

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Curso de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas

TESE DE DOUTORADO

RECOBRIMENTO DE AÇO INOXIDÁVEL ABNT 409
EMPREGANDO FILME FINO BIOATIVO
OBTIDO VIA SOL-GEL

Autora: Sonia Regina Federman

Orientador: Professor Wander Luiz Vasconcelos

2007

Sonia Regina Federman

RECOBRIMENTO DE AÇO INOXIDÁVEL ABNT 409
EMPREGANDO FILME FINO BIOATIVO OBTIDO
VIA SOL-GEL

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito à obtenção do grau de Doutor em Engenharia Metalúrgica e de Minas.

Área de Concentração: Ciência e Engenharia de Materiais

Orientador: Professor Wander Luiz Vasconcelos

Belo Horizonte
Escola de Engenharia da UFMG

2007

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus, pois até aqui me ajudou o Senhor, me ensinando, dirigindo e colocando pessoas abençoadas que me auxiliaram nesse trabalho.

Ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial, na pessoa de seu ex-presidente, Dr. Luiz Otávio Beaklini pela confiança e pela liberação para esse curso de doutorado.

Ao Dr. Rafael Jardim Goulart de Andrade, chefe da Divisão Regional do INPI em Minas Gerais, pelo respeito, apoio e “torcida”.

A todos os colegas do LMC, pela agradável convivência, em especial, ao Dr. Marcílio Dias de Carvalho. Agradeço também ao técnico Paulo Antônio de Pádua por sua habitual solicitude e pronta colaboração em todos os momentos.

A Dra. Ângela Melo Ferreira, pela amizade, companheirismo, convívio agradável e produtivo, sugestões e conselhos, “acessorias técnicas e sociais”, e principalmente, pelas “risadas” sonoras e inesquecíveis.

A Dra. Vilma C. Costa pela amizade, profissionalismo, realização das imagens no microscópio de força atômica além da grande paciência às minhas cobranças.

A Dra. Daniela Vasconcelos por sua ajuda e participação fundamentais no início da síntese dos filmes bioativos produzidos nesse trabalho, pela força e incentivos demonstrados.

À Dra. Ana Maria M. Santos, ao Eduardo A. de Carvalho e Ricardo, todos do CDTN, pelo empenho em encontrar um caminho para a determinação da espessura dos filmes binário e ternário.

Aos amigos da Acesita S/A, Marcos Wiliam Carvalho que facilitou meu acesso ao Centro de Pesquisa, Paulo Luna, Mardlirio José Martins e Núbia pelos ensaios de medidas de espessura e aderência dos filmes além da simpática e agradável recepção na Acesita S/A.

Ao Professor Herman Sander Mansur pela atenção e profissionalismo, sem cujo auxílio não teria sido possível a realização dos ensaios de citotoxicidade dos filmes binário e ternário.

A Dra. Edel Figueiredo Barbosa Stancioli do Laboratório de Microbiologia de Microrganismos Intracelulares – LABMIC/ICB da UFM G pela realização dos ensaios de citotoxicidade dos compósitos desse trabalho.

Ao Professor Vicente Tadeu Lopes Buono pela tranqüilidade, “dicas” importantes para a redação dessa tese, boa vontade e disponibilidade em todos os momentos.

Ao Professor Dagoberto Brandão Santos do Laboratório de Metalografia e Tratamentos Térmicos e Laboratório de Microscopia Eletrônica da UFMG pela liberação das lixadeiras rotativas para a preparação das amostras. Agradeço também à técnica Patrícia Mara Trigueiro de Azevedo pela habitual boa vontade e orientações nas análises do MEV/EDS, e por ter “feito sempre muito bem a sua parte”.

Ao Professor Paulo Modenesi, do Laboratório de Soldagem e de Ensaio Não Destrutivos da UFMG, pela liberação do capacitor de seu laboratório, para a soldagem das amostras e à Dra. Maria Celeste M. de Souza Costa pela amizade e carinho.

Ao Professor Wander Luiz Vasconcelos, meu orientador, por me ter recebido no início dessa jornada no Laboratório de Materiais Cerâmicos da UFMG, por suas orientações e tranqüilidade em todos os momentos.

A todos, muito obrigada!

SUMÁRIO

	LISTA DE FIGURAS	ix
	LISTA DE TABELAS	xiv
	LISTA DE NOTAÇÕES	xv
	RESUMO	xvii
	ABSTRACT	xviii
1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVO	4
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1	<i>Método Sol-Gel</i>	5
3.1.1	Histórico do método	6
3.1.1.1	Silício	7
3.1.2	Descrição do método sol-gel	8
3.1.2.1	Reações de hidrólise e condensação	12
3.1.2.2	Precursores	13
3.1.2.3	Hidrólise	14
3.1.2.4	Condensação	16
3.1.3	Produtos obtidos via rota sol-gel	17
3.2	<i>Biomateriais</i>	18
3.2.1	Cerâmica	19
3.2.2	Biocerâmicas	20
3.2.2.1	Classificação das biocerâmicas	23
3.2.3	Biocompatibilidade	24
3.3	<i>Cerâmica Bioativa</i>	26
3.3.1	Alumina	26
3.3.2	Zircônia	27
3.3.3	Vidro bioativo	29

3.3.4	Vitro-cerâmica	32
3.3.5	Cerâmica de fosfato de cálcio (CPC)	33
3.3.6	Hidroxiapatita	35
3.3.6.1	Formação da hidroxiapatita	36
3.4	<i>Recobrimento</i>	37
3.4.1	Superfície do material	37
3.4.2	Processos de recobrimento	38
3.4.2.1	Deposição química de vapor (CVD)	38
3.4.2.2	Deposição física de vapor (PVD)	38
3.4.2.3	<i>Ion sputtering</i>	39
3.4.2.4	Processo biomimético	39
3.4.2.5	Processo sol-gel	40
3.4.3	Métodos de deposição via sol-gel	40
3.4.3.1	Rotação	41
3.4.3.2	Imersão	41
3.4.4	Filmes finos	44
3.4.4.1	Propriedades	45
3.4.4.2	Secagem do filme	47
3.4.4.3	Obtenção de filme fino através da técnica imersão	48
3.5	<i>Aço Inoxidável</i>	51
3.5.1	Classificação	51
3.5.2	Corrosão em aços inoxidáveis	54
3.5.3	Uso do aço inoxidável na área de implantes	55
3.6	<i>Técnicas de caracterização</i>	57
3.6.1	Microscopia eletrônica de varredura	57
3.6.2	Microscopia de força atômica	57
3.6.3	Espectroscopia na região do infravermelho	58
3.6.4	Raman	59
3.6.5	Espectroscopia de cetelhamento	60
3.6.6	Técnicas de caracterização biológica	60

3.6.6.1	Teste em líquido similar ao fluido humano	62
3.6.6.2	Teste de citotoxicidade	64
4	METODOLOGIA	66
4.1	<i>Substrato</i>	67
4.1.1	Preparação da Amostra	68
4.1.2	Preparação da Solução de Revestimento (Sol)	68
4.2	<i>Revestimento</i>	70
4.2.1	Secagem	70
4.3	<i>Caracterização dos Compósitos</i>	71
4.3.1	Caracterização das Propriedades dos Compósitos	71
4.3.1.1	Avaliação da Espessura dos Filmes	71
4.3.1.2	Avaliação da Aderência dos Filmes ao Substrato	72
4.3.1.3	Avaliação da Densidade dos Géis	72
4.3.2	Caracterização Estrutural dos Compósitos	73
4.3.2.1	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia Dispersiva por Energia (EDS)	74
4.3.2.2	Microscopia de Força Atômica (AFM)	74
4.3.2.3	Análise Térmica dos Géis	75
4.3.2.4	Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	75
4.3.2.5	Raman	76
4.3.2.6	Espectroscopia de emissão óptica por centelhamento (GDOES)	76
4.3.2.7	Avaliação da Bioatividade	76
4.3.2.7.1	SBF	77
4.3.2.7.2	Método de cultura de células	77
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
5.1	<i>Caracterização das Propriedades dos Compósitos</i>	81
5.1.1	Aderência do Filme ao Substrato	81
5.1.2	Avaliação da Espessura dos Filmes	83
5.1.3	Densidade dos Géis	90

5.2	<i>Caracterização Estrutural dos Filmes Binário e Ternário</i>	91
5.2.1	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e EDS	91
5.2.2	Microscopia de Força Atômica (AFM)	95
5.2.2.1	Filme Binário	95
5.2.2.2	Filme Ternário	100
5.2.3	Análise Térmica	105
5.2.3.1	Gel Binário	105
5.2.3.2	Gel Ternário	107
5.2.4	Espectroscopia na Região do Infravermelho	109
5.2.4.1	Filme Binário	110
5.2.4.2	Filme Ternário	123
5.2.5	Raman	129
5.3	<i>Bioatividade</i>	135
5.3.1	SBF	135
5.3.2	Cultura de Células	140
6	CONCLUSÕES	150
7	CONTRIBUIÇÕES À LITERATURA	153
8	RELEVÂNCIA DO TRABALHO	159
9	TRABALHOS FUTUROS	159
10	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	160

LISTA DE FIGURAS

3.1	Gel coloidal (a) e gel polimérico (b).....	9
3.2	Seqüência do processo sol-gel	11
3.3	Classificação dos biomateriais.....	19
3.4	Tipos de materiais biocerâmicos para aplicações médicas.....	21
3.5	Etapas do processo de imersão	43
3.6	Processo de recobrimento por imersão via sol-gel	49
4.1	Fluxograma geral da metodologia	67
5.1	Ensaio de aderência do filme binário seco a 200 °C durante 1 hora	81
5.2	Ensaio de aderência do filme binário seco a 400 °C durante 1 hora	82
5.3	Ensaio de aderência do filme ternário seco a 200 °C durante 1 hora	82
5.4	Ensaio de aderência do filme ternário seco a 400 °C durante 1 hora	83
5.5	Imagem de MEV da seção transversal do filme binário, seco a 200 °C durante 1 hora, com espessura em torno de 280 ± 27 nm	85
5.6	Imagem de MEV da seção transversal do filme binário, seco a 400 °C durante 1 hora, com espessura em torno de 222 ± 21 nm	86
5.7	Imagem de MEV da seção transversal do filme ternário, tratado termicamente a 200 °C durante 1 hora, apresentando espessura em torno de 292 ± 38 nm	86
5.8	Imagem de MEV da seção transversal do filme ternário tratado termicamente a 400 °C durante 1 hora apresentando espessura em torno de 196 ± 21 nm	87
5.9	Espectro de EDS do filme binário seco a 200 °C durante 1 hora, com espessura na faixa de 280 ± 27 nm	88
5.10	Espectro de EDS do filme binário, seco a 400 °C por 1 hora, com espessura na faixa de 222 ± 21 nm	88
5.11	Espectro de EDS do filme ternário, seco a 200 °C por 1 hora, apresentando espessura da ordem de 292 ± 38 nm	89

5.12	Espectro de EDS do filme ternário, seco a 400 °C por 1 hora, apresentando espessura na faixa de 196 ± 21 nm	89
5.13	Densidade dos géis binário (a) e ternário (b) em função da temperatura ...	90
5.14	Fotografia de MEV do filme binário SiO ₂ -CaO	92
5.15	Fotografia de MEV do filme ternário SiO ₂ -CaO-P ₂ O ₅	92
5.16	Espectro de EDS representativo do filme binário recobrando o aço inox ABNT 409	93
5.17	Espectro de EDS representativo do filme ternário revestindo o aço inox ABNT 409	94
5.18	Imagem de AFM do filme binário após aquecimento a 100 °C por 15 minutos	95
5.19	Imagem de AFM do filme binário após aquecimento a 200 °C por 15 minutos	96
5.20	Imagem de AFM do filme binário após aquecimento a 200 °C por 30 minutos	97
5.21	Imagem de AFM do filme binário após aquecimento a 400 °C por 30 minutos	98
5.22	Imagem de AFM do filme ternário após aquecimento a 200 °C por 15 minutos	101
5.23	Imagem de AFM do filme ternário após aquecimento a 200 °C por 1 hora	101
5.24	Imagem de AFM do filme ternário após aquecimento a 400 °C por 15 minutos	102
5.25	Imagem de AFM do filme ternário após aquecimento a 400 °C por 1 hora	103
5.26	Curva de TG do gel binário SiO ₂ -CaO	105
5.27	Curva de DTA do filme binário SiO ₂ -CaO	106
5.28	Curva de TG do gel ternário SiO ₂ -CaO-P ₂ O ₅	107
5.29	Curva de DTA do gel ternário SiO ₂ -CaO-P ₂ O ₅	108
5.30	Espectro de FTIR de amostra de aço inox ABNT 409 revestida com filme binário seco a 200 °C durante 15 minutos.....	110

5.31	Espectro de FTIR de amostra de aço inox ABNT 409 revestida com filme binário seco a 200 °C durante 15 minutos, enfatizando os picos de cálcio	112
5.32	Espectro de FTIR do filme binário seco a 400 °C por 1 hora revestindo o aço inox ABNT 409.....	113
5.33	Espectro de FTIR de amostra de aço inox ABNT 409 revestida com filme binário seco a 400 °C por 1 hora, enfatizando os picos de cálcio	114
5.34	Evolução da razão de pico Si-O-Si/Si-OH do filme binário densificado a 200 °C sendo, (a) durante 15 minutos e (b) durante 1 hora.....	117
5.35	FTIR dos filmes unário e binário, secos a 400 °C por 1 hora, enfatizando a tendência de deslocamento do pico Si-O-Si	118
5.36	Evolução do consumo de nitrato no filme binário após secagem a (a) 200 °C por 15 minutos; (b) 200 °C por 1 hora; (c) 400 °C por 15 minutos em relação à espessura do filme.....	119
5.37	Curva de GDOES do filme binário seco a 200 °C por 1 hora	120
5.38	Deconvolução do espectro de FTIR do filme binário seco a 200 °C durante 1 hora, em função do ângulo de incidência de 25°, enfatizando a ligação Si-O-Fe	122
5.39	Espectro de FTIR do filme ternário seco a 200 °C por 15 minutos, revestindo o aço inox ABNT 409	123
5.40	Espectro de FTIR do filme ternário seco a 400 °C por 15 minutos revestindo o aço inox ABNT 409	124
5.41	Deconvolução do espectro de FTIR do compósito aço inox / filme ternário seco a 200 °C durante 1 hora, empregando ângulo de incidência de 75°	125
5.42	Deconvolução do espectro de FTIR do compósito aço inox / filme ternário seco a 400 °C durante 1 hora, empregando ângulo de incidência de 25°	126

5.43	Evolução da razão de intensidade de pico Si-O-Si/Si-OH dos filmes binário (a) e ternário (b), secos a 200 °C por 15 minutos, em função das camadas mais externas (75°) e mais internas (25°)	127
5.44	Evolução da razão de intensidade de pico de Si-O-Si/Si-OH do filme ternário seco a 200 °C (a) por 15 minutos e (b) por 1 hora.....	128
5.45	Espectro de FTIR dos filmes binário (a) e ternário (b), secos a 400 °C durante 1 hora, em função da camada mais próxima ao substrato (25°)	128
5.46	Espectro de RAMAN de nitrato de cálcio tetra hidratado, utilizado na síntese dos filmes binário e ternário, e, carbonato de cálcio	130
5.47	Espectro de RAMAN do filme binário densificado a 200 °C durante 1 hora	131
5.48	Espectro de RAMAN do filme binário seco a 400 °C por 1 hora	132
5.49	Espectro de RAMAN do filme sol-gel ternário seco a 200 °C durante 1 hora.....	133
5.50	Espectro de RAMAN do filme ternário seco a 400 °C por 15 minutos	133
5.51	Imagem de (a) MEV e (b) EDS do filmes SiO ₂ -CaO, seco a 400 °C durante 1 hora, após 3 semanas em SBF 1,5.....	135
5.52	Imagens de MEV e EDS do filme SiO ₂ -CaO-P ₂ O ₅ . MEV: sendo: (a) seco a 200 °C por 1 hora; (b) seco a 400 °C por 1 hora. EDS: sendo (c) do filme SiO ₂ -CaO-P ₂ O ₅ seco a 400 °C por 1 hora.....	138
5.53	Concentração protéica dos sobrenadantes do cultivo celular realizado sobre os filmes binário e ternário, sendo: 7n200 e 7n400, filme binário seco a 200 °C e a 400 °C; 9n200 e 9n400, filme ternário seco a 200 °C e a 400 °C; SR, aço sem revestimento.....	140
5.54	Registros fotográficos após 20 horas de semeadura das células aos poços-controle, sendo: A, controle celular; B, amostra sem revestimento; C, 7n 200 °C; D, 7n 400 °C; E, 9n 200 °C; F, 9n 400 °C.....	142

5.55	Viabilidade celular através de MTT. A. Controle Celular; B. 7n 200 °C; C. 7n 400 °C; D. 9n 200 °C; E. Amostra sem revestimento, células na borda do poço, ao lado do material; F Amostra sem revestimento; células sobre o material. A – E. Aumento de 100X; F. Aumento de 400X.....	144
5.56	Ensaio de viabilidade celular nas amostras de aço inox ABNT 409, revestidas com filmes binário e ternário, e no aço sem revestimento (SR), onde foram semeadas células VERO.....	146
5.57	Fotografias de MEV mostram o crescimento de células VERO na superfície de filmes sol-gel após 24 horas de incubação, onde: (a) filme binário seco a 200 °C; (b) filme binário seco a 400 °C; (c) filme ternário seco a 200 °C; (d) filme ternário seco a 400 °C; (e) vista ampliada de filme binário seco a 200 °C ; (f) vista ampliada de filme ternário seco a 200 °C.....	148

LISTA DE TABELAS

3.1	Aplicação biomédica dos materiais biocerâmicos	23
3.2	Classificação das biocerâmicas	24
3.3	Respostas entre o implante e o tecido	25
3.4	Características físicas da alumina biocerâmica.....	27
3.5	Propriedades da alumina e zircônia utilizadas em implantes cirúrgicos	28
3.6	Propriedades físicas de uma vitro-cerâmica A/W.....	33
3.7	Razão molar Ca/P de classificação de fosfato de cálcio	34
3.8	Composição química dos aços, % máxima	53
3.9	Propriedades mecânicas e físicas dos aços.....	53
3.10	Concentração iônica do SBF (mM)	63
3.11	Reagentes para a preparação do 1,5 SBF	64
5.1	Espessura dos filmes sol-gel em função da temperatura e duração do tratamento térmico	84
5.2	Quantidade de protuberâncias no filme binário em função do tempo e temperatura do tratamento térmico.....	99
5.3	Quantidade de protuberâncias no filme ternário em função do tempo e temperatura	104
5.4	Influência da variação da concentração de cálcio no filme binário em função da tendência de deslocamento do pico Si-O-Si ($\sim 1050\text{ cm}^{-1}$)	115
5.5	Consumo de silício, cálcio e ferro em função do tempo de “ <i>sputtering</i> ”	121
5.6	Evolução da massa do recobrimento antes e após a incubação no SBF 1,5 durante 3 semanas	136

LISTA DE NOTAÇÕES

ABNT	- Associação Brasileira de Normas Técnicas
AFM	- Microscopia de força atômica
C _p	- Pressão capilar
CPC	- Cerâmica de fosfato de cálcio
CVD	- Deposição química de vapor (<i>chemical vapor deposition</i>)
D	- Densidade
DIP-MMLQ	- Equipamento de imersão desenvolvido no Laboratório de Materiais Cerâmicos da UFMG
DTA	- Análise térmica diferencial
E	- Módulo de Young
EDS	- Espectroscopia de energia dispersiva
f _r	- Fração volumétrica do solvente residual no filme seco
f _s	- Fração volumétrica do solvente no ponto de solidificação
FTIR	- Espectroscopia na região do infravermelho por Transformada de Fourier (<i>Fourier Transform Infrared</i>)
g	- Constante de aceleração da gravidade
GDOES	- Espectroscopia por centelhamento (<i>Glow Discharge Optical Spectroscopy</i>)
h	- Espessura do filme aderido durante a etapa de deposição
HA	- Hidroxiapatita
h _c	- Espessura crítica para a proporção de trinca ou para o crescimento de pequenas fendas
HNO ₃	- Ácido nítrico
KDa	- Kilodaltons
K _{lc}	- Intensidade crítica da tensão
m	- Massa

MEV	- Microscopia eletrônica de varredura
MME	- Meio Mínimo de Eagle
MTT	- Brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol]-2,5-difiniltetrzólíó]
n	- Número de moléculas do gás
P	- Pressão
PVD	- Deposição física de vapor (<i>physical vapor deposition</i>)
r	- Raio do poro
R	- Constante universal dos gases
R	- Grupo alquila
SBF	- Solução similar ao fluido humano (<i>Simulated body fluid</i>)
SDS	- Dodecil sulfato de sódio
SFB	- Soro fetal bovino
T	- Temperatura do gás
TEOS	- Tetraetil ortosilicato
TEP	- Trietil fosfato
TG	- Análise termogravimétrica
U	- Velocidade de retirada do substrato
V	- Volume
VASR	- Refletância especular com ângulo variável
VERO	- Células de macaco utilizadas no ensaio de cultura de célula

Letras gregas:

η	- Viscosidade do líquido
σ	- Tensão
Ω	- Função entre a razão do módulo elástico do filme e do substrato γ
γ_{LV}	- Tensão superficial líquido-vapor
γ	- Tensão superficial
θ	- Ângulo de inclinação da reta densidade <i>versus</i> temperatura

RESUMO

Nesse trabalho foram obtidos compósitos constituídos de aço inox ABNT 409 onde foram depositados filmes produzidos segundo a rota sol-gel, por meio do método de imersão. Foram empregados um filme, binário do sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO}$ e outro, ternário, do sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$. Tanto a caracterização estrutural quanto à das propriedades desses filmes se deu por meio das técnicas de microscopia eletrônica de varredura acoplada ao espectrômetro dispersivo de energia, microscópio de força atômica, espectroscopia na região do infravermelho por Transformada de Fourier, Raman e espectroscopia de centelhamento e análise térmica. A utilização dessas técnicas constatou a formação de um filme sol-gel homogêneo, aderente ao substrato (grau 0 no teste de fita) sem indicativo da presença de trincas e poros. Após a etapa de densificação dos filmes, por meio de AFM foi constatada a presença de protuberâncias constituídas de nitrato de cálcio na superfície desses filmes. Essas protuberâncias possibilitaram projetar a área superficial do filme, simplesmente manipulando parâmetros de fácil acesso como a temperatura e duração da etapa de secagem dos filmes. A variação da temperatura e duração do tratamento térmico permitiu obter superfícies apresentando inúmeras protuberâncias até superfícies isentas delas. Como um dos objetivos do trabalho é a utilização desses revestimentos na área clínica, a biocompatibilidade dos filmes foi acessada por meio de dois métodos: o da solução similar ao fluido corpóreo e do ensaio de cultura de células. O método utilizando a solução corpórea sugeriu a biocompatibilidade através da precipitação de um precursor da hidroxiapatita (fosfato monocálcico) na superfície dos filmes. O método de cultura de células, por sua vez, comprovou a biocompatibilidade dos filmes, uma vez que, em nenhuma das amostras analisadas foi detectado qualquer efeito tóxico. Uma outra informação importante foi o índice de viabilidade celular dos filmes sol-gel encontrado na faixa de 90% a 100% em relação ao controle utilizado.

ABSTRACT

In the present study, composites made up of ABNT 409 stainless steel was obtained where films produced according to the sol-gel route were deposited using the immersion method. A film of the binary system $\text{SiO}_2\text{-CaO}$, and another one of the ternary system $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$, were employed. The structure and properties of these films were characterized through the scanning electron microscopy (SEM) technique, coupled with the energy dispersive spectroscopy, atomic force microscopy, Fourier Transformed Infrared spectroscopy (FTIR), Raman spectroscopy, and glow discharge optical emission spectroscopy and thermal analysis. The use of these techniques revealed the formation of a homogeneous sol-gel film, which adhere to the substrate (degree of 0 in the tape test) with no indication of cracks nor pores. After the film densification stage, AFM images showed the presence of calcium nitrate protuberances on the surface of the films. These protuberances made it possible to design the surface area of the film simply by manipulating easily accessed parameters, such as the temperature and duration of the film drying stage. The variation in temperature and duration of the thermal treatment made it possible to obtain surfaces presenting innumerable protuberances as well as surfaces exempt from such protuberances. Since one of the key aims of this work is the utilization of these coatings in the clinical area, the biocompatibility of the films was accessed through two methods: one method using a solution simulated to corporeal fluids and another using cell culture tests. The method using the corporeal solution suggested biocompatibility through the precipitation of a hydroxyapatite precursor (monocalcium phosphate) on the surface of the films. The method of cell cultures also proved the biocompatibility of the films as no toxic effects were detected in any of the samples analyzed. Another important finding was the cell viability index of the sol-gel films, which ranged from 90% to 100%, in comparison with that of the control used.

1 INTRODUÇÃO

O processo sol-gel é uma rota química para a produção de material cerâmico, vidro, vitro-cerâmica e compósitos a baixa temperatura, com elevada pureza e homogeneidade. Uma vez que esse processo é realizado à baixa temperatura, é possível o controle da morfologia do material, sobretudo, sua porosidade. Devido a essas e outras vantagens, ele tem sido bastante utilizado na área de recobrimento. (HENCH,1993; RODRIGUEZ, 2002).

O aumento na qualidade de vida das pessoas tem incentivado a demanda de biomateriais para a confecção de próteses em substituição a ossos e tecidos. Os materiais metálicos bioinertes têm sido utilizados há muitos anos como substitutos desses ossos e tecidos, mas, apresentam alguns inconvenientes, como é o caso da formação de uma cápsula fibrosa em torno do implante e o risco de liberação iônica no organismo causado pela ruptura do filme passivo. A consequência direta é a necessidade de novas cirurgias para revisões ou mesmo substituições do implante, acoplada ao desconforto e incômodo ao paciente além de mais custos desnecessários.

Entre os materiais metálicos pesquisados e utilizados na confecção desses implantes os mais amplamente utilizados são o titânio e ligas de cobalto-cromo-molibdênio, entretanto, apresentam a desvantagem de serem importados e caros. Entretanto, mesmo esses materiais sofrem com o ambiente altamente corrosivo dos fluidos corpóreos ainda que tenham sido projetados para tais efeitos.

A solução encontrada para pelo menos minimizar ou postergar tais efeitos, tem sido a aplicação de revestimento cerâmico que, devido à sua grande estabilidade química, atua como uma barreira protetora contra a corrosão dos materiais metálicos.

A motivação para esse trabalho baseou-se em dois fatos principais: o primeiro é que o aço inox ABNT 409 não é empregado como biomaterial. O segundo foi que, dentro da área

ortopédica, de acordo com informações disponibilizadas no site do Hospital Sarah Kubitschek de Brasília (www.sarah.br) as lesões ortopédicas foram a segunda causa de internação mais usual nas unidades de Brasília e Salvador. Os membros inferiores foram os mais atingidos correspondendo a 71,7% dos casos atendidos. Segundo informações do Ministério da Saúde na imprensa, em 2004 foram gastos pelo SUS cerca de R\$ 103 milhões com implantes ortopédicos (incluindo implantes tipo síntese, fixadores, próteses e cerâmica). Cada um desses implantes, de acordo com o Ministério da Saúde, representou cerca de 40% do valor total pago pelo SUS para a compra de implantes ortopédicos em 2005. Além do impacto financeiro, as próteses que substituem parcial ou integralmente as articulações contribuem para altas taxas de mortalidade e agravos, grande número de cirurgias de revisão e dias de internação além de impactos negativos na qualidade de vida dos pacientes.

O aço ABNT 409 além de ser um material nobre (elevada resistência à corrosão, boas propriedades físicas e mecânicas) apresenta um custo financeiro inferior aos outros aços empregados, devido à baixa concentração de cromo. Além disso, em sua composição, já apresenta uma quantidade de níquel bastante reduzida, o que minimiza as reações alérgicas que podem ocorrer no organismo devido à presença desse elemento. Uma outra característica importante do aço ABNT 409 é não ser sensível à corrosão sob tensão, em oposição ao aço cirúrgico (ABNT 316), que é sensível. Não é possível esquecer, entretanto, que apesar de suas vantagens, ele é ferromagnético. Em relação ao seu possível inconveniente (ferromagnético) vale a pena ressaltar que ele pode ser facilmente contornado por meio de processos de desmagnetização tão conhecidos por especialistas na área.

Diversos estudos têm comprovado o uso de biomateriais em terapia de hipertermia para tratamento de câncer. Essa terapia consiste no aquecimento programado em uma determinada área. Quando a temperatura é superior a 43 °C, as células cancerígenas são as primeiras a morrer uma vez que, haverá uma redução na quantidade de vasos sanguíneos e ramificações nervosas na área aquecida, tendo como consequência, a redução da

oxigenação nas células cancerígenas e, finalmente, sua morte. ARCOS (2002) esclarece que nesse tipo de terapia tem sido utilizada a inclusão, no filme sol-gel bioativo, de magnetos devido a sua histerese e à indução de corrente quando é aplicada uma variável externa.

Nesse sentido, portanto, é bastante promissora a utilização do aço inox ABNT 409, com propriedades ferromagnéticas, na área de implante, revestido com filme sol-gel, funcionando, principalmente, como uma barreira contra a corrosão do meio fisiológico. A combinação de dois materiais diferentes (aço inox ABNT 409 e filme cerâmico) supre ao mesmo tempo, as duas propriedades (ferromagnetismo e barreira contra a corrosão). Considerando que cada material contribui com suas propriedades peculiares, o compósito obtido nesse trabalho é bastante promissor na área de implante. Através do compósito ora obtido é possível programar uma determinada temperatura durante certo tempo de modo que ao ser implantado, o compósito comece a liberar determinados medicamentos no em torno do implante no sentido de, por exemplo, eliminar dores, possíveis reações inflamatórias, promover a cicatrização, etc.

Assim, objetiva-se aliar à vantagem da rota sol-gel, para a fabricação de um filme de vidro bioativo para revestir o aço inox ABNT 409 e, assim, aumentar a vida útil do implante. Esse aço é um material que apresenta uma vida útil muito extensa (como todo aço), é bastante resistente em meios agressivos (como o do corpo humano), e possui uma vantagem adicional, seu custo financeiro reduzido. Com isso, procura-se atender tanto ao aspecto da inovação tecnológica quanto ao aspecto sócio-econômico, pois, especificamente no caso do Brasil, o número de pessoas com problemas ósseos (expectativa de vida aumentada, doenças, acidentes, etc) tem crescido de forma acentuada, exigindo a cada dia, um pronto atendimento na demanda de próteses e implantes aliados à redução do custo dos materiais envolvidos.

2 OBJETIVO

Esse trabalho propõe a obtenção e caracterização dos filmes bioativos sol-gel com propriedades estruturais projetadas além de elevada estabilidade química, funcionando como barreira contra a corrosão, principalmente, no ambiente do corpo humano.

Os objetivos específicos são:

- ◆ Revestir aço inoxidável ABNT 409 com filme bioativo sol-gel, com o propósito de utilizar na área clínica.
- ◆ Obter filmes finos bioativos pertencentes aos sistemas $\text{SiO}_2\text{-CaO}$ (binário) e $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ (ternário), utilizando a rota sol-gel, que, ao revestirem o substrato metálico, sejam capazes de funcionar como barreira à difusão de elemento metálico no corpo humano.
- ◆ Obter recobrimentos (filmes finos de vidro bioativo) que não sejam citotóxicos, ou seja, que permitam a adesão, crescimento e proliferação celular em meio fisiológico.
- ◆ Obter filmes finos bioativos sol-gel binário e ternário com área superficial projetada para aplicação médica.
- ◆ Caracterizar os filmes sol-gel binário e ternário no que diz respeito à estrutura e às propriedades.
- ◆ Avaliar a biocompatibilidade dos revestimentos através do método *in vitro*, empregando as técnicas de SBF e cultura de célula.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. MÉTODO SOL-GEL

A rota sol-gel é uma rota química que, empregando baixa temperatura e baseando-se nas reações de hidrólise e condensação, permite a obtenção de material cerâmico com características e propriedades ópticas, térmicas, mecânicas, e outras, essenciais e específicas para vários segmentos tecnológicos sejam eles, por exemplo, biológico, eletrônico, espacial, automobilístico, nuclear e recobrimentos (ALVES, 2002; BETZ, 2002; PUGH, 2003; ARFSTEN, 2003).

Essa tecnologia apresenta uma série de vantagens em relação aos métodos convencionais de obtenção de material cerâmico. Enquanto esses últimos geram produtos frágeis, não homogêneos, com muitos defeitos, além de utilizarem altas temperaturas da ordem de 1700°C ou mais, dependendo do material, encarecendo sobremaneira o produto final, o método sol-gel empregando baixa temperatura obtém um produto final com elevada pureza e homogeneidade, devido ao pequeno tamanho das partículas com elevada área superficial (RIGO, 1999; VAN DE LEEST, 2001; BALAMURUGAN, 2002).

Ainda mais, o método sol-gel permite a manipulação da estrutura do material, a nível nanométrico, levando a um produto com elevada homogeneidade; permite a utilização de diferentes rotas (alcóxido ou coloidal) no sentido de gerar um material cerâmico com propriedades definidas, homogêneo e, de pureza elevada. Uma outra vantagem a enfatizar no sol-gel em relação aos processos convencionais é que ele permite o recobrimento de grandes superfícies, possibilitando a obtenção de filmes com espessuras desde nanômetros a alguns milímetros, além da obtenção de um produto final com uma geometria pré-definida desde as etapas iniciais do processo, e baixo custo nas instalações (HENCH, 1990; RIGO, 1999; TROCZYNSKI, 2001; VAN DE LEEST, 2001; BALAMURUGAN, 2002).

3.1.1 Histórico do método

O método sol-gel teve seu início por volta de 1845 através dos cientistas Ebelmen e Graham que estudavam géis à base de sílica e perceberam que a hidrólise do tetraetilortossilicato (TEOS), em meio ácido, produzia sílica sob a forma de um material vítreo. Quase um século depois, em 1940, a importância dessa tecnologia começou a ser industrialmente reconhecida através da concessão da primeira patente para a obtenção de filmes de silicato, obtido pelo método de imersão, concedido à empresa alemã Jenaer Glaswer Schott & Gen. (HENCH, 1990; BRINKER, 1994; HUANG, 2002).

Nas décadas de 1950 e 1960 surgiram as primeiras aplicações para os produtos oriundos do processo sol-gel, como revestimento para espelhos retrovisores e recobrimentos na área de arquitetura (BRINKER, 1990; HUANG, 2002).

Na década de 1970 houve um grande avanço tecnológico com a utilização da rota sol-gel para a obtenção de fibra óptica pelos pesquisadores da Bell Laboratories e Lucent Technologies, Inc. (MACKENZIE, 2003).

Um avanço a ressaltar na década de 1980, foi a obtenção de materiais híbridos orgânico-inorgânicos onde um polímero orgânico encontra-se ligado quimicamente, de forma covalente, à estrutura de um composto inorgânico (por exemplo, a sílica) para formar um novo tipo de material. Inicialmente, esse material recebeu o nome de Ormosils (*organically modified silicates*) e, posteriormente, passou a ser conhecido por Ormocers (*organically modified ceramics*) (CORRIU, 1996; MACKENZIE, 2000).

Na década de 1990 surgiram os biossensores, amplamente empregados na área de identificação e quantificação de metabólitos de forma rápida e segura no campo da medicina, mesmo em casos em que a amostra se encontra em uma quantidade muito pequena, como é o caso dos fluidos corpóreos (ALFAYA, 2002).

O futuro da rota sol-gel tem se mostrado bastante promissor, considerando que é uma rota processual bastante atrativa devido à possibilidade de “construir” novos materiais cerâmicos, apresentando naturezas e formas variadas (filmes, fibras, monólitos, pós e grãos) com elevadas pureza e homogeneidade, propriedades e características cada vez mais inovadoras em aplicações potenciais, empregando baixa temperatura, além da facilidade do controle do processo e das características estruturais. Um outro atrativo dessa rota é que como subprodutos são obtidos água e álcool, que não agredem ao meio ambiente.

3.1.1.1 Silício

O silício pertence à mesma família do carbono na Tabela Periódica (grupo IVA) e, no estado mais estável, tanto o silício quanto o carbono, ligam-se a outros quatro átomos. O silício, entretanto, é mais eletropositivo que o carbono, não forma duplas ligações estáveis e é capaz de formar reações químicas úteis e importantes.

O silano (monômero do silício) possui uma estrutura similar ao metano. Pode ser dividido em (OLIVEIRA, 2006; CORNING, 2006):

a) organosilano → é o silano que apresenta pelo menos uma ligação carbono-silício na estrutura. A ligação silício-carbono é muito estável e apolar. É correspondente ao alcano, quando um átomo de carbono é substituído por um átomo de silício. Exemplo: $(\text{CH}_3)_4\text{C}$ e $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$.

b) silanol → é o silano onde pelo menos um dos grupos alquil foi substituído por um grupo hidroxila. Exemplo: $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ e $(\text{CH}_3)_3\text{Si-OH}$. O silanol pode reagir com outros silanol para formar a ligação siloxana (Si-O-Si) ou, em presença de grupos hidroxila metálicos, formar uma ligação muito estável com a superfície metálica-Si-O-metal.

c) siloxana → é o correspondente aos ésteres, onde os átomos de carbono ligados ao oxigênio são substituídos por átomo de silício. Apresenta uma estrutura muito estável. Exemplo → $(\text{CH}_3)_3\text{-C-O-C}(\text{CH}_3)_3$ e $(\text{CH}_3)_3\text{-Si-O-Si}(\text{CH}_3)_3$.

3.1.2 Descrição do método sol-gel

Em linhas gerais, o processo sol-gel se refere a uma rota química que se baseia na transformação de um sol em um material poroso que imobiliza a fase líquida nos seus interstícios, conhecido como gel. O processo sol-gel fundamenta-se nas reações de hidrólise (reação 3.1) e condensação (alcóolica, reação 3.2 e, aquosa, reação 3.3), mostradas abaixo, onde **R** representa um grupo alquila ($\text{C}_n\text{H}_{2x+1}$), geralmente CH_3 , C_2H_5 ou C_3H_7 ; **M** representa um metal tal como silício, alumínio ou titânio e; **M(OR)_Z**, o alcóxido metálico, utilizado como precursor, embora sais metálicos inorgânicos possam também ser usados (BRINKER, 1990; LIMA, 1998; HUANG, 2002; ALFAYA, 2002).



Durante a reação de hidrólise ocorre a substituição do grupo alcóxido pelo grupamento hidroxila (OH). Em seguida, as reações de condensação envolvendo o grupo silanol, produzem ligações siloxanas (Si-O-Si), além do subproduto álcool (ROH) ou água (BRINKER, 1990; CORRIU, 1996).

O sol (uma suspensão de partículas sólidas em um líquido no qual as partículas são tão pequenas que permanecem suspensas indefinidamente devido aos movimentos Brownianos) é obtido a partir da mistura física dos precursores (alcóxidos ou sais) como fonte de cátions, em presença de água, como agente de hidrólise, um catalisador (ácido ou

básico) e, às vezes, na presença de solventes para a homogeneização no estágio inicial. Os precursores alcóxidos mais utilizados são o tetraetilortossilicato (TEOS) e o tetrametilortossilicato (TMOS). Na etapa de formação do sol iniciam-se as reações de hidrólise e condensação. Uma característica importante do sol é sua baixa viscosidade que permite que seja vazado em moldes com a geometria do produto final (HENCH, 1990; RIGO, 1999; DUCHEYNE, 1999; DEAN-MO, 2001).

Após a formação do sol, inicia-se a etapa conhecida como gelação na qual ocorrem as interações entre as cadeias poliméricas (no caso da rota via alcóxido) ou, a união entre as partículas, pelo processo de crescimento e agregação (no caso da rota coloidal) levando à obtenção de uma estrutura sólida tridimensional, conhecida como gel, cujos poros são preenchidos com líquido (geralmente água/solvente). O gel, proveniente da rota coloidal recebe o nome de gel coloidal e, aquele oriundo da rota polimérica, o nome de gel polimérico, conforme mostrado na Figura 3.1 (HENCH, 1990; LIMA, 1998).

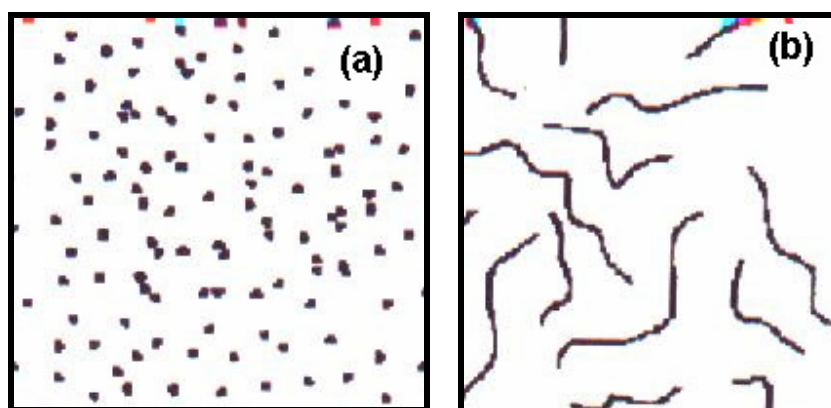


Figura 3.1 – Gel coloidal (a) e gel polimérico (b).

O gel formado é deixado reagir, na etapa de envelhecimento, levando a mudanças estruturais que acontecem depois da gelação. Nesse período a estrutura tridimensional (gel) vai sofrendo um rearranjo entre as partículas, gerando um melhor empacotamento e, conseqüentemente, expulsando o líquido em torno das partículas, forçando uma contração

do gel, processo conhecido como sinérese, causado pelas forças capilares que atuam nas paredes dos poros à medida que o líquido vai sendo expulso. A sinérese provoca uma resistência e, devido às contrações a remoção do gel do recipiente é facilitada (HENCH, 1990; BHANDARKAR, 2002).

A próxima etapa é a de secagem, onde o líquido (água, íons hidroxila, material orgânico, contaminantes) ainda remanescente nos poros da estrutura sólida é finalmente eliminado, por simples evaporação ou transformação hipercrítica, levando à formação de um gel estável. Durante a secagem, o líquido presente nos poros do gel é transportado para o exterior através da difusão. Quando se emprega condição hipercrítica (ausência de forças capilares) obtém-se um produto conhecido como aerogel, que possui baixa densidade e reduzida propriedade mecânica e, um índice de refração próximo da unidade. Quando se utiliza a evaporação à temperatura ambiente na secagem, obtém-se o xerogel, que, ao contrário do aerogel, apresenta uma alta densidade, boas propriedades mecânicas, é estável e transparente à luz visível (HENCH, 1990; BHANDARKAR, 2002).

