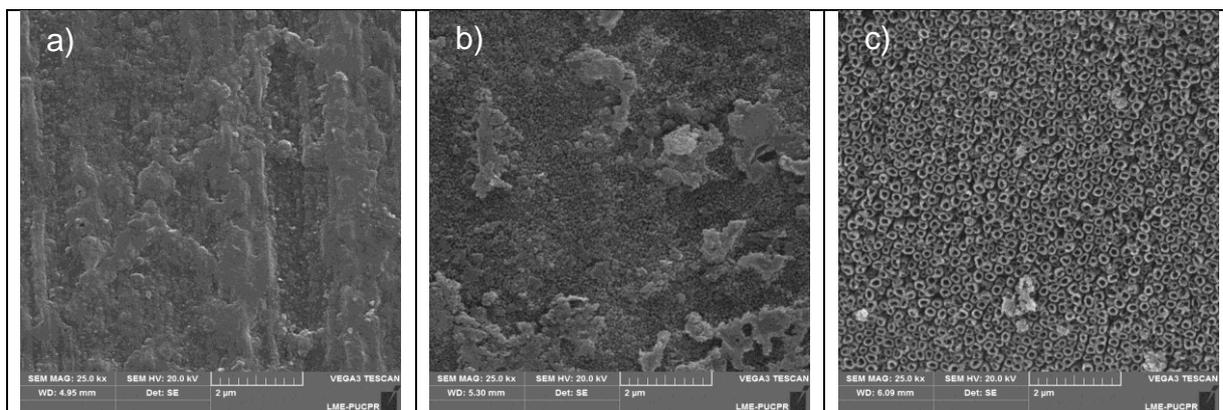


Figura 32. Imagens da superfície dos implantes anodizados e tratados a 530 °C por 10 h, e após inserção em poliuretano. (a) Topo de Rosca; (b) Fundo de Rosca; (c) Câmara.
Aumento de 25 kx.

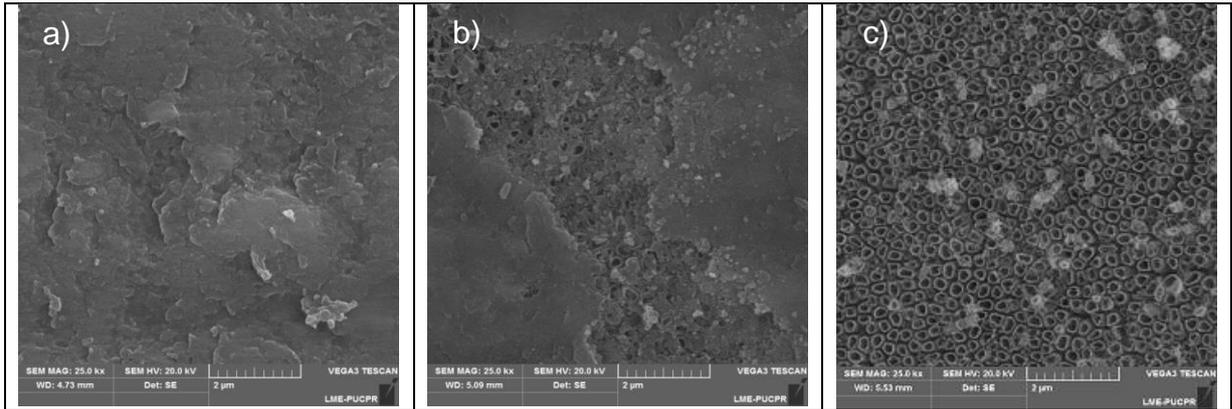


Figura 33. Imagens da superfície dos implantes anodizados e tratados a 600 °C por 10 h, e após inserção em poliuretano. (a) Topo de Rosca; (b) Fundo de Rosca; (c) Câmara. Aumento de 25 kx.

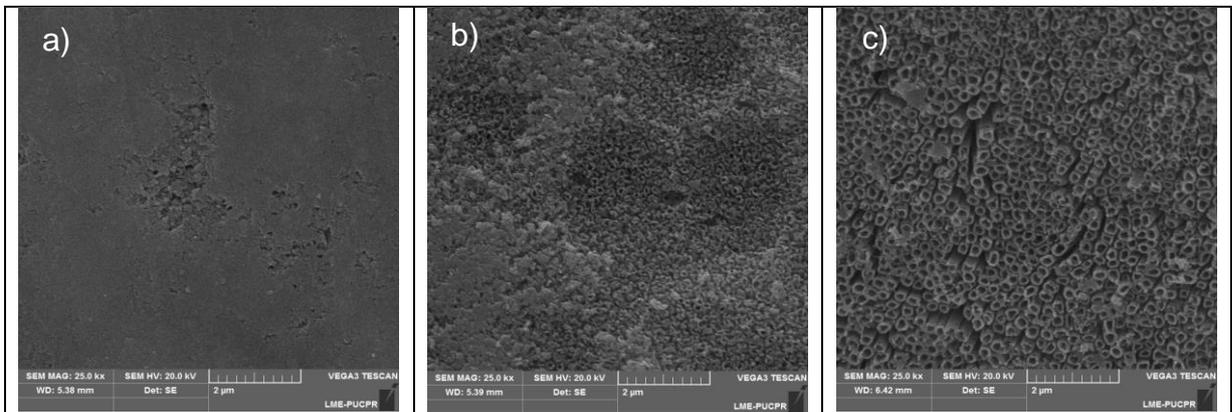


Figura 34. Imagens da superfície dos implantes anodizados e tratados a 700 °C por 10 h, e após inserção em poliuretano. (a) Topo de Rosca; (b) Fundo de Rosca; (c) Câmara. Aumento de 25 kx.

4.5 AVALIAÇÃO DA SEÇÃO TRANSVERSAL DA CAMADA DE NANOTUBOS DE TiO_2

A fim de avaliar a característica da camada de nanotubos de TiO_2 , a qual possui em torno de $1\mu m$, realizou-se seção transversal de uma amostra de cada grupo de avaliação. Posteriormente, foi feita microscopia eletrônica de varredura, das amostras (S/T.T., 300 °C, 400 °C, 530 °C, 600 °C e 700 °C), conforme pode ser observado na Figura 35.

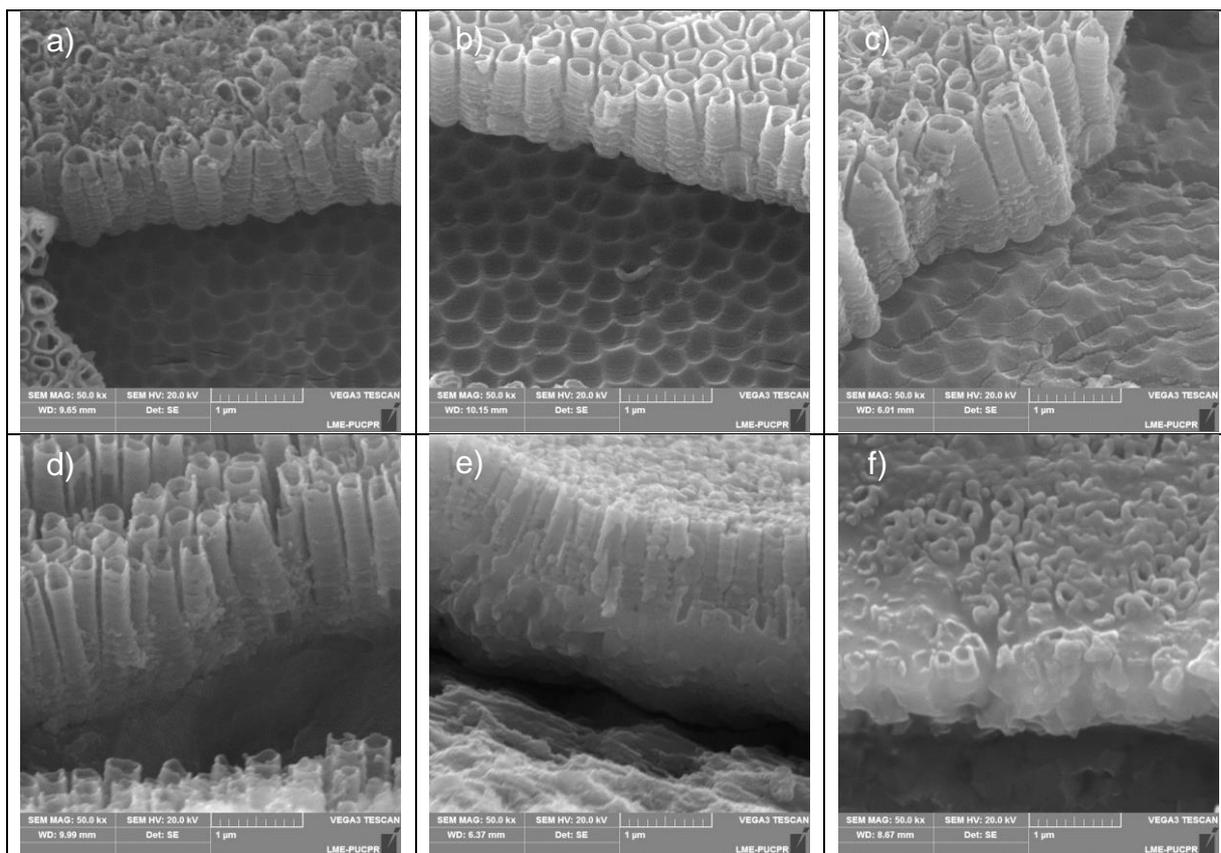


Figura 35. Imagens da seção transversal da camada de nanotubos de TiO_2 formada. (a) S/T.T.; (b) 300 °C; (c) 400 °C; (d) 530 °C; (e) 600 °C; (f) 700 °C. Aumento de 50 kx.