Finalmente, segue-se a etapa de densificação (sinterização) onde são empregadas altas temperaturas, da ordem de 800 °C a 1200 °C, dependendo da composição química do gel e de parâmetros de fases processuais anteriores. Nessa fase, o gel poroso é densificado obtendo-se um sólido denso e amorfo, sob a forma de pós, fibras, monólitos ou recobrimentos cerâmicos (HENCH, 1990; DUCHEYNE, 1999).

No caso da obtenção de filmes de silanos, a etapa da densificação (cura, secagem) é obtida pela formação de um reticulado (*cross-linking*) adequado, onde, as reações dos grupos silanol (Si-OH), que reticularão e formarão as ligações siloxano (Si-O-Si) são aceleradas pela ação da temperatura, conduzindo assim, a elevação da densidade desse retículo polimérico, de acordo com OLIVEIRA (2006). Quanto maior a densidade de ligações siloxanas, mais o filme funcionará como barreira contra a corrosão (CAPIOTO, 1998; OLIVEIRA, 2006).

O método sol-gel permite um controle das propriedades finais do produto cerâmico através de simples variações nos parâmetros de processo, tais como o tipo e concentração de precursor, pH do meio reacional, tipo e concentração do catalisador (ácido ou base), tempo empregado na gelação, na secagem, etc. Por isso, é importantes um entendimento das reações químicas envolvidas na transformação do sol em gel, das rotas coloidal (ou aquosa ou dos sais) e polimérica (ou via alcóxido) para uma compreensão e controle das etapas processuais na síntese do material cerâmico, via sol-gel (LANGE, 1995; CORRIU, 1996; LENZA, 2001; ALVES, 2002).

A seqüência do processo sol-gel está ilustrada na Figura 3.2.

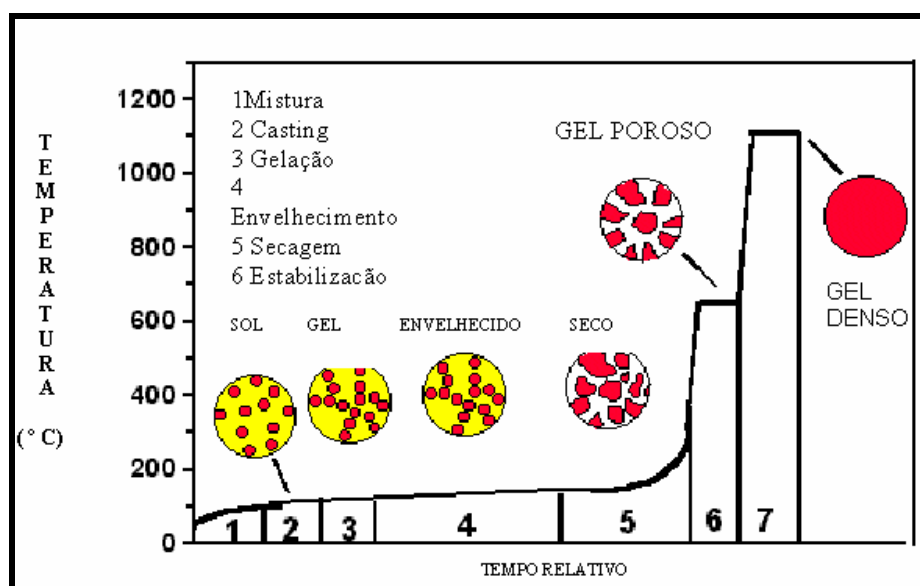


Figura 3.2 – Seqüência do processo sol-gel.

Fonte – Adaptado de HENCH, p.274, 1990.

Vários autores, entre eles, LIMA (1998), HUANG (2002) e ALFAYA (2002), esclarecem que atualmente os precursores alcóxidos tem sido mais utilizados em detrimento dos sais (cloretos, nitratos, sulfetos, etc). Uma das razões para essa preferência se deve ao fato de que na síntese empregando os precursores cloretos, a velocidade da reação de hidrólise é

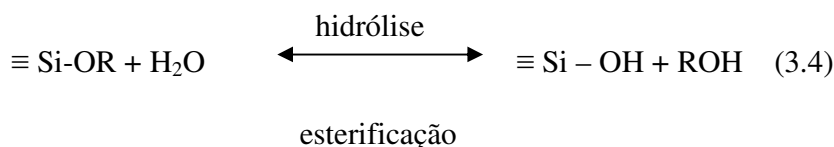
muito rápida, tornando difícil o controle das propriedades físicas (tamanho, área superficial, etc), dificultando a obtenção de precursores com homogeneidade elevada. Assim, de acordo com aqueles pesquisadores, apesar do alto custo dos precursores alcóxidos, eles são mais utilizados, pois permite um maior controle sobre as velocidades de reação, facilitando o controle das propriedades físicas do produto final.

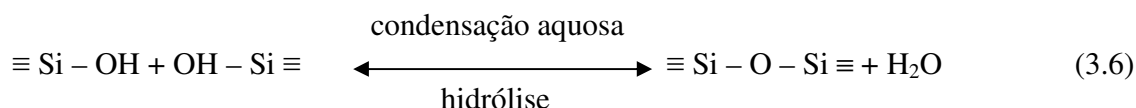
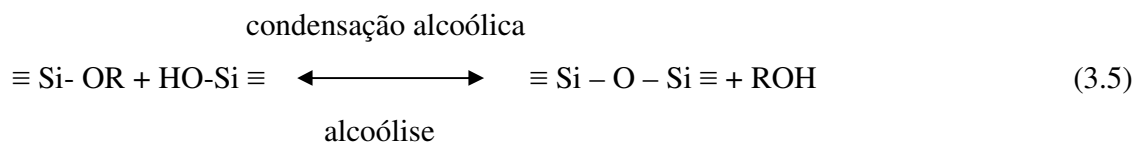
É interessante ressaltar, entretanto, que a cinética da formação do gel pode ser controlada através das reações de hidrólise e condensação, a ponto de poder direcionar o processo para a rota polimérica, obtendo-se, por exemplo, filmes ou coloidal, podendo-se obter partículas esféricas (LANGE, 1995; LENZA, 2001; CROOK, 2001; CHUNG, 2003; AIROLDI, 2004).

A rota sol-gel permite a obtenção de uma série de produtos, como por exemplo, o sol que, devido a sua baixa viscosidade, pode ser puxado sob a forma de fibras; depositado, por imersão (dip-coating) ou rotação (spin-coating) em substratos para a obtenção de recobrimento; vazado em molde para a obtenção de monólito ou; precipitado, sob a forma de partículas (CHEMAT, 2001).

3.1.2.1 Reações de hidrólise e condensação

BRINKER (1990) ensina que, na rota sol-gel, as reações de hidrólise e condensação são as responsáveis pelo processamento do produto desejado. Os géis de silicatos geralmente são sintetizados empregando-se precursores tetrafuncionais de alcóxidos e utilizando, como catalisadores, ácidos minerais (como por exemplo, HCl) ou bases (como por exemplo, NH₃). Considerando o nível funcional, três tipos de reações definem a rota sol-gel:





onde R é um grupo alquila $\text{C}_x\text{H}_{2x+1}$. A reação de hidrólise (3.4) troca o grupo alcóxido (OR) com o grupo hidroxila (OH). A reação que se segue é a de condensação que envolve o grupo silanol produzindo ligações siloxanas (Si-O-Si) além do álcool ou água, como subprodutos. Na grande maioria das situações a reação de condensação (equações 3.5 e 3.6) inicia-se antes da hidrólise (equação 3.4) se completar. OLIVEIRA (2006) reporta que a grande maioria dos silanos apresenta uma limitada solubilidade em água até que os grupos alcóxi-silanos sejam convertidos em grupos silanóis hidrofílicos. Por essa razão, é bastante usual a adição de um solvente homogeneizante comum, como o álcool.

DEAN-MO (2001), entretanto, frisa que o gel pode ser obtido sem a adição desse solvente comum, já que o álcool, um dos subprodutos da reação de hidrólise, é obtido em quantidade suficiente para homogeneizar a fase inicial. Segundo esse autor, esse fato é facilmente constatado pelo cheiro de álcool que sempre acompanha qualquer produto da reação de um alcóxido, mesmo quando nenhum álcool é adicionado.

3.1.2.2 Precursores

O processo sol-gel pode ser dividido em duas áreas dependendo do tipo de precursor empregado: precursores inorgânicos (cloretos, nitratos, sulfatos, etc) e precursores alcóxidos. A rota que utiliza os precursores alcóxidos, segundo vários autores, parece ser a mais promissora (CORRIU, 1996; ALFAYA, 2002).

Os precursores alcóxidos mais utilizados na rota sol-gel são o tetraetilortossilicato $[\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4]$ e o tetrametilortossilicato $[\text{Si}(\text{OCH}_3)_4]$. Esses precursores são mencionados na literatura também, através de suas abreviaturas TEOS e TMOS, respectivamente (HENCH, 1990; DEAN-MO, 2001; AIROLDI, 2004).

AIROLDI (2004) esclarece que no caso de alcóxidos do tipo $\text{Si}(\text{OR})_4$, o tamanho da cadeia (determinada pela natureza do radical R) é de fundamental importância para a cinética do processo de hidrólise do alcóxido, verificando-se que, quanto maior a cadeia, mais lento é o processo de hidrólise, o que por sua vez, influenciará as propriedades (tamanho de grão e porosidade) do composto formado. Portanto, é de suma importância a escolha do precursor a ser empregado no processo. Os precursores mais comumente empregados são o tetraetilortossilicato (TEOS) e o tetrametilortossilicato (TMOS). Entretanto, o primeiro é mais empregado, por ser menos tóxico. No caso da fonte de fósforo, normalmente se emprega o tetraetoxifosfato (TEP) (HARUVY, 1993; BELLANTONE, 2000).

Precursores de fórmula geral $\text{R}_{4-x}\text{Si}(\text{OR})_x$, onde $x = 1$ a 4 , são obtidos comercialmente ou podem ser preparados via diferentes rotas sintéticas. O grupo funcional R está ligado ao átomo de silício por uma ligação Si-C, a qual é bastante resistente à hidrólise devido à baixa acidez de Lewis do silício (ALFAYA, 2002).

3.1.2.3 Hidrólise

A reação de hidrólise ocorre através de uma rápida protonação do alcóxido, seguida por um ataque da água, resultando assim, na substituição do grupo alcóxi pelo grupo hidroxila. A protonação inicia-se de forma lenta quando existe uma grande quantidade de grupos hidroxila, uma vez que, esses grupos são fortemente atraídos por elétrons, provocando uma baixa estabilidade do alcóxido protonado. A taxa de hidrólise então, começa a diminuir com o aumento da quantidade de substituições de OH (LANGE, 1995; CORRIU, 1996).

A grande maioria dos silanos são imiscíveis em meio aquoso até que os grupos alcóxi-silanos sejam convertidos em grupos silanóis hidrofílicos, razão pela qual, normalmente são empregados agentes homogeneizantes (álcoois, dioxanas, acetonas, etc) cuja função é facilitar a hidrólise dos silanos contidos na cadeia orgânica ou no ligante orgânico (BRINKER, 1990, OLIVEIRA, 2006).

Uma forma usual de tornar a reação de hidrólise mais rápida e completa é através do uso de catalisadores. Muito embora os ácidos minerais e a amônia sejam os mais empregados na rota sol-gel, outros catalisadores como o ácido acético, hidróxido de potássio, aminas, KF, HF, alcóxidos de titânio, alcóxidos de vanádio e óxidos são utilizados (BRINKER, 1990).

A reação de hidrólise possui um mecanismo altamente dependente do tipo de catalisador empregado, pelo fato dos alcóxidos de silício possuírem uma baixa reatividade. Existem três tipos de catalisadores utilizados no processo sol-gel: ácido, básico (OH⁻) e nucleofílico (F⁻, N⁻metilimidazol, hexametilfosforamida - HMPA) (CORRIU, 1996; ALFAYA, 2002).

Sob condições ácidas, o grupo alcóxido é protonado em um primeiro estágio bem rápido. A densidade eletrônica é retirada do silício, tornando-o mais eletrofílico e, assim, mais suscetível pelo ataque da água. A molécula da água ataca a parte final e adquire uma carga parcial positiva. A carga positiva do alcóxido protonado é correspondentemente reduzida, levando o álcool a deixar o grupo (BRINKER, 1990). Empregando um pH baixo, normalmente a reação de hidrólise é rápida e a de condensação, vagarosa (OLIVEIRA, 2006).

Sob condições básicas, entretanto, a água se dissocia para produzir ânions hidroxila nucleofílicos em um primeiro estágio bem rápido. O ânion hidroxila por sua vez, ataca o átomo de silício invertendo o tetraedro do silício (BRINKER, 1990). Com o uso de um pH elevado, as reações de hidrólise e condensação são rápidas e normalmente não conduzem a formação de filmes de boa qualidade, de acordo com OLIVEIRA (2006).

A razão molar $H_2O : Si$, a natureza e a concentração do catalisador além do tipo de precursor alcóxido são parâmetros específicos que afetam a velocidade das reações de hidrólise e condensação. Em geral, preparações empregando baixo valor de pH e pequenas quantidades de água levam a produção de materiais densos com tamanho médio de poros pequeno, enquanto que, preparações que empregam altas taxas de pH e elevadas quantidades de água produzem materiais mais porosos (ALFAYA, 2002).

3.1.2.4 Condensação

BRINKER (1990) postula que as reações de condensação começam antes que as de hidrólise terminem, fazendo com que o mecanismo do processo sol-gel seja complexo envolvendo muitas reações de hidrólise e condensação ao mesmo tempo.

Muito embora a condensação do silanol possa ocorrer termicamente sem a adição de catalisadores, o uso deles, especialmente no caso dos organosilanos, é geralmente apreciado. Inúmeros catalisadores são empregados, tanto ácidos quanto básicos, mas também, sais neutros e alcóxidos de metais de transição (BRINKER, 1990).

Uma vez que no sistema silicato aquoso o tempo de gelação seja reduzido abaixo do ponto isoelétrico da sílica, é acreditado que o mecanismo da condensação ácida envolve a protonação de espécies silanol. A protonação do silanol torna o silício mais eletrofílico e assim, mais suscetível ao ataque nucleofílico (BRINKER, 1990).

Sob condições ácidas, a condensação ocorre preferentemente entre os grupos silanol localizados nos monômeros ou no final de cadeias poliméricas. Isto leva à formação de géis compostos de cadeias poliméricas lineares entrelaçadas, as quais, após secagem formam uma matriz de baixo volume de poros. Sob condições, básicas, entretanto, a condensação ocorre preferencialmente entre oligômeros altamente ramificados, os quais,

levam à formação de géis particulados que, após secagem, produzem materiais com alta porosidade (ALFAYA, 2002).

3.1.3 Produtos obtidos via rota sol-gel

A rota sol-gel permite a obtenção de uma grande variedade de produtos. Um exemplo, é que o sol obtido logo na etapa inicial, possui condições ideais para ser empregado como recobrimento de substratos de geometrias simples e complexas.

Empregando-se condições especiais durante a etapa de secagem, podem-se obter dois produtos distintos: o aerogel e o xerogel. O aerogel é obtido através da eliminação de líquido dos poros do gel, empregando-se condições de secagem hipercríticas. Como consequência, ele apresenta uma baixa densidade, propriedades mecânicas baixas e são muito estáveis. O xerogel, por sua vez, é produzido através da evaporação de líquidos dos poros do gel a baixas temperatura e pressão. Como consequência, apresenta elevada densidade, boas propriedades mecânicas e são estáveis (HENCH, 1990).

Um outro produto obtido via rota sol-gel são os biossensores. Os biossensores são constituídos de duas partes: o componente biológico ativo (o reconhecedor) e um transdutor. O reconhecedor, como o próprio nome indica, faz o reconhecimento de uma determinada substância através de uma reação bioquímica específica, alterando a concentração de prótons, a liberação de gases, a emissão ou a absorção de luz, a emissão de calor, etc. O transdutor, por seu turno, converte a energia das alterações numa forma mensurável, como a variação de corrente, potencial, temperatura, entre outros (ALFAYA, 2002; MACKENZIE, 2003).

Um outro exemplo de produto do processo sol-gel, largamente empregado são os recobrimentos, que possuem a vantagem de alterar as superfícies de um substrato conferindo-lhe propriedades químicas, mecânicas, físicas, eletrônicas, entre várias outras.

Entre as várias aplicações dos recobrimentos, podemos citar camadas protetoras contra a corrosão, camadas catalíticas, camadas duras para superfícies de corte, camadas magnéticas, filmes supercondutores, etc (BIRREL, 2004).

3.2 BIOMATERIAIS

Biomateriais, por definição são compostos designados para substituir parte ou a função do corpo humano de forma sadia, econômica, fisiológica e estética aceitável. Dito de outra forma são materiais sintéticos utilizados na substituição ou reparação de tecidos. Apresentam propriedades físicas e biológicas compatíveis com os tecidos vivos hospedeiros, de forma a estimular uma resposta adequada dos mesmos (KAWACHI, 2000; VALLET-REGI, 2001; HEIMANN, 2002).

Podem ser classificados como biomédicos, com origem artificial (metais, cerâmicas, polímeros) e biológicos, ou seja, de origem natural (vegetal, animal ou humana). A Figura 3.3 ilustra a classificação dos biomateriais, de acordo com a opinião de VALLET-REGÍ (2001).

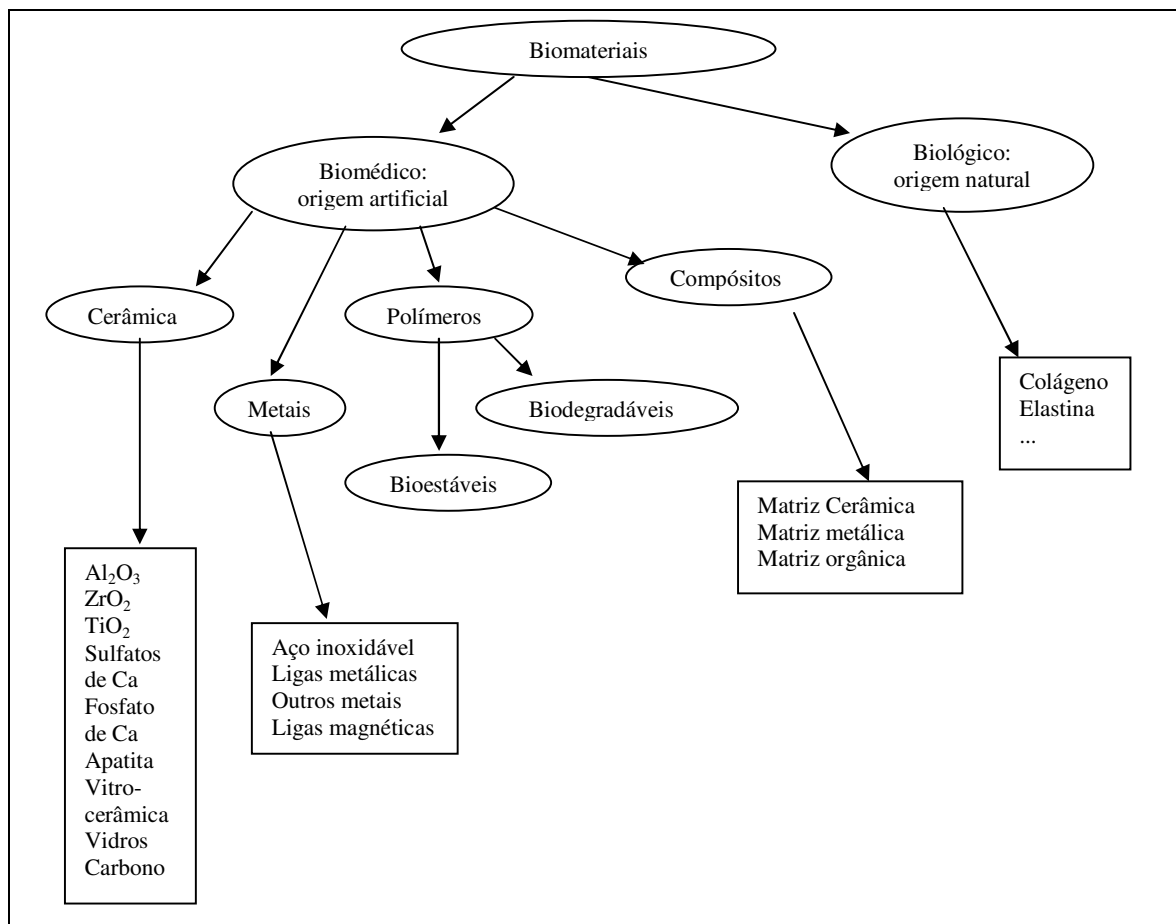


Figura 3.3 - Classificação dos biomateriais.

Fonte – Adaptado de VALLET-REGÍ, p.97, 2001.

3.2.1 Cerâmica

As cerâmicas são compostos formados pela combinação de elementos metálicos e não metálicos. Os vidros, geralmente, são considerados como um subgrupo das cerâmicas. Entretanto, eles são amorfos, o que significa que não apresentam ordem atômica a longa distância (NICOLODI, 2004).

As propriedades típicas da cerâmica são a dureza, elevada resistência à compressão, fragilidade, ponto de fusão elevado, isolante térmico e elétrico, resistentes à corrosão, quimicamente estáveis, elevada tensão superficial (VALLET-REGÍ, 2001; NICOLODI, 2004).

As propriedades de estabilidade térmica e química, elevada resistência e durabilidade conferem ao material cerâmico os pré-requisitos ideais para um bom material a ser utilizado na área de implantes inertes. O material cerâmico é um dos poucos materiais duráveis e estáveis em ambientes corrosivos, como é o caso de fluidos fisiológicos. Apesar de inúmeras propriedades vantajosas, esse material apresenta o inconveniente da fragilidade. Entretanto uma combinação com outro tipo de material, ou mesmo outro material cerâmico, pode fazer com que atinja outras características importantes, como é o caso da elasticidade. Um metal biocompatível revestido com cerâmica apresenta a resistência e a flexibilidade do metal e a habilidade da cerâmica de funcionar no ambiente do sistema biológico (NICOLODI, 2004).

3.2.2 Biocerâmicas

Biocerâmicas são materiais cerâmicos utilizados na reparação ou reconstrução de tecidos ou parte deles, geralmente, ossos, juntas ou dentes. Esses materiais são constituídos de diferentes fases. Podem ser simples cristais (como por exemplo a safira), policristalinos (por exemplo, a hidroxiapatita), vidro, vitro-cerâmica ou compósitos (polietileno-hidroxiapatita) (HENCH, 1993).

KAWACHI (2000) mostra que uma das razões para o aumento da expectativa de vida e, conseqüentemente, do número de idosos no planeta, é devida aos avanços introduzidos na área médica, no conforto gerado pela vida moderna, na preocupação alimentar e lazer. Como conseqüência direta, as doenças relativas à velhice, principalmente aquelas que afetam a estrutura óssea, têm se intensificado. Entretanto, é importante frisar que, não

apenas as doenças ligadas à idade danificam a estrutura óssea, mas também, traumas provocados, principalmente, por acidentes no trânsito e no trabalho.

Essa situação tem incentivado inúmeros pesquisadores no desenvolvimento de novos materiais que propiciem a substituição ou a reparação desses órgãos (ossos, tecidos) danificados, aumentando assim a qualidade de vida.

VALLET-REGÍ (2001) esclarece que se for considerada a natureza inerte ou bioativa de diferentes cerâmicas para diferentes aplicações médicas, considerando-se o tamanho de partícula e porosidade, são conhecidos atualmente três grupos de material biocerâmico, conforme ilustrado na Figura 3.4.

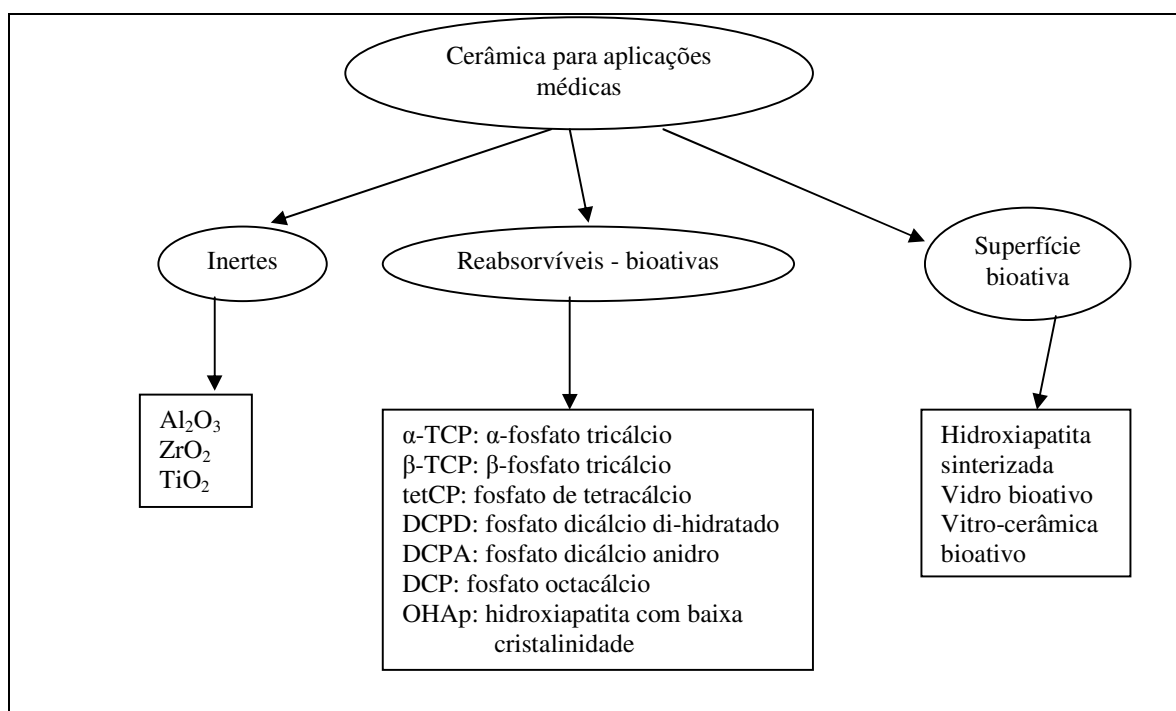


Figura 3.4 – Tipos de materiais biocerâmicos para aplicações médicas.

Fonte – Adaptado de Vallet-Regí, p.98, 2001.

Dispositivos e próteses ortopédicas e dentárias têm sido utilizadas no corpo humano no sentido de restaurar ossos desgastados ou traumatizados por doenças ou acidentes. Para a confecção desses dispositivos têm sido empregados materiais metálicos e suas ligas, devido às boas propriedades mecânicas. Entre esses materiais são citados os aços inoxidáveis (tipo 316L, contendo baixa quantidade de carbono) ligas cobalto-cromo, de titânio, entre outros (GALLIANO, 1998; GALLARDO, 2000; KANNAN, 2002; MORITZ, 2004).

Os materiais metálicos, entretanto, apresentam algumas desvantagens que dificultam sua utilização no corpo humano. BEECH (1999) e DURÁN (2004) mostram que uma dessas desvantagens é a baixa resistência à corrosão em meio fisiológico, permitindo que quantidades importantes de íons metálicos sejam liberados nos tecidos vizinhos levando a formação de tumores e falhas no implante. Uma outra desvantagem, segundo GALLIANO (1998) e KANNAN (2002), é a baixa bioatividade, ou seja, os materiais metálicos não são capazes de formar uma ligação forte com o tecido vizinho a não ser através de dispositivos de fixação.

GALLIANO (1998) e RIGO (1999) mostram que uma forma encontrada para contornar esse problema foi por meio do revestimento de metais com material cerâmico de modo a impedir a corrosão além de melhorar a bioatividade do material utilizado no implante. O material cerâmico, embora tenha uma baixa resistência mecânica, apresenta uma elevada resistência à corrosão além de ser bioativo.

A Tabela 3.1 exemplifica algumas utilizações dos materiais biocerâmicos.

Tabela 3.1 -Aplicação dos materiais biocerâmicos.

Utilização	Função	Biomaterial
Quadril, joelhos, ombro, cotovelo, pulso	Reconstruir juntas inflamadas ou fraturadas	Alumina de alta densidade, revestimento metálico como biovidro
Placas de osso, parafusos, fios	Reparação de fraturas	Compósito biovidro-fibras de metal; compósito polissulfona-fibras de carbono
Membros artificiais permanentemente implantados	Substituição de extremidades defeituosas	Compósito metal-biovidro; compósito polissulfona-fibras de carbono
Fusão espinal	Imobilização vertebral para proteção do fio espinal	Biovidro
Âncora ortodôntica	Providenciar pilares de sustentação necessária para modificar deformidades	Al ₂ O ₃ revestida com biovidro

Fonte: Adaptado de Thamaraiselvi (2004).

3.2.2.1 Classificação das biocerâmicas

As biocerâmicas são classificadas em quatro tipos, segundo a resposta desenvolvida na interface tecido vivo/implante, conforme Tabela 3.2 (HENCH, 1993; KAWACHI, 2000).

Tabela 3.2 - Classificação das biocerâmicas.

Tipo da biocerâmica	Interação com os tecidos	Exemplos
Inertes	Não há interação química nem biológica	Alumina
Porosas	Ocorre o crescimento interno dos tecidos através dos poros	Aluminatos e hidroxiapatita porosos
Bioativas	Ocorre forte ligação na interface osso-implante	Biovidros, hidroxiapatita e vitro-cerâmicas
Reabsorvíveis	As cerâmicas são degradadas e substituídas pelos tecidos	Gesso e fosfato tricálcico

Fonte: Kawachi, 2000.

3.2.3 Biocompatibilidade

O pré-requisito para que um material sintético possa ser implantado no corpo humano é que ele seja biocompatível. Um material é dito biocompatível se o corpo pode funcionar junto com ele, sem qualquer complicação como, por exemplo, reações alérgicas, inflamações ou efeitos colaterais. Diz-se que um implante é biocompatível se o corpo segue as etapas normais de restabelecimento após a cirurgia (NICOLODI, 2004; BERNDT, 2004).

Os materiais biocompatíveis podem ser enquadrados em três grandes classes, dependendo da sua interação com o tecido (KAWACHI, 2000; BERNDT, 2004; NICOLODI, 2004):

Material bioinerte, não interage com o sistema biológico, não provoca nenhuma resposta do tecido hospedeiro. Isso se deve porque esse material não reage com os elementos químicos presentes no local, uma vez que, os materiais bioinertes já reagiram antes com outra substância mais reativa. É por isso, que materiais bioinertes, geralmente são óxidos

de metais ou metalóides. Exemplos de aplicações são parafusos para ossos, próteses de joelhos, implantes dentários.

Material bioativo é aquele que provoca uma específica resposta biológica na interface do material, que leva à formação de uma ligação entre o tecido e o material (HENCH, 1993; RICH, 2002).

Material biodegradável ou reabsorvíveis, degradam-se quando implantados no corpo. É esperado que o material se degrade na mesma velocidade em que o tecido se regenere. A grande maioria dos materiais biodegradáveis são variações do fosfato de cálcio.

O material implantado é um corpo estranho ao organismo e, portanto, irá provocar uma interação fisiológica com os tecidos circunvizinhos. Existem, segundo HENCH (1993), quatro tipos de respostas entre o implante e o tecido, mostrados na Tabela. 3.3.

Tabela 3.3 - Respostas entre o implante e o tecido.

Reação implante – tecido	Conseqüência
Tóxico	Tecido morre
Biologicamente inerte	Tecido forma uma capa fibrosa não aderente em volta do implante
Bioativa	Tecido forma uma ligação interfacial com o implante
Dissolução do implante	Tecido ocupa o lugar do implante

Fonte: Adaptado de HENCH (1993), p.4.

3.3 CERÂMICA BIOATIVA

NICOLODI (2004) esclarece que a cerâmica bioativa é aquela que provoca uma reação positiva no desenvolvimento biológico do implante e/ou reações químicas que modificam o material em determinada espessura sob a superfície.

A cerâmica bioativa divide-se em duas classes: (a) a cerâmica que induz a bioatividade devido à sua composição química e (b) a cerâmica na qual a bioatividade é induzida por tratamento superficial ou por preenchimento das cavidades com substâncias farmacológicas ativas (NICOLODI, 2004).

3.3.1 Alumina (Al_2O_3)

A biocerâmica mais empregada a partir da década de 70 tem sido a alumina (α alumina) devido a sua grande bioinércia e elevada resistência mecânica. Além dessas qualidades, a alumina apresenta uma elevada densidade ($3,98 \text{ g/cm}^3$) e elevada pureza (mais que 99,5%), permitindo sua utilização em próteses para a substituição de cabeça de fêmur que faz a articulação com o íliaco, próteses de joelho, substituição de dentes por dentes artificiais implantáveis, reservatório para drogas antiinflamatórias, vacinas, etc (HENCH, 1993; KAWACHI, 2000).

Algumas características físicas da alumina utilizada como implante estão ilustradas na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 - Características físicas da alumina biocerâmica.

	Alumina comercialmente utilizada em implantes
Alumina (% em peso)	> 99,7
SiO ₂ + Na ₂ O %	< 0,02
Densidade (g/cm ³)	3,98
Tamanho médio de grão (µm)	3,6
Dureza (Vickers, HV)	2400
Resistência à flexão (MP) (após o teste na solução de Ringer)	595

Fonte: Adaptado de HENCH, 1993, p. 26.

3.3.2 Zircônia (ZrO₂)

A zircônia é um biomaterial com um grande futuro por causa da sua elevada resistência mecânica e à fratura. As pesquisas com a zircônia começaram há bem mais que 20 anos e atualmente tem sido muito utilizada na substituição total de quadril (THAMARAISELVI, 2004).

A zircônia empregada em implantes encontra-se em dois grupos: a zircônia tetragonal estabilizada com ytrio (TZP) e zircônia parcialmente estabilizada com óxido de magnésio (Mg-PCZ). A zircônia é excepcionalmente inerte e apresenta vantagens em relação à alumina e metais para uso ortopédico (HENCH, 1993; GRIFFIN, 2004).

A Tabela 3.5 ilustra algumas propriedades da alumina e da zircônia, empregadas em implantes cirúrgicos (HENCH, 1993).

Tabela 3.5 - Propriedades da alumina e zircônia utilizadas em implantes cirúrgicos.

Propriedades	Unidade	Al ₂ O ₃	TZP	Mg-PSZ
Pureza	%	> 99,7	97	96,5
Y ₂ O ₃ /MgO	%	< 0,3	3 mol	3,4 peso
Densidade	g/cm ³	3,98	6,05	5,72
Tamanho médio de grão	μm	3,6	0,2 – 0,4	0,42
Resistência à flexão	MPa	595	1000	800
Resistência à compressão	MPa	4250	2000	1850
Módulo de Young	GPa	400	150	208
Dureza	HV	2400	1200	1120
Resistência à fratura K _{1c}	MN/m ^{3/2}	5	7	8

Fonte: Adaptado de HENCH, 1993, p. 33.

HENCH (1993) esclarece que existem, entretanto, algumas controvérsias a respeito da zircônia: a primeira, é devido ao fato de, quando em presença de fluidos fisiológicos por muito tempo, sua resistência diminui; a segunda, suas propriedades de uso e, finalmente, a terceira, seu potencial radioativo.

Zircônia é normalmente acompanhada por traços de elementos radioativos com uma longa meia-vida como, por exemplo, o tório e o urânio. O processo de eliminação desses materiais é difícil e oneroso (HENCH, 1993; THAMARAISELVI, 2004).

3.3.3 Vidro bioativo

Vidros que apresentam a capacidade de ligar-se a tecidos vivos sem que haja a formação de uma cápsula de isolamento do implante são conhecidos como vidros bioativos. Eles são uma classe versátil e interessante entre os biomateriais, e, estruturalmente, todos os vidros baseados em sílica apresentam o mesmo bloco de construção SiO_4^{4-} . Em resumo, vidros bioativos (ou vidros biologicamente ativos) são vidros inorgânicos que apresentam o óxido de silício como seu componente principal e, apresentam a capacidade de unir-se ao tecido, quando em presença de fluidos fisiológicos. Eles também têm sido utilizados em próteses, que são biocompatíveis, e apresentam excelentes propriedades mecânicas. Os vidros bioativos não apresentam apenas propriedades osteocondutoras mas também, promovem a osteogênese através de uma rápida formação óssea (SALINAS, 2001; THAMARAISELVI, 2004; GREENSPAN, 2004; HATTAR, 2005).

Vidro bioativo é obtido através de métodos convencionais de obtenção de vidro desde que seja assegurada a pureza do material de partida, no sentido de evitar contaminação com as impurezas e a perda de elementos voláteis do tipo Na_2O ou P_2O_5 (HENCH, 1993; NICOLODI, 2004).

Os componentes básicos na maioria dos vidros bioativos são SiO_2 , Na_2O , CaO e P_2O_5 . A vantagem principal desses vidros é sua rápida reação superficial que leva a formação da ligação com o tecido. Entretanto, suas desvantagens principais são, sua fraca resistência à tração e à fadiga que tem limitado sua aplicação. O mais estudado entre os vidros bioativos é o Bioglass® 45S5 e, a abreviação significa que ele contém 45% de SiO_2 , mais especificamente, 45% de SiO_2 , 0,24% de Na_2O , 24,4% de CaO e 6% de P_2O_5 (todos em percentagem peso) além de uma razão molar entre Ca e P de 5:1 (HENCH, 1993; JIANG, 1998; GALLIANO, 1998; NICOLODI, 2004).

De acordo com SARAVANAPAVAN (2001) o primeiro material bioativo estudado foi um vidro constituído de quatro componentes (sistema quaternário) SiO_2 , CaO , Na_2O e P_2O_5 ,

que foi desenvolvido pelo pesquisador Larry L. Hench. A rota sol-gel, segundo VALLET-REGÍ (2001), permitiu a simplificação da técnica com a exclusão do agente de fusão, Na_2O e, como consequência, simplificou o vidro para apenas três constituintes (sistema ternário) SiO_2 , CaO e P_2O_5 . Essa exclusão do fundente permitiu a obtenção de vidros com elevada pureza e mais homogêneos que aqueles obtidos através de processos de fusão.

Segundo ainda SARAVANAPAVAN (2001) nos anos 1990 o pesquisador Ebisowo simplificou ainda mais o vidro excluindo o P_2O_5 , levando então a um vidro com apenas dois componentes (sistema binário): SiO_2 - CaO .

A principal vantagem do vidro bioativo é sua elevada taxa de reação superficial que leva a uma rápida ligação com o tecido. Uma grande desvantagem, entretanto, reside no fato de apresentar uma relativa propriedade mecânica e uma resistência ao choque bastante reduzida (HENCH, 1993; NICOLODI, 2004).

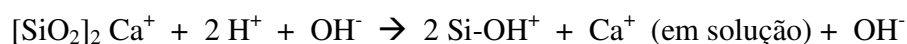
A literatura (HENCH, 1993; ORÉFICE, 2000; SARAVANAPAVAN, 2001; NICOLODI, 2004) esclarece que a base para a ligação entre o osso e o vidro bioativo é a reatividade química desse vidro em presença de fluidos fisiológicos. O resultado dessa reação química superficial é a formação de uma camada de hidroxiapatita na qual o osso se une. Para que essa reação química ocorra é necessário que uma seqüência de reações aconteçam. Imediatamente após a imersão do vidro em solução aquosa basicamente ocorrem três processos: liberação, dissolução e precipitação. O primeiro processo caracteriza-se pela liberação de elementos alcalinos ou alcalino terrosos, pela troca catiônica com H^+ ou H_3O^+ . A troca iônica é relativamente simples uma vez que os cátions não fazem parte da estrutura vítrea, mas, modificam a estrutura pela formação de ligações de oxigênio não ligado. O segundo processo (dissolução) se passa através da quebra da ligação Si-O-Si- devido à ação dos íons hidroxila (OH). Essa quebra de ligação acontece localizadamente e libera a sílica para a solução sob a forma de ácido silícico $[\text{Si}(\text{OH})_4]$. HENCH (1993) continua esclarecendo que a taxa de dissolução da sílica é fortemente dependente da composição vítrea. Essa taxa diminui de forma bastante acentuada para composições que apresentem

um teor de sílica superior a 60% por causa do grande número de ligações com oxigênio na estrutura vítrea. A grande quantidade de sílica hidratada formada (SiOH) na superfície do vidro devido a essas reações se rearranja pela polimerização de grupos silanol levando a formação de uma camada rica em sílica. O último processo a acontecer é a precipitação. Durante a precipitação os íons de cálcio e fósforo liberados do vidro além daqueles presentes na solução fisiológica, formam na superfície uma camada amorfa rica em cálcio-fosfato (α -CaP). Posteriormente, essa camada amorfa se cristaliza formando a estrutura da hidroxiapatita carbonatada (HCA) através da incorporação, no interior da fase amorfa(α -CaP), dos anions carbonatos presentes na solução.

Assim, a singular reatividade superficial do vidro bioativo, exaustivamente estudada, além das várias reações interfaciais que ocorrem entre o vidro bioativo e a superfície do tecido, estão sintetizadas nos cinco estágios que ocorrem na seqüência abaixo.

1º estágio

Uma rápida troca iônica entre os íons Ca^+ (presentes no vidro) com H^+ ou H_3O^+ , presentes na solução do fluido:



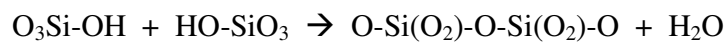
2º estágio

Perda da sílica solúvel sob a forma de $\text{Si}(\text{OH})_4$ para a solução, devido a quebra da ligação Si-O-Si e formação de silanol (Si-OH) na interface da solução vítrea.



3º estágio

Condensação e repolimerização da camada rica em SiO₂ na superfície esvaziada de álcalis e cátions alcalinos.



4º estágio

Migração dos grupos Ca²⁺ e PO₄³⁻ para a superfície através da camada rica em SiO₂, formando um filme rico em CaO-P₂O₅ na parte superior da camada rica em SiO₂, seguida do crescimento de um filme amorfo rico em CaO-P₂O₅ pela incorporação de Ca²⁺ e PO₄³⁻ provenientes da solução.

5º estágio

Cristalização do filme amorfo CaO-P₂O₅ pela incorporação dos ânions OH⁻ ou CO₃²⁻ a partir da solução para formar uma camada mista de hidroxila e carbonato.