5. DISCUSSÃO

Diferentes metodologias têm sido propostas na literatura para avaliação *in vitro* da influência de nanotubos de TiO_2 na osseointegração de implantes dentários (Jang et al., 2015; Lü et al., 2015). No entanto, pouco tem se discutido sobre a resistência à adesão das camadas de nanotubo de TiO_2 ao substrato (Xiong et al., 2011). Por meio da associação de diferentes metodologias, o presente estudo buscou avaliar a adesão da camada de nanotubos em diferentes situações laboratoriais, incluindo a inserção do implante em osso sintético, com o objetivo de simular a condição de uso do implante dentário. Os resultados obtidos mostram que a os tratamentos térmicos em diferentes temperaturas após anodização influenciam nas propriedades mecânicas e na adesão de nanotubos ao substrato.

As imagens obtidas por MEV e os resultados de DRX demonstram a influência das diferentes temperaturas de tratamento térmico na camada de nanotubos. Por meio do MEV, em 700°C cristais de rutilo bem como a degradação da camada de nanotubos já puderam ser observados, correspondendo aos resultados de DRX, onde a predominância de picos da fase rutilo nessa temperatura é observada. Fang et al. (2011) verificaram que em temperaturas maiores que 600 °C a célula unitária do rutilo é maior que a parede do nanotubo, o que faz com que haja a fratura dos nanotubos após tratamento térmico em temperaturas em que a fase cristalina rutilo seja mais estável. Shivaram et al. (2014) também verificaram a degradação da camada de nanotubos com o aumento da temperatura de tratamento térmico.

A partir da Figura 35, pode-se observar que nas amostras sem tratamento térmico e nas tratadas a 300 °C, a superfície de fratura demonstra ondulações, também chamadas na literatura de “dimples”, que são característicos da base dos nanotubos, ou seja, sem adesão alguma com o substrato. Já nas amostras tratadas a 400 °C, a superfície de fratura ainda apresenta alguns dimples, porém mais irregulares. Nas amostras tratadas a 530 °C, o comportamento é distinto, não é possível observar regiões de deslocamento, os dimples não são mais observados, e na base dos nanotubos há uma camada densa, a qual é a camada cristalina de rutilo que começa a se formar.

Verificando as amostras tratadas a 600 °C, observa-se de forma mais clara a camada de rutilo na base dos nanotubos. Pode-se observar que os nanotubos estão muito bem aderidos a esta camada, demonstrando deslocamento da camada de rutilo e não dos nanotubos diretamente. Nas amostras tratadas a 700 °C observa-se

a degradação dos nanotubos, com a formação de uma camada que se desloca facilmente do substrato.

As fases do titânio observadas no difratograma apresentado na Figura 22, auxiliam o entendimento das diferenças observadas nos valores de dureza e módulo de elasticidade, obtidos através da nanoindentação. As amostras sob temperatura de tratamento térmico de 700 °C apresentaram maior dureza e maior módulo de elasticidade, as quais apresentaram também pico mais intenso da fase cristalina rutilo. Vale-se enfatizar que, os valores apresentados para dureza e módulo de elasticidade não devem ser interpretados como valores intrínsecos dos filmes, e sim valores do conjunto filme mais substrato.

No que se refere a módulo de elasticidade, é interessante que se tenha um material que possua um valor inferior ou próximo ao módulo de elasticidade do osso, que é de aproximadamente 20-35 GPa, pois, quando um implante é inserido no osso, a carga aplicada diretamente ao osso começa a ser distribuída tanto no osso quanto no metal. Em função de o titânio possuir maior módulo de elasticidade, a carga é direcionada então ao implante. Huiskes et al. (1992) caracterizou esse efeito como *stress-shielding*. Essa redução de carga aplicada anteriormente apenas no osso pode levar à reabsorção óssea, causando a falha mecânica do implante. Sendo assim, os grupos tratados com 400 °C e 530 °C são os grupos que mais minimizariam o efeito de *stress-shielding* e aumentariam o sucesso clínico de implantes.

Nos ensaios de adesão pela escala HF, podemos observar que para as temperaturas de 600 °C e 700 °C, e para as amostras sem tratamento térmico, a escala HF indicou falta de adesão com grande área de delaminação da camada de nanotubos. Pelas técnicas de *Scratch Test* e Escala HF, verificou-se que os grupos

que apresentaram má adesão, apresentaram também maior valor de dureza e de módulo de elasticidade, conforme previamente observado por Schmidt-Stein et al. (2010). Para as temperaturas de 300 °C, 400 °C e 530 °C observou-se, pela escala HF, adesão com trincas menores ou pouca delaminação da camada de nanotubos.

Nas amostras após tratamento térmico de 530 °C, temperatura a qual apresentou menor avaliação por meio da escala HF (HF = 1) observou-se uma mistura das fases anatase e rutilo, com predominância da fase anatase. Nas amostras após tratamento térmico de 300 °C e 400 °C, onde o valor da escala HF foi 2 e 4 respectivamente, é possível observar somente os picos da fase anatase.

O resultado do *Scratch Test* para o grupo de 400 °C demonstrou correlação clara com o comportamento observado por meio da escala HF, uma vez houve deslocamento, trincas e exposição do substrato nas amostras. Bem como, as amostras com picos mais intensos da fase rutilo (600 °C e 700 °C), foram as que demonstraram maior fragilidade e também maior quantidade de trincas e deslocamento, de acordo com as metodologias utilizadas neste estudo.

Quando a adesão da camada de óxido de titânio foi avaliada pela técnica de inserção em polímero, a temperatura do tratamento térmico não influenciou nos resultados, ou seja, observou-se remoção da camada de nanotubos no topo da rosca, que é a parte do implante que sofre maior tensão de cisalhamento no processo de inserção. Entretanto, os nanotubos parecem ter permanecido no fundo da rosca para as amostras tratadas em 600 °C e 700 °C, mas recobertas pelo polímero amassado. Os nanotubos formados na câmara do implante permaneceram intactos após a inserção, sugerindo que podemos modificar a superfície de modo a criar algumas barreiras que protejam os nanotubos durante o processo de inserção.

6. CONCLUSÕES

Observou-se que com o aumento da temperatura de tratamento térmico, houve transição das fases cristalinas, de anatase para rutilo. Os pontos principais observados foram:

- a) Para os tratamentos térmicos de 300 °C e 400 °C somente picos da fase cristalina anatase foram observados;
- b) Para as amostras tratadas a 530 °C há a presença das duas fases, com predominância da fase anatase;
- c) Para os tratamentos térmicos de 600 °C e 700 °C, a predominância é da fase rutilo.

A presença das fases cristalinas resultaram em diferentes propriedades mecânicas dos nanotubos de TiO₂. O aumento da temperatura de tratamento térmico resultou em aumento da dureza e do módulo de elasticidade do conjunto substrato mais camada de nanotubos. Para o tratamento de 700 °C, os valores de dureza e módulo de elasticidade são significativamente maiores que os valores das amostras tratadas nas outras temperaturas, devido à camada cristalina de rutilo formada sob os nanotubos.

A adesão dos nanotubos ao substrato é fortemente influenciada pela temperatura de tratamento térmico. Os resultados obtidos pelas técnicas de *Scratch Test* e Indentação Rockwell C – Escala HF mostraram que as amostras tratadas a 530°C apresentaram a melhor adesão ao substrato. Possivelmente, essa adesão se deve à formação de uma camada cristalina de anatase e rutilo sob a camada de nanotubos, mas não é frágil o bastante para que cause o deslocamento da camada. Pela técnica de inserção em poliuretano, podemos concluir que na região do topo da rosca os nanotubos foram arrancados ou amassados, e no fundo da

rosca houve a remoção parcial dos nanotubos, restando uma camada abaixo do poliuretano amassado. Na região da câmara dos implantes, os nanotubos se mantiveram majoritariamente íntegros, visto que é a região que menos entra em contato com o poliuretano no momento da inserção.

7. REFERÊNCIAS

1. Altankov G., Grinnel F., Groth T., Studies on the biocompatibility of materials: Fibroblast reorganization of substratum-bound fibronectin on surfaces varying in wettability, *Journal Biomedical Materials Research* 30 (1996) 385-391.
2. ASTM F1839-08 - Standard Specification for Rigid Polyurethane Foam for Use as a Standard Material for Testing Orthopaedic Devices and Instruments, 2011.
3. ASTM F67-13 - Standard Specification for Unalloyed Titanium, for Surgical Implant Applications (UNS R50250, UNS R50400, UNS R50550, UNS R50700).
4. Balaur E., Macak J. M., Tsuchiya H., Schmuki P., Wetting behaviour of layers of TiO₂ nanotubes with different diameters, *Journal of Materials Chemistry* 15 (2005) 4488-4491.
5. Brammer K. S., Oh S., Frandsen C. J., Sungho J., Biomaterials and Biotechnology Schemes Utilizing TiO₂ Nanotube Arrays, *Biomaterials Science and Engineering*, (2009) 193-210.
6. Brandão M. L., Esposti T. B. D., Bisognin E. D., Harari N. D., Vidigal Jr G. M., Conz M. B., Surface of dental implants X biological response, *Implant News Magazine* 7 (2010) 95-101.