3.3.4 Vitro-cerâmica

Um vidro pode ser transformado através do tratamento térmico em uma vitro-cerâmica contendo uma variedade de fases cristalinas, com tamanhos e quantidades controladas. O resultado desse produto é a presença de propriedades melhoradas no que diz respeito tanto ao vidro quanto à cerâmica cristalina original. Normalmente, uma cerâmica monofásica bioativa não apresenta uma elevada resistência mecânica, quando comparada à do osso cortical humano, que é um compósito desenvolvido a partir de partículas de hidroxiapatita cristalina fortalecida com fibras de colágeno orgânico (HENCH, 1993; NICOLODI, 2004).

A desvantagem da baixa resistência mecânica da vitro-cerâmica tem sido contornada através da síntese de um compósito que apresenta propriedades semelhantes à do osso cortical. Esse material, que apresenta a condição de ligar-se ao osso com ótimos resultados, é conhecido pelo nome A/W vitro-cerâmica (comercialmente conhecida pela marca Cerabone ®) e é constituído de apatita, β -wollastonita cristalina (CaO.SiO_2) em uma matriz de silício (HENCH, 1993; NICOLODI, 2004).

As propriedades do vitro-cerâmica A/W estão sintetizadas na Tabela 3.6.

Tabela 3.6 - Propriedades físicas de uma vitro-cerâmica A/W.

Densidade (g/cm^3)	3,07
Resistência à flexão (MPa)	215
Resistência à compressão (MPa)	1.080
Módulo de Young (GPa)	118
Dureza Vickers (HV)	680
Resistência ao choque ($\text{MPa}^{1/2}$)	2,0

Fonte: Adaptado de HENCH (1993), p.77.

No corpo humano o material vitro-cerâmica A/W resiste por mais de 10 anos submetido a um esforço contínuo de 65 MPa, enquanto isso, o vidro bioativo, outro material vitrocerâmico e hidroxiapatita densa sinterizada podem resistir a esse esforço por apenas um minuto (HENCH, 1993; NICOLODI, 2004).

3.3.5 Cerâmica de fosfato de cálcio (CPC)

KAWACHI (2000) observa que as cerâmicas de fosfato de cálcio tem merecido lugar de destaque entre as biocerâmicas por apresentarem ausência de toxicidade local ou sistêmica, ausência de respostas a corpo estranho ou inflamações, e aparente habilidade em se ligar ao

tecido hospedeiro. Essas características positivas podem ser esclarecidas através da natureza química desses materiais que, por serem formados basicamente por íons cálcio e fosfato, apresentam uma participação ativa no equilíbrio iônico entre o fluido e a cerâmica. Uma forma conveniente de classificar os vários fosfatos de cálcio é através de sua razão molar Ca/P, conforme mostrado pela Tabela 3.7 a seguir.

Tabela 3.7 - Razão molar Ca/P de classificação de fosfatos de cálcio.

Nome	Sigla	Fórmula	Ca/P
Monocálcio fosfato monohidratado	MCPM	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5
Monocálcio fosfato anidro	MCPA	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5
Dicálcio fosfato di-hidratado	DCPD	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Dicálcio fosfato anidro	DCPA	CaHPO_4	1,0
Fosfato octacálcio	OCP	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
α -Fosfato tricálcico	α -TCP	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
β -Fosfato tricálcico	β -TCP	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Fosfato de cálcio amorfo	ACP	$\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,2 a 2,2
Hidroxiapatita deficiente em cálcio	CDHA	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$	1,5 a 1,67
Hidroxiapatita	HA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Fosfato tetracálcio	TTCP	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,0

Fonte: Adaptado de Dorozhkin (2007) e Van de Wal (2004).

Termodinamicamente, a forma mais estável do fosfato de cálcio é a hidroxiapatita, com razão molar Ca/P = 1,67 obtida a partir de soluções supersaturadas. Entretanto, a literatura (DOROZHKIN, 2007) ensina que a precipitação de hidroxiapatita geralmente é precedida pela formação de pelo menos uma fase precursora. A ordem pela qual eles precipitam obedece a lei de Ostwald. A quantidade de precursores formados e as etapas de reação são fortemente dependentes da temperatura, pH, supersaturação, a presença de sementes de cristais ou mesmo, inibidores.

3.3.6 Hidroxiapatita

A hidroxiapatita é uma cerâmica baseada em fosfato de cálcio e pode ser obtida variando-se a razão de Ca/P. Ela apresenta vantagens e desvantagens em relação ao seu uso como biomaterial. Entre as vantagens, diversos autores mencionam: a) sua elevada porosidade, que aumenta a área superficial, resultando em uma significativa integração entre o tecido vivo e o implante; b) poros interconectados, permitindo o crescimento do tecido no seu interior, levando a uma fixação segura do implante; c) porosidade interconectada, permitindo a organização nos canais vasculares facilitando o suprimento de sangue e nutrição para o osso; d) sua similaridade com o osso humano, sendo um dos principais constituintes do osso humano (JIANG, 1998; RIGO, 1999; KAWACHI, 2000; KANNAN, 2002).

Entre as principais desvantagens da hidroxiapatita, entretanto, são conhecidas a baixa resistência à tração e à fadiga, razão pela qual, seu uso tem se restringido a implantes em locais onde a tensão mecânica é reduzida ou, onde apenas existe a tensão de compressão e sua lenta biodegradação (RIGO, 1999; KAWACHI, 2000; NICOLODI, 2004).

De forma genérica, as biocerâmicas de fosfato de cálcio degradam com uma dada velocidade na seguinte ordem: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \text{CaHPO}_4 > \text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O} > \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (KAWACHI, 2000).

A hidroxiapatita apresenta a fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_6$, uma razão molar Ca/P de 1,67 e possui a estrutura hexagonal. É a mais estável de várias classes de fosfato de cálcio, sendo estável em presença de fluidos fisiológicos e apresenta uma grande bioatividade devido à sua facilidade de reabsorção. Além disso, apresenta uma estrutura cristalográfica definida, pertencendo ao sistema hexagonal com um espaço $\text{P6}_3/\text{m}$. Sua célula unitária ($a=b=9,42 \text{ \AA}$ e $c=6,88 \text{ \AA}$) contém a representação completa do cristal apatita, que consiste de grupos Ca, PO_4 e OH fortemente compactados juntos. Ela pode ser sintetizada sob a

forma densa ou porosa, com diâmetros de poros tão grandes quanto 500 μm (HENCH, 1993; MAVROPOULOS, 1999; THAMARAISELVI, 2004; NICOLODI, 2004).

Os pré-requisitos para a obtenção da hidroxiapatita de acordo com alguns pesquisadores, entre eles ORÉFICE (1999) e DA SILVA (2003) são a presença de grupos silanol (SiOH), grupo polar, a elevação da área superficial, superfície com carga negativa, poros abertos e interconectados com diâmetros da ordem de 100 μm para garantir a vascularização do tecido.

3.3.6.1 Formação da hidroxiapatita

O mecanismo da ligação entre biocerâmicas com tecidos vivos tem sido associado ao desenvolvimento de uma camada de hidroxiapatita (similar ao osso humano) na superfície de materiais.

A primeira reação a ocorrer na superfície do vidro bioativo que reveste a amostra de aço após sua imersão no SBF é a troca iônica onde, os íons Ca^{2+} , do vidro bioativo, são trocados pelos íons H^+ presentes na solução SBF, aumentando assim, a concentração do íon Ca^{2+} no fluido, criando uma camada hidratada de Si-OH (silanol). Esse grupo silanol inicia a policondensação para formar uma camada de gel de sílica com elevada área superficial. Essa camada de gel propicia uma grande quantidade de sítios para a precipitação do cálcio e do fosfato que são dissolvidos no meio circulante, através da nucleação e cristalização de uma camada de fosfato de cálcio amorfo (camada de hidroxiapatita) (ABE, 1990; GALLIANO, 1998; ZHU, 2001; SEPULVEDA, 2002).

Diversos autores, entre eles SECKLER (1999) e HOUSE (2004) postulam que a hidroxiapatita não precipita imediatamente na superfície do substrato. Durante o período em que o substrato está reagindo com o meio, vai ocorrendo a transferência de íons cálcio (presentes no sol) para a solução, aumentando assim, a concentração de cálcio. O aumento

da concentração de cálcio provoca a precipitação, inicialmente de precursores de hidroxiapatita, entre eles o dicálcio fosfato di-hidratado (DCPD), fosfato de octacálcio (OCP), fosfato tricálcico (TCP), que, posteriormente, se transformarão na hidroxiapatita, a forma termodinâmica mais estável.

3.4 RECOBRIMENTO

3.4.1 Superfície do material

A superfície do material não é importante apenas pela aparência final do produto, sua beleza, mas, é responsável, também, pela conservação de suas propriedades. Assim, quando essas superfícies apresentam qualquer irregularidade, por exemplo, que facilite a difusão atômica, eletrônica, transporte de cargas, alterando a ordenação dos átomos superficiais, as propriedades químicas e físicas do material são alteradas.

O desenvolvimento tecnológico atual tem exigido que os produtos desenvolvidos sejam expostos a diversas situações e ambientes. Assim, materiais têm sido projetados para serem expostos, muitas vezes, a atmosferas agressivas, tais como ambientes ácidos, altas temperaturas (que aumentam a agitação térmica dentro do material), em contato com fluidos fisiológicos, no caso de implantes, microorganismos, que podem degradar e modificar a estrutura do material. Essa degradação que se inicia geralmente na superfície reduz sua vida útil, exigindo constante troca de peças, encarecendo os processos industriais, provocando inflamações no período pós-cirúrgico de implantes, afetando a saúde das pessoas envolvidas, etc (HENCH, 1993; BEECH, 1999).

No sentido da proteção da superfície, reduzindo os gastos industriais e sociais, inúmeras pesquisas têm sido direcionadas no sentido de modificar, aperfeiçoar, ou mesmo, conservar a superfície de material, de várias formas, seja empregando métodos físicos, químicos ou até, através da adição de revestimentos que desenvolvam as propriedades e características

requeridas. Assim, uma das funções do recobrimento é a modificação das características, mecânicas, ópticas, térmicas, químicas, magnéticas, estéticas, optoeletrônicas, eletrônicas, da superfície do material (HENCH, 1993; VASCONCELOS, 1995; GUGLIELMI, 1997; WILKES, 2000; CHEN, 2000; SCARLETTE, 2000; BIRREL, 2004).

3.4.2 Processos de revestimento

A indústria de revestimento cerâmico possui um leque enorme de opções de métodos para a proteção da superfície, entre eles, o de deposição como, por exemplo, deposição química e física de vapor (CVD e PVD), plasma spray, ion sputtering, biomimético, sol-gel, etc (KOKUBO, 1990; GUGLIELMI, 1997; CHEN, 2000; TROCZYNSKI, 2001; KANNAN, 2002). A seguir, alguns exemplos de métodos de revestimentos.

3.4.2.1 Deposição química de vapor (CVD)

Deposição química de vapor é um nome genérico para um grupo de processos que envolvem a deposição de um material sólido a partir de uma fase gasosa. É um processo molecular no qual o depósito é realizado molécula por molécula. Ele envolve reações entre os precursores gasosos dentro de uma câmara à vácuo, de modo a formar um revestimento na superfície da amostra aquecida. Normalmente essa técnica é utilizada para a deposição em materiais cerâmicos como carbetos de titânio (TiC), nitretos de titânio (TiN) e alumina (Al_2O_3). A deposição é realizada tipicamente a temperatura superior a 900 °C. O CVD permite a formação de filmes com elevada densidade e espessura superficial uniforme em geometrias complexas (BIRREL, 2004).

3.4.2.2 Deposição física de vapor (PVD)

O processo de deposição física de vapor é a condensação de um elemento ou um composto a partir do seu estado de vapor, formando um filme fino com alta qualidade, da ordem de 10 μm , na superfície do substrato. Pelo menos um dos constituintes é fisicamente evaporado a partir do sólido, dentro de uma câmara à vácuo, tornando o processo dispendioso (TROCZYNSKI, 2001; BIRREL 2004).

3.4.2.3 Ion sputtering

RIGO (1999) e GARRIDO (2004) esclarecem que a técnica por ion sputtering consiste em bombardear um alvo do material a ser depositado com um feixe de íons positivos, o qual, por transferência de momento provoca o deslocamento de átomos neutros do alvo que se condensam sobre o substrato desejado na forma de um filme fino.

A técnica ion sputtering, entretanto apresenta desvantagens no tocante à obtenção de filmes finos. De acordo com SWARTZ (1993), existe uma dificuldade no controle das propriedades físicas e químicas do filme, ou seja, estequiometria, estrutura cristalográfica, microestrutura e uniformidade em grandes áreas.

3.4.2.4 Processo biomimético

No campo biomédico, o recobrimento é empregado no sentido de modificar a superfície do implante e, em algumas situações, criar uma nova superfície com propriedades totalmente diferentes em relação ao substrato. Desde que a hidroxiapatita apresenta uma grande similaridade com a estrutura óssea, tem sido um dos primeiros compostos empregados no recobrimento de metais (BALAMURUGAN, 2002).

O processo biomimético é utilizado para avaliar a biocompatibilidade de um material com o corpo humano. Ele consiste na imersão de um substrato, a ser recoberto, em uma solução sintética (SBF – *simulated body fluid*), cuja composição química e pH são semelhantes ao plasma sanguíneo e temperatura similar à do corpo humano. Esse processo visa imitar as condições biológicas para a obtenção do material desejado, no caso, a formação de uma camada de hidroxiapatita na superfície do substrato. Essas condições de processo permitem o recobrimento de materiais com formas complexas, do tipo de materiais porosos, como também materiais sensíveis à temperatura (KOKUBO, 1990; TROCZYNSKI, 2001; VERCIK, 2003).

O processo de revestimento biomimético apresenta vantagens e desvantagens de acordo com RIGO (1999). Entre as vantagens ela salienta a dispensa de equipamentos tecnológicos e o baixo custo dos reagentes químicos e, entre as desvantagens, enfatiza sua longa duração, a baixa produtividade e a fraca adesão.

3.4.2.5 Processo sol-gel

GAN (2004), MAMMERI (2006) e RAMS (2006) enfatizam as vantagens da rota sol-gel na obtenção de filmes finos. Segundo esses autores, as vantagens introduzidas pelo sol-gel são: a excelente homogeneidade devida a mistura na escala atômica da solução precursora antes da hidrólise; o excelente controle da composição; baixa temperatura de densificação em relação aos processos convencionais; obtenção de filme uniforme em grandes áreas e, finalmente, equipamentos simples e baratos.

3.4.3 Métodos de deposição via sol-gel

A importância do processo sol-gel frente aos processos convencionais de recobrimento cerâmico é devida a sua facilidade de controle da microestrutura do filme depositado, ou

seja, o volume e o tamanho de poros, a área específica e também, promover a formação de uma interface para intensificar a adesão entre a superfície metálica e o polímero orgânico empregado no revestimento. Um outro aspecto interessante é que o sol, obtido logo na primeira etapa processual, apresenta condições ideais para a preparação de filmes por processos convencionais como, por exemplo, imersão (*dip-coating*), rotação (*spin coating*) ou *spray*, para citar apenas esses (BRINKEL, 1990; RIGO, 1999; MACKENZIE, 2000; CROOK, 2001; BALAMURUGAN, 2002).

HUANG (2002) e ALVES (2002) esclarecem que dentre os vários métodos para o revestimento via sol-gel, os mais empregados são o de imersão e o de rotação.

3.4.3.1 Rotação

O método de rotação baseia-se, de forma bem simples, no derramamento de uma solução sobre um substrato que então é posto para girar a uma determinada velocidade, expelindo o fluido em excesso e criando um filme bastante fino e uniforme. Ele apresenta basicamente quatro estágios. O primeiro é o da deposição do fluido empregado como revestimento na superfície do substrato, enquanto que o segundo caracteriza-se pela retirada brusca do fluido em excesso da superfície devido à força centrífuga. O terceiro estágio ocorre quando o substrato é colocado em rotação constante e a viscosidade do fluido atua no sentido de diminuir a espessura do fluido. Finalmente, o último estágio acontece quando é impressa ao substrato uma taxa de rotação constante provocando a evaporação do solvente (BRINKER, 1990; HUANG, 2002; ATKINS, 2003).

3.4.3.2 Imersão

O método de imersão é rápido, eficiente e não exige grandes investimentos em termos de equipamento, pelo fato de não ser necessária a utilização de vácuo durante a deposição.

Normalmente o substrato a ser revestido é imerso em um líquido e, em seguida, retirado do banho mantendo uma determinada velocidade sob condições controladas de atmosfera e temperatura (BRINKER, 1994; HUANG, 2002; CROOK, 2001; ALVES 2002).

BLOHOWIAK (1999) esclarece que através desse método os elementos, favorecidos termodinamicamente pelas reações lentas, podem dominar. Com a parte imersa na solução, os elementos podem atingir a superfície do metal através de mecanismos térmicos, mecânicos ou de transporte de massa. Os produtos da reação podem se difundir livremente através da superfície do substrato levando a um revestimento termodinamicamente mais estável.

Nessa técnica o substrato é preso a um cantilever adaptado a um motor que o movimenta no sentido de abaixar e suspender ao longo de um eixo vertical. O limite do movimento vertical deve ser suficiente para abaixar completamente o substrato mantendo-o completamente submerso na solução do revestimento e suspê-lo do recipiente que contém a solução. O revestimento é depositado na superfície do substrato quando o cantilever é abaixado, empregando uma velocidade pré-determinada. Após um breve período em que o substrato fica submerso na solução do banho (suficiente para que ocorra a reação de hidrólise), o substrato revestido é retirado empregando uma velocidade constante e pré-determinada, conforme a espessura do revestimento desejada: se o objetivo for um filme apresentando uma espessura fina, a velocidade de retirada deve ser pequena e, se se desejar um revestimento mais espesso, a velocidade deve ser maior (CHEN, 1999; OLIVEIRA, 2006).

Uma ilustração das etapas do método de imersão pode ser vista na Figura 3.5.

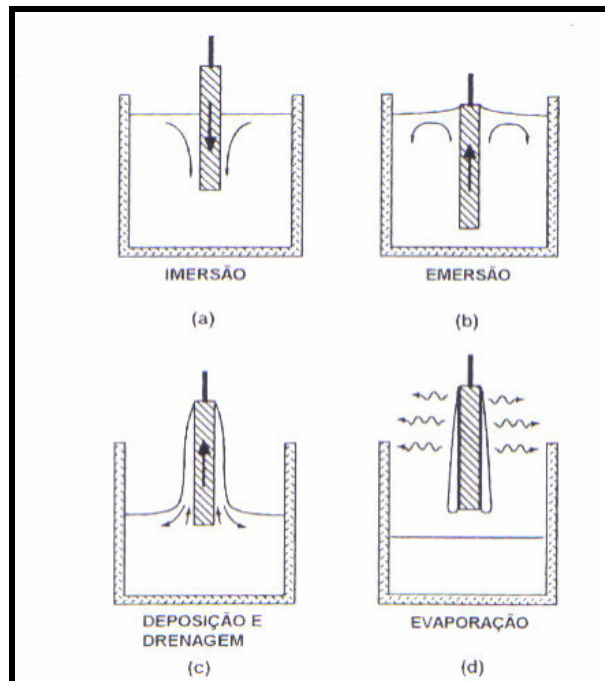


Figura 3.5 – Etapas do processo de imersão.
 Fonte: Adaptado de Brinker 1990, p.789.

BRINKER (1990) e SOUTAR (2001) ensinam que a obtenção de um revestimento fino depende de vários fatores entre eles, a tensão superficial entre a superfície e solução, a velocidade de retirada do substrato do banho, a concentração da solução, a viscosidade da solução e a força da gravidade.

Quando a viscosidade do líquido (η) e a velocidade de retirada do substrato (U) são elevadas o bastante para reduzir a curvatura do menisco, então o filme depositado apresentando uma espessura (h), é capaz de balancear a viscosidade (proporcional a $\eta U/\rho g$)^{1/2} e a força de gravidade (ρgh):

$$h = c_1 (\eta U/\rho g)^{1/2} \quad (3.7)$$

onde a constante de proporcionalidade, c_1 , apresenta um valor aproximado de 0,8 para líquidos Newtonianos (BRINKER, 1990). Quando, ao contrário, a velocidade de retirada

do substrato e a viscosidade não são elevadas o bastante, como é o caso que ocorre no processo sol-gel, esse balanço é regulado pela razão da viscosidade de retirada e a tensão superficial líquido-vapor (γ_{LV}), de acordo com a relação sugerida pela teoria de LANDAU (1942):

$$h = 0,94 (\eta U / \gamma_{LV})^{1/6} (\eta U / \rho g)^{1/2} \quad (3.8)$$

Um outro fator bastante influente na estrutura do filme a ser depositado é a estrutura do precursor utilizado. As espécies poliméricas, diluídas e que não estão interagindo que, por sua vez, constituem o banho de revestimento, concentram-se na superfície do substrato devido à drenagem gravitacional que é acompanhada pela evaporação e condensação. A concentração da solução é aumentada de um fator de 20 a 30 fazendo com que as partículas dos precursores se aproximem (BRINKER, 1990).

Durante a formação do revestimento, ou seja, durante a etapa de evaporação do solvente, o vapor de água se difunde a partir da atmosfera em direção à camada depositada mantendo as condições para que a reação de hidrólise continue ocorrendo. Ao mesmo tempo, as reações de policondensação prosseguem até que seja formada uma camada de óxido a elevada temperatura. Essa difusão controlada no processo sol-gel favorece a formação de camadas finas em detrimento de estruturas maciças (KLEIN, 1988).

3.4.4 Filmes finos

Filmes finos têm desempenhado uma função importante e essencial em todas as áreas tecnológicas uma vez que, alteram a superfície de um material conferindo-lhe propriedades diferentes das originais. Tem sido largamente utilizados, como camadas isolantes entre condutores, barreiras de difusão, células solares, entre outras. Apresentam uma espessura que vai desde alguns nanômetros até poucos micrômetros, suportados sobre a superfície de um substrato ou outro material, geralmente na forma plana. Os filmes finos podem ser

obtidos por processos distintos incluindo imersão e rotação (BRINKER, 1994; TROCZYNSKI, 2001; SOUTAR, 2001; COSTA, 2003).

De uma forma geral, os filmes são formados pela condensação de átomos ou moléculas em um substrato. O processo de condensação tem seu início através da formação de pequenos aglomerados de materiais (núcleos) espalhados aleatoriamente sobre a superfície do substrato. À medida que esses núcleos crescem, eles começam a interagir uns com os outros levando à formação de estruturas maiores até a formação de um filme contínuo (TATSCH, 2005).

A literatura (BARRAUD, 2006; WANG, 2007) esclarece que “biofilmes” são estruturas tridimensionais compostas por células vivas e que são formados quando microorganismos e seus produtos metabólicos começam a aderir e a se reproduzir na superfície de materiais biológicos ou inertes. RICHTER (1999) afirma que biofilmes (filmes biológicos) se distinguem dos filmes finos convencionais por causa de sua auto-reprodução (os filmes finos não se reproduzem). Os biofilmes são gerados na superfície de recipientes químicos e biológicos na área de biotecnologia, na indústria de alimentos e em aplicações médicas.

HARUVY (1993), por sua vez, comenta que filmes finos obtidos a partir de monômeros similares a alcóxidos de silano normalmente são referidos como vidro sol-gel ou sol-gel. Assim, no presente trabalho será empregada a terminologia “filme”, “filme fino” ou “vidro bioativo” - (*bioglass*) - representando o filme de vidro bioativo sol-gel (binário ou ternário) ora sintetizado.

3.4.4.1 Propriedades

A adesão do filme depende de vários fatores, dentre eles, da força de ligação entre o revestimento e o material do substrato, das tensões locais, do modo de falha da adesão e, também da microestrutura da região da interface. A aderência de um filme depositado deve ser eficaz. Seu descolamento do substrato pode levar a falhas nas propriedades desejadas.

De acordo com BLOHOWIAK (1999) e TATSCH (2005) a aderência de um filme está intimamente ligada à limpeza e rugosidade do substrato. Se a superfície a ser revestida apresenta alguma sujeira, a ligação será bloqueada pela sujeira ou, ocorrerá a ligação entre a superfície e a sujeira em vez de ocorrer entre a superfície e a solução de revestimento. No que diz respeito à rugosidade, ela provoca um aumento na área de contato facilitando a adesão do filme. Entretanto, quando a ela é excessiva, pode gerar defeitos de cobertura, prejudicando a adesão e, como consequência levando a falha no recobrimento.

A forte aderência do filme sol-gel depositado em um substrato metálico é devida principalmente à ligação covalente que ocorre entre o componente do alcóxido metálico e a superfície metálica na interface do filme sol-gel e a superfície metálica. O sucesso da ligação covalente entre o substrato e o filme é dependente de interações químicas e micro-mecânicas nas superfícies envolvidas, como por exemplo, a porosidade do metal e a microestrutura e a suscetibilidade da re-hidratação da solução (BLOHOWIAK, 1999; CHUNG, 2003).

VASCONCELOS (2003) concluiu em seu trabalho, que filmes sol-gel apresentam excelente aderência ao substrato (aços inoxidáveis ABNT 316L, 304 e 409) uma vez que, seguindo os procedimentos determinados pela norma ASTM D3359, não houve qualquer destacamento de nenhuma parte do filme após o teste de risco e fita.

A espessura do filme depende de vários parâmetros, entre eles a tensão superficial da superfície e solução, a taxa de retirada do substrato, a concentração e viscosidade da solução. A competição entre as várias forças atuantes na interface entre o substrato e a solução (viscosidade da solução, força de gravidade, força resultante da tensão superficial no menisco côncavo, força inercial na borda da camada líquida na região do depósito, gradiente de tensão superficial e a pressão) determina a espessura do filme (BRINKER, 1992; SOUTAR, 2001).

A tensão interna de um filme também é uma propriedade muito importante, podendo ser de compressão ou de expansão. Filmes onde ocorrem forças de compressão tendem a expandir de forma paralela à superfície do substrato enquanto que, as forças de expansão levam o filme a contrair de forma paralela ao substrato (TATSCH, 2005).

3.4.4.2 Secagem do filme

À medida que o filme é seco ele contrai em seu volume devido à evaporação. Uma vez que esse filme está aderido a um substrato e incapaz de reduzir seu volume nessa direção, a diminuição no volume é acompanhada pela redução da espessura (BRINKER, 1994). Quando finalmente o filme se solidifica e a tensão provocada não tem mais como ser liberada pelo fluxo, tensões de tração são geradas no plano do substrato. Crol (BRINKER, 1994) considerou essa tensão (σ) como sendo

$$\sigma = [E/(L - \nu)] [(f_s - f_r)/3] \quad (3.9)$$

onde E é o módulo de Young, ν é a razão de Poisson, f_s é a fração volumétrica do solvente no ponto de solidificação e, f_r é a fração volumétrica do solvente residual no filme seco. O ponto de solidificação pode ser definido como sendo um filme polimérico correspondente à temperatura de transição vítrea. Dessa forma, a tensão é proporcional ao módulo de Young e à diferença entre a fração volumétrica do solvente no ponto de solidificação e o filme seco.

De acordo com o entendimento de Scherer (BRINKER, 1994), a tensão do filme é bastante próxima da tensão capilar existente no líquido, ou seja, $\sigma \cong P_c$. Mesmo com essa tensão elevada é facilmente verificado que não existe formação de trincas em filmes cuja espessura se encontra na faixa de 0,5 a 1 μm . Para filmes que se ligam de maneira adequada ao substrato, a espessura crítica para a propagação de trincas ou mesmo, para o crescimento de fendas é dada pela equação abaixo:

$$h_c = (K_{Ic} / \sigma\Omega)^2 \quad (3.10)$$

onde, h_c é a espessura crítica para a propagação da trinca ou para o crescimento de pequenas fendas, K_{Ic} é a intensidade crítica da tensão e Ω é uma função dependente da razão do módulo elástico do filme e do substrato. No caso de filmes que apresentem uma espessura tão fina quanto h_c , a energia necessária para a propagação da trinca é superior à aquela proveniente do alívio da tensão próximo à trinca, conseqüentemente, as trincas não ocorrem. Em contrapartida, quando a espessura do filme excede h_c , as trincas ocorrerão.

BRINKER (1994) baseando-se nas equações 3.9 e 3.10 apontou algumas estratégias no impedimento do aparecimento de trincas: (a) aumentar a tenacidade à fratura (K_{Ic}) do filme; (b) reduzir o módulo elástico do filme; (c) reduzir a fração volumétrica do solvente no ponto de solidificação e, finalmente, (d) reduzir a espessura do filme.

3.4.4.3 Obtenção de filme fino através da técnica imersão

A técnica de deposição de recobrimento (filme fino) por imersão consiste na retirada lenta do substrato a uma velocidade constante, de uma solução constituída por uma suspensão coloidal ou polimérica, de acordo com a Figura 3.6 (BRINKER, 1994):

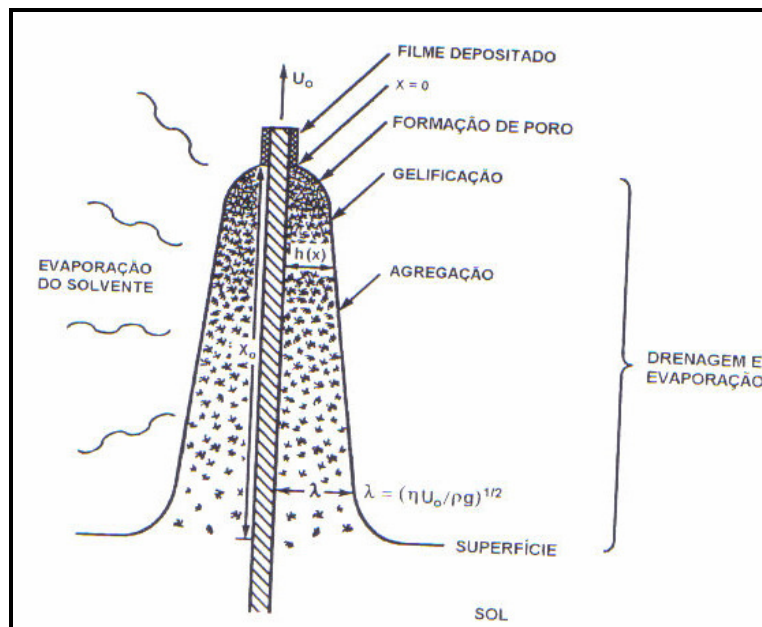


Figura 3.6 – Processo de recobrimento por imersão via sol-gel.

Fonte: Adaptado de Brinker et al., p. 798, 1990.

Muito embora os aspectos físicos e químicos que dirigem o crescimento polimérico e a etapa de gelação sejam os mesmos para os filmes, existem alguns fatores que diferenciam a evolução dos filmes: (a) o ponto máximo dos estágios de deposição e evaporação estabelece uma competição entre a evaporação (que torna a estrutura compacta) e as reações de condensação contínuas (que tornam a estrutura mais dura, aumentando assim, sua resistência à compactação); (b) de uma forma geral, os estágios de gelação e secagem ocorrem separadamente. As etapas de agregação, gelação e secagem ocorrem em uma faixa de tempo que vai de segundos a minutos; (c) a curta duração das etapas de deposição e secagem leva a formação de filmes que necessitam de um menor tempo de envelhecimento em relação ao gel (em volume); (d) o fluxo do fluido devido à drenagem ou evaporação combinado com a ligação do precursor com o substrato, provocam uma tensão no filme durante a deposição (BRINKER, 1990).

Durante a retirada do substrato da solução, um filme líquido com uma reduzida espessura adere à superfície do substrato em movimento e vai progressivamente reduzindo sua espessura devido à evaporação. Com a solução de revestimento (sol-gel) o líquido começa a se transformar tão logo entra em contato a atmosfera ambiente. O solvente começa a evaporar e a água do meio se difunde através do líquido promovendo uma progressiva concentração de espécies inorgânicas, devido à evaporação dos solventes, reação de grupos alcóxidos não reagidos no filme com o ambiente atmosférico para completar as reações de hidrólise e condensação, levando à agregação, gelação e secagem final para a obtenção de um gel seco ou xerogel (BRINKER 1994; CHUNG, 1998).

BRINKER (1992; 1994) antecipa algumas conseqüências quando o processo de deposição de filmes é realizado em um curto espaço de tempo. Entre essas conseqüências, ele ressalta o tempo limite para que as espécies possam reagir para atingir a configuração de menor energia; quando o sol é constituído de partículas repulsivas existe um tempo mínimo para que as partículas possam se ordenar à medida que o filme vai tendo sua espessura reduzida; existe um tempo limite para que as reações de condensação ocorram; uma vez que o gel apresenta uma fraca condensação ele é facilmente compactado: primeiro, pela evaporação dos solventes e depois, pela pressão capilar exercida na etapa final do processo de deposição criada pelo menisco líquido-vapor à medida que ele recua na secagem do filme:

$$C_p = (2\gamma \cos \theta) / r \quad (3.9)$$

Onde C_p , é a pressão capilar; θ , é o ângulo de contato; r , é o raio do poro e; γ , é a tensão superficial líquido-vapor .

A estrutura final do filme é fortemente dependente de uma série de fatores, dentre eles: da estrutura das espécies inorgânicas presentes no sol; da reatividade dessas espécies; da duração do processo de deposição (relacionado à taxa de evaporação e espessura do filme); e da extensão das forças de cisalhamento e forças capilares que acompanham a deposição do filme (BRINKER, 1994).

A velocidade em que o substrato é retirado do banho é um parâmetro muito importante na espessura do filme. Sabendo-se que a evaporação do solvente ocorre na interface sol-vapor, se a velocidade de emersão do substrato for elevada, o filme apresentará uma espessura maior, tendo em vista que os filmes mais espessos necessitam de um tempo maior para secar, estendendo o tempo de envelhecimento. Em contrapartida, quanto menor for a velocidade de retirada do substrato do banho, mais fino será o filme (BRINKER, 1990; VASCONCELOS, 2003).

3.5 AÇO INOXIDÁVEL

Aço é definido como sendo uma liga ferrosa, baseada em ferro e carbono. Aço inoxidável, por sua vez, é um termo genérico que define uma família de aços resistentes à corrosão que possui pelo menos cerca de 10,5% de cromo e, algumas vezes, níquel (VAN VLACK, 1984).

A característica principal do aço inoxidável, sua grande resistência à corrosão, é devida a formação de um filme bastante fino e aderente à superfície metálica, conhecido como filme passivo. Esse filme é obtido pela reação entre o cromo (presente na liga) e o oxigênio, levando à formação de uma camada de óxido de cromo que adere fortemente à superfície metálica, protegendo o material contra a corrosão (VAN VLACK, 1984; TEBECHERANI, 2004).

3.5.1 Classificação

De uma forma geral, os aços inoxidáveis são agrupados da seguinte forma (VAN VLACK, 1984; NEWSON, 2002; TEBECHERANI, 2004):

- ◆ **Martensíticos:** são ligas de ferro e cromo com alto teor de carbono que apresentam a estrutura cristalina de corpo centrado do tipo tetragonal (TCC). Contêm cerca de 11% a 18% de cromo e uma alta quantidade de carbono de aproximadamente 0,1% a 1,2%.

Apresentam uma moderada resistência à corrosão, menor que a dos outros aços. Normalmente são empregados em instrumentos de corte, cirúrgicos, pinos, etc.

- ◆ Ferríticos: são ligas de ferro e cromo apresentando a estrutura cristalina cúbica de corpo centrado (CCC) e um baixo teor de carbono (menos que 0,2%). Contém de 11% a 30% de cromo. Geralmente, apresentam uma quantidade pequena de níquel (menos que 1%). Possuem maior resistência à corrosão que os martensíticos, devido à maior quantidade de cromo, porém, menor que os austeníticos. Possuem boas propriedades físicas e mecânicas e são efetivamente resistentes à ambientes corrosivos. Além disso, apresentam um elevado módulo de elasticidade. São empregados na área automotiva, tanques de água quente.
- ◆ Austeníticos: são ligas que, além do ferro e do cromo, apresentam o níquel (6% a 12%) como elemento de liga. Possuem uma estrutura cristalina cúbica de face centrada (CFC). Apresentam uma excelente resistência à corrosão, devida à presença do níquel, em muitos ambientes agressivos. São utilizados em equipamentos de processamento alimentar, em plantas químicas e na área farmacêutica.
- ◆ Duplex (Austenítico-Ferrítico): apresentam uma elevada quantidade de cromo (entre 18% e 28%) e uma moderada quantidade de níquel (entre 4,5% e 8%). A quantidade de níquel presente não é suficiente para gerar uma estrutura completamente austenítica, levando a uma combinação de estruturas da ferrita e austenita, daí o nome “duplex”. São geralmente empregados em aplicações navais, trocadores de calor, etc.

Os aços martensíticos são muito utilizados na área de instrumentos cirúrgicos e dentários; os austeníticos, por sua vez, são bastante utilizados em equipamentos médicos. Os ferríticos, entretanto, apresentam poucas aplicações em equipamentos médicos de acordo com NEWSON (2002).

O objetivo do presente trabalho foi a utilização do aço ferrítico ABNT 409, entretanto foram realizadas experiências também com os aços ABNT 304, 309 e 316. Esses aços

apresentam a composição química conforme a Tabela 3.8 e propriedades mecânicas e físicas de acordo com a Tabela 3.9 (AZOM, 2005; TEBECHERANI, 2004).

Tabela 3.8 - Composição química dos aços, % máxima.

Tipo de aço ABNT	C	Mn	Si	P	S	Cr	Ni	Outros
304 (austenítico)	0,08	2,00	1,00	0,045	0,030	18,00 a 20,00	8,00 a 10,50	----
309 (austenítico)	0,20	2,00	1,00	0,045	0,030	22,00 a 24,00	12,00 a 15,00	----
316 (austenítico)	0,08	2,00	1,00	0,045	0,030	16,00 a 18,00	10,00 a 14,00	Mo (opcional)
409 (ferrítico)	0,08	1,00	1,00	0,045	0,045	10,50 a 11,75	<1,00	Ti

Fonte: Adaptado de Tebecherani (2004) e Azom.com (2005).

Tabela 3.9 - Propriedades mecânicas e físicas dos aços.

Tipo de aço ABNT	Resistên- cia à tração (MPa)	Limite de escoamen- to (MPa)	Alonga- mento percentual (em 50 mm)	Dureza Rockwell B(HR B)	Dureza Brinell (HB)	Densida- de (kg/m³)	Módulo elástico (GPa)
304	515	205	40	92	201	8000	193
309	586	303	46	81	---	7992	193-207
316	515	205	40	95	217	8000	193
409	380	207	20	95	207	7600	208

Fonte: Adaptado de Azom.com (2005).

3.5.2 Corrosão em aços inoxidáveis

Existem inúmeras definições para o termo “corrosão”. Uma delas, segundo BEECH (1999) é que se entende corrosão como sendo um processo eletroquímico consistindo de uma reação anódica envolvendo a ionização (oxidação) do metal (reação de corrosão) e, uma reação catódica baseada na redução das espécies químicas. Mais simplesmente, a corrosão é um processo natural e resulta da tendência dos metais de retornarem para sua forma mais estável, normalmente, sob a forma de óxidos (VAN VLACK, 1984; TEBECHERANI, 2004).

TEBECHERANI (2004) mostra que existem várias formas de corrosão, entre elas:

- Corrosão geral: quando a degradação ocorre de maneira uniforme na superfície da peça atacada, provocando uma diminuição da espessura do material.
- Corrosão intercristalina (intergranular): ocorre nos contornos dos grãos dos metais e normalmente se propagam para o interior da peça, deixando poucos sinais visíveis na superfície.
- Corrosão alveolar (localizada): consiste num ataque localizado de uma peça por um agente corrosivo. Caracteriza-se por uma penetração do ataque em pontos isolados, que pode eventualmente provocar a perfuração da peça, enquanto regiões circunvizinhas permanecem praticamente intactas.

BEECH (1999) e BALAMURUGAN (2002) acrescentaram um outro tipo de corrosão em relação aos exemplos citados por TEBECHERANI (2004). Segundo esses autores, um outro tipo de corrosão comum de ocorrer, é a biocorrosão. Ela é comum no caso de implantes e está associada à presença de microorganismos ou ao produto de suas atividades metabólicas incluindo as enzimas, ácidos orgânicos e inorgânicos, tanto quanto materiais voláteis como a amônia ou sulfeto de hidrogênio.

Um dos efeitos da biocorrosão é a liberação de íons metálicos dentro do tecido próximo à superfície do implante, o que pode provocar a deterioração do metal, inflamações, demora na recuperação do paciente e até mesmo, o insucesso na cirurgia.

Uma forma de contornar os efeitos da corrosão é o isolamento da superfície metálica através de revestimentos protetores. Esses revestimentos podem ser orgânicos, cerâmicos ou metálicos (VAN VLACK, 1984).

3.5.3 Uso do aço inoxidável na área de implantes

Apesar de suas excelentes propriedades mecânicas (resistência mecânica, ductilidade), o uso do aço inoxidável na área médica apresenta três inconvenientes principais. O primeiro, sua baixa resistência à corrosão no ambiente altamente corrosivo do corpo humano (o sangue humano é 30 vezes mais salgado que a água do mar, permanece sempre a 37 °C e contém enzimas ativas) (BERNDT, 2004; BELOTI, 2004). O produto dessa corrosão provoca uma série de problemas como, por exemplo, efeitos tóxicos causados principalmente, pela liberação de partículas ou íons metálicos no organismo, causando desde falhas prematuras do implante até reações alérgicas, principalmente pela presença de níquel (conhecido pela sua toxicidade e propensão a causar alergias) (WANG, 2003). Normalmente, os problemas causados por esses efeitos tóxicos exigem novas intervenções cirúrgicas (WILLIAMS, 2003). Novas cirurgias significam mais gastos financeiros, principalmente pelo Sistema Único de Saúde (SUS), mais desconforto e riscos para o paciente. Ao nível de Brasil, FONSECA (2005) esclarece que as próteses têm uma vida útil inferior a 10 anos. O segundo inconveniente, é não possuir a capacidade de promover o crescimento ósseo permitindo o encaixe mecânico entre a prótese e o tecido (KANNAN, 2002). O terceiro é que sendo um material inerte, quando implantado no organismo vivo, induz a formação de uma camada fibrosa em torno do implante, não gerando nenhuma ligação química entre implante/tecido vivo (KIM, 2003). A única forma de fixar o

implante metálico ao tecido vivo é através de dispositivos como pinos ou cimentos cirúrgicos.