7. Branemark PI, Adell R., Breine U., Hansson B. O., Lindstrom J., Ohlsson A., Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies, *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery* 3 (1969) 81–100.
8. Bressan E., Sbricoli L., Guazzo R., Tocco I., Roman M., Vindigni V., Nanostructured Surfaces of Dental Implants, *International Journal of Molecular Sciences* 14 (2013) 1918-1931.
9. Brunette D. B., Tengvall P., Textor M., Thomsen P., *Titanium in medicine*, Springer (2001) p.232.
10. Buser D., Broggini N., Wieland M., Schenk R. K, Denzer A. J., Cochran D. L., Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface, *Journal of Dental Research* 83 (2004) 529-533.
11. Carlos Nelson Elias (2011). *Factors Affecting the Success of Dental Implants*, *Implant Dentistry - A Rapidly Evolving Practice*, Prof. Ilser Turkyilmaz (Ed.), InTech.
12. Carmo F. L. C., Zortéa Jr. A. J., Coura G. dos S., Franzon F. P. R., Análise de Osseointegração Primária de 396 Implantes Osseointegráveis do Sistema Neodent, *Revista Brasileira Implantodontia & Prótese sobre Implantes* 12 (2005) 206-214.
13. Cassinelli C., Morra M., Bruzzone G., Capri A., Di Sant G., Giardino R., Fini M., Surface chemistry effects of topographic modification of titanium dental implant surfaces: 2. In vitro experiments. *Internal Journal Oral Implants* 18 (2003) 46-52.

- 14.Chanmance W., Titania nanotubes from pulse anodization of titanium foils, *Electrochemistry communications* 9 (2007) 2145-2149.
- 15.Cooper L. F., A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants, *Journal Prosthetic Dentistry* 84 (2000) 522-534.
- 16.Costa A. C. F. M., Vilar M. A., Lira H. L., Kiminami R. H. G. A., Gama L., Síntese e caracterização de nanopartículas de TiO₂, *Cerâmica* 52 (2006) 255-259.
- 17.Coutinho D., Costa P., Neves N., Gomes M. E., Reis R. L., Micro-and nanotechnology in tissue engineering, *Journal of Tissue Engineering* 1 (2011) 3–29.
- 18.Coutinho M. P., Influência da morfologia da superfície na molhabilidade do titânio comercialmente puro. Instituto Militar de engenharia, Dissertação, 2007.
- 19.Crawford G. A., Chawla N., Das K., Bose S., Bandyopadhyay A., Microstructure and deformation behavior of biocompatible TiO₂ nanotubes on titanium substrate, *Acta Biomaterialia* 3 (2007) 359–367.
- 20.Dohan Ehrenfest D. M., Coelho P. G., Kang B. S, Sul Y. T., Albrektsson T., Classification of osseointegrated implant surfaces: materials, chemistry and topography, *Trends Biotechnology* 28 (2010) 198-206.

21. Elias C. N., Lima J. H. C., Importância da qualidade da superfície dos implantes osseointegráveis na biofixação, Revista Brasileira de Implantodontia 7 (2001) 21-25.
22. Elias C. N., Oshida Y., Lima J. H. C., Muller C. A., Relationship between surface properties (roughness, wettability and morphology) of titanium and dental implant removal torque, Journal of The Mechanical Behavior of Biomedical Materials 1 (2008) 234-242.
23. Fang D., Luo Z. P., Huang K. L., Lagoudas D. C., Effect of heat treatment on morphology, crystalline structure and photocatalysis properties of TiO₂ nanotubes on Ti substrate and freestanding membrane, Applied Surface Science, 257 Applied Surface Science, (2011) 6451–6461.
24. Gaggli A., Schultes G., Müller W. D., Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces – a comparative study, Biomaterials 21 (2000) 1067-1073.
25. Gong D., Grimes C. A., Varghese O. K., Hua W., Singha R. S., Chena Z., Dickey E. C., Titanium oxide nanotube arrays prepared by anodic oxidation, Journal of Materials Research 16 (2001) 3331-3334.
26. Göpferich A., Mechanisms of polymer degradation and erosion, Biomaterials 17 (1996) 103-114.
27. Hanawa T., A comprehensive review of techniques for biofunctionalization of titanium, Journal of periodontal & implant science 41 (2011) 263–272.

28. Hilborn J., Bjursten L. M., A new and evolving paradigm for biocompatibility, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 1 (2007) 110-119.
29. Hirakawa Y., Jimbo R., Shibata Y., Watanabe I., Wennerberg A., Sawase T., Accelerated bone formation on photo-induced hydrophilic titanium implants: an experimental study in the dog mandible, *Clinical Oral Implants Research* 24 (2013) 139-144.
30. Hotchkiss K. M., Reddy G. B., Hyzy S. L., Schwartz Z., Boyan B. D., Olivares-Navarrete R., Titanium surface characteristics, including topography and wettability, alter macrophage activation, *Acta Biomaterialia* 31 (2016) 425-434.
31. Huiskes R., Weinans H., Van Rietbergen B., The relationship between stress shielding and bone resorption around total hip stems and the effects of flexible materials, *Clinical Orthopaedics Related Research* 274 (1992) 124-134.
32. Ivanoff C. J., Hallgren C., Widmark G., Histologic evaluation of the bone integration of TiO₂ blasted and turned titanium microimplants in humans. *Clinical Oral Implants Research* 12 (2001) 128-134.
33. Jang I., Shim S. C., Choi D. S., Cha B. K., Lee J. K., Choe B. H., Choi W. Y., Effect of TiO₂ nanotubes arrays on osseointegration of orthodontic miniscrew, *Biomedical Microdevices* 17 (2015) 76.
34. Jimbo R., Sawase T., Baba K., Kurogi T., Shibata Y., Atsuta M., Enhanced initial cell responses to chemically modified anodized titanium, *Clinical implant dentistry and related research* 10 (2008) 55–61.

35. Jonasova L., Muller F. A., Helebrant A., Strnad J., Greil P., Biomimetic apatite formation on chemically treated titanium, *Biomaterials* 25 (2004) 1187-1194.
36. Junker R., Dimakis A., Thoneick M., Jansen J. A., Effects of implant surface coatings and composition on bone integration: a systematic review, *Clinical Oral Implants Research* 20 (2009) 185–206.
37. Katz J. L., Application of materials in medicine and dentistry: orthopedic applications. In: Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE, editors. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*, Academic Press (1996) 335-346.
38. Kim K. H., Ramaswamy N., Electrochemical surface modification of titanium in dentistry, *Dental Materials Journal* 28 (2009) 20-36.
39. Klokkevold P. R., Nishimura R. D., Adachi M., Caputo A., Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface: A torque removal study in the rabbit, *Clinical Oral Implants Research* 8 (1997) 442-447.
40. Kuromoto N. K., Simão R. A., Soares G. A., Titanium oxide films produced on commercially pure titanium by anodic oxidation with different voltages, *Materials Characterization* 58 (2007) 114-121.
41. Larsson C., Thomsen P., Aronsson B. O., Rodahl M., Lausmaa J., Kasemo B., Ericson L. E., Bone response to surface-modified titanium implants: studies on the early tissue response to machined and electropolished implants with different oxide thicknesses, *Biomaterials* 17 (1996) 605-616.

42. Laurindo C. A. H., Torres R. D., Mali S. A., Gilbert J. L., Soares P., Incorporation of Ca and P on anodized titanium surface: Effect of high current density, *Materials Science and Engineering C* 37 (2014) 223–231.
43. Lincks J., Boyan B. D., Blanchard C. R., Lohmann C. H., Liu Y., Cochran D. L., Dean D. D., Schwartz Z., Response of MG63 osteoblast-like cells to titanium and titanium alloy is dependent on surface roughness and composition, *Biomaterials* 19 (1998) 2219-2232.
44. Liu F., Song Y., Wang F., Shimizu T., Igarashi K., Zhao L., Formation characterization of hydroxyapatite on titanium by microarc oxidation and hydrothermal treatment, *Journal of Bioscience and Bioengineering* 100 (2005) 100-104.
45. Liu X., Jiang Z., Li J., Zhang Z., Ren L., Super-hydrophobic property of nano-sized cupric oxide films, *Surface and Coatings Technology* 204 (2010) 3200–3204.
46. Lü W. L., Wang N., Gao P., Li C. Y., Zhao H. S., Zhang Z. T., Effects of anodic titanium dioxide nanotubes of different diameters on macrophage secretion and expression of cytokines and chemokines, *Cell Proliferation* 48 (2015) 95-104.
47. Macak J. M., Tsuchiya H., Ghicov A., Yasuda K., Hahn R., Bauer S., Schmuki P., TiO₂ nanotubes: Self-organized electrochemical formation, properties and applications, *Current Opinion in Solid State and Materials Science* 11 (2007) 3–18.