Apesar desses inconvenientes, aço inoxidável é um biomaterial largamente utilizado como implantes por ser facilmente manuseado e apresentar o menor custo financeiro em relação a outros biomateriais como titânio (e suas ligas), cobalto (e suas ligas), e similares. O aço inoxidável mais utilizado nessa área é o ABNT 316, conhecido como aço cirúrgico (FONSECA, 2005).

O aço inox ABNT 409 não é empregado na área de implantes, mas, na área automotiva ou na confecção de equipamentos médicos. Entretanto, como visto na Tabela 3.9 possui propriedades mecânicas similares às do aço 316 com as vantagens adicionais de apresentar baixa concentração de níquel, conforme a Tabela 3.8, e ser mais barato devido ao menor teor de Cr em sua composição. A originalidade desse trabalho, portanto, pode ser exemplificada justamente pelo uso de um aço que não é empregado como implante, embora, possua propriedades mecânicas similares às do aço 316, ser mais barato, além de apresentar menor teor de níquel, reduzindo os efeitos tóxicos no organismo. São vantagens interessantes quando se objetiva reduzir custos para o Sistema Único de Saúde, além de efeitos colaterais que colocam a vida do paciente em risco. O aço 409, entretanto, apresenta uma “desvantagem” em relação ao 316. É um material ferromagnético. Contudo, essa “pretensa” desvantagem para o uso na área de implantes pode ser facilmente contornada através da desmagnetização, um processo simples e barato, podendo ser parcial ou total, conforme a necessidade.

A literatura (GALLIANO, 1998; RIGO 1999; GARCIA, 2004; YEH, 2006) tem mostrado que uma forma de contornar os efeitos negativos do uso do aço inoxidável como implante, preservando suas vantagens, tem sido seu revestimento com material cerâmico (vidro bioativo, por exemplo) que possui uma elevada estabilidade química além de ser facilmente reconhecido pelo organismo, levando a formação da ligação química entre a superfície do implante e o tecido vivo.

3.6 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

Não existe uma única técnica que por si só consiga caracterizar suficientemente um material. Na realidade as diversas técnicas existentes se complementam para uma perfeita caracterização do produto final.

3.6.1 Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) permite a avaliação de materiais heterogêneos, tanto orgânicos quanto inorgânicos, em escala micrométrica e submicrométrica. Através desse equipamento a área superficial a ser analisada recebe uma descarga de um feixe muito fino de elétrons que pode ser estático ou varrer toda a superfície da amostra. A interação entre a superfície analisada e o feixe de elétrons emite vários sinais, dentre eles, os mais importantes são os emitidos pelos elétrons secundários e os retroespalhados, que variam de acordo com a topografia, composição e densidade da amostra.

Normalmente o microscópio eletrônico de varredura é acoplado a um espectrômetro de energia dispersiva (EDS), para uma análise exploratória semi-qualitativa quantitativa da composição química da amostra a partir de linhas característica de raios X.

3.6.2 Microscopia de força atômica

O microscópio de força atômica é composto basicamente por uma ponta (ou sonda) que percorre a superfície da amostra em análise, medindo a força de interação entre os átomos da sonda e os da superfície. CARIDE (2005) ensina que são várias as forças que atuam na varredura da sonda na superfície da amostra. Entre elas, as forças de van de Waals, que atuam a distâncias que variam de 100 nanômetros e as forças repulsivas, que se originam

no princípio de exclusão de Pauli (dois corpos não podem ocupar o mesmo lugar no espaço).

O AFM investiga a topografia da amostra permitindo a avaliação das propriedades tribológicas, como rugosidade, dureza, rigidez, elasticidade, atrito (BINNIG, 2004; CARIDE, 2005). O manual do microscópio de força atômica produzido pela Shimadzu, modelo SPM 9500-J3 (utilizado nesse trabalho), ensina que, basicamente o AFM pode ser operado em dois regimes diferentes: modo contato e modo dinâmico. No modo contato, as forças são predominantemente repulsivas, razão pela qual, ocorre uma deflexão vertical que levanta o cantilever (detetor de irregularidades na superfície da amostra). No modo dinâmico, por sua vez, a parte final do cantilever vibra próximo da sua frequência de ressonância. Quando o cantilever, que está vibrando, se aproxima da amostra, sua frequência de ressonância se desloca devido a força entre a parte final do cantilever e a amostra. O modo dinâmico permite a detecção de forças fracas, tais como atrativas, eletrostáticas e magnéticas. Este modo é adequado para a análise de amostras macias. Muito embora a metodologia para a obtenção da imagem seja simples (a amostra é colocada no porta-amostra e o software gera a imagem) é importante, que durante sua operação sejam considerados fatores como umidade, temperatura e vibrações externas que podem causar distorções nas imagens.

3.6.3 Espectroscopia na região do infravermelho

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica analítica bastante útil na identificação de grupos funcionais devido às bandas de absorção química provocadas pela absorção da radiação pela amostra. Todavia, é importante esclarecer que para que ocorra a absorção da radiação no infravermelho, a molécula deve sofrer uma mudança no seu momento de dipolo, como consequência de sua movimentação vibracional ou rotacional (BRANDÃO, 1990).

O FTIR permite analisar as frequências de vibração de ligações dos compostos orgânicos e minerais. As moléculas interagem com a radiação eletromagnética, especialmente na faixa do infravermelho, absorvendo a energia que, por sua vez, é transformada em vibrações e/ou rotações moleculares. Quando a radiação infravermelha absorvida apresenta uma frequência abaixo de 100 cm^{-1} a energia é transformada em rotação molecular. Quando, ao contrário, a radiação absorvida apresenta uma frequência maior, da ordem de 1.000 cm^{-1} a 100 cm^{-1} , converte-se em energia de vibração molecular (BRANDÃO, 1990).

Para a aplicação em superfícies sólidas podem ser utilizadas três técnicas diferentes de espectroscopia especular: refletância especular, refletância difusa e espectroscopia refletância-absorção. A refletância especular é empregada em amostras planas, superfícies limpas e os espectros são rapidamente obtidos para amostras pequenas com ângulos de incidência de 15° a 75° . A refletância difusa é normalmente obtida a partir de superfícies rugosas ou a partir de superfícies formadas por material em pó. O espectro da refletância, normalmente conhecido como espectro de refletância-absorção, é facilmente obtido a partir de superfícies revestidas com filmes finos da ordem de $0,2$ a $20\ \mu\text{m}$ (MELLING, 2001).

3.6.4 Raman

É uma técnica muito empregada no estudo da estrutura de sistemas moleculares. A nível molecular a radiação pode interagir com a matéria por processos de absorção ou de espalhamento e, este último pode ser elástico ou inelástico. O espalhamento elástico de fótons pela matéria é chamado de espalhamento Rayleigh, enquanto que o espalhamento inelástico, relatado pela primeira vez em 1928 pelo físico indiano Chandrasekhara Vankata Raman, é chamado de espalhamento Raman (ALCANTARA JUNIOR, 2002). MITCHELL (1996) explica que essa técnica apresenta uma diferença em relação à espectroscopia no infravermelho. Enquanto essa última baseia-se na mudança do momento de dipolo, sendo, portanto, mais sensível ao movimento polar das moléculas, a técnica de

Raman, baseia-se na mudança da polarização e, assim, é mais sensível ao movimento não polar das moléculas.

3.6.5 Espectroscopia de centelhamento

A espectroscopia por centelhamento (*glow discharge optical emission spectrometry* - GDOES) é uma ferramenta bastante útil e rápida para a análise de elementos em superfícies sólidas. O GDOES pode ser utilizado para a determinação quantitativa da concentração de elementos no volume do material e, com calibração adequada, é possível determinar a concentração elementar do elemento em função da profundidade da amostra.

A superfície da amostra é atacada por íons de argônio gerados em um plasma e acelerados por íons próximos da superfície da amostra. Os átomos ejetados da superfície da amostra se difundem no plasma, onde são excitados ou ionizados. Os átomos excitados emitem fótons que têm um comprimento de onda característico de cada elemento. Esses fótons emitidos atingem uma lente focal com grade policromado e são separados espectralmente. Uma série de foto-multiplicadores é colocada em posições específicas nas quais os fótons emitidos chegam. Os fótons detectados são ampliados e convertidos em sinais digitais. A ação de arrancamento (*sputtering*) da fonte de descarga é caracterizada pela remoção de átomos, camada por camada da superfície analisada formando uma cratera com um diâmetro aproximado de 4mm (TAKAGI, 1999; SPITSBERG, 2001; JUNQUEIRA, 2004).

3.6.6 Técnicas de caracterização biológica

NICOLODI (2004) ensina que ensaios de biocompatibilidade são complexos devido ao fato de que os dispositivos empregados como implante são feitos com diferentes materiais para usos diversos. Significa dizer que o material implantado estará em contato com diferentes tipos de tecidos (pele, fluxo sanguíneo) durante períodos diferentes. Dizer que um material

é adequado para implante não é o mesmo que dizer que ele será seguro quando estiver em contato com o fluxo fisiológico.

Existem dois métodos gerais para avaliação da biocompatibilidade de um material: o *in vitro*, realizado com equipamentos de laboratório, e o *in vivo*, realizado em animais ou humanos (MORITZ, 2004; NICOLODI, 2004; DAGUANO, 2006). A literatura (BOYAN, 1996; DA SILVA, 2005) ensina que os testes *in vitro*, em geral, são estáticos e não consideram a dinâmica do implante *in vivo*, como por exemplo, posição anatômica, carga, idade do paciente, mudanças no material provocadas pelos fluidos biológicos, para citar apenas esses. Os testes *in vitro* mais utilizados são em líquido similar ao fluido corporal (SBF – *simulated body fluid*) e os testes de cultura de célula (ROSA, 2002; ANDRADE, 2006; YAN, 2007). De uma forma geral, apesar dos inconvenientes, as análises *in vitro* permitem uma avaliação inicial antes da realização da análise *in vivo*. No teste *in vivo*, todavia, cada material tem a capacidade de induzir uma resposta biológica definida, tanto de forma local quanto sistêmica, que vai determinar a natureza do tecido que será formado (BOYAN, 1996).

Durante o teste com SBF a amostra está em contato apenas com a solução fisiológica, não considerando outros parâmetros como, por exemplo, alterações provocadas no material em resposta aos fluidos biológicos, mudanças no tecido circunvizinho, etc enquanto que, no organismo vivo, conforme DA SILVA (2005), a todo instante, o material implantado permanece envolvido pelos componentes do fluido onde está inserido, como o soro e saliva.

O teste de cultura celular, também não é definitivo, uma vez que emprega linhagem de células simples, geralmente linhagens de células transformadas. Nesse caso, entretanto, obtêm-se informações interessantes provenientes de componentes específicos obtidos a partir de respostas biológicas em relação ao material (BOYAN, 1996).

3.6.6.1 Teste em líquido similar ao fluido humano

A literatura (KOKUBO, 1990; ANDRADE, 2006) esclarece que esse tipo de teste é chamado de teste de bioatividade uma vez que permite a avaliação da precipitação de fosfato de cálcio (hidroxiapatita) na superfície do material a partir de uma solução que imita o fluido corpóreo. Ele consiste em mergulhar a superfície em um recipiente contendo a solução fisiológica (SBF). O recipiente é mantido em banho-maria (ou forno) a $\pm 37^{\circ}\text{C}$ e depois de um período pré-estipulado a amostra é retirada da solução fisiológica e analisada através de técnicas de análise de superfície como o MEV, AFM, FTIR para avaliar se houve a formação de hidroxiapatita. O material analisado é considerado bioativo quando ocorre a precipitação da hidroxiapatita. É interessante ressaltar que esse teste apenas indica se um determinado material é passível ou não de apresentar bioatividade uma vez que, como dito anteriormente, ele não leva em conta as interações biológicas que ocorrem no corpo do ser vivo onde o implante será inserido. Durante esse teste o ambiente analisado abrange apenas a amostra e a solução fisiológica.

A solução SBF (também conhecida como solução Kokubo) recebeu esse nome, justamente por apresentar uma concentração iônica similar ao plasma humano, conforme demonstrado na Tabela 3.10. A única diferença entre o SBF e o plasma humano é que o SBF possui uma supersaturação em relação ao cloreto e uma concentração inferior com respeito ao HCO_3^- (KOKUBO, 1990; ZHU, 2001). Normalmente, quando se deseja acelerar a formação de hidroxiapatita na superfície emprega-se a solução mais concentrada que a do plasma humano, por exemplo, a solução 1,5 SBF utilizada nesse trabalho.

Tabela 3.10 - Concentração iônica do SBF (mM).

Ion	SBF	1,5 SBF	Plasma Humano
Na ⁺	142,0	213,0	142,0
K ⁺	5,0	7,5	5,0
Mg ⁺	1,5	2,3	1,5
Ca ²⁺	2,5	3,8	2,5
Cl ⁻	147,8	221,7	103,0
HCO ₃ ⁻	4,2	6,3	27,0
HPO ₄ ²⁻	1,0	1,5	1,0
SO ₄ ²⁻	0,5	0,8	0,5

Fonte: Adaptado de HENCH (1993), p.332.

A solução 1,5 SBF é preparada, nas quantidades definidas na TAB. 3.11, pela dissolução dos reagentes NaCl, NaHCO₃, KCl, K₂HPO₄.3H₂O, MgCl₂.6H₂O, CaCl₂ e Na₂SO₄ em troca iônica com água deionizada. A essa solução, é adicionada a solução tampão tris-hidroximetil aminometano (CH₂OH)₃CNH₂ e ácido clorídico para manter o pH a 7,25 a 36,5°C (KOKUBO, 1990; HENCH, 1993; ORÉFICE, 2000; SARAVANAPAVAN, 2001).

Tabela 3.11 - Reagentes para a preparação do 1,5 SBF.

Ordem	Reagente	Quantidade (g)
1	NaCl	11,994
2	NaHCO ₃	0,525
3	KCl	0,336
4	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,342
5	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,458
6	HCl 1N	60 cm ³
7	CaCl ₂	0,417
8	Na ₂ SO ₄	0,107
9	NH ₂ C(CH ₂ OH) ₃	9,086

3.6.6.2 Teste de citotoxicidade

Os testes que avaliam a citotoxicidade, visam analisar o efeito produzido pelo material a ser implantado sobre as células no que se refere a multiplicação, função, toxicidade e adesão, ou seja, é analisada a interação da célula com a superfície implantada. A interpretação dos dados obtidos, entretanto, deve ser cautelosa uma vez que, eles analisam respostas de células simples, geralmente linhagens transformadas. Entretanto, uma vantagem desses testes é que além de indicarem a bioatividade, indicam, também, a toxicidade das superfícies analisadas (DA SILVA, 2005). Contrariamente ao teste com SBF, o que avalia a citotoxicidade através de cultura de células pode ser considerado como mais conclusivo uma vez que, ele leva em conta reações biológicas que ocorrem durante o crescimento celular.

CRUZ (1998) e DA SILVA (2005) esclarecem que o contato entre as células e o material analisado pode ser acessado através de três métodos: direto, indireto ou extração. O

“contato direto” se caracteriza por colocar as amostras do material no topo de uma monocamada de células ou em semear as células sobre a superfície da amostra. A intensidade da toxicidade do material é verificada através da observação do aspecto das células ao longo do gradiente de concentração da amostra. De acordo com DA SILVA (2005) um material que possui uma elevada toxicidade afetará células em regiões de baixa concentração.

Um ensaio bastante utilizado para a verificação da viabilidade celular é o ensaio MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolio]. SANTOS (2007) e DENIZOT (1986) ensinam o princípio desse método. De acordo com esses autores, as células absorvem o sal MTT, o qual é reduzido a cristais de formazan, no interior da mitocôndria através de ação enzimática. Esses cristais acumulam-se no interior da célula e, após abertura da mesma (lise), são liberados para fora da célula intensificando a cor azul no meio. A concentração de formazan produzido é avaliada através da absorbância medida em torno de 570 nm. SANTOS (2007) ressalta que apenas as células viáveis são capazes de metabolizarem o MTT.

(NAKAMURA 1995) em DA SILVA (2005) ensina que o “contato indireto”, por sua vez, emprega uma camada intermediária entre uma monocamada de células cultivadas no fundo de um frasco de cultura de células e o material testado. Essa camada funciona como se fosse uma tela, sendo o material mais comumente utilizado o Agar fluido. Finalmente, o último tipo de análise entre célula e o material é o “contato por extração”. Nesse método são empregados veículos de extração para retirar amostras do material a ser analisado. Normalmente os veículos empregados são água destilada, solução salina, saliva artificial, líquido corporal simulado e meio de cultura com soro (CRUZ, 1998; DA SILVA, 2005). É importante ressaltar que antes do ensaio de cultura de célula, a amostra deve ser esterilizada para eliminar qualquer contaminante que possa influenciar no resultado final. Existem vários métodos utilizados para a esterilização, como por exemplo, autoclave, irradiação por Raios Gama, esterilização com óxido de etileno, entre outros (SARANGAPANI, 2000; DA SILVA, 2005, AZEVEDO, 2005).

Podem ser utilizadas tanto células provenientes de tecido humano quanto animal. Entre as de origem humana, podem ser utilizados osteoblastos e fibroblastos. Entre as de origem animal, podemos citar como exemplo, as células VERO (ATCC CCL-81 – célula epitelial aderente de rim de macaco – *Cercopithecus aethiops* – monkey, African green) (FURUKAWA, 1999; BIGERELLE, 2002).

BOYAN (1996) esclarece que as células empregam a morfologia do substrato para a migração e orientação. As células epiteliais e fibroblastos se alinham ao longo de ranhuras que podem ser feitas propositadamente nas superfícies. Esse processo de alinhamento é conhecido como orientação por contato. Tanto o espaçamento quanto a profundidade das ranhuras têm um papel importante para a orientação por contato.

A adesão celular é um dos pré-requisitos iniciais para a proliferação celular e a diferenciação das células antes da formação do tecido, porque ela influencia diretamente o crescimento celular, a diferenciação e a migração que leva a colonização (VERRIER, 2004).

4 METODOLOGIA

A metodologia empregada, nesse trabalho, para a preparação através da rota sol-gel dos filmes finos de vidro bioativo, binário e ternário, sobre superfície do substrato de aço inoxidável ABNT 409, bem como a caracterização do produto final e sua biocompatibilidade estão ilustradas na Figura 4.1.

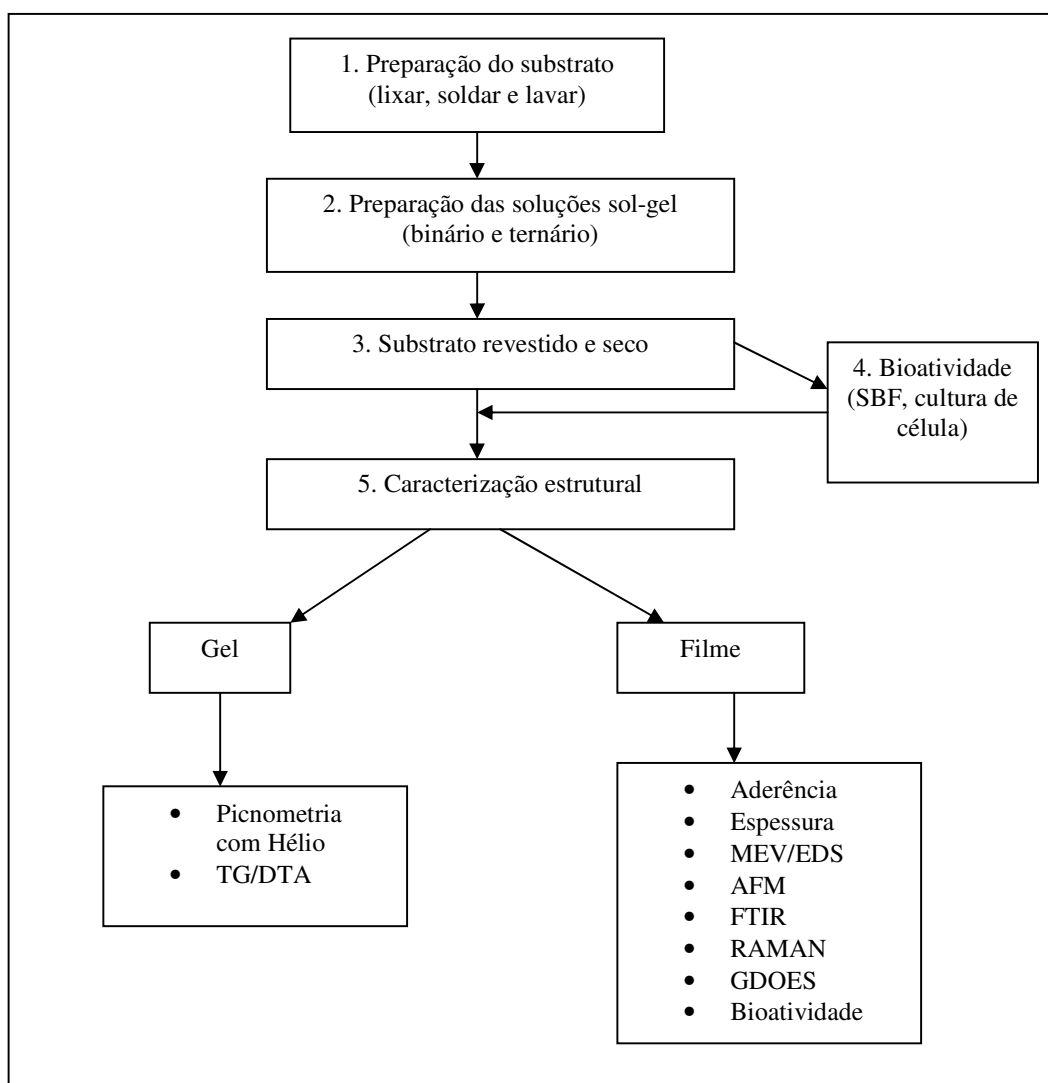


Figura 4.1 – Fluxograma geral da metodologia.

4.1 SUBSTRATO

Como substratos, foram utilizadas amostras de aço inoxidável ABNT 409, produzidas e fornecidas pela Acesita S/A com espessura da ordem de 2 mm. Elas foram cortadas em placas com tamanhos 1,5 cm x 1,5 cm, 2,0 cm x 2,0 cm ou circulares, com diâmetro de 6 mm, de acordo com o equipamento ou método de caracterização utilizado.

4.1.1 Preparação da Amostra

Depois de cortadas as amostras, conforme mencionado no item anterior, foram preparadas de acordo com o padrão adotado por LEITE (1995), ou seja, foram lixadas com riscos paralelos à superfície até 600 mesh em lixadeira rotativa. Esse procedimento visou o aumento tanto da área específica quanto da energia superficial do substrato, a fim de favorecer a adesão (força necessária para romper a ligação existente entre o substrato e o recobrimento) do filme cerâmico com a superfície metálica (IZQUIERDO-BARBA, 2003; VERCIK, 2003; ZHANG 2006).

Depois de lixadas, um fio de aço foi soldado na borda das amostras, através de solda capacitiva, em um capacitor desenvolvido no Laboratório de Soldagem e de Ensaios Não Destrutivos da UFMG. O propósito desse fio metálico soldado ao substrato foi apenas para permitir a adaptação da amostra ao equipamento de imersão empregado (comentado a seguir).

Após a solda as amostras foram lavadas com detergente, água quente de modo a eliminar toda contaminação mais grosseira (resíduos, suor, etc), levadas para o banho de ultra-som com etanol/acetona, secas em ambiente quente para eliminar os contaminantes orgânicos da superfície melhorando sua molhabilidade e, conseqüentemente, a aderência do filme ao substrato (BLOHOWIAK, 1999; OBANA, 2005). Finalmente, as amostras preparadas e limpas, foram conservadas em recipiente limpo até a etapa do revestimento.

4.1.2 Preparação da Solução de Revestimento (Sol)

Foram sintetizados dois tipos de sóis bioativos para revestir o substrato de aço inoxidável ABNT 409. O primeiro, binário, constituído de SiO_2 -CaO e o segundo, ternário constituído de SiO_2 -CaO- P_2O_5 .

Modificando o procedimento adotado por ZHONG (2001), a preparação do filme binário constituiu-se das seguintes etapas: (i) mistura de água deionizada, álcool (etanol) e ácido (ácido nítrico) sob agitação, empregando barras magnéticas em uma velocidade média; (ii) adição de TEOS (precursor do silício); (iii) adição de nitrato de cálcio tetra hidratado (precursor do cálcio). A mistura foi agitada até a dissolução completa dos sólidos no líquido. A razão molar adotada foi $\text{TEOS} : \text{álcool} : \text{H}_2\text{O} : \text{ácido} : \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} = 1 : 4 : 4 : 0,005 : 0,08$ e composição percentual molar aproximada de 92% Si e 8% Ca. O pH ficou próximo de 2 de modo a favorecer uma hidrólise rápida e, conseqüentemente, uma condensação mais lenta. A condensação lenta permite que as moléculas se re-arranjem de modo a formarem ligações Si-O-Si mais fortes, promovendo uma adesão mais forte entre o filme e o aço (substrato).

Para a obtenção do filme ternário, após a adição do TEOS na etapa (ii) e posterior mistura, foi adicionado o TEP (precursor do fósforo) e, finalmente, a adição do precursor de cálcio do $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. A razão molar adotada para o filme ternário foi $\text{TEOS} : \text{álcool} : \text{H}_2\text{O} : \text{ácido} : \text{TEP} : \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} = 1 : 4 : 4 : 0,005 : 0,07 : 0,08$ e composição percentual molar aproximada de 86% Si, 8% Ca e 6% P. O pH ficou próximo de 2.

A escolha pelo etanol como solvente na síntese dos filmes deveu-se ao fato dele, por apresentar um elevado ponto de ebulição, evaporar-se lentamente durante a etapa da cura, retardando a difusão do oxigênio, promovendo reforço à superfície externa e, finalmente, evitando trincas ou fraturas. O metanol, por sua vez, por apresentar um menor ponto de ebulição, evapora mais rapidamente (HARUVY, 1993).

Em ambos os procedimentos para a obtenção dos filmes finos binário e ternário, a mistura foi efetuada em temperatura ambiente com umidade relativa do ar abaixo de 60% para promover uma adequada densificação do filme sem a presença de defeitos nos revestimentos. As soluções obtidas, todas homogêneas, claras e transparentes foram imediatamente utilizadas para o revestimento do substrato metálico.

4.2 REVESTIMENTO

Todos os substratos foram revestidos com a solução (binária ou ternária, conforme o caso) obtida através da rota sol-gel, conforme definido anteriormente, utilizando a técnica de imersão.

Foi utilizado o equipamento denominado DIP-MMLQ desenvolvido no Laboratório de Materiais Cerâmicos da UFMG, capaz de manter constante o ângulo de retirada do substrato da solução de revestimento. Esse equipamento permite que a velocidade de imersão e retirada da amostra varie de 3,7 cm/min até 5,0 cm/min com intervalos fixos (3 V, 4,5 V, 6,0 V, 7,5 V, 9 V e 12 V) (LEITE, 1995).

A velocidade de retirada do substrato revestido da solução de revestimento é importante na determinação da espessura do filme depositado. Quanto mais lenta ela for, mais tempo o material volátil presente nessa solução terá para evaporar e, conseqüentemente, mais fino será o filme. Assim, quanto maior for a velocidade de emersão da amostra, mais espesso será o filme e maior a probabilidade de apresentar poros ou descolamentos (se a espessura for superior a 1 μm). Para que o revestimento possa ser utilizado como uma barreira contra a corrosão é imprescindível que ele seja uniforme, denso, sem trincas e descolamentos. Por isso, optou-se por empregar uma velocidade de retirada do substrato do banho de imersão, de 3,7 cm/min (correspondente à posição 3 V no equipamento DIP-MMLQ) para obter um filme fino e íntegro. O ângulo de imersão e retirada foi de 90° de modo a obter um filme de mesma espessura nas duas superfícies da amostra.

4.2.1 Secagem

A temperatura de secagem dos filmes variou entre 100 °C, 200 °C e 400 °C durante um intervalo de tempo entre 15 minutos e uma hora, em ambiente de ar, em estufa (100 °C a 200 °C) ou em forno (400 °C). O objetivo desse tratamento térmico (instantâneo, sem prévio aquecimento) é permitir a remoção da água e material orgânico presente no filme, desenvolvendo sua densificação de modo a obter um filme mais resistente, aderente ao substrato e sem trincas (COSTA, 2003). De acordo com o entendimento de vários autores, entre eles CHUNG (1998), TROCZYNSKI (2001) e VASCONCELOS (2003), o tratamento térmico após o revestimento deixa o filme mais resistente e livre de trincas.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPÓSITOS

Não existe uma única técnica capaz de caracterizar suficientemente um material. Na realidade, utiliza-se um conjunto de técnicas de modo que uma complemente a outra. Os filmes finos, binário e ternário, foram caracterizados empregando várias técnicas. Dessa forma, as caracterizações foram separadas em dois grupos: a caracterização das propriedades dos compósitos e a caracterização estrutural.

4.3.1 Caracterização das Propriedades dos Compósitos

4.3.1.1 Avaliação da espessura dos filmes

A avaliação da espessura dos filmes sol-gel binário e ternário foi possível através da análise da morfologia das seções transversais das amostras revestidas, através do MEV (Philips XL30), na Acesita S/A. Para a obtenção da imagem foi empregada a radiação do elétron secundário, potencial de aceleração de 20 kV com ampliação de até 10.000 vezes. A

composição do revestimento da amostra analisada foi determinada através do EDS (EDAX-DX4), também utilizando potencial de aceleração de 20 KV.

Para que as espessuras pudessem ser analisadas no MEV as amostras dos compósitos foram preparadas segundo procedimentos desenvolvidos pela Acesita. Em linhas gerais, foi feito um “sanduíche” constituído de placa de Ni / amostra / placa de Ni. Esse “sanduíche” foi prensado, lixado, polido e metalizado com ouro antes de seguir para a análise.

4.3.1.2 Avaliação da aderência dos filmes ao substrato

O teste de aderência, um dos mais comuns (YEH, 2006) na avaliação da magnitude da adesão entre dois materiais, foi realizado na Acesita S.A e seguiu a norma ABNT MB 985.

Em linhas gerais, primeiramente foram efetuados seis cortes cruzados em ângulo reto, com espaçamento de aproximadamente um milímetro, de forma a alcançar o substrato, formando-se uma grade com vinte e cinco quadrados. Em seguida, foi pressionada uma fita adesiva sobre a grade e, após um curto período de tempo a fita foi removida rapidamente obedecendo a um ângulo de 180° ou mais. Após a remoção da fita foi feita uma análise, com auxílio de uma lupa, na área onde a fita foi pressionada e retirada para avaliar a quantidade de revestimento que foi destacado e, conseqüentemente, classificar o grau da aderência encontrado. O grau de aderência recebe valores de zero a quatro. A classificação GR 0 é dada quando se tem “nenhuma área da película destacada” e a classificação GR 4, para situações onde se tem “cerca de 65% da película destacada”.

4.3.1.3 Avaliação da densidade dos géis

A avaliação da densidade verdadeira dos géis foi feita no sentido de avaliar a evolução do comportamento do gel (binário e ternário) após o tratamento térmico. Essa avaliação foi feita através do picnometro com hélio, Multi Pycnometer Quanta Chrome, em temperatura

ambiente, empregando a equação $PV = nRT$, onde **P** é pressão, **V** é o volume, **n** é o número de moléculas do gás, **R** é a constante universal dos gases e **T** é a temperatura do gás, para medir o volume ocupado pela amostra. É importante lembrar, entretanto, que os dados não descrevem corretamente a densidade dos filmes, pois, a microestrutura do “filme” é diferente da do “volume” (*bulk*) do material. Enquanto no “volume” as etapas de sua obtenção (gelação, secagem, densificação) desenvolvem-se seqüencialmente em períodos longos (muitas semanas ou mais), no “filme” fino devido ao processo de revestimento, elas têm a tendência de ocorrer em minutos ou frações de minutos. Essa diferença, naturalmente vai influenciar nas propriedades do produto final.

O sol (binário e ternário) utilizado na etapa de revestimento do aço inox ABNT 409 foi colocado em um recipiente plástico e mantido a aproximadamente 80 °C por cerca de 72 horas até ocorrer a gelação completa. O gel seco foi moído em gral de ágata até a obtenção de um pó fino adequado ao porta-amostra do picnômetro e posteriormente, dividido em três porções: uma, a que já havia permanecido a 80 °C por cerca de 72 horas, a segunda, que retornou ao forno sendo mantida lá a 400 °C por 1 hora e a terceira, que também retornou ao forno sendo mantida lá a 500 °C por uma hora. É importante esclarecer que foi escolhida a temperatura de 400 °C porque a partir dela, o nitrato começa a ser consumido e, a de 500 °C foi aleatória, apenas por ser superior a 400 °C.

A densidade é calculada empregando a fórmula $D = m/v$, onde **D** é a densidade, **m** é a massa e **v** é o volume. Assim, cada porção de gel moído (80 °C, 400 °C e 500 °C) foi pesada em balança de quatro dígitos por cinco vezes para obter um valor médio de massa para o cálculo da densidade. Depois de pesadas, as porções foram submetidas ao ensaio de picnometria com helio para a determinação da densidade.

4.3.2 Caracterização Estrutural dos Compósitos

Para a descrição da superfície dos revestimentos foram utilizadas duas técnicas: a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a de força atômica (AFM). A natureza química foi acessada através da espectroscopia dispersiva de energia (EDS), na região do infravermelho (FTIR), RAMAN e GDOES. Finalmente, a natureza e as faixas de temperatura das reações que ocorreram durante o tratamento térmico foram determinadas por termogravimetria (TG) e por análise térmica diferencial (DTA).

4.3.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectroscopia dispersiva por energia (EDS)

A microscopia eletrônica de varredura é utilizada tanto para a avaliação da superfície de um material quanto para a determinação da espessura de filmes. Para a avaliação da morfologia da superfície dos filmes binário e ternário que revestem o aço inoxidável ABNT 409 foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da UFMG, JEOL modelo JSM 6360 LV. Foi utilizada uma aceleração de 15 kV e os compósitos foram metalizados com carbono para torná-los condutores (a metalização com ouro poderia mascarar o pico do fósforo). Foi utilizada a radiação do elétron secundário por proporcionar imagens de alta resolução.

Normalmente, todos os MEV são equipados com detetores de raios X, sendo que a grande maioria deles emprega um detetor de energia dispersiva (EDS). O EDS permite uma análise semiquantitativa da composição química da amostra, a partir de linhas características de raios X. Portanto, os elementos componentes dos filmes binário e ternário foram determinados pelo EDS marca Thermo Noran modelo Quest, empregando aceleração de 10 kV.

4.3.2.2 Microscopia de força atômica (AFM)

A microscopia de força atômica foi utilizada para acessar a topografia e a rugosidade da superfície dos filmes finos revestidos no aço inox ABNT 409. Os experimentos foram realizados no equipamento produzido pela Shimadzu, modelo SPM 9500-J3, sendo utilizado o modo dinâmico em atmosfera ambiente.

4.3.2.3 Análise térmica dos géis

As termogravimetrias e as análises térmicas diferenciais (TG/DTA), foram utilizadas para avaliar o comportamento físico-químico que ocorre durante o processo de secagem dos géis binário e ternário.

Os mesmos sóis (binário e ternário) utilizados na etapa de revestimento do aço inox ABNT 409 foram mantidos a aproximadamente 80 °C por cerca de 72 horas até ocorrer a gelação completa. Posteriormente, o gel seco foi moído em gral de ágata até granulometria adequada aos ensaios de TG e DTA. As condições utilizadas no ensaio foram: temperatura desde a ambiente até 900 °C, atmosfera de nitrogênio e taxa de aquecimento padrão de 10 °C/min, empregando cadinho de platina em equipamento Shimadzu TA-50WS.

4.3.2.4 Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) é uma ferramenta analítica importante para a caracterização de estruturas vítreas. Ela permite a determinação da unidade estrutural presente no vidro, através de seus grupos funcionais. Os espectros foram obtidos através do espectrômetro Perkin-Elmer, Spectrum 1000, onde cada espectro foi obtido com

uma resolução de 4 cm^{-1} e média de 64 varreduras percorrendo a região de 4000 cm^{-1} a 200 cm^{-1} .

Foi utilizada a técnica da refletância especular empregando-se dois acessórios para a análise, sendo um de ângulo fixo e outro, com ângulo variável (VASR), utilizando os ângulos de incidência de 75° , 45° e 25° . A variação dos ângulos de incidência tem o objetivo de avaliar os grupos funcionais ao longo da espessura dos filmes.

4.3.2.5 Raman

As modificações na superfície, no que diz respeito à presença de nitrato ou carbonato nos filmes, foram analisadas por espectroscopia de micro Raman empregando equipamento Jobin Yvon / Horiba modelo LABRAM-HR 800 equipado com laser He-Ne (20 mW). O sinal foi coletado por um microscópio Olympus BHX-41 fornecido com as objetivas (50 x 0,75 ou 100 x 0,90) em configuração retroespalhada. As fendas da entrada do espectroscópio eram de $100\text{ }\mu\text{m}$ com uma resolução correspondente a $< 2,0\text{ cm}^{-1}$. O conversor holográfico utilizado foi de 600 g/mm . O detetor empregado foi N_2 líquido resfriado CCD do primeiro espectro retro iluminado. O tempo de aquisição variou de 10s a 120 s. Os espectros foram suavizados, analisados e otimizados com Labspec 1.1 e Origin 6.0.

4.3.2.6 Espectroscopia de emissão óptica por centelhamento (GDOES)

A variação da composição química dos filmes foi estimada através do equipamento Shimadzu GDLS 9950, equipado com uma fonte de radio frequência. O desgaste da superfície de uma área determinada da amostra (um círculo de aproximadamente 4 mm de diâmetro) foi obtido através de bombardeamento de íons argônio de elevada pureza (99,999%). A calibração foi realizada empregando o padrão de aço inoxidável.

4.3.2.7 Avaliação da bioatividade

Desde que uma das finalidades desse trabalho é o revestimento do aço inoxidável ABNT 409 com um filme de vidro bioativo, obtido via rota sol-gel, com o objetivo principal de sua utilização no corpo humano, é imprescindível que seja realizado um ensaio específico para a avaliação do nível de bioatividade do revestimento empregado no substrato.

As propriedades físico-químicas de um material definem seu desempenho final. Assim, a bioatividade dos filmes, binário ($\text{SiO}_2\text{-CaO}$) e ternário ($\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$), foi avaliada através de duas técnicas: (a) da solução acelular que imita o fluido corpóreo, conhecida como SBF para a avaliação da precipitação de fosfato de cálcio (hidroxiapatita) na superfície dos filmes bioativos e, (b) citotoxicidade, através da cultura de células com o objetivo de investigar o efeito dos filmes sobre as células no que tange à multiplicação, função, toxicidade e adesão celular.

4.3.2.7.1 SBF

A formação da camada de fosfato de cálcio, hidroxiapatita, na superfície do filme que reveste o substrato metálico é bastante lenta por causa da metaestabilidade do SBF em condições fisiológicas de pH na faixa de 7,2 a 7,4, de acordo com RAMBO (2006). Assim, no sentido de acelerar a formação da camada de fosfato de cálcio nos filmes sol-gel foi feita a opção de empregar a solução fisiológica 50% mais concentrada que o plasma humano (1,5 SBF). O compósito (aço + filme) foi colocado em um recipiente plástico tampado com 45 mL da solução 1,5 SBF, aí permanecendo por três semanas, em banho-maria, a 37 °C. Para evitar a contaminação com microorganismos, manter a concentração catiônica e, conseqüentemente, manter o pH do meio em aproximadamente $7,2 \pm 0,2$, a solução de SBF foi trocada semanalmente. Após o período de incubação, o compósito foi lavado com água deionizada para eliminar qualquer sal precipitado, seco a aproximadamente 50 °C, e separado para a etapa de caracterização.

4.3.2.7.2 Método de cultura de células

Nesse ensaio foi utilizado o método do contato direto, ou seja, as células foram semeadas diretamente sobre a superfície do compósito, por ser um teste mais simples e por ser o melhor modelo para a situação real onde o implante estará em contato direto com o tecido (NICOLODI, 2004).

Os ensaios para a avaliação da biocompatibilidade dos compósitos foram realizados no Laboratório de Microbiologia de Microorganismos Intracelulares – LABMIC/ICB – da Universidade Federal de Minas Gerais e seguiram os procedimentos usuais (CLAPER, 1996; CERRONI, 2002, QUAY, 2007).

Para esses ensaios foram empregadas células VERO, originárias de macaco, proveniente do American Type Culture Collection (ATCC), que tem o certificado de linhagem celular número 81 (ATCC CCL-81), e que são usualmente utilizadas em ensaios “*in vitro*”, de acordo com CLAPPER (1996) e YOKOMIZO (2001). Segundo YOKOMIZO (2001) essa linhagem celular é aceita pela Organização Mundial de Saúde para a produção de imunobiológicos de uso humano, razão pela qual foi escolhida para a avaliação da bioatividade “*in vitro*” dos revestimentos cerâmicos aplicados no aço inoxidável ABNT 409, no presente trabalho.

No presente trabalho para a avaliação da viabilidade celular foi empregado o método MTT, que se baseia na capacidade das células metabolizarem o sal de tetrazol pela formação de cristais de formazan azul, que é solubilizado e medido por densidade óptica no comprimento de onda em torno de 590 nm.

Preparo da amostra. Para a análise de citotoxicidade, a amostra de aço inox ABNT foi cortada com diâmetro de 6 mm, tamanho adequado para a placa de cultura de tecido de 96 poços, e revestida com os filmes finos binário e ternário seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente. Após o revestimento e densificação (200 °C e 400 °C durante 1

hora) dos compósitos eles foram esterilizados com óxido de etileno por 72 horas e raios gama, para a eliminação de toda vida microbiana ou viral.

As células VERO foram expandidas em Meio Mínimo de Eagle (MME) suplementado (2mM L-glutamina, Sais de Earle – 1,5 g/L de bicarbonato de sódio, 0,1 mM de aminoácidos não essenciais e 1,0 mM de piruvato de sódio; 10% de SFB – soro fetal bovino) com adição de antibióticos (penicilina, estreptomicina e fungizona) para evitar contaminação.

Para evitar o crescimento de bactérias junto com as células, as amostras foram tamponadas com solução de Tris-HCl 0,2M e pH igual a 6,5 depois de acondicioná-las nas placas de 96 poços. Em seguida, as amostras foram agitadas em agitador orbital a 4° por 30 minutos. Posteriormente a solução tampão foi retirada e efetuada lavagem com 250 µl / poço com água miliQ estéril, seguido de adição de 250 µl de Meio Mínimo de Eagle sem suplementação e, finalmente, mantidas em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂ e 95% de ar atmosférico durante aproximadamente 30 minutos a 37 °C.