48. Mantzila A. G., Prodromidis M. I., Development and study of anodic Ti/TiO₂ electrodes and their potential use as impedimetric immune sensors, *Electrochimica Acta* 51(2005) 3537–3542.
49. Massia S. P., Cell-extracellular matrix interactions relevant to vascular tissue engineering. *Tissue Engineering of Prosthetic Vascular Grafts*, (1999) 583-593.
50. Meirelles L., Nanostructures and bone response. A safe alternative for rehabilitation with dental implants?, *Implants News Magazine* 7 (2010) 169-172.
51. Mendonça G., Mendonça D. B., Simões L. G., Araújo A. L., Leite E. R., Duarte W. R., The effects of implant surface nanoscale features on osteoblast specific gene expression, *Biomaterials* 30 (2009) 4053-4062.
52. Mendonça G., Mendonça D. B. S., Simões L. G. P., Araújo A. L., Leite E. R., Golin A. L., Aragão Cooper. F. J. L., Lyndon F., Nanostructured implant surface effect on osteoblast gene expression and bone-to-implant contact in vivo, *Materials Science and Engineering C* 31 (2011) 1809–1818.
53. Minagar S., Berndt C. C, Wang J, Ivanova E., Wen C., A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces, *Acta biomaterialia* 8 (2012) 2875–2888.
54. Munirathinam B., Neelakantan L., Titania nanotubes from organic acid electrolyte: Fabrication, characterization and oxide film properties, *Materials Science and Engineering* 49 (2015) 567-578.

55. Oh S., Jin S., Titanium oxide nanotubes with controlled morphology for enhanced bone growth, *Materials Science and Engineering C* 26 (2006) 1301 – 1306.
56. Okada M., Tajima K., Yamada Y., Yoshimura K., Self-organized formation of short TiO₂ nanotube arrays by complete anodization of Ti thin films, *Physics Procedia* 32 (2012) 714 – 718.
57. Oliver W. C., Pharr G. M., An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments, *Journal Materials Research* 7 (1992) 1564–1567.
58. Oliver W. C., Pharr G. M., Measurement of hardness and elastic modulus by instrumented indentation: advances in understanding and refinements to methodology, *Journal Materials Research* 19 (2004) 3–20.
59. Perrotti V., Palmieri A., Pellati A., Degidi M., Ricci L., Piattelli A., Carinci F., Effect of titanium surface topographies on human bone marrow stem cells differentiation in vitro, *Odontology* 101 (2013) 133-139.
60. Olivares-Navarrete R., Hyzy S. L., Gittens R. A. S., Schneider J. M., Haithcock D. A., Ullrich P. F., Slosar P. J., Schwartz Z., Boyan B. D., Rough titanium alloys regulate osteoblast production of angiogenic factors, *The Spine Journal* 13 (2013) 1563–1570.
61. Reclaru L., Lerf R., Eschler P.Y., Blatter A., Meyer J. M., Evaluation of corrosion on plasma sprayed and anodized titanium implants, both with and without bone cement, *Biomaterials* (2003) 3027–3038.

62. Rigo E. C. da S., Gehrke S. A., Marcelo Carbonari M., Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação, *Revista Dental Press Periodontia Implantologia* 1 (2007) 39-50.
63. Romanos G. E., Toh C. G., Slar C. H., Histologic and histomorphometric evaluation of peri-implant bone subjected to 60 immediate loading: an experimental study with *Macaca fascicularis*, *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 17 (2002) 44-51.
64. Roy P., Berger S., Schmuki P., *TiO₂ Nanotubes: Synthesis and Applications*, *Angewandte Chemie International Edition*, p. 2904-39, 2011.
65. Santos L. S., Oliveira N. T. C., Lepiński C. M., Marino C. E. B., Kuromoto N. K., Elastic modulus evaluation of Titania nanotubes obtained by anodic oxidation, 2014.
66. Schmidt-Stein F., Thiemann S., Berger S., Hahn R., Schmuki P., Mechanical properties of anatase and semi-metallic TiO₂ nanotubes, *Acta Materialia* 58 (2010) 6317–6323.
67. Shivaram A., Bose S., Bandyopadhyay A., Thermal degradation of TiO₂ nanotubes on titanium, *Applied Surface Science* 317 (2014) 573–582.
68. Shokuhfar T., Hamlekhan A., Chang J. Y., Choi C. K., Cortino Sukotjo C., Friedrich C., Biophysical evaluation of cells on nanotubular surfaces: the effects of atomic ordering and chemistry, *International Journal of Nanomedicine* 9 (2014) 3737–3748.