Adição de células. Após o tamponamento, cada poço foi semeado com 50.000 células em 100 µL de suspensão em MME suplementado com 2Mm de L-glutamina e 10% de SFB sobre a superfície das amostras. A placa foi mantida por 20 horas em estufa de CO₂ (5%) a 37 °C. O meio de cultura contendo as células e sem o compósito foi empregado como controle negativo (não tóxico) no sentido de alcançar a viabilidade máxima com o MTT.

Ensaio com MTT. O ensaio de viabilidade celular foi realizado através do método MTT onde, é verificada a formação de cristais intracitoplasmáticos, característicos da viabilidade celular. Após 20 horas de cultivo, a placa contendo as células sobre os compósitos teve o sobrenadante retirado e estocado a -70 °C para posterior leitura protéica. O meio retirado foi repostado com 100 µL de MME fresco (suplementado com L-glutamina e 10% de SFB) e adição da 30 µL / poço da solução de MTT. A placa contendo os compósitos foi então incubada durante cerca de 4 horas em estufa de CO₂ (5%) a 37 °C.

Após cerca de 4 horas de incubação com o MTT foi adicionado em cada poço 35 μ L / poço da solução de SDS 10% de HCl. A placa foi homogeneizada para permitir a dissolução dos cristais e re-incubada por mais 1 hora em estufa de CO₂ (5%) a 37 °C, ao abrigo da luz. Os cristais intracitoplasmáticos foram solubilizados. Os sobrenadantes foram transferidos para nova placa e foi realizada leitura espectrofotométrica no comprimento de onda em torno de 590 nm do sal de formazan, indicativo da viabilidade celular.

Microscopia eletrônica de varredura. O material foi distribuído em placa de 24 poços e tamponado com solução de Tris-HCl 0,2 M em pH 6,5 por 30 minutos em agitador orbital a 4°. Foi efetuada lavagem com água destilada estéril bi-destilada. Os materiais foram, então, mantidos em MME (pH 7,2 – 7,6), sem suplementação, por 30 minutos a 37 °C e em estufa a 5% de CO₂.

O meio foi então retirado e as células VERO foram semeadas em MEM – Eagle suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 2mM de L-Glutamina, em uma concentração de 300.000 células / poço. Após essa etapa, a placa foi mantida em estufa a 37 °C e 5% de CO₂ por 24 horas, quando então, foram feitos os registros fotográficos do crescimento celular nos poços-controle e teste. Os sobrenadantes foram retirados dos poços e mantidos a -70°C para posterior quantificação protéica.

Para manter a estrutura celular, as amostras foram fixadas com solução de glutaraldeído (GA) a 2% em PBS 0,15M durante cerca de 16 horas a 37 °C. Após esse tempo, o glutaraldeído foi aspirado e realizada a desidratação crescente da amostra em solução alcoólica (30, 50, 70 e 100%) por cerca de 30 minutos à temperatura ambiente. Finalmente, as amostras foram metalizadas com ouro (IZQUIERDO-BARBA, 2006; ZHU, 2007) e seguiram para a análise no microscópio eletrônico de varredura (JEOL modelo JSM 6360 LV).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES DOS COMPÓSITOS

5.1.1 Aderência do Filme ao Substrato

O ensaio para a verificação da aderência entre a interface do filme sol-gel (binário e ternário) e o substrato de aço inox ABNT 409, realizado na Acesita S/A, foi o conhecido “corte em grade”, e seguiu a norma ABNT MB 985. As situações encontradas para os dois tipos de compósito (aço + filme binário; aço + filme ternário) após a retirada da fita adesiva foram observadas por meio de lupa e relacionadas ao grau GR 0, o que significa ótima aderência ao substrato, ou seja, após a remoção da fita adesiva da área analisada não foi encontrado nenhum destacamento tanto do filme binário quanto do ternário, conforme as Figuras 5.1, 5. 2, 5. 3 e 5. 4.

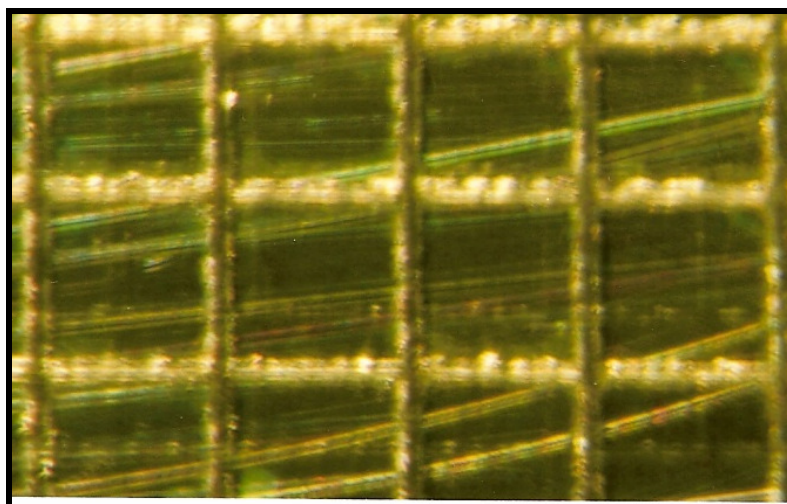


Figura 5.1 – Ensaio de aderência do filme binário seco a 200 °C por 1 hora.

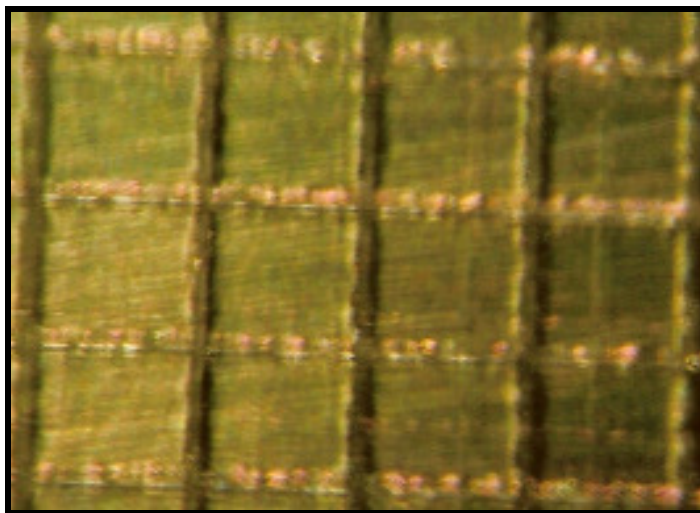


Figura 5.2 – Ensaio de aderência do filme binário seco a 400 °C por 1 hora.

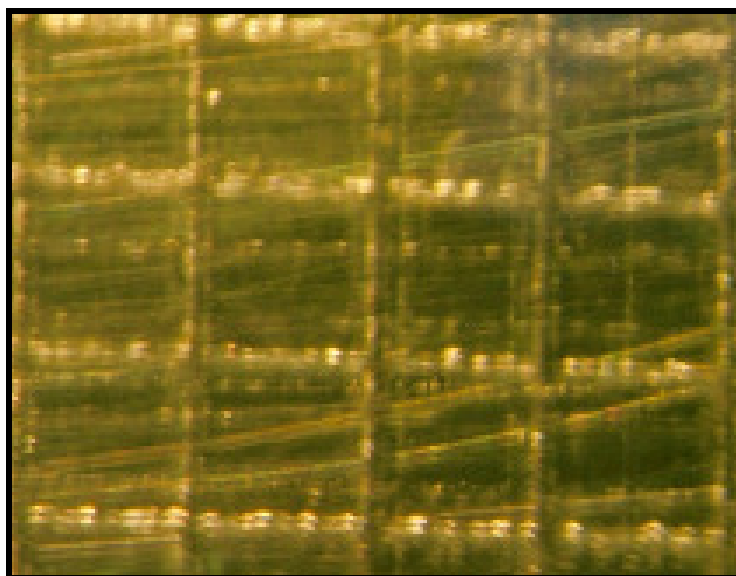


Figura 5.3 –Ensaio de aderência do filme ternário seco a 200 °C por 1 hora.

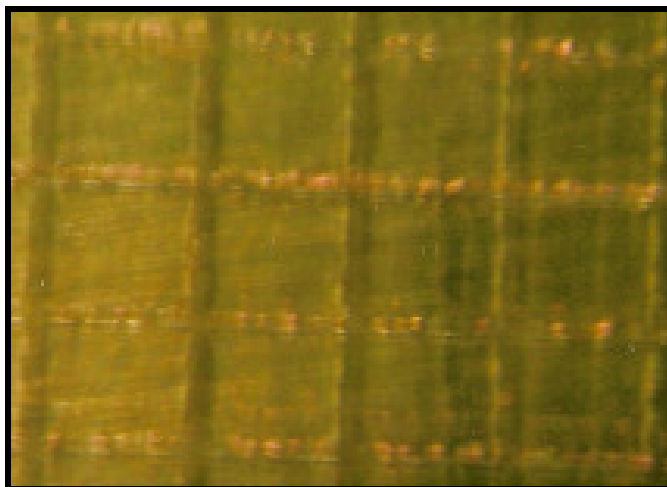


Figura 5.4 – Ensaio de aderência do filme ternário seco a 400 °C por 1 hora.

A boa adesão obtida pelos filmes sol-gel binário e ternário à superfície metálica já era previsível de acordo com VASCONCELOS (2003) e também, devido a algumas características do filme sol-gel como revestimento. Uma, é atribuída ao desenvolvimento da ligação covalente entre o alcoxi metálico presente na superfície do filme (Si) e a superfície metálica do substrato formando a ligação Si-O-Fe (SOUCEK, 2000; CHUNG, 2003; YEH, 2006). De acordo com o entendimento de KHUMMALAI (2005) a ligação Si-O-Fe é proveniente da reação do Si-OH e Si-OCH₃ com o Fe, um dos componentes do aço inoxidável. (Segundo PASCHOAL (1998), o filme passivo que cobre a superfície do aço inoxidável pode ser destruído após desgaste abrasivo, como ocorreu na etapa de lixamento descrito na seção 4.1.1, permitindo a ligação Si-O-Fe).

5.1.2 Avaliação da Espessura dos Filmes

A espessura dos filmes binário e ternário em função da temperatura e duração do tratamento térmico, avaliada por meio da microscopia eletrônica de varredura, foi obtida através da média de dez medidas - e empregando o desvio padrão - em diferentes partes de cada amostra, chegando-se aos dados apresentados pela Tabela 5.1.

Tabela 5. 1 – Espessura dos filmes sol-gel em função da temperatura e duração do tratamento térmico.

Filme	Espessura (nm)
Filme binário – 200 °C 1 hora	280 ± 27
Filme binário – 400 °C 1 hora	222 ± 21
Filme ternário – 200 °C 1 hora	292 ± 38
Filme ternário – 400 °C 1 hora	196 ± 21

Os dados expostos na Tabela 5.1 confirmam que os filmes obtidos nesse trabalho através de uma única etapa de revestimento apresentam espessuras bastante reduzidas.

Uma outra informação importante decorrente da Tabela 5.1 é referente a influência exercida pela temperatura do tratamento térmico sobre a espessura final dos filmes. Está nítido que à medida que a temperatura é aumentada a espessura dos revestimentos apresenta a tendência de sofrer uma redução

As fotografias apresentadas nas Figuras 5.5, 5.6, 5.7 e 5.8 ilustram a seção transversal dos filmes cujas espessuras foram avaliadas. Para um perfeito entendimento dessas figuras, é importante lembrar que a espessura da amostra de aço inoxidável ABNT 409 utilizada nesse trabalho foi da ordem de 2 milímetros. Nessas fotografias onde foi utilizada uma ampliação de 10.000 vezes, percebe-se uma estreita faixa escura e contínua dividindo duas áreas largas e claras. As faixas claras estão relacionadas tanto às placas de níquel (utilizadas na preparação da amostra conforme descrito no item 4.3.2.1) quanto ao substrato e, a faixa fina e escura, à seção transversal dos filmes sol-gel binário e ternário. Facilmente se constata que a faixa escura nessas figuras diz respeito à seção transversal do filme cuja espessura foi analisada e não, à amostra como um todo, uma vez que as faixas escuras apresentam uma altura bastante inferior à escala de 2µm (ver escala nas fotografias) enquanto que a amostra apresentava uma altura equivalente a 2 mm, de acordo com a seção 4.1 deste trabalho.

A fotomicrografia do filme binário tratado a 200 °C durante uma hora é mostrada na Figura 5.5. Percebe-se que o filme apresenta uma morfologia uniforme sem qualquer descontinuidade. Além disso, a espessura prevista na Tabela 5.1 está perfeitamente coerente com escala mostrada na fotografia.

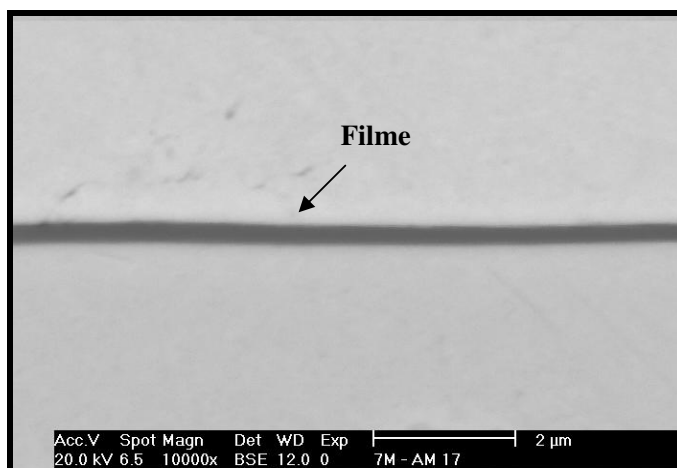


Figura 5.5– Imagem de MEV da seção transversal do filme binário, seco a 200 °C durante 1 hora, com espessura em torno de 280 ± 27 nm.

O aumento da temperatura para 400 °C produziu também uma morfologia contínua e uniforme, igualmente coerente com a espessura prevista pela Tabela 5.1, considerando a escala de 2 μm mostrado na Figura 5.6. Comparando as Figuras 5.5 e 5.6 é possível perceber que a primeira delas apresenta uma espessura visivelmente superior em relação à segunda.

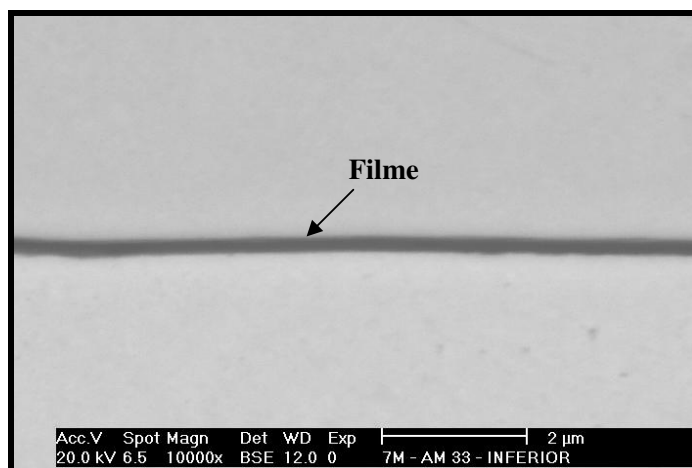


Figura 5.6 – Imagem de MEV da seção transversal do filme binário seco a 400 °C durante 1 hora, apresentando espessura em torno de 222 ± 21 nm.

A fotomicrografia do filme ternário tratado termicamente a 200 °C durante 1 hora é mostrada na Figura 5.7. Sua morfologia, de uma forma geral apresenta-se também contínua com espessura coerente com aquela antecipada pela Tabela 5.1.

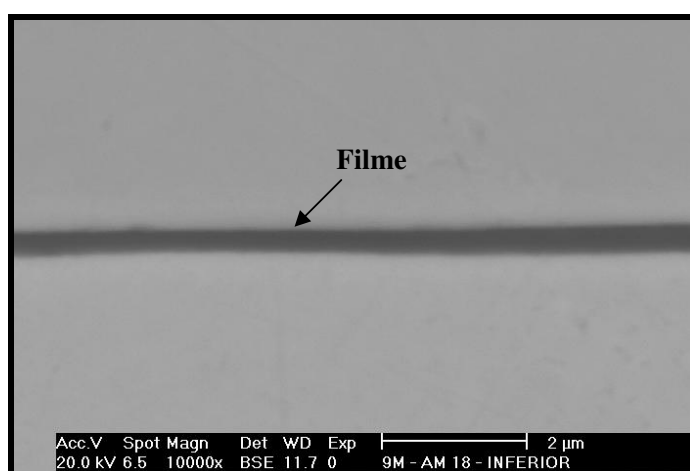


Figura 5.7 – Imagem de MEV da seção transversal do filme ternário tratado termicamente a 200 °C durante 1 hora, apresentando uma espessura em torno de 292 ± 38 nm.

A morfologia do filme ternário que foi levado ao forno a 400 °C por uma hora para sua densificação, está mostrada na Figura 5.8. Está evidente também seu aspecto uniforme, sem qualquer indício de defeito ou descontinuidade. A espessura visualizada em todo o segmento do filme está de acordo com a antecipada pela Tabela 5.1.

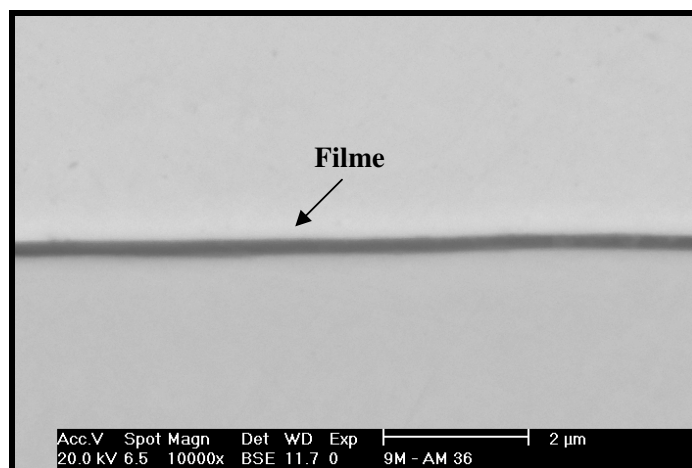


Figura 5.8 – Imagem de MEV da seção transversal do filme ternário tratado termicamente a 400 °C durante 1 hora, apresentando espessura em torno de 196 ± 21 nm.

De uma forma geral, conforme mencionado anteriormente, a reduzida espessura dos filmes binário e ternário obtidos nesse trabalho já era esperada, pois: (i) foi realizado um único revestimento em cada amostra; (ii) foi empregada baixa velocidade de retirada da amostra da solução de revestimento; (iii) após a etapa de secagem (100 °C a 400 °C) os elementos orgânicos presentes na estrutura dos revestimentos são eliminados, tornando o filme mais denso, isento de poros ou trincas e; (iv) a transparência dos revestimentos avaliada visualmente. Além disso, na medida em que o filme é seco ele encolhe em seu volume devido à evaporação. Uma vez que esse filme está aderido a um substrato e incapaz de reduzir seu volume nessa direção, a diminuição no volume é acompanhada pela redução da espessura.

As Figuras 5.9, 5.10, 5.11 e 5.12 mostram os espectros de EDS confirmando que os filmes representados pela linha escura nas Figuras 5.5 até 5.8 são, de fato, os filmes binário e ternário ora produzidos através da rota sol-gel.

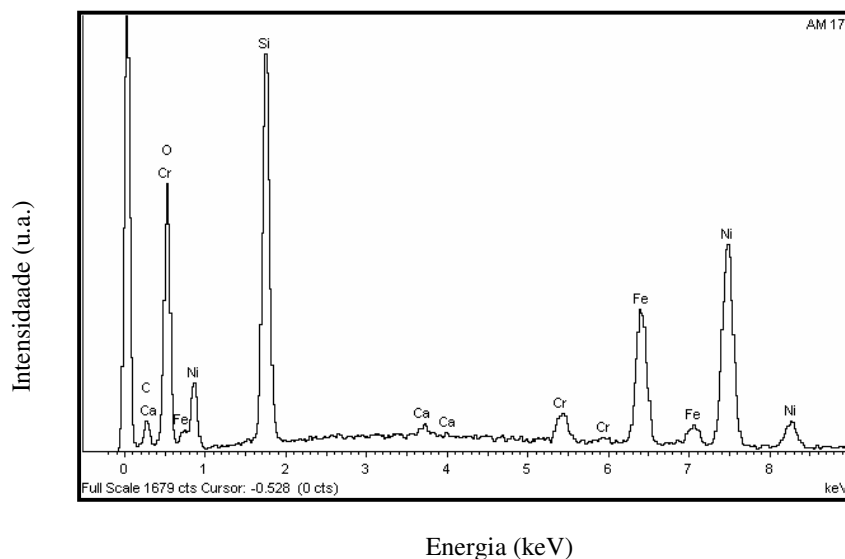


Figura 5.9 – Espectro de EDS do filme binário seco a 200 °C por 1 hora, com espessura na faixa de 280 ± 27 nm.

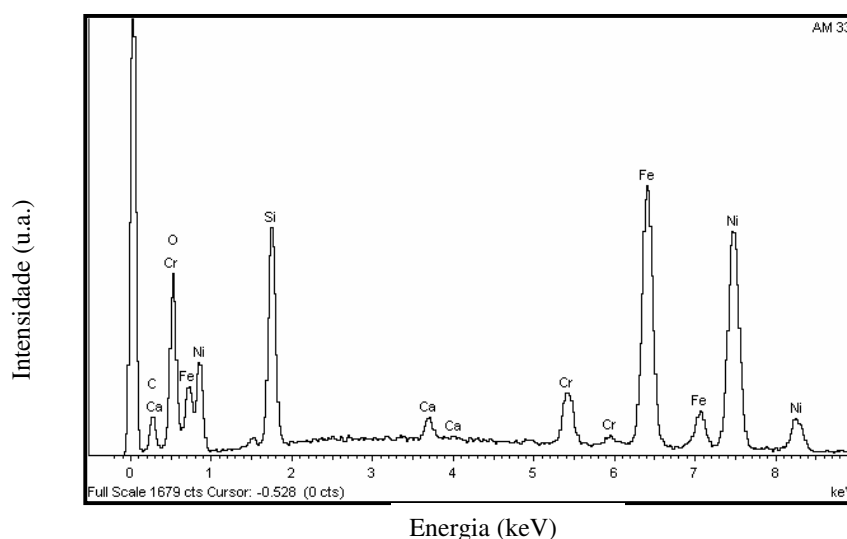


Figura 5.10 – Espectro de EDS do filme binário seco a 400 °C por 1 hora, com espessura na faixa de 222 ± 21 nm.

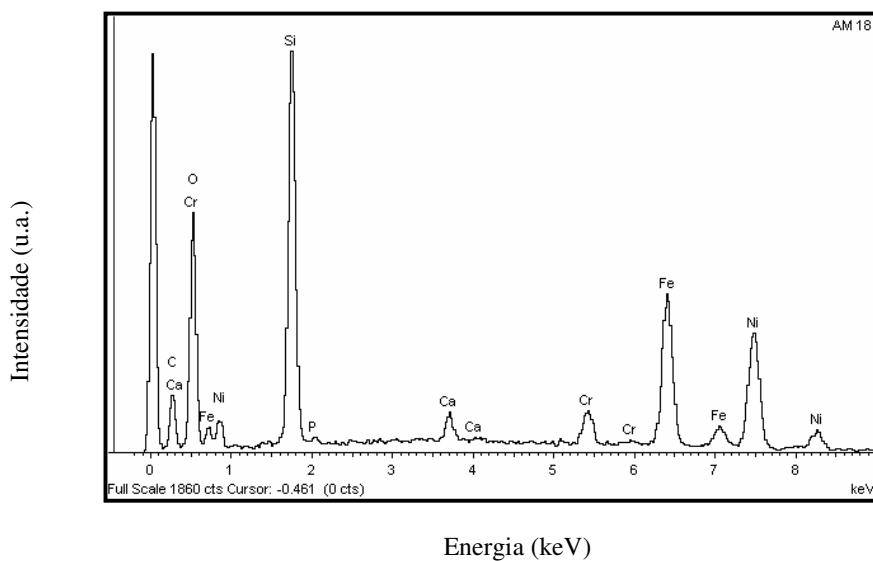


Figura 5.11 – Espectro de EDS do filme ternário seco a 200 °C por 1 hora, apresentando espessura da ordem de 292 ± 38 nm.

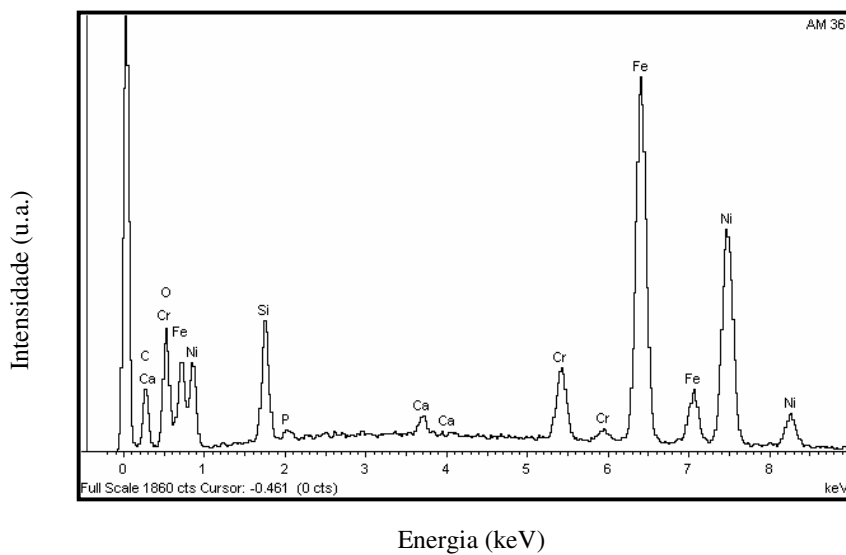


Figura 5.12 – Espectro de EDS do filme ternário seco a 400 °C por 1 hora, apresentando espessura na faixa de 196 ± 21 nm.

Em todas essas Figuras (5.9 a 5.12), independente da temperatura e duração do tratamento térmico, está evidente a presença do filme binário, representado pelos picos dos elementos Si e Ca, do filme ternário, representado pelos elementos Si, Ca e P além da presença do substrato através dos picos relativos ao Fe e Cr, seus maiores componentes.

Comparando-se os espectros de EDS das Figuras 5.9 com a 5.10 (filme binário) e Figuras 5.11 com 5.12 (filme ternário) verifica-se que à temperatura de 400 °C a intensidade do pico relativo ao Si é menor do que à 200 °C enquanto que a intensidade do pico do Fe aumenta, sugerindo que o filme esteja sendo consumido. Na verdade, os filmes binário e ternário (constituídos basicamente de sílica) são estáveis na faixa de temperatura trabalhada (200 °C – 400 °C). A falsa impressão de consumo dos filmes é decorrente da metodologia utilizada para gerar os espectros de EDS. Como dito anteriormente (4.3.1.1), a espessura dos filmes foi obtida a partir de imagens de MEV da seção transversal das amostras revestidas que foram prensados entre placas de níquel. Foi visto que a elevação da temperatura (Figuras 5.5 a 5.8) reduz a espessura dos filmes assim, quando o raio X, durante a análise de EDS, incide sobre a seção transversal da amostra com o filme mais fino (400 °C), incide não apenas sobre o ponto analisado mas atinge, também, a área em volta chegando ao substrato (volume da interação do feixe eletrônico com a amostra - formato de pêra), aumentando a intensidade do pico representativo do substrato (Fe) e, conseqüentemente, reduzindo a intensidade do pico representativo do filme (Si).

5.1.3 Densidade dos géis

As densidades verdadeiras dos géis binário e ternário secos a 80 °C, 400 °C e 500 °C durante uma hora estão ilustradas nas Figuras 5.13.

Observações derivadas dos gráficos da Figura 5.13 – apresentando barra de erros igual a 10% - mostram que a evolução da densidade dos géis binário e ternário é muito semelhante, inclusive com um ponto de inflexão a 400 °C (provavelmente devido ao consumo do

nitrato). A densidade do gel binário, na faixa de 80 °C até 400 °C apresenta um crescimento mais suave ($\theta \sim 17^\circ$) que a do ternário ($\theta \sim 25^\circ$) mas, a partir de 400 °C a situação se inverte, ou seja, a densidade do binário ($\theta \sim 58^\circ$) passa a aumentar de modo mais intenso que a do ternário ($\theta \sim 48^\circ$).

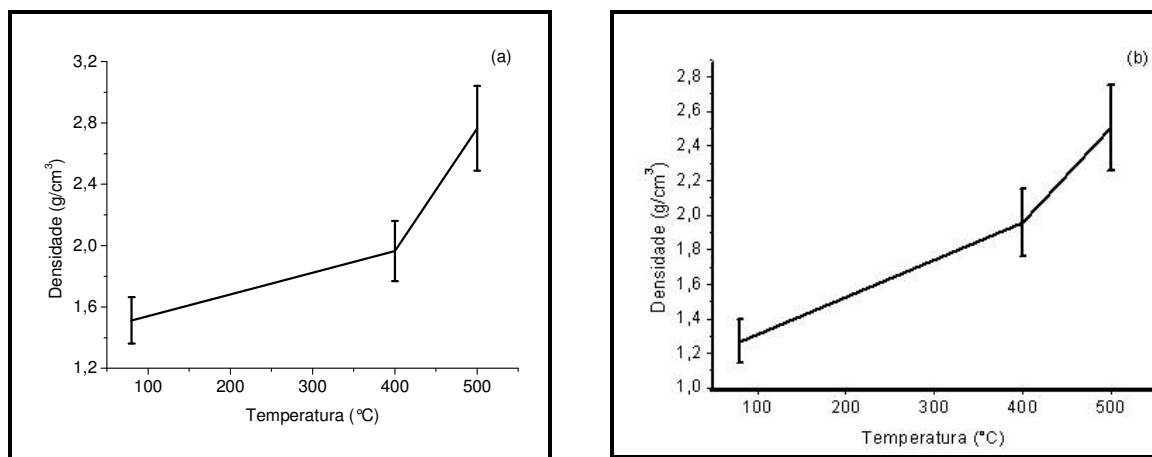


Figura 5. 13 - Densidade dos géis binário (a) e ternário (b) em função da temperatura.

É interessante observar que a densidade do filme binário é ligeiramente maior que a do filme ternário a 80 °C e a 500 °C, porém, à 400 °C as duas densidades são iguais (~1,96). A explicação para esse fato pode estar relacionada à presença do fósforo que foi acrescentado à síntese do filme binário, resultando no ternário. Provavelmente, a entrada de fósforo na rede provocou uma desordem estrutural deixando a estrutura do filme ternário mais aberta, que a do filme binário.

A Figura 5.13 (a) e (b) mostra que a densidade do gel (binário e ternário) aumenta com a temperatura do tratamento térmico adotado. O gel (binário e ternário) possui uma menor densidade à 80°C, devido à queima incompleta do material orgânico presente na porção analisada. Na medida em que a temperatura vai aumentando, o material orgânico vai sendo eliminado, o espaço interatômico entre as partículas vai se reduzindo, levando a densificação e, conseqüentemente, a um aumento da densidade. Está claro que a evolução

da densidade dos géis binário e ternário varia em função da temperatura, conforme demonstrado na Figura 5.13.

Desde que a densidade é uma relação de massa e volume ($D = m / v$), quanto maior a densidade menor será o volume do material depositado na superfície do aço inoxidável à medida que a temperatura aumenta. Portanto, os dados mostrados na Figura 5.13 concordam com a variação da espessura dos filmes em relação à variação da temperatura de acordo com o mostrado nas Figuras 5.5 até 5.8.

5.2 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS FILMES BINÁRIO E TERNÁRIO

Imediatamente após o recobrimento empregando os sóis binário ($\text{SiO}_2\text{-CaO}$) e ternário ($\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$) a aparência visual dos filmes, antes e após a secagem, mostrou-se brilhante, transparente, colorida, aderente ao substrato e sem indícios da presença de trincas ou defeitos.

5.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e EDS

Fotografias obtidas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos compósitos (aço inox ABNT 409 + filme $\text{SiO}_2\text{-CaO}$) e (aço inox ABNT 409 + filme $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$), obtidos através do processo de imersão empregando velocidade baixa e constante de retirada da amostra do banho (equivalente a 3 V no equipamento DIP-MMLQ) e posterior secagem a 400 °C durante 15 minutos, são vistas nas Figuras 5.14 e 5.15.

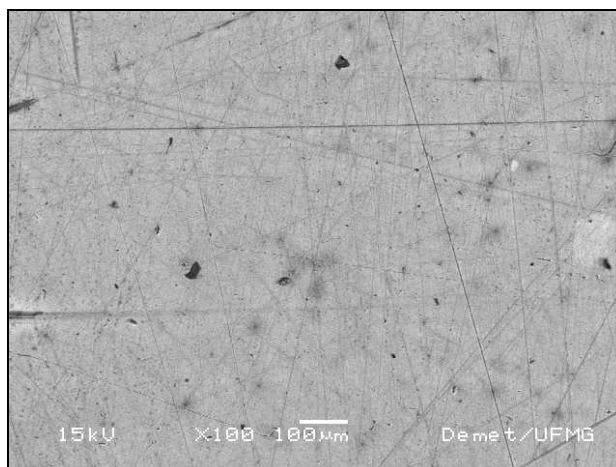


Figura 5.14 – Fotografia do MEV do filme binário SiO₂-CaO.

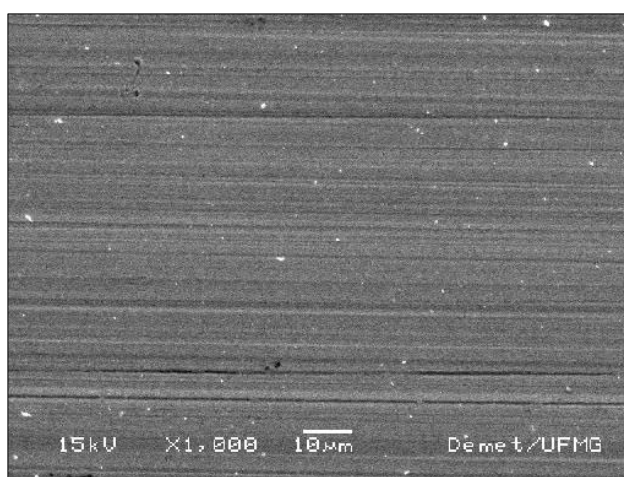


Figura 5.15 - Fotografia do MEV do filme ternário SiO₂-CaO-P₂O₅.

Em ambas as Figuras, obtidas por MEV, é possível a constatação de que os revestimentos apresentam-se íntegros, homogêneos, aderentes ao substrato e sem indicação da presença de poros, trincas ou descolamentos do substrato. As Figuras 5.14 e 5.15 também sugerem uma provável espessura fina dos filmes uma vez que se percebe a presença do substrato sob os filmes, representado pelas ranhuras produzidas durante a etapa de preparação das amostras (lixamento). Esse indicativo de pequena espessura está coerente com os resultados mostrados nas Figuras 5.5 a 5.8.

Como dito anteriormente, o EDS permite uma avaliação semiquantitativa da superfície analisada. Assim, a presença dos filmes binário e ternário revestindo o substrato é confirmada pelos espectros mostrados nas Figuras 5.16 e 5.17.

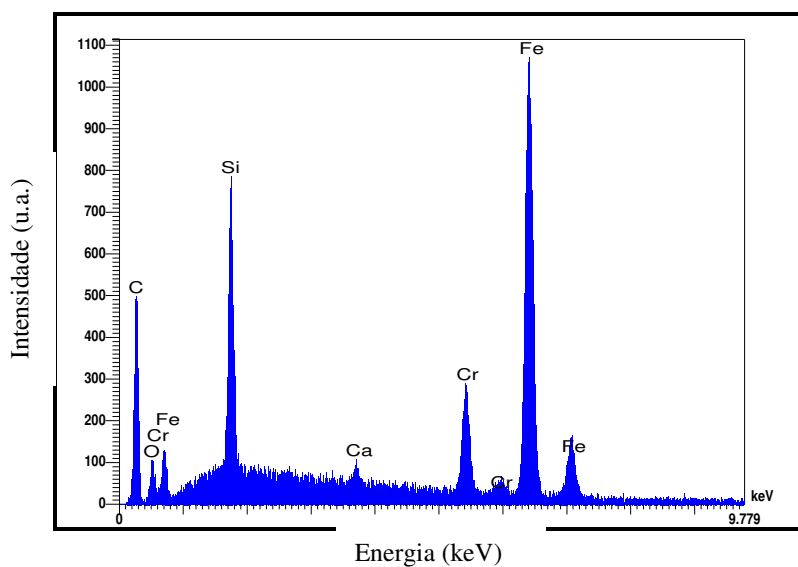


Figura 5.16 – Espectro de EDS representativo do filme binário recobrendo o aço inox ABNT 409.

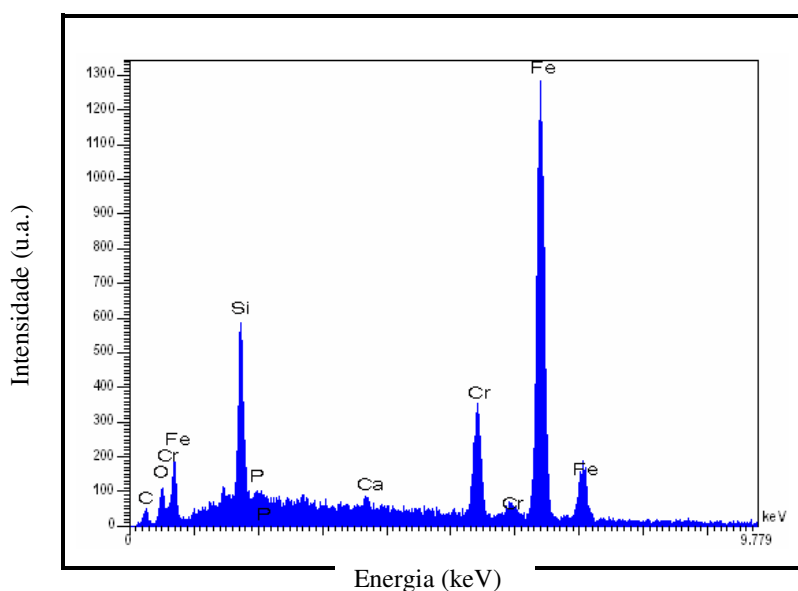


Figura 5.17 - Espectro de EDS representativo do filme ternário revestindo o aço inox ABNT 409.

Pelas Figuras 5.16 e 5.17 percebe-se a presença do filme binário representado pelos picos dos elementos silício e cálcio, enquanto o ternário é comprovado pelos picos do silício, cálcio e fósforo. Igualmente, a presença do substrato está suficientemente comprovada pelos picos representativos do ferro e cromo, maiores componentes do aço inox ABNT 409. Ressalta-se que a intensidade dos picos do substrato (Fe e Cr) em relação ao dos filmes (Si, Ca e P) é bastante superior devido ao potencial de aceleração utilizado (15 KV).

É importante ressaltar ainda nesses espectros a intensidade dos picos devidos tanto aos filmes quanto ao substrato. O fato da intensidade do pico relativo ao elemento silício, no que diz respeito aos filmes, ser bastante superior em relação à dos elementos cálcio e fósforo é justificada devido à grande quantidade do silício em relação ao cálcio e fósforo nos filmes. A composição percentual molar do filme binário utilizado nesse trabalho é aproximadamente 92% de Si e 8% de Ca enquanto que a do ternário, 86% de Si, 8% de Ca e 6% de P. Da mesma forma, no tocante ao substrato, a intensidade do pico do Fe em relação ao do Cr é explicada pela quantidade de Fe ser muito superior à do Cr, estando esse último, na faixa de 10,5 a 11,75 % na liga. A Tabela 3.8 revela que o aço inox ABNT 409 possui uma quantidade de Ni muito baixa em sua composição, por isso, ela não foi detectada nos espectros das Figuras 5.16 e 5.17.

A princípio pode parecer que os espectros de EDS mostrados nas Figuras 5.16 e 5.17 estão em discordância com os apresentados nas Figuras 5.9 a 5.12, no que se refere à presença do pico relativo ao elemento níquel. Na verdade, no caso das Figuras 5.9 a 5.12, onde o foco era a determinação da espessura do filme, para tal, as amostras necessitaram de uma preparação especial (placa de Ni /amostra / placa de Ni) de acordo com o explicado no item 4.3.2.1, daí a intensidade elevada do pico relativo ao níquel. Nas Figuras 5.16 e 5.17, quando o objetivo era a avaliação da superfície do substrato revestido com os filmes, as amostras foram simplesmente lixadas, lavadas e recobertas, de acordo com o item 4.1.1 e, como a presença do níquel no aço inox ABNT 409 é muito pequena (< 1,00%), ela não foi detectada nesse espectro.

5.2.2 – Microscopia de Força Atômica (AFM)

5.2.2.1 Filme binário

Novamente, a integridade dos revestimentos binário (TEOS:Ca = 1:0,08) e ternário (TEOS:Ca:P = 1:0,08:0,07) está comprovada nas imagens obtidas por AFM e mostradas nas Figuras 5.18, 5.19, 5.20 e 5.21. Elas demonstram que os filmes acompanham uniformemente a superfície do substrato, sem evidência da presença de trincas ou descolamentos, na área analisada. Esses resultados estão em consonância com os mostrados nas Figuras 5.14 e 5.15.

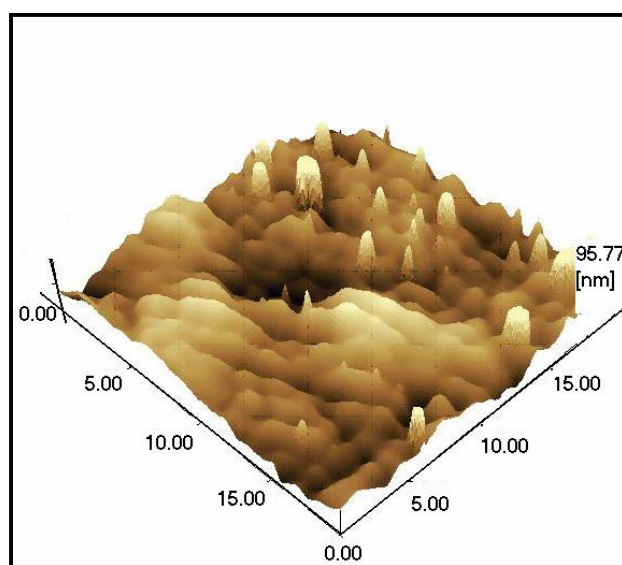


Figura 5.18 – Imagem de AFM do filme binário após aquecimento a 100 °C por 15 minutos.

A Figura 5.18 representa o filme binário $\text{SiO}_2\text{-CaO}$ tratado termicamente a 100 °C durante 15 minutos. O resultado é um filme denso e compacto sem indicativo da presença de trincas ou poros, acompanhando harmonicamente o substrato. Nota-se o surgimento de algumas protuberâncias que emergem a partir da superfície do filme, similares a stalagmites ou

pirâmides. A aparência, em formato acicular, dessas protuberâncias é característica de filme formado a partir de alcóxidos de silício (TEOS) de acordo com a literatura (VALLAT-SAUVAIN, 2000; HEIDE, 2003; FULONG, 2004; CARVALHO, 2005; BABONAS, 2006; AOKI 2006).

Quando o tratamento térmico para a secagem do filme binário teve sua temperatura elevada para 200 °C, mantendo-se sua duração (15 minutos), verificou-se uma mudança radical na aparência da superfície do filme, conforme Figura 5.19.

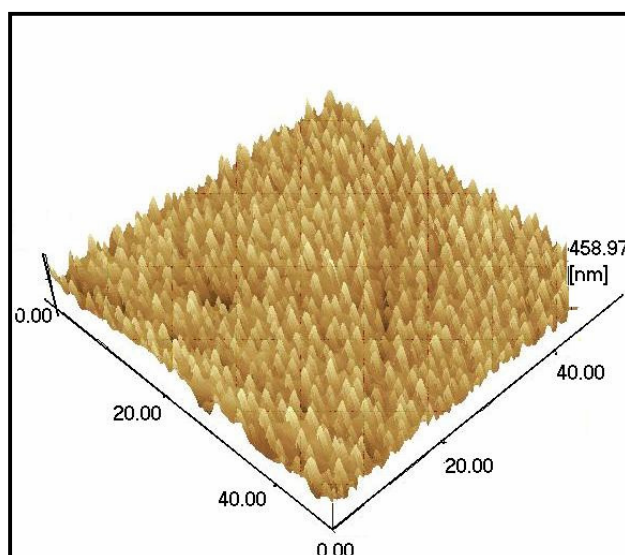


Figura 5.19– Imagem de AFM do filme binário após aquecimento a 200 °C por 15 minutos.

Nesse momento, as protuberâncias cobriram completamente a superfície analisada do filme e eram relativamente grandes em uma escala de 50 nanômetros de área escaneada. Mais uma vez, ressalta-se a aparência tipo stalagmite das protuberâncias, obtidas após um único revestimento concordando com MESSADEQ (1999) e CARVALHO (2005).

Segundo AOKI¹, a aparência das protuberâncias está coerente com o fato do filme ser formado de sais inorgânicos que crescem com hábito cristalino acicular, ficando clara a presença dos cristais.

A Figura 5.20 mostra a situação em que o tratamento térmico sofreu nova alteração. Agora, a temperatura foi matida em 200 °C mas, sua duração foi ampliada para 30 minutos (em vez dos 15 minutos da Figura 5.19).

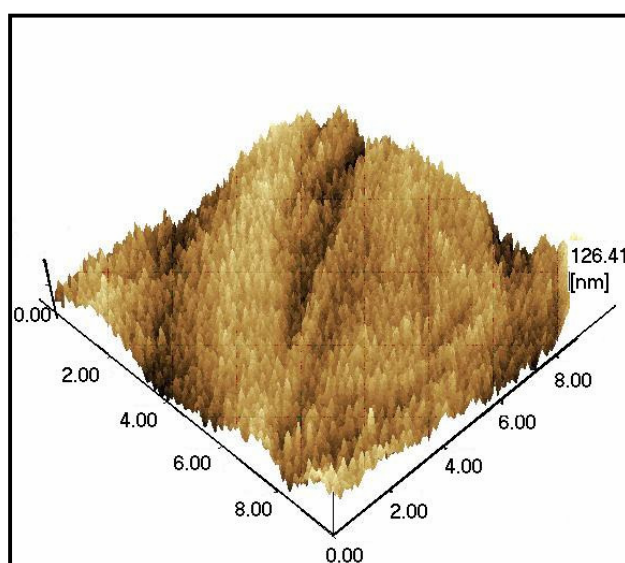


Figura 5.20 Imagem de AFM do filme binário após aquecimento a 200 °C por 30 minutos.

A topografia do filme binário após um aumento na duração do tratamento térmico para 30 minutos a princípio, foi semelhante àquela mostrada na Figura 5.19 no tocante à quantidade e aparência das protuberâncias. Observa-se entretanto, que o aumento na duração do tratamento térmico provocou uma redução bastante acentuada no tamanho das protuberâncias.

¹ Aoki, I.V. (Escola Politécnica da Universidade de São Paulo). Informação pessoal, 2006.

Finalmente, quando a temperatura do tratamento térmico foi alterada para 400 °C mantendo-se seu tempo em 30 minutos, verificou-se nova alteração na superfície do filme binário. Nessa variante, a superfície analisada apresentou-se totalmente isenta da presença das protuberâncias, conforme a Figura 5.21, devido ao processo de densificação.

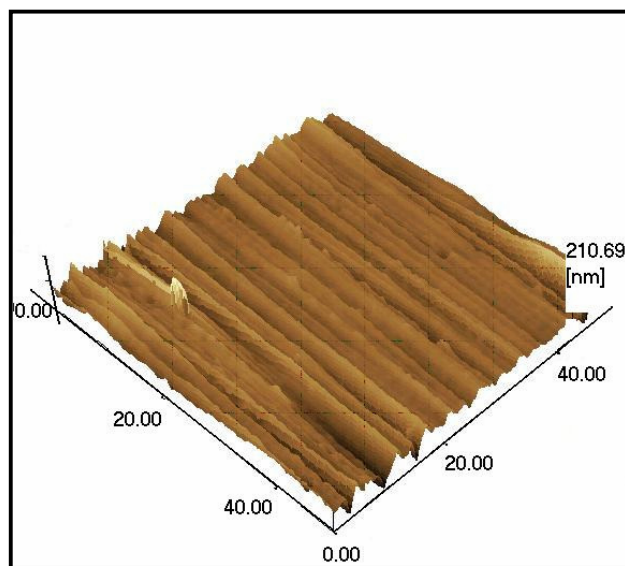


Figura 5.21 – Imagem de AFM do filme binário após aquecimento a 400 °C por 30 minutos.

HALL (2003) mostra que a área superficial de um revestimento pode ser modificada através da criação de poros usando aditivos semelhantes ao PEG (polietilenoglicol). Uma outra opção para alterar a área superficial de um revestimento é a formação de protuberâncias e, nesse caso, com o uso de dispositivos que são pressionados contra a superfície revestida formando as protuberâncias (MINAMI, 2002; SHINMO, 2002). Os resultados mostrados nas Figuras 5.18 até 5.21 mostram a originalidade desse trabalho uma vez que foi possível controlar a quantidade e o tamanho das protuberâncias que, por sua vez, alteram a área superficial do recobrimento, sem a utilização de reagentes específicos e dispositivos mecânicos mas, simplesmente variando a temperatura e a duração da etapa de densificação do filme binário.

A Figura 5.21, por apresentar uma topografia isenta de protuberâncias, permite visualizar de maneira mais nítida a integridade do filme binário: o revestimento acompanha uniformemente a superfície do substrato sugerindo ausência de poros, trincas ou descolamentos na área analisada. A ausência de trincas é justificada pela presença de grupos orgânicos no filme tornando-o mais flexível. Outro aspecto relevante a ressaltar através da Figura 5.21 é o indicativo da pequena espessura do filme binário uma vez que é possível perceber com nitidez a presença do substrato abaixo do filme, representado por suas ranhuras. Na grande maioria dos casos, revestimentos finos propiciam uma melhor proteção contra a corrosão, segundo GUGLIELMI (1997). Assim, considerando a baixa espessura do filme binário e sua integridade existe um indicativo de que ele pode possuir condições de funcionar como barreira contra a corrosão, no caso de ser empregado na área médica.

A Tabela 5.2 resume as alterações na área superficial em função da temperatura e do tempo de densificação do filme binário.

Tabela 5.2 – Quantidade de protuberâncias no filme binário em função do tempo e temperatura.

Tempo (min.)	Temperatura (°C)	Quantidade de protuberâncias	Área escaneada (nm)
15	100	Poucas	0 – 20
15	200	Muitas e grandes	0 – 50
30	200	Muitas e pequenas	0 – 10
30	400	Nenhuma	0 – 50

Os dados mostrados na Tabela 5.2 demonstram claramente, por exemplo, que ao se empregar uma temperatura de secagem para o compósito na faixa de 100 °C a 200 °C por um tempo de aproximadamente de 15 minutos é possível variar a estrutura e, assim, projetar a área superficial do filme de modo a apresentar desde uma superfície com poucas

protuberâncias (100 °C) até uma com protuberâncias maiores e em maior quantidade (200 °C). Por outro lado, quando é utilizado um tratamento térmico a 200 °C, porém, durante aproximadamente 30 minutos, as protuberâncias presentes na superfície já apresentam um tamanho reduzido. Quando o compósito é seco a 400 °C durante trinta minutos, observa-se uma ausência completa das protuberâncias na sua superfície. Ressalta-se mais uma vez, que essas situações ocorrem em uma temperatura relativamente baixa (100 °C a 400 °C) e em um tempo curto de secagem (15 minutos até 1 hora) (FEDERMAN, 2006 a).

A projeção da área superficial de um filme permite o controle da interação do compósito com o ambiente onde ele será inserido. A possibilidade de projetar a área superficial do filme vai interferir de modo bastante importante na bioatividade do compósito. Quanto maior a área superficial do filme que reveste o aço inox ABNT 409, mais sítios para a precipitação de hidroxiapatita existirão e, como consequência, a ligação e a resistência do implante/tecido será maior (FEDERMAN, 2005).

5.2.2.2 Filme ternário

As Figuras 5.22, 5.23, 5.24 e 5.25 atestam a qualidade da topografia do filme ternário (TEOS:Ca:P = 1:0,08:0,07) ou seja, ele envolve uniformemente a superfície do substrato, sem indícios da presença de poros, trincas ou descolamentos na área analisada. Esses resultados estão em conformidade com aqueles evidenciados na fotografia de MEV, na Figura 5.15.

As topografias da superfície do filme ternário seco a 200 °C durante 15 minutos e 1 hora são mostradas nas Figura 5.22 e 5.23.

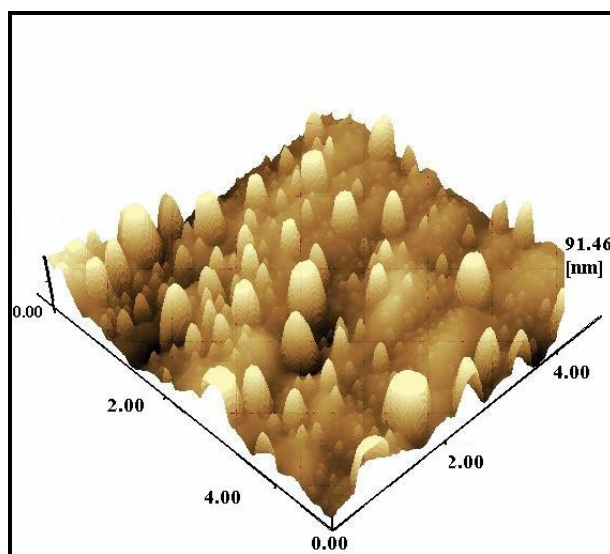


Figura 5.22 – Imagem de AFM do filme ternário após aquecimento a 200 °C por 15 minutos.

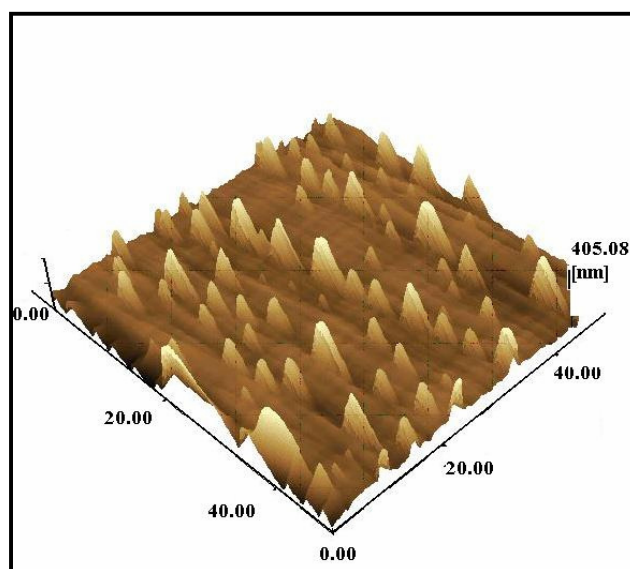


Figura 5.23 – Imagem de AFM do filme ternário após aquecimento a 200 °C por 1 hora.

Além da integridade do filme, observa-se também o surgimento de protuberâncias que crescem a partir da superfície do filme similares a stalagmites. Da mesma forma como

ocorreu com o filme binário, as protuberâncias no filme ternário também permitem aumentar a área superficial.

Ao se alterar as condições de densificação do filme, passando a temperatura de densificação para 400 °C e variando a duração do tratamento térmico entre 15 minutos e 1 hora, a aparência da superfície do filme sofreu modificações. As topografias dessas situações estão mostradas nas Figuras 5.24 e 5.25.

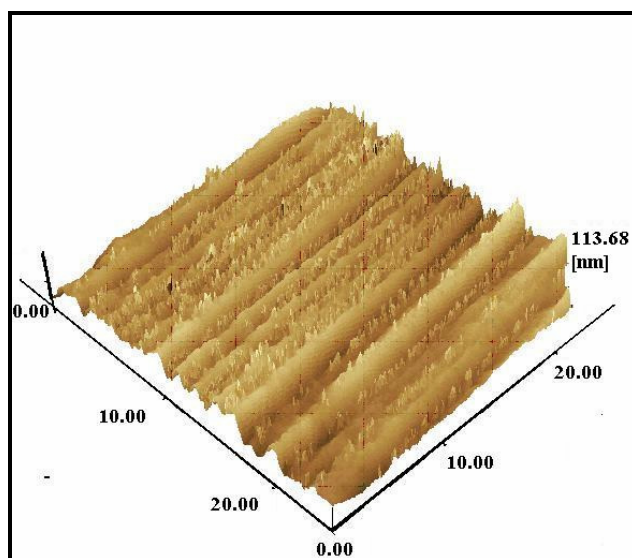


Figura 5.24 – Imagem de AFM do filme ternário após aquecimento a 400 °C por 15 minutos.

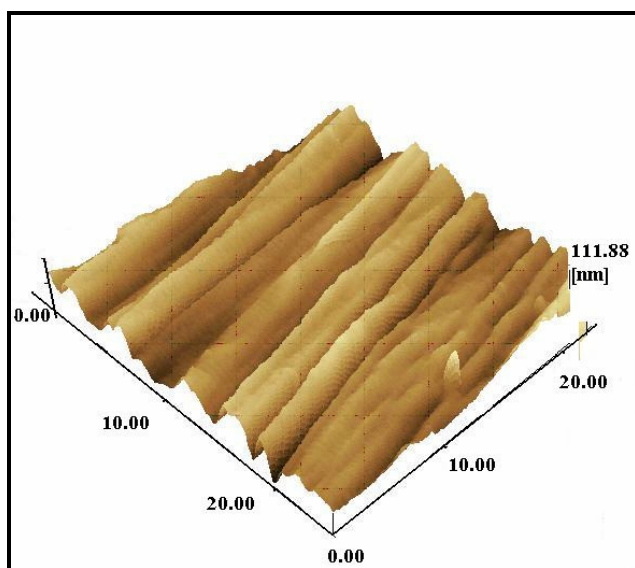


Figura 5.25 – Imagem de AFM do filme ternário após aquecimento a 400 °C por 1 hora.

As imagens mostradas nessas figuras demonstram que a partir do momento em que se submete o filme a um tratamento de densificação a 400 °C (15 minutos) as protuberâncias começam a desaparecer da superfície chegando a ponto de desaparecerem completamente quando o tratamento térmico se estende até 1 hora. Principalmente nas imagens das Figuras 5.23, 5.24 e 5.25 permanece o indicativo de uma reduzida espessura do filme ternário, uma vez que se percebe a presença do substrato representado por suas ranhuras, coerente com as Figuras 5.5 a 5.8 e Tabela 5.1.

A Tabela 5.3 resume as alterações na área superficial do filme ternário em função da temperatura e da duração do tratamento térmico adotado.

Tabela 5.3 – Quantidade de protuberâncias no filme ternário em função do tempo e temperatura do tratamento térmico.

Tempo (min.)	Temperatura (°C)	Quantidade de protuberâncias	Área escaneada (nm)
15	200	Muitas e pequenas	0– 5
60	200	Muitas e grandes	0– 50
15	400	Muitas e pequenas	0– 25
60	400	Nenhuma	0– 25

Os dados apresentados na Tabela 5.3 deixam claro duas situações na superfície do filme ternário: (a) mantendo o tempo de tratamento térmico em 15 minutos e variando a temperatura entre 200 °C e 400 °C é possível observar que são obtidas muitas e pequenas protuberâncias; (b) aumentando a duração do tratamento térmico para 60 minutos e com a temperatura variando entre 200 °C e 400 °C, são obtidas situações onde existem muitas e grandes protuberâncias até sua completa ausência.

Uma das principais vantagens, ou benefícios, de se projetar a área superficial do filme sol-gel (binário ou ternário) é de, no mínimo, permitir um controle do grau de interação do compósito com o exterior. Uma menor interação ocorre quando o filme sol-gel apenas acompanha a superfície do substrato. Uma maior área superficial, promovida pela obtenção das protuberâncias, conduz a uma maior reatividade. Uma elevada área superficial é extremamente benéfica em aplicações médicas à medida que acelera as reações e promove o crescimento do tecido vivo.

É importante observar que já é conhecida a utilização de aditivos específicos (por exemplo, o PEG) para a formação de bolhas, poros e/ou moldes com a finalidade de alterar a área superficial de um revestimento (TSUTOMU, 2005). Por isso, a originalidade desse trabalho em relação ao que já é conhecido é que, a alteração da área superficial do revestimento foi possível através da formação, crescimento e ausência das protuberâncias

na superfície do filme ternário manipulando apenas variáveis simples como temperatura e duração do tratamento térmico (FEDERMAN, 2005; FEDERMAN, 2007).

5.2.3 Análise Térmica

5.2.3.1 Gel binário

A Figura 5.26 representa a curva de TG do gel binário $\text{SiO}_2\text{-CaO}$ onde foi inicialmente observado que a perda de massa varia em função da temperatura, permitindo visualizar distintamente cinco regiões nessa curva.

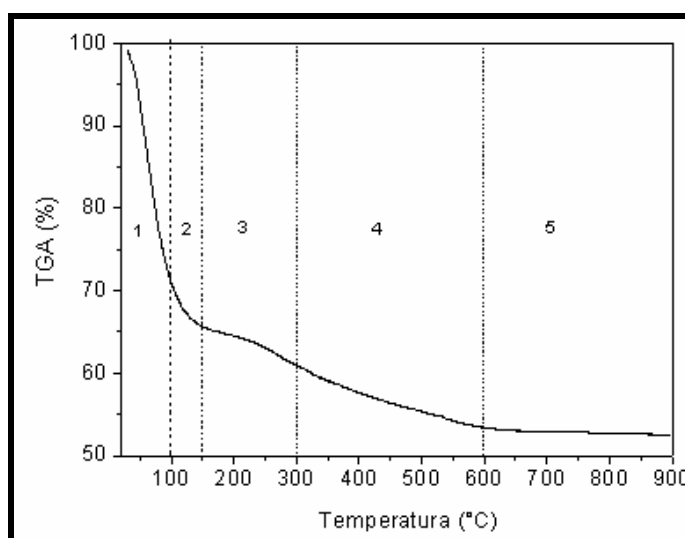


Figura 5.26 – Curva de TG do gel binário $\text{SiO}_2\text{-CaO}$.

A primeira região que se alonga até perto de 100 °C é caracterizada por uma intensa perda de massa correspondente à cerca de 29%. Na segunda região do gráfico, que cobre a faixa de 100 °C a 150 °C observa-se uma redução de aproximadamente 8% na perda de massa. Ressalta-se que após a temperatura de 150 °C, a perda de massa começa a apresentar uma redução mais suave em comparação com a região anterior. A terceira região compreendida

entre 150 °C até 300 °C é responsável por uma perda de massa da ordem de 7%. É possível verificar, na quarta região do gráfico representada pela faixa de 300 °C a 600 °C, uma perda de massa gradativa equivalente à cerca de 12%. Na última região, que se inicia a partir de 600 °C, não se observou alteração significativa de perda de massa. Entre o início do aquecimento até 900 °C ocorreu uma perda de massa total de aproximadamente de 56%.

As transformações físico-químicas relativas ao gel binário, observadas a partir do ensaio de DTA estão mostradas na Figura 5.27.

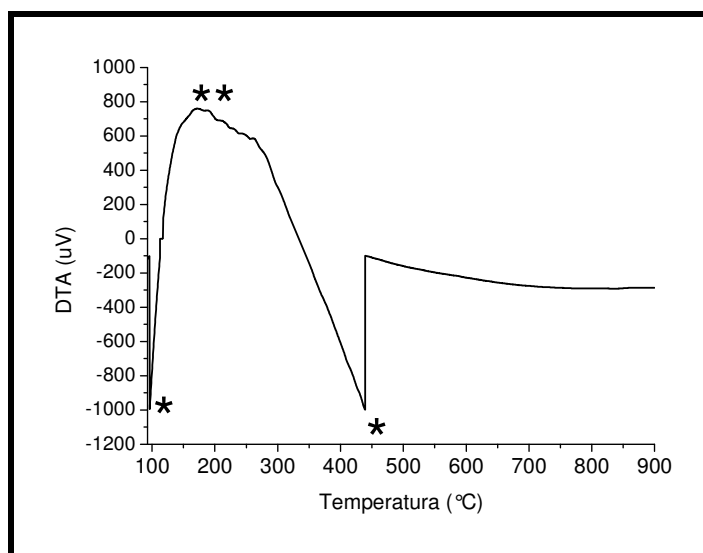


Figura 5.27 – Curva de DTA do filme binário SiO₂-CaO.

Observa-se um primeiro pico endotérmico próximo a 100 °C atribuído à perda de água adsorvida na superfície dos microporos do gel e à ligação da sílica tetraédrica Si-OH, ou seja, líquido retido nos poros do gel. Entre 150 °C e 300 °C observa-se um pico exotérmico possivelmente devido à eliminação de material orgânico (ou seja, do grupo alcóxido) ainda presente na estrutura como resultado da hidrólise. Entre 400 °C e 450 °C nota-se um segundo pico endotérmico que pode estar associado à perda de nitrato utilizado na síntese do sol binário, concordando com a ausência das protuberâncias na Figura 5.21. A partir de

450°C observa-se uma ampla região endotérmica atribuída à liberação de água gerada pela desidratação e condensação dos silanóis (KLEIN, 1988; LAUDISIO, 2001; SARAVANAPAVAN, 2003; RAMANAN, 2004).

5.2.3.2 Gel ternário

A curva de TG do gel ternário $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ é representada na Figura 5.28.

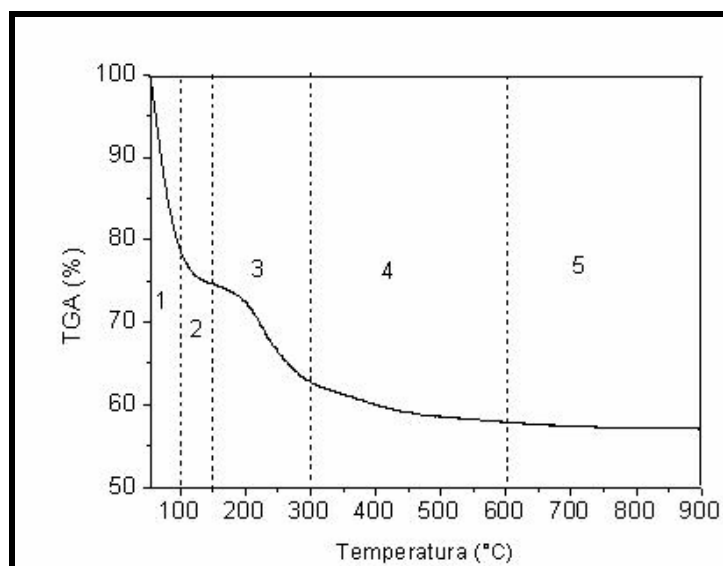


Figura 5.28 – Curva de TG do gel ternário $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$.

Observa-se mais uma vez, que a perda de massa varia em função da temperatura, permitindo o reconhecimento de cinco regiões na curva. A primeira região que se prolonga até próximo de 100 °C é caracterizada por uma intensa redução na perda de massa equivalente a cerca de 28%. Na segunda região do gráfico que vai de 100 °C a 150 °C, observa-se que a perda de massa sofre uma redução correspondente à cerca de 5%. É interessante ressaltar que a partir de 150 °C, a perda de massa começa a diminuir gradativamente de forma mais branda em relação à primeira região do gráfico. A terceira região compreendida entre 150 °C até 300 °C é caracterizada por uma perda de massa não tão intensa quanto na primeira região, equivalente a aproximadamente 16%. Na quarta

região do gráfico compreendida pela faixa 300 °C a 600 °C, é possível observar uma leve perda de massa correspondente à cerca de 8%. Finalmente, a partir de 600 °C não se observa qualquer perda de massa significativa. Desde o início do aquecimento até 900 °C é possível constatar uma perda de massa total equivalente à cerca de 57% no gel ternário.

A natureza e as faixas de temperatura das reações que ocorrem durante o aquecimento do gel ternário são mostradas na curva de DTA da FIG. 5.29.

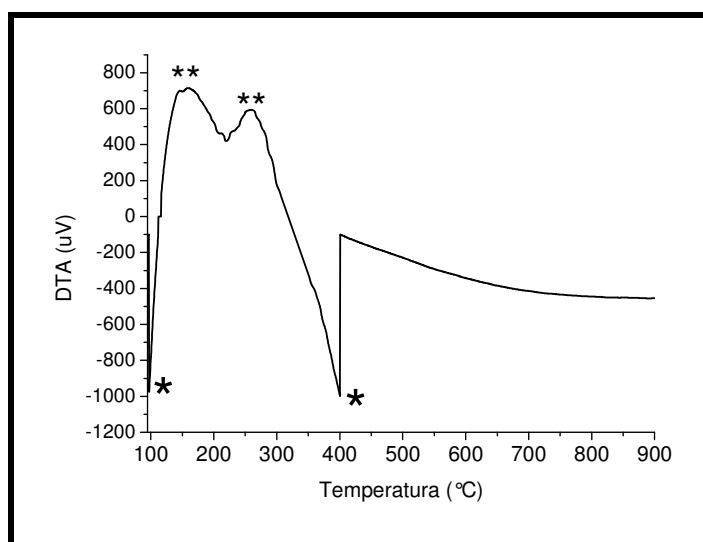


Figura 5.29 - Curva de DTA do gel ternário $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$.

Como visto para o gel binário, verifica-se novamente a presença dos picos endotérmicos em torno de 100 °C e 400 °C atribuídos, respectivamente, à perda de líquido retido nos poros do gel e ao consumo de nitrato utilizado na síntese do gel, esse último, concordando com a ausência das protuberâncias na Figura 5.25. Na faixa de 150 °C a 350 °C observa-se a presença de dois picos exotérmicos, que provavelmente, podem estar associados à queima de compostos orgânicos e do TEP (precursor do fósforo usado na síntese). A aproximadamente 450 °C percebe-se uma gradativa perda de calor provavelmente relacionada à liberação de água gerada pela desidratação e condensação dos silanóis

(KLEIN, 1988; LAUDISIO, 2001; SARAVANAPAVAN, 2003; RAMANAN, 2004; KWON, 2006) .

Uma observação dos gráficos mostrados nas Figuras 5.27 e 5.29, referentes às curvas de DTA dos géis (binário e ternário), ressalta uma diferença básica entre os dois géis. No caso do gel binário, observa-se um pico exotérmico localizado na região de 150 °C a 350 °C, atribuído à queima de material orgânico proveniente, principalmente do TEOS (precursor de silício). O DTA do gel ternário, por sua vez, mostra dois picos exotérmicos na mesma região, sendo o primeiro (100 °C – 200 °C), provavelmente devido à queima de material orgânico provenientes do TEOS e o segundo (200 °C – 300 °C) que pode ser atribuído ao TEP (precursor do fósforo).

É interessante observar que a perda da massa demonstrada nas Figuras 5.26 e 5.28, referentes à TG, está coerente com a redução na espessura dos filmes binário e ternário mostrada nas Figuras 5.5 a 5.13. Nas Figuras 5.26 e 5.28 ficou demonstrado que a partir do início da secagem dos compósitos o gel começava a perder massa até 600 °C, chegando a uma perda de massa da ordem de 56% (binário) e 57% (ternário) indicando que o filme durante a secagem, vai perdendo massa e, conseqüentemente, reduzindo sua espessura.

5.2.4 Espectroscopia na Região do Infravermelho

O FTIR é uma técnica bastante empregada para analisar superfície rica em sílica em vidros silicatos. No presente trabalho, ela foi utilizada para determinar as ligações químicas dos grupos funcionais presentes na superfície dos filmes sol-gel binário e ternário e investigar os grupos funcionais formadores das protuberâncias mostradas nas Figuras 5.18 até 5.20 (filme binário) e 5.22 até 5.24 (filme ternário).

5.2.4.1 Filme binário

A Figura 5.30 apresenta o espectro de FTIR característico do compósito aço inox ABNT 409 / filme binário sol-gel, seco a 200 °C durante 15 minutos.

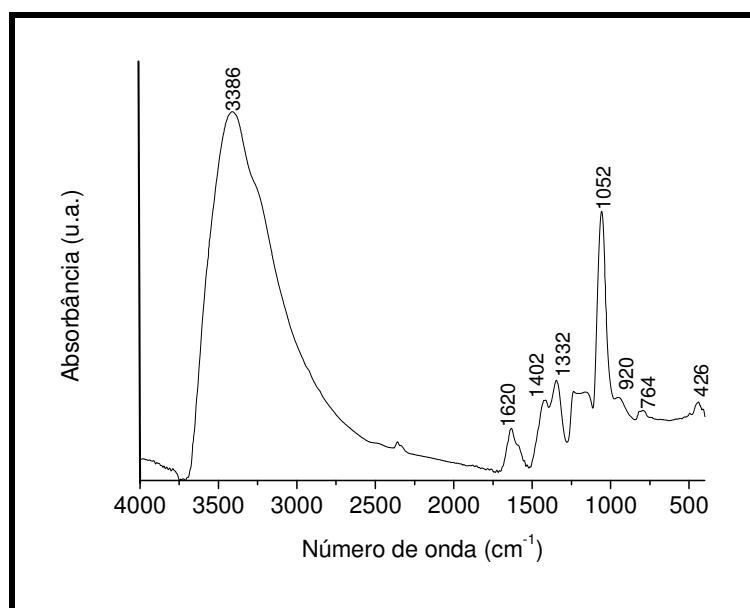


Figura 5.30 – Espectro de FTIR de amostra de aço inox ABNT 409 revestida com filme binário seco a 200 °C durante 15 minutos.

A banda centrada em torno de 3386 cm^{-1} é complexa de analisar, pois é atribuída tanto à vibração de grupos silanol quanto à presença de vibrações de estiramento originárias da água molecular adsorvida na superfície do filme, além de envolver uma variedade de ligações do hidrogênio (INNOCENZI, 2003; BORUN, 2003; FIDALGO, 2005; VIITALA, 2005). Uma outra banda relacionada à água molecular é visualizada em torno de 1620 cm^{-1} (SARAVANAPAVAN, 2003; JUNG, 2004).

A banda de absorção em torno de 1402 cm^{-1} e 1332 cm^{-1} possui várias interpretações na literatura. Diversos autores (IRISH, 1967; LAUDISIO, 2001; HAN, 2002; CHOUILLET,

2004; PETROSYAN, 2006) atribuem essa faixa de absorção ao grupo nitrato. HAN (2002) considera essa banda como sendo uma sobreposição dos picos ν_4 (NO_3^-) e ν_1 (NO_3^-). PETROSYAN (2006), por sua vez, associa essa mesma banda de absorção à vibração assimétrica de estiramento (ν_3) do íon nitrato. Entretanto, outros autores (BAYRAKTAR, 1999; LI, 2003; PÉREZ-ALONSO, 2004; TAKAHASHI, 2005; CHEN, 2005) relacionam a mesma banda à vibração de estiramento do grupo do carbonato. No decorrer desse trabalho esse assunto será mais detalhado. Enquanto não se define, se nitrato ou carbonato (seção 5.2.5), será adotado apenas o termo “nitrato” quando se referir à banda em torno de 1402 cm^{-1} e 1332 cm^{-1} .

A presença de sílica no filme está caracterizada por diferentes modos de vibração. A região entre 1200 cm^{-1} e 400 cm^{-1} caracteriza-se pela combinação de vários modos de vibração da rede de sílica (HAN, 1999). A banda em torno de 1200 cm^{-1} – 1128 cm^{-1} está relacionada a uma superposição de bandas de vários picos devidos a grupos orgânicos residuais (Si-O-C) (PRIMEAU, 1997; GONZÁLEZ-HERNANDEZ, 2000; NOCUN, 2005). Por exemplo, o ombro em torno de 1128 cm^{-1} está associado a grupos alcóxidos não hidrolisados; a banda em 1052 cm^{-1} é associada ao modo de vibração de estiramento assimétrico de Si-O-Si (PEREIRA, 1999; JAIN, 2005); o ombro a 920 cm^{-1} está relacionado ao modo de vibração de estiramento de SiOH/SiOR, onde R, no caso é etanol (PRIMEAU, 1997; VIITALA, 2005); a banda em torno de 764 cm^{-1} , é atribuída à vibração de estiramento simétrica de Si-O-Si (PEREIRA, 1999; JAIN, 2005) e finalmente, a banda em 426 cm^{-1} , corresponde à vibração de deformação angular simétrica de Si-O-Si (QUE, 2000).

O pequeno pico próximo de 2360 cm^{-1} está associado à presença de CO_2 da atmosfera ambiente (FELICIO-FERNANDES, 2000; LENZA, 2001).

O caráter higroscópico do filme SiO_2 -CaO seco a $200\text{ }^\circ\text{C}$ é avaliado através da presença da banda em torno de 1600 cm^{-1} , correspondente à vibração da água molecular e a ampla banda centrada em 3386 cm^{-1} , relacionada à vibração de estiramento de grupos hidroxila. A etapa de densificação do filme a $200\text{ }^\circ\text{C}$ não foi suficiente para eliminar a água presente

na sua superfície, haja vista a intensidade da banda em torno de 3386 cm^{-1} no gráfico da Figura 5.30.

A presença de cálcio na rede de sílica pode ser constatada através da Figura 5.31. A banda de absorção do cálcio localizada abaixo de 400 cm^{-1} , conforme a literatura (GADSDEN ARIC, 1975; SILVA, 2001), é mostrada nessa Figura 5.31. GADSDEN ARIC (1975) ressalta que os picos 390 cm^{-1} , 340 cm^{-1} , $\sim 310\text{ cm}^{-1}$ se referem a $\gamma\text{-Ca}_2\text{SiO}_4$, e os picos em torno de 330 cm^{-1} e 230 cm^{-1} são atribuídos ao CaCO_3 .

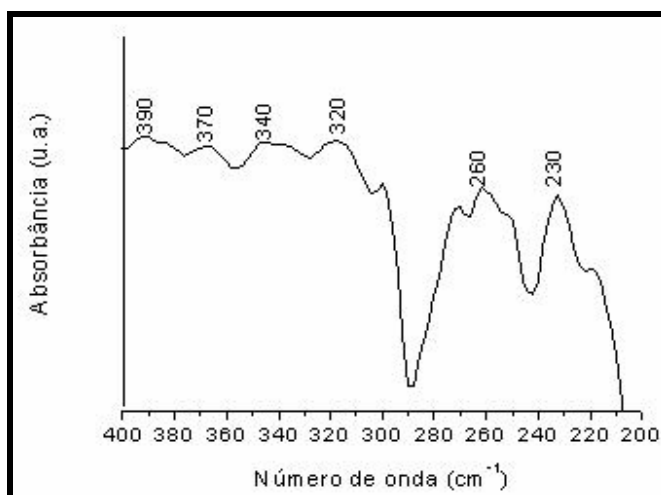


Figura 5.31 - Espectro de FTIR de amostra de aço inox ABNT 409 revestida com filme binário seco a $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos, enfatizando os picos do cálcio.

O espectro de infravermelho do filme que revestiu o aço inox e que foi submetido a tratamento térmico à $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 1 hora está ilustrado na Figura 5.32.

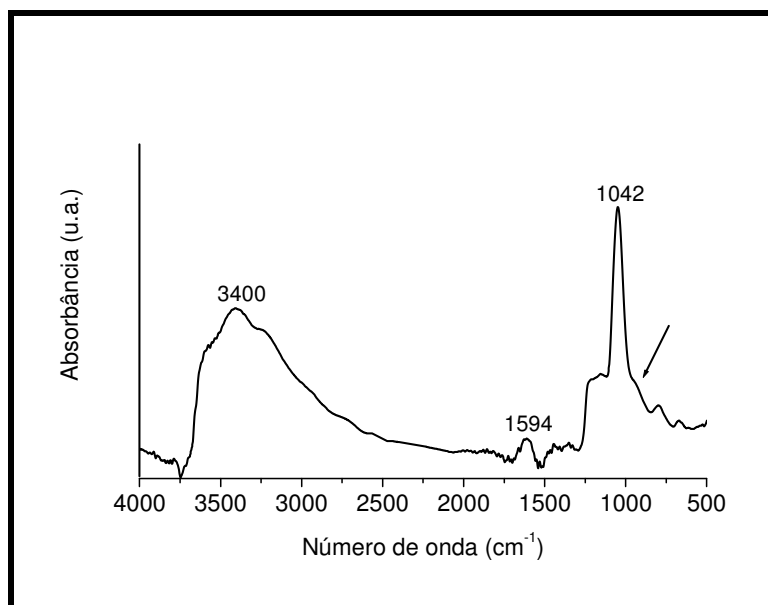


Figura 5.32 – Espectro do FTIR do filme binário seco a 400 °C por 1 hora revestindo o aço inox ABNT 409.

Após aquecimento de 400 °C por uma hora é possível verificar que ainda existe água no filme. Entretanto, sua quantidade diminuiu uma vez que sua intensidade em relação ao pico centrado em 1042 cm^{-1} ficou reduzida em relação ao gráfico mostrado na Figura 5.30. Essa redução na quantidade de água no filme está coerente com a redução da intensidade do ombro em torno de 920 cm^{-1} (vibração de estiramento de Si-OH ou grupos Si-O) mostrando que a maior parte dos silanóis foi consumida na desidratação e condensação a 400 °C. Contudo, ainda existe água molecular presente no filme o que é comprovado pela presença do pico em torno de 1594 cm^{-1} (COSTA, 2004; OJAMÄE, 2006).

Desde que o tratamento térmico leva a desidratação do filme através da condensação dos grupos hidroxilas presentes na superfície, a relativa redução na intensidade da ampla banda centrada próximo de 3400 cm^{-1} (em relação a 3386 cm^{-1} na Figura 5.30) sugere uma redução na quantidade de grupos hidroxilas presente no filme sol-gel.

Conforme mostrado na Figura 5.30 o filme binário seco a 200 °C apresenta uma grande quantidade de grupos hidroxila e água molecular. Com o aumento da temperatura, Figura 5.32, essa quantidade é reduzida chegando a ponto da eliminação do pico em torno de 920 cm^{-1} quando o filme é seco a 400 °C.

Ainda é possível perceber a presença de nitrato ($1430 \text{ cm}^{-1} - 1300 \text{ cm}^{-1}$) na superfície do filme tratado a 400 °C. A Figura 5.33 mostra o espectro de infravermelho do filme binário seco a 400 °C por 1 hora, enfatizando as bandas de absorção do cálcio na região abaixo de 400 cm^{-1} .

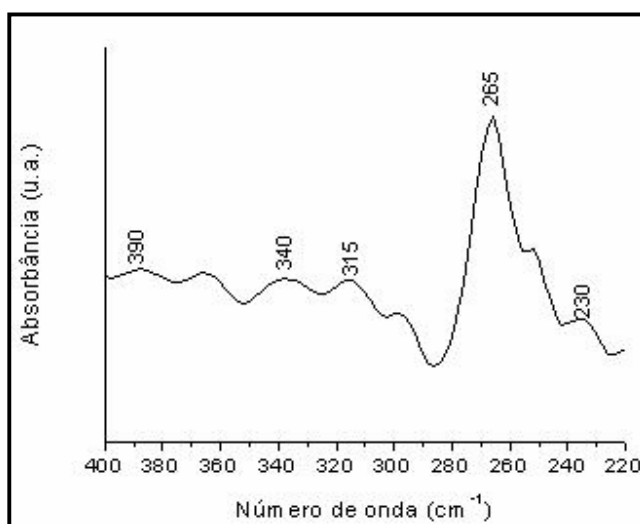


Figura 5.33 - Espectro de FTIR de amostra de aço inox ABNT 409 com filme binário seco a 400 °C por 1 hora, enfatizando os picos de cálcio.

A influência provocada pela entrada do elemento cálcio na rede de sílica foi avaliada em função da tendência de deslocamento experimentado pelo pico em torno de 1050 cm^{-1} (Si-O-Si), utilizando a técnica de refletância especular com ângulo variável (VASR). Assim, o ângulo de incidência de 75° do VASR avaliou a superfície mais externa em contato com a atmosfera, o ângulo de 45°, a região intermediária e, finalmente, o ângulo de 25° analisou a região mais interna do filme, próxima ao substrato.

Foram preparadas várias soluções (sóis) onde apenas a concentração de cálcio foi alterada em relação à quantidade de sílica, mantendo constante tanto a relação TEOS: álcool: H₂O: ácido = 1 : 4 : 4 : 0,005, quanto as condições processuais (tempo e etapas de processamento, temperatura, umidade do ar, pH da solução, etc). A Tabela 5.4 mostra a tendência dos deslocamentos da ligação Si-O-Si em função da variação da concentração de cálcio no filme binário. É importante ressaltar nessa tabela que a concentração igual a 0,08 se refere à razão molar de cálcio considerada como padrão nesse trabalho.