69. Souza G. B., Estudo de propriedades mecânicas e tribológicas de titânio nitretado por plasma, Dissertação de Mestrado, UFPR, Curitiba, Brasil, 2001.
70. Sul Y. T., Johansson C. B., Wennerberg A., Cho L. R., Chang B. S., Albrektsson T., Optimum surface properties of oxidized implants for reinforcement of osseointegration: surface chemistry, oxide thickness, porosity, roughness, and crystal structure, *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 20 (2005) 349-359.
71. Sul Y. T., Johansson C. B., Petronis S., Krozer A., Jeong Y., Wennerberg A., Albrektsson T., Characteristics of the surface oxides on turned and electrochemically oxidized pure titanium implants up to dielectric breakdown: the oxide thickness, micropore configurations, surface roughness, crystal structure and chemical composition, *Biomaterials* 23 (2002) 491–501.
72. Sul Y. T., The significance of the surface properties of oxidized titanium to the bone response: special emphasis on potential biochemical bonding of oxidized titanium implant, *Biomaterials* 24 (2003) 3893-3907.
73. Textor M., Sittig G., Frauchiger V., Tosatti S., Properties and biological significance of natural oxide films on titanium and its alloys. In *titanium in Medicine*, Springer Edited. Berlin-Heidelberg, (2001) 172-224.
74. Traini T., Mangano C., Sammons R. L., Direct laser metal sintering as a new approach to fabrication of an isoelastic functionally graded material for manufacture of porous titanium dental implants, *Dental Materials* 24 (2008) 1525-1533.

75. Tsuchiya H., Macak J. M., Ghicov A., Taveira L., Schmuki P., Self-organized porous TiO₂ and ZrO₂ produced by anodization, *Corrosion Science* 47 (2005) 3324-3335.
76. Uchida M., Structural dependence of apatite formation on titania gels in a simulated body fluid, *Journal of biomedical materials research. Part A* 64 (2003) 164–170.
77. Verein Deutscher Ingenieure. VDI-Handbuch für Betriebstechnik 1992, Teil 3,7.
78. Vitos L., Rubana A. V., Skrivera H. L., Kollárb J., The surface energy of metals. *Surface Science* 411 (1998) 186–202.
79. Wang R. R., Fenton A., Titanium for prosthodontic applications: a review of the literature. *Quintessence International* 27 (1996) 401-408.
80. Webb K., Hlady V., Tresco P. A., Relative importance of surface wettability and changed functional groups on NH3T3 fibroblasts attachment, *Journal of Biomedical Materials Research* 24 (1998) 422-430.
81. Wennerberg A., Ektessabi A., Albrektsson T., Johansson C., Andersson B., A 1-year follow-up of implants of differing surface roughness placed in rabbit bone, *International Journal Oral Maxillofacila Implants* 12 (1997) 486-494.
82. Wennerberg A., Albrektsson T., Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review, *Clinical Oral Implants Research* 20 (2009) 172-184.

83. Wu S. W., Lee C. C., Fu P. Y., Lin S. C., The effects of flute shape and thread profile on the insertion torque and primary stability of dental implants, *Medical Engineering Physic* 34 (2012) 797-805.
84. Xiong J., Wang X., Li Y., Hodgson P., Interfacial Chemistry and Adhesion between Titanium Dioxide Nanotube Layers and Titanium Substrates, *The Journal of Physical Chemistry C* 115 (2011) 4768-4772.
85. Xu Y. N., Liu M. N., Wang M. N., Oloyede A., Bell J. M., Yan C., Nanoindentation study of the mechanical behavior of TiO₂ nanotube arrays, *Journal Applied Physics* 118 (2015) 145301-1.
86. Yang D. J., Thickness-conversion ratio from titanium to TiO₂ nanotube fabricated by anodization method. *Materials Letters* 2 (2009) 775–779.
87. Yerokhin A. L., Nie X., Leyland A., Matthews A., Dowe S. J., Review - Plasma Electrolysis for Surface Engineering, *Surface and Coating Technology* 122 (1999) 73-93.
88. Yu W. Q., Zhang Y. L., Jiang X. Q., Zhang F. Q., In vitro behavior of MC3T3-E1 preosteoblast with different annealing temperature titania nanotubes, *Oral Diseases* 16 (2010) 624-630.
89. Yu D., Zhu X., Xu Z., Zhong X., Gui Q., Song Y., Zhang S., Chen X., Li D., Facile method to enhance the adhesion of TiO₂ nanotube arrays to Ti substrate, *ACS Applied Materials & Interfaces* 6 (2014) 8001-8005.

90. Zhao J., Wang X., Sun T., Li L., Crystal phase transition and properties of titanium oxide nanotube arrays prepared by anodization, *Journal of Alloys and Compounds* 434 (2007) 792-795.
91. Zwilling V., Aucouturier M., Darque-Ceretti E., Anodic oxidation of titanium and TA6V alloy in chromic media. An electrochemical approach, *Electrochim Acta* 45 (1999) 921–929.
92. Zhu X., Chen J., Scheideler L., Reichl R., Geis-Gerstorfer J., Effects of topography and composition of titanium surface oxides on osteoblast responses, *Biomaterials* 25 (2004) 4087-4103.