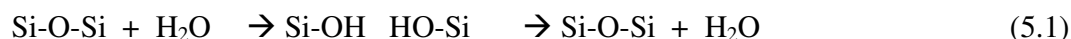
Tabela 5.4 - Influência da variação da concentração de cálcio no filme binário em função da tendência de deslocamento do pico Si-O-Si (~1050 cm⁻¹).

Concentração TEOS: Ca	200 °C 15 minutos (cm ⁻¹)			200 °C 1 hora (cm ⁻¹)			400 °C 15 minutos (cm ⁻¹)			400 °C 1 hora (cm ⁻¹)		
	75°	45°	25°	75°	45°	25°	75°	45°	25°	75°	45°	25°
0,03	1054	1056	1056	1096	1050	1046	1044	1046	1046	1046	1038	1036
0,05	1054	1042	1046	1034	1040	1040	1018	1028	1035	1054	1036	1036
0,08	1052	1046	1046	1052	1050	1050	1036	1028	1028	1052	1036	1034
0,2	1052	1048	1046	1048	1042	1046	1080	1022	1028	1030	1028	1026

O tratamento térmico a que o compósito (aço + filme binário) foi submetido após a etapa de revestimento provoca a decomposição do nitrato de cálcio e, conseqüentemente, força o íon cálcio a penetrar na rede de sílica. Os resultados obtidos demonstraram que independente da temperatura e duração do tratamento térmico, na medida em que a razão molar de cálcio aumentou na rede de sílica houve uma leve tendência de deslocamento do pico próximo de 1050 cm⁻¹ para região de menor energia nas três camadas analisadas (75°, 45° e 25°). A única exceção foi para o filme seco a 400 °C por 15 minutos. Nesse caso houve, contrariamente, uma tendência de deslocamento para região de maior intensidade de energia, apenas na camada mais externa. É importante ressaltar, entretanto, que a tendência de deslocamento do pico próximo a 1050 cm⁻¹ é pequena devido ao fato das concentrações utilizadas para o precursor de cálcio serem muito próximas. Todavia, de uma forma geral,

os resultados obtidos estão em consonância com a literatura (LAUDISIO, 2001; KUKOVECZ; 2001; SERRA, 2003; SZUMERA 2005).

Um outro fato a considerar na Tabela 5.4 é que na medida em que a temperatura do tratamento térmico aumenta (200 °C - 15 minutos para 400 °C - 15 minutos; 200 °C – 1 h para 400 °C – 1 h) para todas as concentrações de TEOS: Ca, o pico devido à ligação Si-O-Si ($\sim 1050 \text{ cm}^{-1}$) apresenta a tendência de deslocar-se para região de menor número de onda, independente do ângulo de incidência (75°, 45° ou 25°) utilizado. Essa tendência de deslocamento sugere um crescimento da densificação do filme binário a partir da camada mais externa (75°) em direção a mais interna (25°), ou seja, o filme é mais denso próximo ao substrato. A densificação do filme é induzida pelo rearranjo da estrutura da rede através da quebra da ligação Si-O com moléculas de água, conforme reação abaixo:



A Figura 5.34 representa a razão da intensidade de absorvância dos grupos Si-O-Si/Si-OH ($\sim 1050/938 \text{ cm}^{-1}$) em função do ângulo de incidência, ou seja, em função das espessuras analisadas do filme. Está evidente que essa razão aumenta à medida que se dirige para o interior do filme partindo da camada mais externa (75°), indicando um aumento na quantidade relativa de ligações de estiramento assimétricas Si-O-Si procedentes do consumo das ligações Si-OH, na camada mais próxima do substrato, sugerindo uma maior densidade do filme binário na região próxima ao substrato.

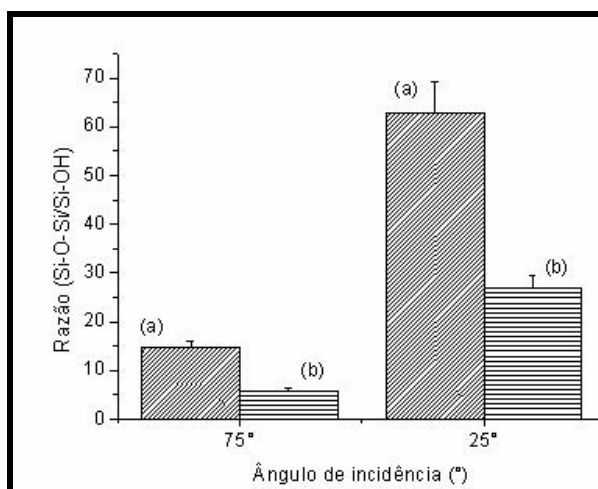


Figura 5.34 – Evolução da razão de pico Si-O-Si/Si-OH do filme binário densificado a 200 °C sendo, (a) durante 15 minutos e (b) durante 1 hora.

A ligação Si-O-Si é responsável pela proteção contra a corrosão (caráter hidrofóbico). Assim, quanto maior for sua concentração na superfície do filme em contato com o aço inox, mais hidrofóbica será a superfície e, conseqüentemente, mais difícil será a difusão da água em direção ao substrato.

É conveniente ressaltar que essa razão de intensidade de pico não foi efetuada para o filme seco a 400 °C uma vez que a partir dessa temperatura, a intensidade do pico em torno de 938 cm^{-1} , referente à ligação Si-OH, estava bastante reduzida no gráfico de FTIR, conforme a Figura 5.32, devido ao consumo do grupo Si-OH para a formação de Si-O-Si, dificultando os cálculos para a avaliação da razão Si-O-Si/Si-OH.

A Figura 5.35 compara os filmes unário (constituído apenas de SiO_2) e binário (SiO_2 -CaO) obtidos através dos mesmos procedimentos (e mesmas razões TEOS:H₂O:álcool:ácido = 1:4:4:0,005), secos a 400 °C por 1 hora. Nota-se uma tendência de deslocamento do pico relativo à ligação Si-O-Si para uma região de menor número de onda no filme binário (1038 cm^{-1}) – em relação ao filme unário (1050 cm^{-1}), sugerindo a entrada de cálcio na rede de sílica. Um outro fato a ser observado no espectro deste filme binário é a ausência do

pico relativo ao nitrato, sugerindo seu consumo completo. A ausência deste pico ($\sim 1450\text{ cm}^{-1} - 1300\text{ cm}^{-1}$) a $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ está em consonância com a superfície do filme mostrada na Figura 5.21, sugerindo que aquelas protuberâncias evidenciadas por AFM são constituídas de nitrato de cálcio (proveniente do nitrato de cálcio tetra hidratado empregado na síntese do filme) uma vez que, sempre que a temperatura era inferior a $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ existiam tanto as protuberâncias (Figuras 5.18 a 5.20) quanto a presença do pico relativo ao grupo dos nitratos (Figura 5.30).

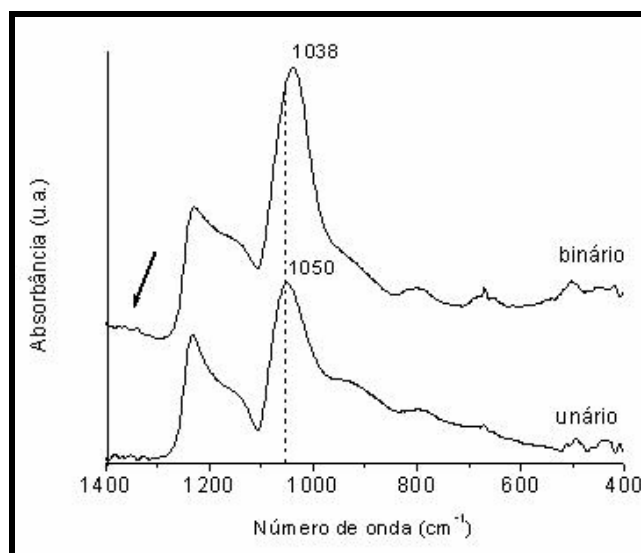


Figura 5.35 – FTIR dos filmes, unário e binário, secos a $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 hora, enfatizando a tendência de deslocamento do pico Si-O-Si.

O consumo de nitrato de cálcio no filme binário após sua densificação a $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ e a $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ também foi avaliada através da razão de picos característicos (nitrato/sílica) do nitrato ($\sim 1400\text{ cm}^{-1}$) em relação à ligação Si-O-Si ($\sim 1050\text{ cm}^{-1}$), mostrado na Figura 5.36, após secagem a $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 minutos (a), $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 hora (b) e $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 minutos (c) ao longo da espessura do filme.

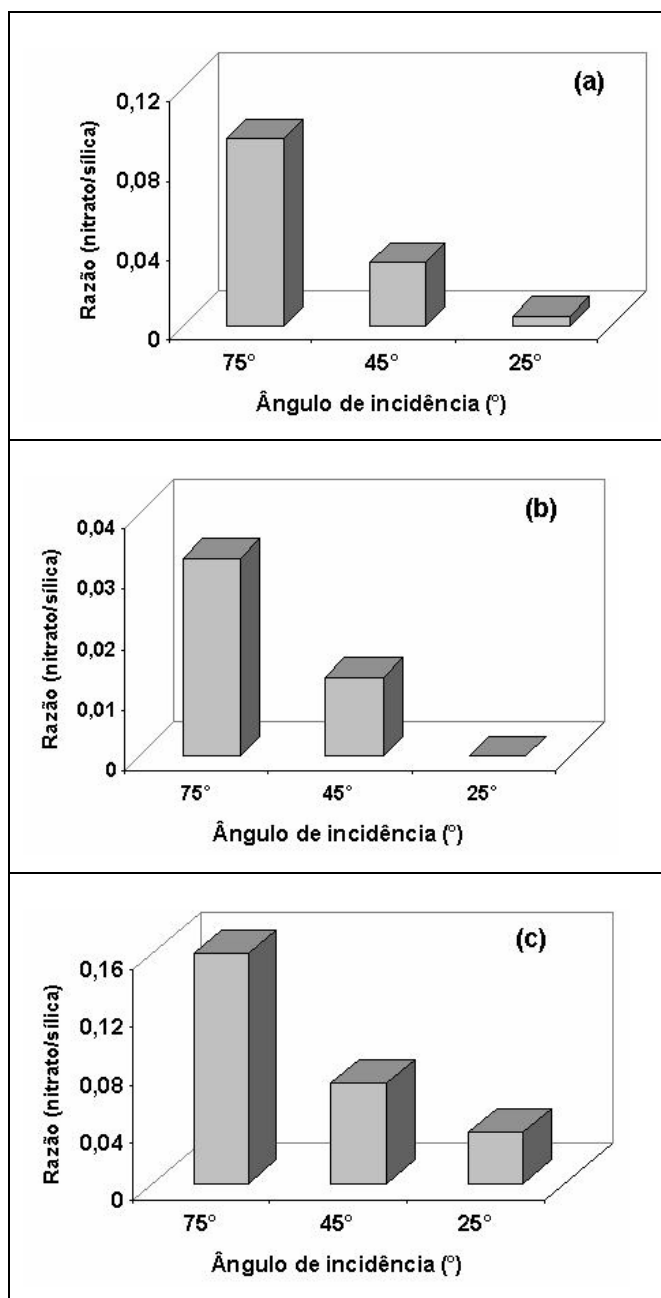


Figura 5.36 – Evolução do consumo de nitrato no filme binário após secagem a (a) 200°C por 15 minutos; (b) 200°C por 1 hora; (c) 400°C por 15 minutos em relação à espessura do filme.

Os dados mostrados na Figura 5.36 deixam claro que em qualquer condição de tratamento térmico existe pouca quantidade de nitrato (de cálcio) na camada mais interna do filme próxima ao substrato, que tende a aumentar em direção à superfície externa sugerindo que o nitrato é consumido a partir da superfície mais interna em direção à mais externa. Ou seja, percebe-se a existência de uma maior concentração de grupos de nitrato nas camadas mais externas (75°) do filme em relação àsquelas mais próximas do substrato (25°). Esses dados demonstram que é possível controlar a quantidade de nitrato de cálcio presente na estrutura do filme, a partir de parâmetros de fácil acesso como temperatura e tempo.

A variação da composição química do filme binário seco a 200 °C durante uma hora foi estimada pela observação do perfil do tempo de “*sputtering*” obtido por GDOES, conforme Figura 5.37. A Tabela 5.5 apresenta os valores estimados. É necessário que se esclareça que os elementos Si e Ca representam o filme binário e o Fe, o substrato.

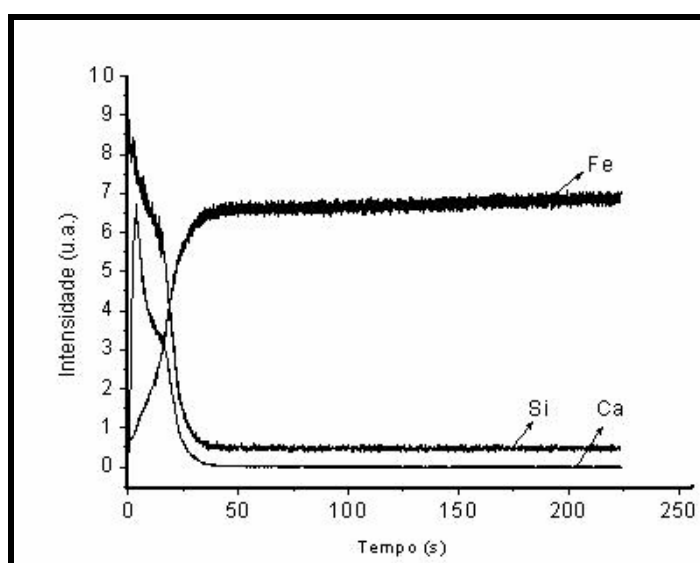


Figura 5. 37 – Curva de GDOES do filme binário seco a 200 °C por 1 hora.

Tabela 5.5 – Consumo de silício, cálcio e ferro em função do tempo de “*sputtering*”.

Tempo (s)	[Si] (u.a.)	[Ca] (u.a.)	[Fe] (u.a.)
0	8,89	0,35	0,00
10	6,57	3,84	1,93
20	4,03	3,16	4,42
30	0,74	0,26	6,18
40	0,53	0,02	6,40
50	0,50	0,02	6,54
60	0,50	0,02	6,54

Está evidente na Figura 5.37 que na medida em que o bombardeamento com íons argônio atinge a área analisada (tempo de “*sputtering*”), vai ocorrendo uma redução na concentração dos elementos Si e Ca (localizados na camada mais externa do filme) até atingir um valor próximo de zero na matriz do aço inoxidável. Para o caso do ferro, observa-se o procedimento inverso, ou seja, na medida em que bombardeamento vai ocorrendo, sua concentração vai aumentando até a estabilização. É possível observar também que o filme representado pelos elementos Si e Ca está quimicamente ligado ao substrato, representado pelo elemento Fe. Uma outra informação relevante a partir da Tabela 5.5 é a confirmação do alto teor de silício em relação ao cálcio, na composição do filme binário sol-gel.

A partir de aproximadamente 40 segundos de “*sputtering*”, de acordo com a Tabela 5.5, as quantidades dos elementos Si, Ca e Fe atingem a estabilização, sugerindo que o filme foi consumido restando apenas o substrato.

Um outro fato a ressaltar é que tanto os dados expostos na Figura 5.37 quanto os da Tabela 5.5 estão em concordância com os ilustrados na Figura 5.36, quando demonstram que a quantidade de cálcio (nitrato de cálcio) na superfície externa é muito maior do que próximo ao substrato. Essa constatação sugere que o cálcio (nitrato de cálcio) é consumido a partir da superfície mais interna em direção à mais externa. Dito de outra forma, existe uma

quantidade muito menor de cálcio próximo ao substrato do que na camada mais externa, dando suporte ao entendimento de que com o aquecimento o nitrato de cálcio presente no filme tende a se afastar do substrato em direção à superfície mais externa do filme formando as protuberâncias. Essas protuberâncias ficam retidas no filme sol-gel, que é flexível (devido a presença de material orgânico), e só conseguem ser eliminadas quando a temperatura aumenta o suficiente para romper a barreira da superfície do filme.

A forte adesão do filme sol-gel à superfície metálica é atribuída à ligação Si-O-Fe, provavelmente obtida através da reação entre Si-OH com grupos hidroxila presentes na superfície do aço inoxidável, formando ligações covalentes. A Figura 5.38 mostra a deconvolução, através do software Peakfit, do espectro de infravermelho do filme binário seco a 200 °C durante uma hora, na região de 800 cm^{-1} a 600 cm^{-1} , empregando o acessório de ângulo variável com ângulo de incidência 25°. A banda de estiramento observada em torno de 640 cm^{-1} representativa da ligação Si-O-Fe indica a formação da ligação covalente entre o revestimento e o substrato de aço inox (XU, 2005; OLIVEIRA, 2006).

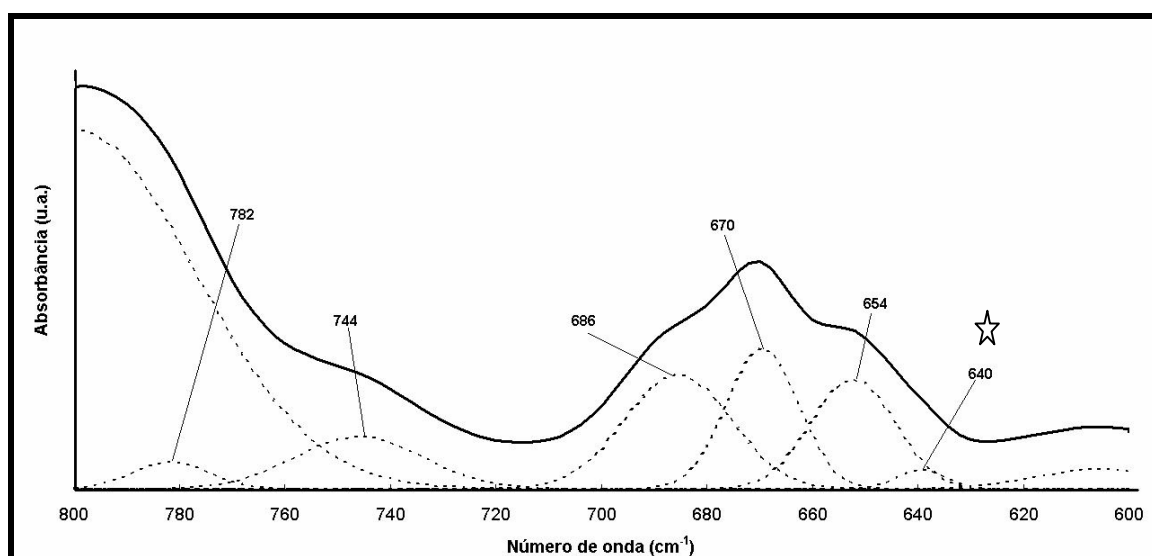


Figura 5.38 – Deconvolução do espectro de FTIR do filme binário seco a 200 °C durante 1 hora, em função do ângulo de incidência de 25°, enfatizando a ligação Si-O-Fe.

5.2.4.2 Filme ternário

Os espectros de infravermelho do filme $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ seco a $200\text{ }^\circ\text{C}$ e a $400\text{ }^\circ\text{C}$ durante 15 minutos são mostrados nas Figuras 5.39 e 5.40. É possível perceber nesses espectros, além dos picos relativos às ligações representativas do silício e do fósforo (em torno de 1200 cm^{-1} e 500 cm^{-1} , comentado mais à frente), a presença do pico relativo ao grupo dos nitratos ($\sim 1400\text{ cm}^{-1} - 1300\text{ cm}^{-1}$) quando o compósito foi seco a $200\text{ }^\circ\text{C}$, porém, sua ausência, quando foi seco a $400\text{ }^\circ\text{C}$. Estes dados estão de acordo com as Figuras 5.22 até 5.25 com respeito à presença das protuberâncias (a $200\text{ }^\circ\text{C}$) bem como sua ausência (a $400\text{ }^\circ\text{C}$) na superfície do filme ternário.

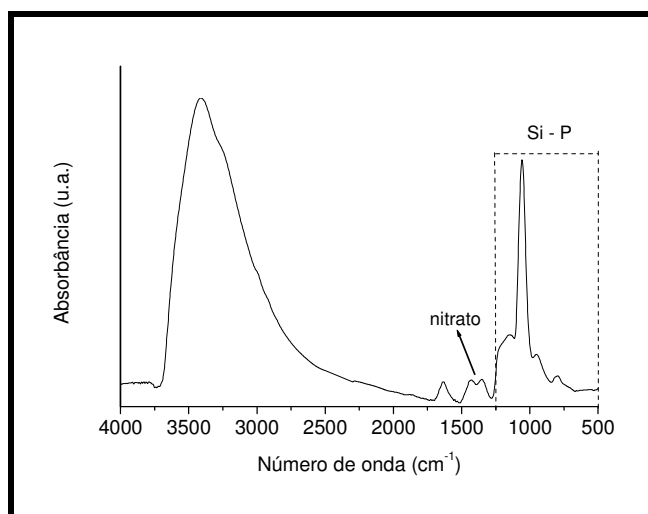


Figura 5.39 – Espectro de FTIR do filme ternário seco a $200\text{ }^\circ\text{C}$ por 15 minutos revestindo o aço inox ABNT 409.

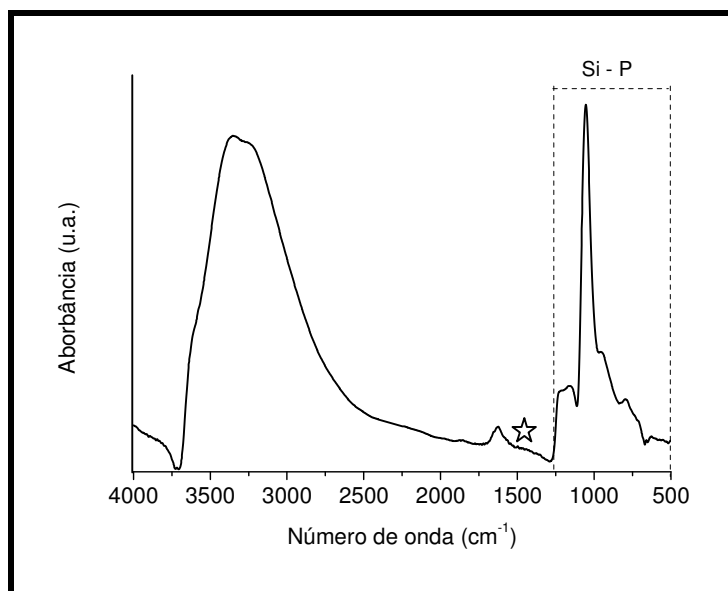


Figura 5.40 – Espectro de FTIR do filme ternário seco a 400 °C por 15 minutos revestindo o aço inox ABNT 409.

A literatura (MASSIOT, 2001; BORUM, 2003; CERRUTI, 2005; SITARZ, 2005) mostra que existe uma similaridade no número de coordenação entre o fosfato e o silicato por apresentarem uma estrutura cristalina parecida baseada em unidades tetraédricas $[\text{SiO}_4]_4^-$ e $[\text{PO}_4]_3^-$, razão pela qual, a região de 1200 cm^{-1} a 400 cm^{-1} é complexa de analisar por existir uma superposição de bandas de absorção devidas tanto ao grupo do fosfato quanto ao do silicato.

Para uma melhor visualização da superposição das bandas de absorção relativas ao silício e ao fósforo foi realizada uma deconvolução, através do programa Peakfit, nos espectros dos filmes ternários secos a 200 °C durante 15 minutos (empregando ângulo de incidência de 75°) e a 400 °C durante 1 hora (com ângulo de incidência de 25°), os quais são mostrados nas Figuras 5.41 e 5.42.

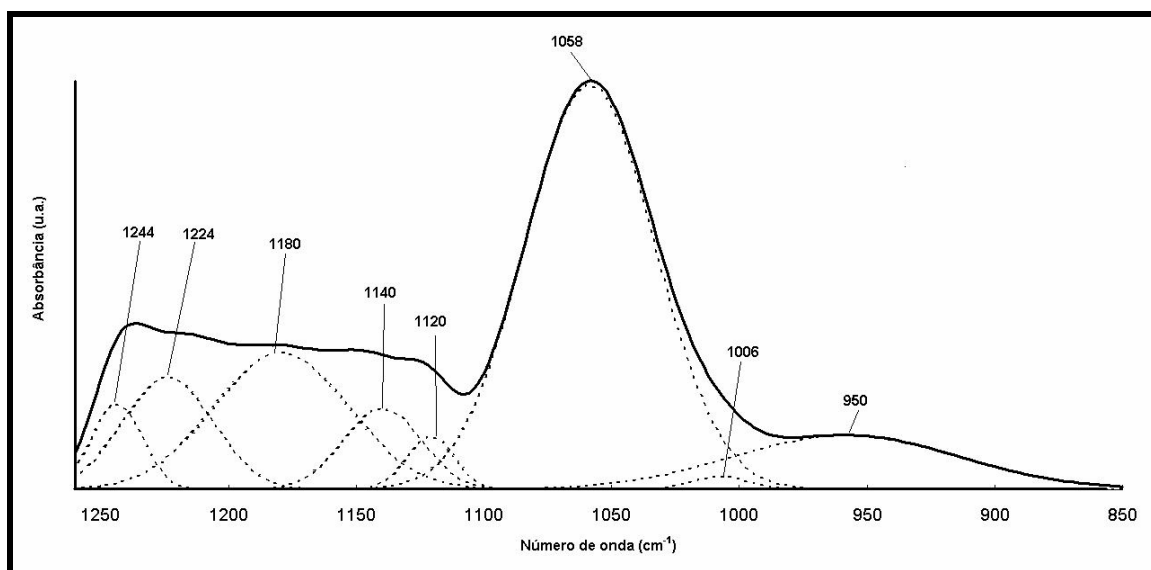


Figura 5.41 – Deconvolução do espectro de FTIR do compósito aço inox/filme ternário seco a 200 °C durante 1 hora, empregando ângulo de incidência de 75°.

Na Figura 5.41 é possível comprovar a presença de inúmeras bandas de absorção existentes na superfície mais externa do filme ternário. Estão evidentes na região entre 1240 cm^{-1} e 900 cm^{-1} várias bandas de absorção que, de acordo com CERRUTI (2005) são devidas aos grupos PO e SiO ligados ou não a outro tetraedro SiO_4 . A presença dos picos em torno de 1180 cm^{-1} e 1006 cm^{-1} relativos à vibração assimétrica estirada, modos TO e LO, respectivamente, das ligações Si-O-P, são evidências da presença de fósforo na rede. O pico centrado em 950 cm^{-1} está relacionado tanto à ligação simétrica de estiramento de Si-O quanto à P-O devido à similaridade das características vibracionais de SiO_4^- e PO_4^{3-} , de acordo com a literatura (MASSIOT, 2001; BORUM, 2003; CERRUTI, 2005).

A deconvolução do espectro de infravermelho da camada mais interna do filme ternário seco a 400 °C durante uma hora, utilizando o ângulo de incidência de 25°, pode ser visto na Figura 5.42 onde os picos característicos das ligações Si-O e P-O estão claramente definidos na região de 1250 cm^{-1} a 850 cm^{-1} .

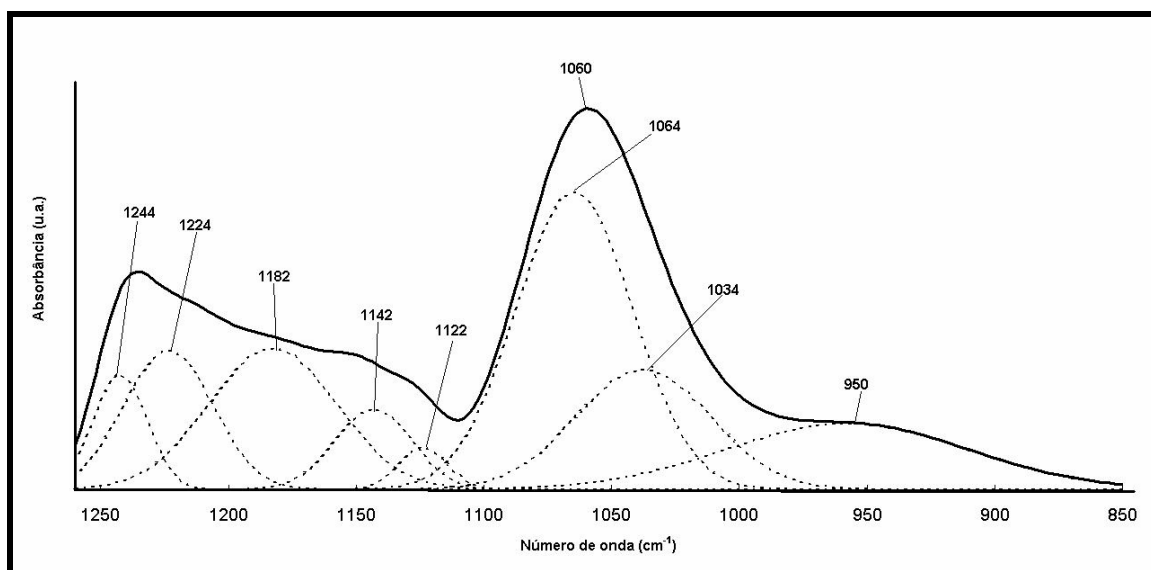


Figura 5.42 – Deconvolução do espectro de FTIR do compósito aço inox/filme ternário seco a 400 °C durante 1 hora, em função do ângulo de incidência de 25°.

A variação da intensidade relativa das bandas devidas ao Si-O-Si e Si-OH, com relação à influência da entrada de P na rede é ilustrada pelo gráfico da Figura 5.43. Nesse gráfico são comparadas as razões de intensidade de pico Si-O-Si/Si-OH ($\sim 1050/940 \text{ cm}^{-1}$) dos filmes binário (a) e ternário (b), secos a 200 °C durante 15 minutos em função da camada mais externa (75°) e da mais interna (25°) dos filmes.

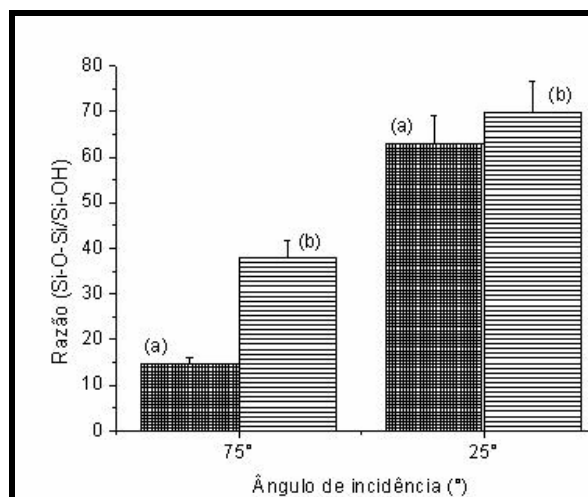


Figura 5.43 - Evolução da razão de intensidade de pico SiOSi/SiOH, dos filmes binário (a) e ternário (b) secos a 200 °C por 15 minutos, em função das camadas mais externas (75°) e mais internas (25°).

Como dito anteriormente, é bastante difícil distinguir a absorção de grupos contendo silício e fósforo na faixa de 1200 cm^{-1} a 900 cm^{-1} . Entretanto, facilmente se observa a partir da comparação da razão de intensidade dos picos em torno de $\sim 1050/\sim 940\text{ cm}^{-1}$, mostrada na Figura 5.43, que essa razão é maior no filme ternário (b) do que no binário (a). Esse crescimento da intensidade da ligação estirada assimétrica ($\sim 1050\text{ cm}^{-1}$) sugere a formação de grupos relativos a PO_4^{3-} .

De forma semelhante ao filme binário (Figura 5.34), o ternário também apresenta uma concentração de ligações Si-O-Si/P-O-P que aumenta a partir de sua superfície mais externa (75°), em contato com o ambiente, em direção à superfície mais próxima do substrato (25°), de acordo com a Figura 5.44, quando aquecido a 200 °C durante quinze minutos ou uma hora.

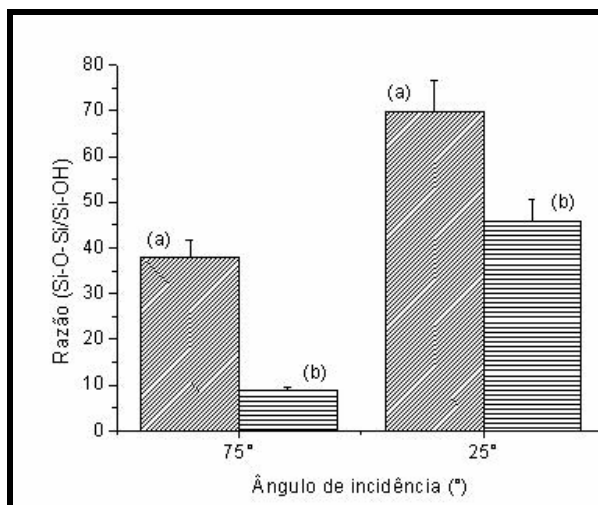


Figura 5.44 – Evolução da razão intensidade de pico de Si-O-Si/Si-OH do filme ternário, seco a 200 °C (a) por 15 minutos e (b) por 1 hora.

Os espectros de FTIR empregando o acessório VASR representativos dos filmes binário (a) e ternário (b), ambos secos a 400 °C durante uma hora considerando a camada próxima ao substrato (25°), são mostrados na Figura 5. 45.

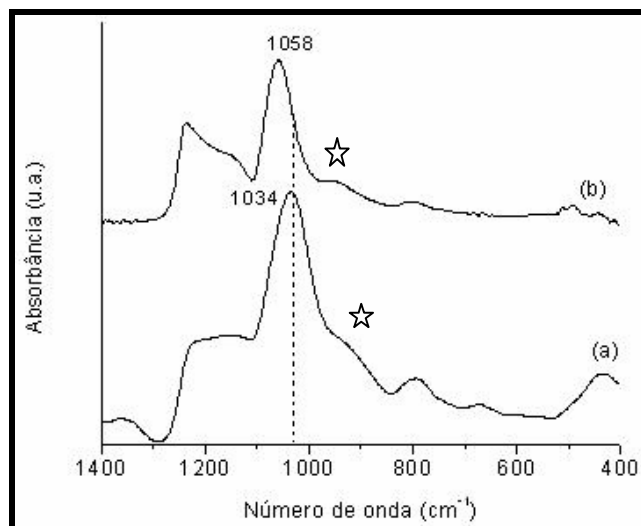


Figura 5.45 – Espectro de FTIR dos filmes binário (a) e ternário (b), secos a 400 °C durante 1 hora, em função da camada próxima ao substrato (25°).

Comparando-se esses espectros é possível perceber que o filme binário (a), quando seco a 400 °C apresenta o ombro relativo ao modo de vibração estirada simétrica (Si-OH) na região próxima de 900 cm^{-1} com uma reduzida intensidade, indicando o consumo dessa ligação. Entretanto, no espectro relativo ao filme ternário (b) verifica-se nitidamente a presença dessa banda de absorção, próxima a 940 cm^{-1} , sugerindo a formação de íons PO_4^{3-} . Assim, para manter a coerência com os dados da Figura 5.34 onde foi considerada a razão Si-O-Si/SiOH ($\sim 1050/938 \text{ cm}^{-1}$), para o filme ternário, não foi realizado o gradiente da intensidade relativa das bandas a 400 °C uma vez que, nesse último, o pico em torno de 940 cm^{-1} provavelmente é devido à vibração de grupamento PO_4^{3-} , e não a Si-OH.

Uma outra maneira de reconhecer a presença do elemento fósforo na rede do filme binário (formando o filme ternário) é através da tendência de deslocamento do pico Si-O-Si ($\sim 1034 \text{ cm}^{-1}$) no filme binário para a região de maior número de onda ($\sim 1058 \text{ cm}^{-1}$) no ternário. Provavelmente essa tendência de deslocamento para uma região de maior intensidade pode ser atribuída ao fato do fósforo, sendo mais eletronegativo (igual a 2,1) que o silício (igual a 1,7), provocar uma desordem estrutural na rede binária, de acordo com AHSAN (2005).

5.2.5 Raman

Considerando a absorção dos grupos nitrato e carbonato no FTIR, GASDEN ARIC (1975) esclarece que o grupo do carbonato apresenta uma forte banda de absorção na região de 1530 cm^{-1} a 1320 cm^{-1} (ν_3), geralmente restrita a 1450 cm^{-1} a 1400 cm^{-1} , uma banda média em torno de 890 cm^{-1} e 800 cm^{-1} (ν_2) e a 760 cm^{-1} -670 cm^{-1} (ν_4). O grupo do nitrato, por sua vez, apresenta uma banda de absorção na região de 1500 cm^{-1} -1300 cm^{-1} para o estiramento assimétrico (ν_3) e duas bandas de vibração angular sendo, uma entre 850 cm^{-1} -800 cm^{-1} (ν_2) e outra, 770 cm^{-1} - 715 cm^{-1} (ν_4). Por isso, como mencionado em 5.2.4.1 a banda em torno de 1400 cm^{-1} – 1300 cm^{-1} no infravermelho (FTIR) é bastante complexa de analisar porque alguns autores a relacionam ao grupo dos carbonatos e outros, ao dos nitratos. O espectro de Raman foi utilizado no sentido de definir, especificamente no

presente trabalho, se a citada banda refere-se ao grupo do nitrato ou do carbonato. Essa definição é importante, porque as protuberâncias formadas na superfície dos filmes podem ser constituídas de nitrato de cálcio ou carbonato de cálcio.

A Figura 5.46 mostra os espectros de Raman relativos ao nitrato de cálcio tetra hidratado, utilizado na síntese dos filmes sol-gel desse trabalho, e ao carbonato de cálcio (KING, 2005).

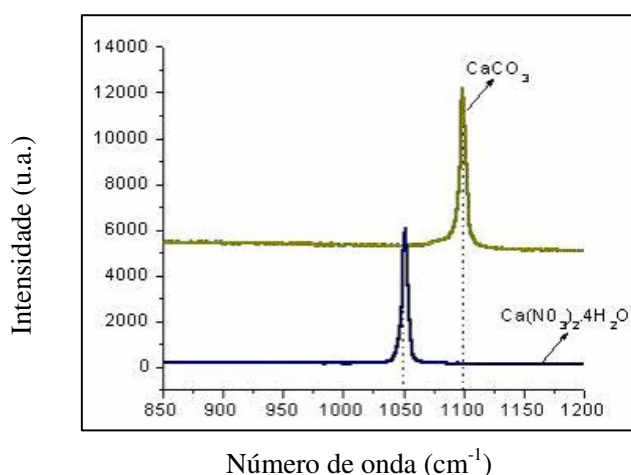


Figura 5.46 – Espectro de Raman de nitrato de cálcio tetra hidratado, utilizado na síntese dos filmes binário e ternário e, carbonato de cálcio.

Vários autores, entre eles RENAUDIN (2000), PEREZ-ALONSO (2004) e CHOUILLET (2004) relacionam o pico em torno de 1050 cm^{-1} como sendo relativo à vibração estirada do nitrato de cálcio tetra hidratado. O pico em torno de 1100 cm^{-1} , por sua vez, é relacionado à vibração ν_1 do carbonato de cálcio por vários autores, entre eles, SIMPSON (1998), MARTINEZ-RAMIREZ (2003) e EDWARDS (2005).

O espectro de Raman do filme binário densificado a 200° C durante 1 hora, é mostrado na Figura 5.47. Está bastante nítido o pico centrado em 1050 cm^{-1} e a ausência de qualquer pico em torno de 1100 cm^{-1} , sugerindo a presença de nitrato de cálcio e não, de carbonato de cálcio na superfície do filme. Esse espectro de Raman está em consonância com as

imagens de AFM mostradas nas Figuras 5.18 a 5.20 e 5.30 e 5.32, ou seja, relaciona a presença das protuberâncias com a presença do pico 1050 cm^{-1} (de Raman), relativo ao nitrato de cálcio.

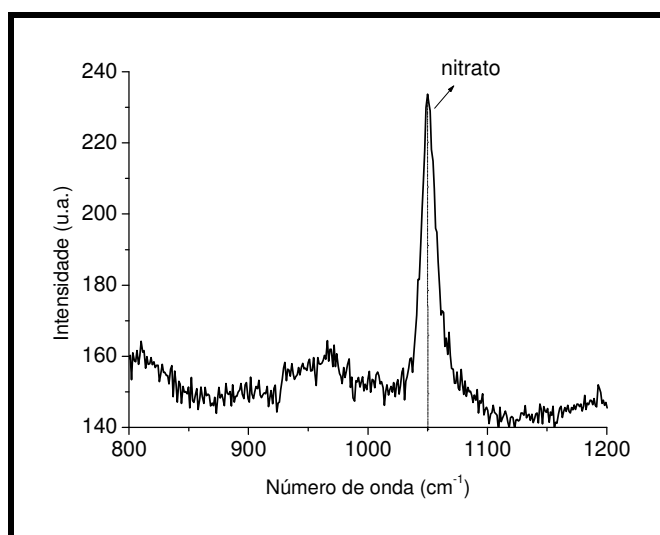


Figura 5.47 – Espectro de Raman do filme binário densificado a 200 °C durante 1 hora.

Por outro lado, uma mesma amostra densificada a 200 °C retornou ao forno, sendo mantida lá por 1 hora a 400 °C . Seu espectro é mostrado na Figura 5.48 onde se verifica a ausência tanto dos picos relativos ao nitrato ($\sim 1050\text{ cm}^{-1}$) quanto do carbonato ($\sim 1100\text{ cm}^{-1}$).

É propícia a comparação do espectro de Raman do filme binário seco a 400 °C durante uma hora, mostrado na Figuras 5.48, com as protuberâncias mostradas na imagem de AFM da Figura 5.21 no sentido de relacionar o pico do nitrato, na técnica de Raman, com a presença das protuberâncias na superfície do filme. Na Figura 5.21 está evidente a ausência das protuberâncias enquanto que, na Figura 5.48 também não se verifica o pico relativo ao nitrato, fortalecendo o entendimento de que as protuberâncias são constituídas de nitrato de cálcio e não, de carbonato de cálcio.

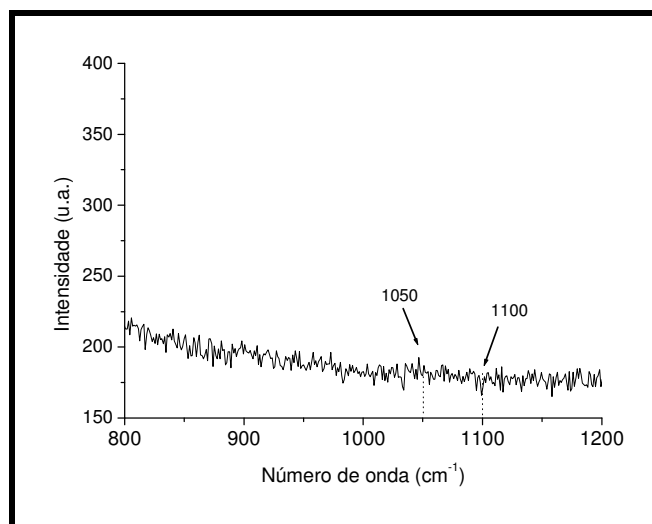


Figura 5.48 - Espectro de Raman do filme binário seco a 400 °C por 1 hora.

O filme ternário tratado a 200 °C durante 1 hora é representado por seu espectro de Raman mostrado na Figura 5.49. No caso do filme ternário, contrariamente ao mostrado na Figura 5.37 para o binário, percebe-se claramente a presença do pico em torno de 1090 cm^{-1} relacionado ao carbonato muito embora, ainda se possa perceber a presença de grupos nitrato em torno de 1050 cm^{-1} , sugerindo que o nitrato está sendo consumido sob a forma de óxido e o cálcio está reagindo com o carbono, presente no solvente utilizado na síntese, formando o carbonato de cálcio.

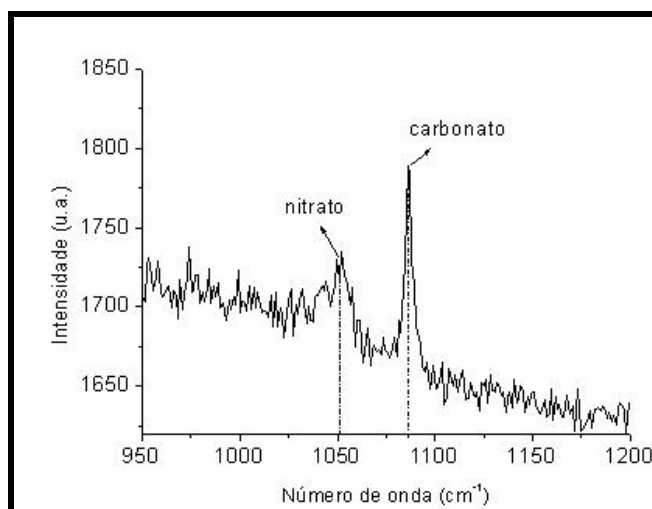


Figura 5.49 – Espectro de Raman do filme sol-gel ternário seco a 200 °C durante 1 hora.

O filme ternário densificado a 400 °C durante 15 minutos tem seu espectro de Raman ilustrado na Figura 5.50.

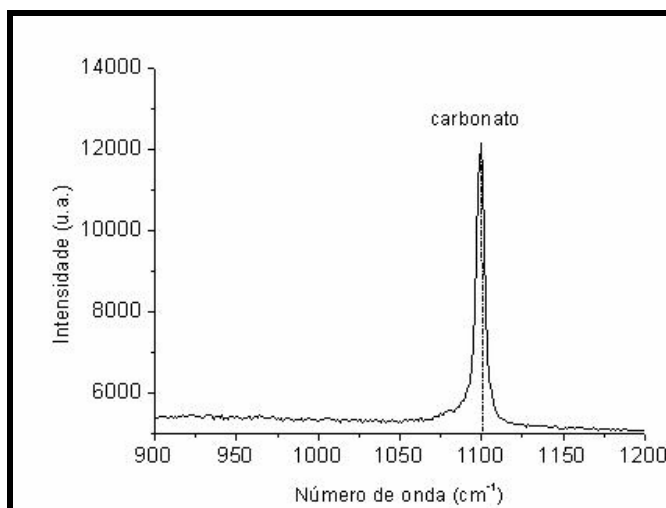


Figura 5.50 – Espectro de Raman do filme ternário seco a 400 °C durante 15 minutos.

Nesse caso observa-se a ausência do pico relativo ao nitrato, mas, a presença do carbonato. Entende-se que com o tratamento térmico a 400 °C deixando o filme mais fino, o nitrato de cálcio não reagido consiga romper a barreira do filme e ser liberado sob a forma de óxido.

O cálcio permanece na rede ligando-se ao carbono (oriundo dos grupos orgânicos na rede) formando o carbonato de cálcio.

Filmes secos a baixas temperaturas apresentam ainda o TEOS (precursor do silício empregado na síntese dos filmes) não completamente hidrolisado e, como consequência, uma grande quantidade de grupo etoxi permanece na rede através da ligação Si-OC₂H₅. Essa ligação funciona como Si-CH₃ conferindo uma grande elasticidade ao filme. O nitrato de cálcio tetrahidratado utilizado na síntese dos filmes binário e ternário, do presente trabalho, possui um ponto de fusão próximo de 45 °C. Assim, quando começa o aquecimento do compósito o nitrato de cálcio não reagido, que está próximo ao substrato, tende a se afastar dele, mas, o filme sol-gel, por causa da sua elasticidade o retém, impedindo que seja liberado provocando consequentemente, o surgimento das protuberâncias.

Catálogos químicos usuais definem o ponto de fusão do carbonato de cálcio como sendo da ordem de 825 °C e o do nitrato de cálcio tetrahidratado, na faixa de 45 °C. Assim, considerando que a temperatura da etapa de densificação do filme é no máximo de 400 °C, ela seria insuficiente para eliminar as protuberâncias se, essas fossem constituídas de carbonato de cálcio. Como as protuberâncias desaparecem quando a temperatura atinge os 400 °C supõe-se que as protuberâncias sejam mesmo constituídas de nitrato de cálcio. Nesse sentido, o espectro mostrado na Figura 5.50 está em consonância com a imagem mostrada na Figura 5.25. Se as protuberâncias fossem constituídas de carbonato de cálcio a superfície mostrada na Figura 5.25 apresentaria as protuberâncias, o que não ocorre. ORTEGA-ZARZOSA (2000) e ALEMANY (2005) deixam claro que o nitrato de cálcio é consumido após 400 °C, sob a forma de óxido de nitrogênio.

5.3 BIOATIVIDADE

5.3.1 SBF

A foto de microscopia eletrônica de varredura e o espectro de EDS do compósito de filme binário seco a 400 °C durante uma hora e exposto durante 3 semanas ao SBF 1,5 são apresentados pela Figura 5.51 (a) e (b). A Figura 5.51 (a) mostra um revestimento com morfologia uniforme, composto de milhares de diminutas partículas esféricas. É possível observar a presença de alguns aglomerados devidos à fusão de algumas partículas.

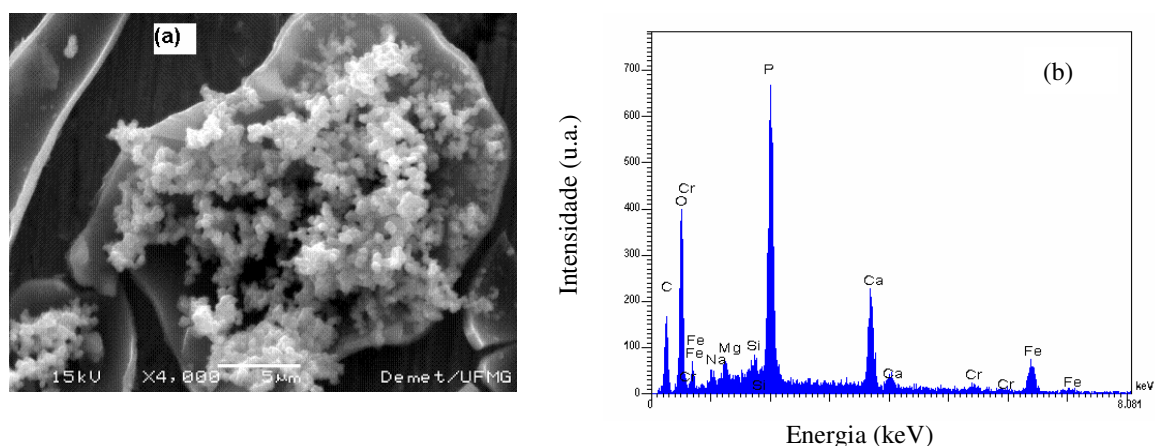


Figura 5.51 – Imagem de (a) MEV e (b) EDS do filme $\text{SiO}_2\text{-CaO}$, seco a 400 °C durante 1 hora, após 3 semanas em SBF 1,5.

É interessante ressaltar a presença de trincas na superfície externa do filme, enquanto que sua parte interna permanece íntegra, concordando com os resultados obtidos por GARCIA (2004) que também observou a presença de trincas ao redor das partículas do vidro bioativo. As amostras foram pesadas (média de 3 vezes cada amostra) em balança eletrônica com precisão de $\pm 0,0001$ g antes e depois da permanência na solução fisiológica durante três semanas para avaliar a perda / ganho de massa. Foi constatada uma perda de massa significativa após o período de incubação, conforme ilustrado na Tabela 5.6 .

Tabela 5.6 – Evolução da massa do recobrimento antes e após a incubação no SBF 1,5 durante três semanas.

Amostra	Massa em (g) antes do SBF 1,5	Massa em (g) após SBF 1,5
1	3,4224	3,4221
2	2,3480	2,3477
3	3,0390	3,0021
4	3,3320	3,3315

Essa perda de massa, bem como a presença das trincas observadas na parte superior do filme, Figura 5.51 (a), é explicada pelo fato de que imediatamente após a colocação da amostra em contato com a solução fisiológica, começam a ocorrer processos de dissolução e precipitação, promovendo a formação de uma camada de fosfato de cálcio na superfície do compósito. Observando-se o espectro de EDS da Figura 5.51(b), além dos picos relativos ao Cl, Na, Mg e K, todos provenientes do SBF, está clara a presença dos picos característicos do P e do Ca, mas, reduzida intensidade do pico relativo ao Si (maior constituinte do filme) após longa exposição ao SBF. Esse fato sugere parcial dissolução do revestimento na área analisada. IZQUIERDO-BARBA (2006) observou em seu trabalho, inclusive, que para longos períodos de imersão em SBF (15 dias) pode acontecer perda quase total do revestimento.

A reduzida intensidade do pico do Si no espectro de EDS, sugerindo a dissolução do revestimento concorda com os dados da Tabela 5.6 que relaciona a perda de massa do revestimento após sua imersão em SBF por 3 semanas. Essa perda de massa em função do tempo de exposição ao SBF sugere que essa solução fisiológica exerce uma grande influência no revestimento do filme bioativo.

Ainda na Figura 5.51 (b) é possível verificar a composição qualitativa do recobrimento no filme binário. De acordo com a imagem de EDS percebe-se a presença de precipitado de fosfato de cálcio com uma razão molar Ca/P (a%) na faixa de 0,5 sugerindo a presença do

precursor da hidroxiapatita, provavelmente o fosfato monocalcico (MCPM / MCPA) (VAN der WAL, 2004; DOROZHKIN, 2007). A baixa razão molar de Ca/P permite a suposição da existência de um excesso de íons PO_4^{3-} e uma quantidade insuficiente de íons Ca^{2+} para promover, a principio, a formação de hidroxiapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$. A obtenção de um precursor da hidroxiapatita (e não da hidroxiapatita) está coerente com a literatura (SAIZ, 2002) uma vez que a precipitação da hidroxiapatita está fortemente atrelada à quantidade de sílica e cálcio presentes no revestimento. Revestimentos que possuem uma elevada quantidade de sílica são mais resistentes à corrosão que se inicia imediatamente após à imersão do compósito na solução de SBF e não formam a apatita.

As imagens de MEV e EDS dos filmes bioativo $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$, após imersão em solução de SBF 1,5 durante três semanas, são exibidas na Figura 5.52. Inicialmente, observa-se que o filme seco a $200\text{ }^\circ\text{C}$, (a), apresenta um pequeno aglomerado com diminutas partículas arredondadas, característica de fosfato de cálcio.

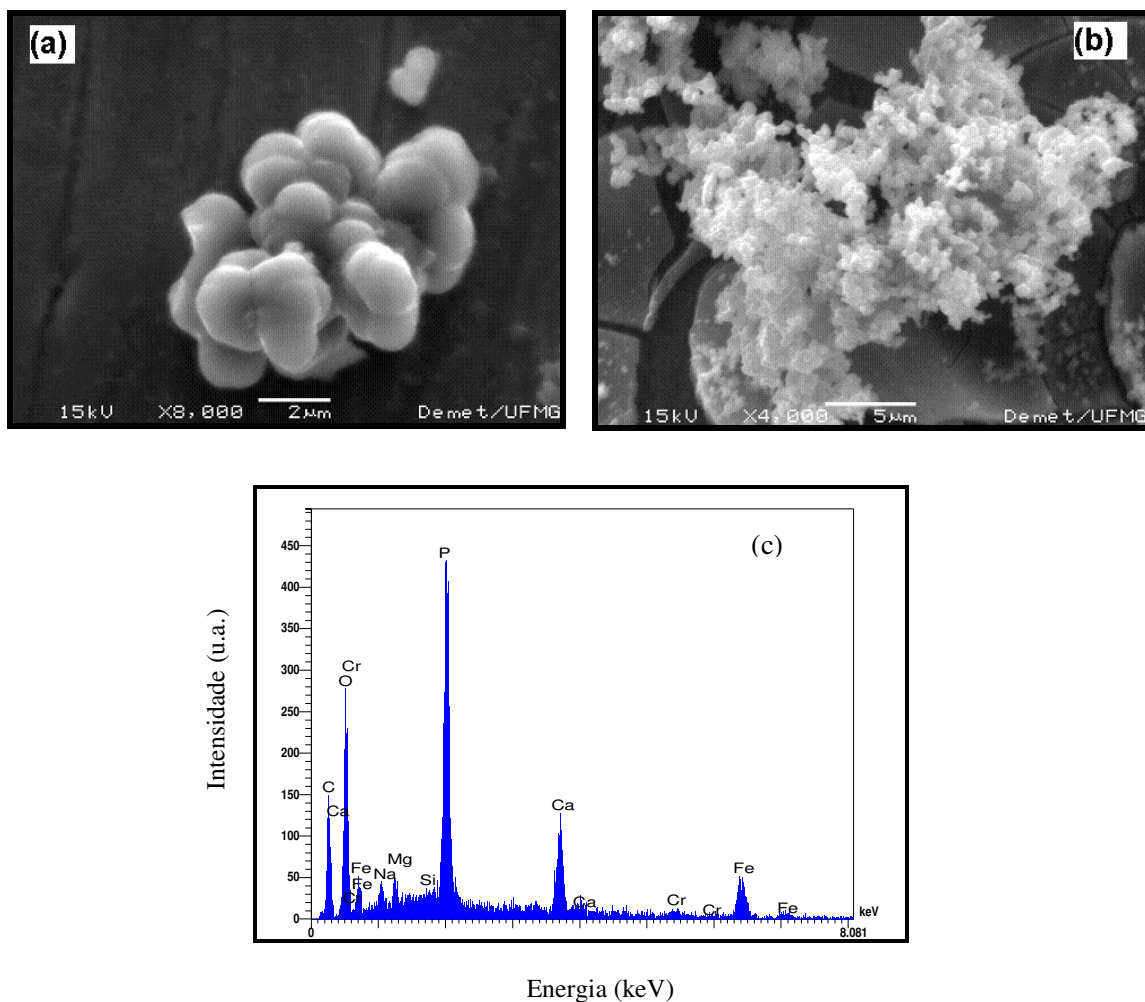


Figura 5.52 – Imagens de MEV e EDS do filme $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$. MEV: sendo: (a) seco a $200\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora; (b) seco a $400\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora. EDS: (c) do filme $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ seco a $400\text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 hora.

Com relação à morfologia do filme seco a $400\text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 hora, Figura 5.52 (b), percebe-se que ela consiste de um aglomerado de diminutas partículas arredondadas, características de fosfato de cálcio. Nesse caso, a razão molar Ca/P (a %) mostrada na Figura 5.52 (c) está na faixa de $0,6 \pm 0,1$ sugerindo a presença do precursor da hidroxiapatita, provavelmente o fosfato monocálcico (MCPM / MCPA) (VAN der WAL, 2004; DOROZHKIN, 2007).

A literatura (SALINAS, 2001; QUEIROZ, 2003; PADILLA, 2005) deixa claro que a presença de fósforo no filme bioativo não é essencial para a precipitação da hidroxiapatita, uma vez que, o fósforo necessário para a sua formação vem da solução fisiológica. A importância do fósforo é no sentido de auxiliar durante o processo de cristalização da hidroxiapatita, aumentando o tamanho de seus cristais. A presença do cálcio, para a precipitação de hidroxiapatita, todavia, é importante (LAUDÍSIO, 2001). Lembrando a fórmula da hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_6]$, quanto mais saturada em cálcio estiver o meio fisiológico (SBF), mais fácil será a precipitação da hidroxiapatita.

Os resultados apresentados nas Figuras 5.51 e 5.52 mostram que apesar das amostras revestidas com filmes bioativo binário e ternário permanecerem mergulhadas em solução 50% mais concentrada de SBF (SBF 1,5) durante 3 semanas, houve apenas a formação de um precursor da hidroxiapatita e não, da própria hidroxiapatita, na superfície dos filmes. Lembrando que os filmes, binário (92% Si e 8% Ca) e ternário (86% Si, 8% Ca e 6% P), aqui caracterizados apresentam um teor de sílica superior a 60%, os resultados apresentados nas Figuras 5.51 e 5.52 concordam com a literatura (HENCH 1993; SAIZ, 2002) que esclarece que composições de filme que possuem teor de SiO_2 superior a 60%, por serem mais densos, não produzem camada de hidroxiapatita cristalina mesmo quando imersas em SBF por período superior a quatro semanas. Nesse caso, forma-se uma camada amorfa de fosfato de cálcio, conforme obtido nas Figuras 5.51 e 5.52. De acordo com o entendimento de SAIZ (2002), um revestimento possuindo pequena quantidade de SiO_2 (menos que 60%) apresenta uma estrutura mais aberta facilitando a troca iônica e, conseqüentemente, tornando mais rápida a corrosão do revestimento para facilitar a precipitação de apatita.

Entretanto, os resultados mostrados nas Figuras 5.51 e 5.52 sugerem que os vidros bioativos binário e ternário apresentam uma tendência de bioatividade, uma vez que houve a formação de um intermediário da hidroxiapatita.

5.3.2 Cultura de Célula

A concentração protéica dos sobrenadantes de cultivo celular após 4 horas de incubação com o MTT, dos revestimentos constituídos dos filmes, binário e ternário secos a 200 °C e a 400 °C durante 1 hora que recobrem o aço inox ABNT 409 e, do aço sem revestimento é mostrada na Figura 5.53.

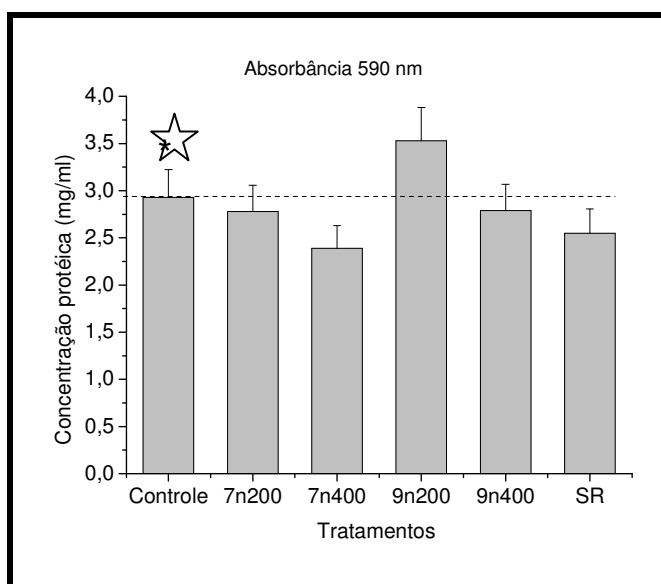


Figura 5.53 – Concentração protéica dos sobrenadantes do cultivo celular realizado sobre os filmes binário e ternário, sendo: 7n200 e 7n400, filme binário seco a 200 °C e a 400 °C; 9n200 e 9n400, o filme ternário seco a 200 °C e a 400 °C; SR, aço sem revestimento.

Imediatamente se percebe, a partir da Figura 5.53, que os sobrenadantes dos materiais analisados (à exceção da amostra 9n200) apresentaram concentração protéica muito próxima da concentração do controle celular (considerado como 100%) indicando ausência de atividade citotóxica tanto dos filmes ora desenvolvidos quanto do aço inox ABNT 409 em relação ao meio de cultura. Outro fato que merece destaque é a influência exercida pela temperatura de secagem dos filmes. Observa-se que quando a temperatura foi de 400 °C

(7n400 e 9n400) a concentração protéica foi menor em relação às amostras cujos filmes foram secos a 200 °C (7n200 e 9n200). Uma explicação para essa maior concentração protéica das amostras secas a 200 °C pode ser atribuída à topografia da superfície dos filmes, devido à presença das protuberâncias, segundo as Figuras 5.18 a 5.20 e 5.22 a 5.24 (AFM). Observa-se que os filmes secos a 400 °C que não apresentavam as protuberâncias (Figuras 5.21 e 5.25), mostraram uma menor concentração protéica. Essa explicação está de acordo com BOYAN (1996), LANGE (2002) e EISENBARTH (2007) que demonstram a sensibilidade celular quando as células são exposta às ondulações da superfície do revestimento na superfície do implante, refletindo diretamente no crescimento celular. Assim, é plausível que a superfície dos filmes secos a 200 °C por apresentarem uma superfície mais rugosa devido às protuberâncias constituídas de nitrato de cálcio, favoreceu o crescimento celular e, por isso, a produção de uma maior concentração protéica. Por outro lado, os filmes secos a 400 °C, por apresentarem uma superfície mais suave – apenas as ranhuras da superfície do substrato lixado –, mostraram uma cinética menos suscetível ao crescimento celular, em comparação ao comportamento dos filmes secos a 200 °C. Uma outra explicação para essa maior concentração protéica em função da temperatura de densificação dos filmes pode ser atribuída ao fato da superfície dos filmes sol-gel curados a 400 °C ser mais hidrofóbica (possuir uma maior densidade de ligações Si-O-Si, devido a condensação dos grupos silanol) logo, menos propensa a ligações do que a superfície dos filmes secos a 200 °C, que ainda apresentam ligações Si-OH (caráter hidrofílico). Esse fato demonstra que as células VERO foram mais suscetíveis à superfície dos filmes densificados a 200 °C do que aqueles secos a 400 °C.

É importante ressaltar que a amostra constituída de aço inox ABNT 409 sem revestimento também apresentou uma concentração protéica próxima do controle celular. Essa informação é interessante no sentido de confirmar a viabilidade da utilização do aço inoxidável ABNT 409 também, como biomaterial.

Os registros fotográficos após 20 horas de semeadura das células aos poços-controle e das superfícies das amostras analisadas são mostrados na Figura 5.54 A, B, C, D, E e F.

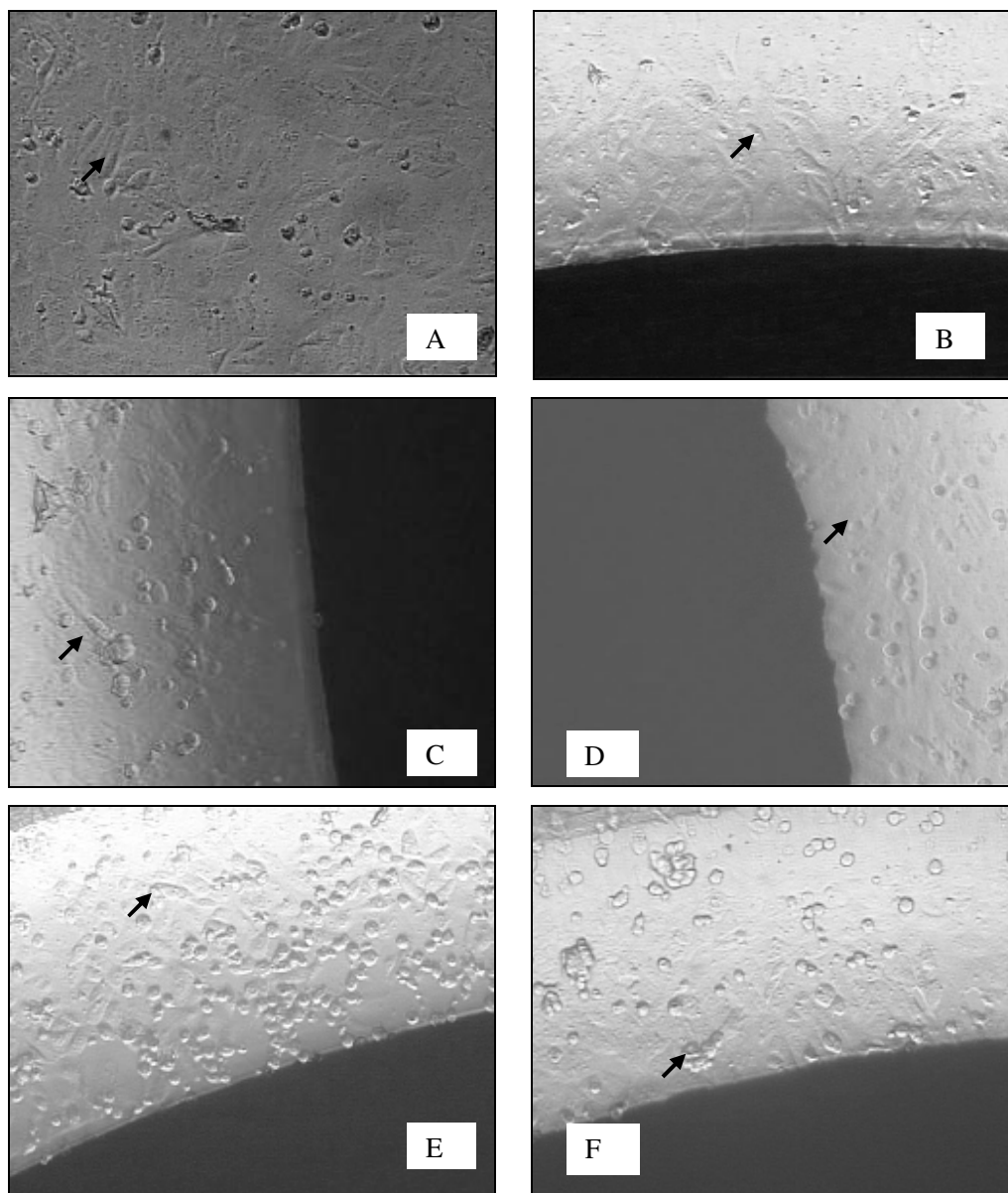


Figura 5.54 – Registros fotográficos após 20 horas de semeadura das células aos poços-controle, sendo: A, controle celular; B, amostra sem revestimento; C, 7n 200 °C; D, 7n 400 °C; E, 9n 200 °C; F, 9n 400 °C.

Inicialmente, é preciso esclarecer que na Figura 5.54 as áreas escuras em B, C, D, E e F referem-se à superfície das amostras revestidas que, sendo constituídas de material metálico

não permite a passagem do feixe do microscópio utilizado na análise enquanto que, as partes claras, se referem à área compreendida entre a amostra e a parede do poço da placa de cultura de tecidos (lembrando que a amostra apresenta um diâmetro menor do que o do poço da placa).

Está visível na Figura 5.54 a presença de células aderidas às bordas das superfícies, representadas no baixo-relevo apresentando um formato comprido (setas) tanto no controle celular, na amostra sem revestimento e, principalmente, nas amostras revestidas com os filmes binário (7n 200 °C e 7n 400 °C) e ternário (9n 200 °C e 9n 400 °C). É incontestável também, a presença de células não aderidas que se mostram sob a forma arredondada. Por outro lado, é importante observar que as células semeadas nos poços contendo as amostras de aço inoxidável, com e sem revestimento, mantiveram-se mais arredondadas do que as células do controle celular (A), entretanto, já se apresentam em franca divisão celular e expansão citoplasmática. Muito embora a amostra revestida com o filme ternário seco a 400 °C (Figura 5.54 E) mostre uma região de borda com muitas células não aderidas, é visível, também, a presença de células aderidas. Mais uma vez, o resultado mostrado na Figura 5.54 B comprova a possibilidade do uso do aço inox ABNT 409 na área clínica.

Os resultados do ensaio de viabilidade celular através do MTT são mostrados na Figura 5.55. Conforme explicado anteriormente para a Figura 5.54, também na Figura 5.55 B, C, D e E, as áreas escuras se referem à superfície da amostra revestida enquanto que, a parte clara, à área compreendida entre a amostra e a parede do poço da placa de cultura de tecidos.

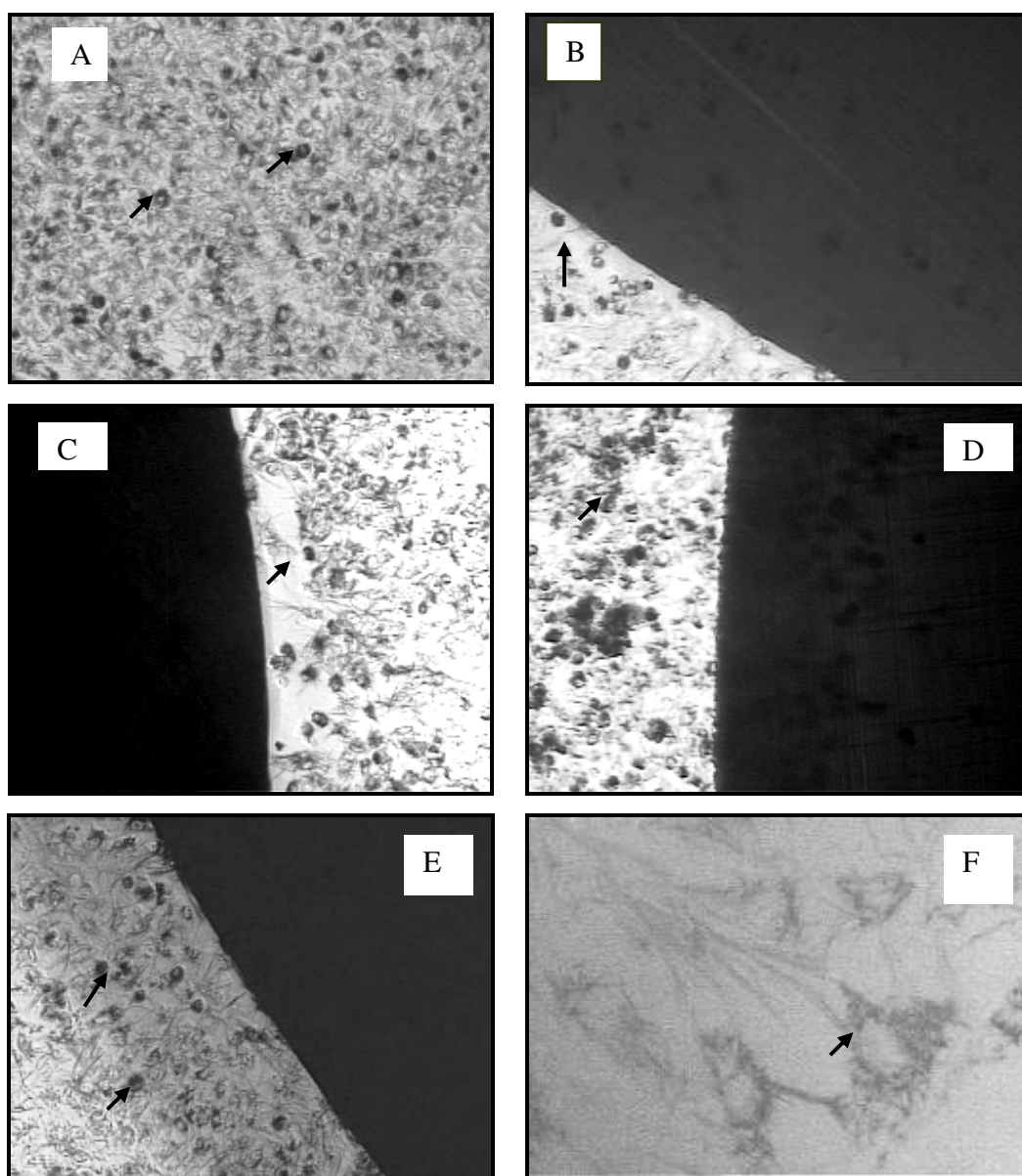


Figura 5.55 – Viabilidade celular através de MTT. A. Controle Celular; B. 7n 200 °C; C. 7n 400 °C; D. 9n 200 °C; E. Amostra sem revestimento, células na borda do poço, ao lado do material; F Amostra sem revestimento; células sobre o material.

A – E. Aumento de 100X; F. Aumento de 400X.

Na Figura 5.55 A, referente ao controle celular, observa-se a presença do precipitado escuro (cristais de metilformazan – MTT) no interior do citoplasma das células (setas), as quais,

estão em grande número no campo fotografado. É importante lembrar que apenas as células metabolicamente normais produzem esse precipitado escuro. Na Figura 5.55 B, C e D, referentes aos revestimentos dos filmes bioativos binário (7n 200 °C, 7n 400 °C) e ternário (9n 200 °C, 9n 400 °C), além da presença dos precipitados de metilformazan (setas), observam-se, também, as células em monocamada fechada na borda do poço e em crescimento sobre as amostras. O ensaio de viabilidade celular das amostras comparado com o controle celular comprovou que todas as amostras não apresentaram efeito tóxico para as células, permitindo seu crescimento. Isso comprova a biocompatibilidade dos compósitos obtidos nesse trabalho.

Muito embora a visualização da presença dos precipitados escuros não seja possível na superfície da amostra (área escura) da Figura 5.55 B, C, D e E, é perfeitamente previsível a presença desses precipitados também na parte escura da amostra. Se não houvesse a presença desses precipitados na parte clara, seria um forte indício da ausência de células metabolicamente viáveis no ambiente, sugerindo a presença de atividade citotóxica do material analisado. A Figura 5.55 F refere-se à amostra do aço inox ABNT 409 sem revestimento, sendo igualmente evidente a presença dos precipitados de metilformazan em sua superfície. Esse resultado é importante na medida em que comprova também a biocompatibilidade do aço inox ABNT 409 e, conseqüentemente, sua possibilidade de uso na área de implantes.

A viabilidade celular (%) dos cristais intracitoplasmáticos obtidos após 4 horas de incubação com MTT e solubilizados em seguida, foi acessada através da leitura espectrofotométrica no comprimento de onda de 595 nm do sal de formazan e está demonstrada na Figura 5.56.

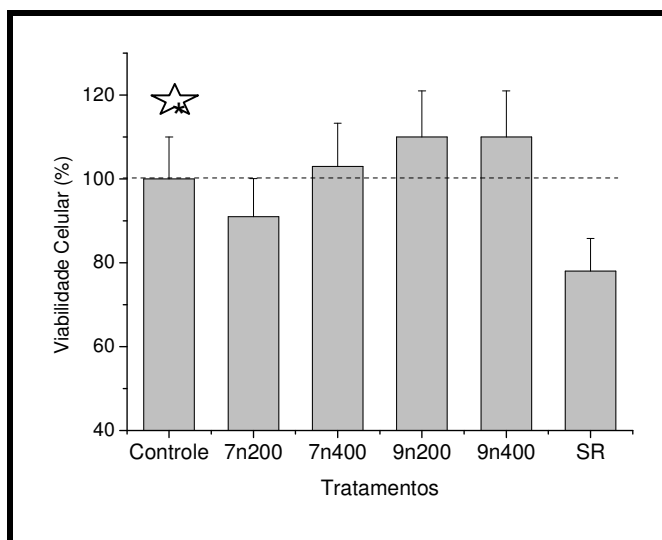


Figura 5.56 – Ensaio de viabilidade celular nas amostras de aço inox ABNT 409, revestidas com filmes binário e ternário, e, no aço sem revestimento (SR), onde foram semeadas células VERO.

Esses resultados mostram que todas as amostras analisadas que foram recobertas com os filmes (binário e ternário) tratados termicamente a 200 °C e a 400 °C durante 1 hora, apresentaram um índice de viabilidade (IV) superior a 90%, mais precisamente, em torno de 100% em relação ao meio de cultura adotado que corresponde a 100% de viabilidade. O revestimento que apresentou menor IV foi o do filme binário seco a 200 °C (~ 90%) enquanto que, os revestimentos relativos ao filme binário seco a 400 °C e ao filme ternário (200 °C e 400 °C) apresentaram IV em torno de 100%. Um outro fato a ressaltar é que o aço inox sem revestimento apresentou IV próximo de 78%, indicando, também, ausência de toxicidade, entretanto, a originalidade desse trabalho pode ser ressaltada uma vez mais, pelo fato de que os filmes sol-gel ora desenvolvidos acrescentaram um diferencial superior ao substrato, uma vez que elevaram o IV de aproximadamente 78% para uma faixa de 90% a 100%.

Toxicidade é um termo geralmente utilizado para descrever efeitos adversos no sistema biológico, aliás, por definição, toxicidade só é mensurada através do sistema biológico. A citotoxicidade da sílica em relação a um grande número de células já é comentada por MAO (1994) e COOPER (2007). Por sua vez, MAO (1994) esclarece que essa toxidez é proveniente dos grupos silanol presentes na superfície da sílica que, em contato com a água geram radicais livres que têm um papel importante na toxidez.

Mais uma vez, a originalidade desse trabalho pode ser destacada pela fato de que, sendo os filmes ora desenvolvidos constituídos de um grande teor de sílica - filme binário, 92% e ternário, 86% -, seria natural a ocorrência de reações citotóxicas quando as células VERO foram semeadas na superfície dos filmes. Entretanto, os resultados demonstraram justamente o contrário, ou seja, ausência de citotoxicidade no meio de cultura e, como consequência, a biocompatibilidade dos filmes utilizados, sugerindo seu potencial em aplicações clínicas.

A Figura 5.57 ilustra a morfologia das células VERO aderidas à superfície dos substratos de aço inox ABNT 409 revestida com filmes binário e ternário curados a 200 °C e a 400 °C durante um período de 1 hora, após 24 horas de incubação em estufa a 37 °C e 5% de CO₂.

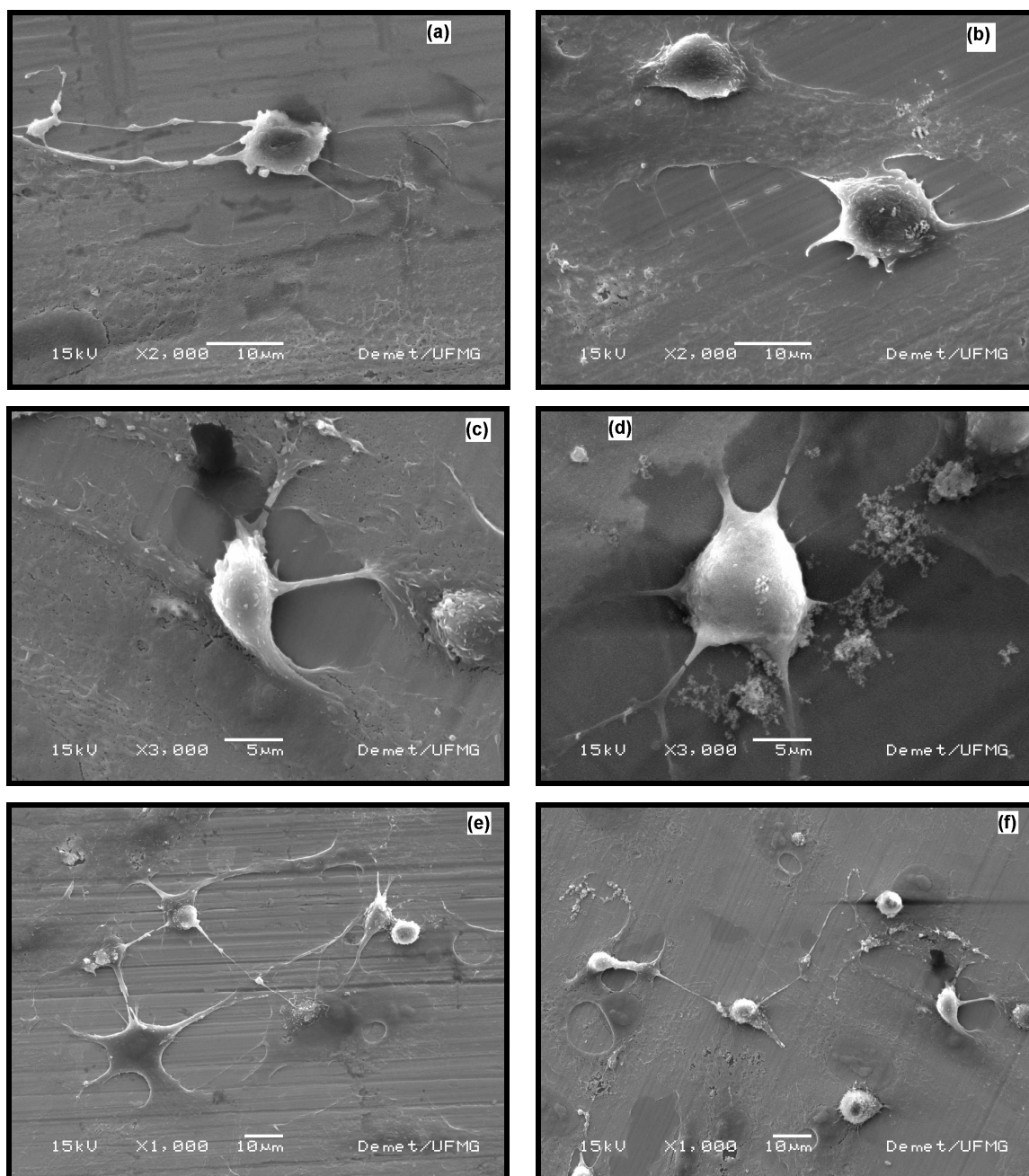


Figura 5.57 - Fotografias de MEV mostram o crescimento de células VERO na superfície de filmes sol-gel após 24 horas de incubação, onde: (a) filme binário seco a 200 °C; (b) filme binário seco a 400 °C; (c) filme ternário seco a 200 °C; (d) filme ternário seco a 400°C; (e) vista ampliada de filme binário seco a 200 °C ; (f) vista ampliada de filme ternário seco a 200 °C.

CLAPPER (1996) afirma que algumas células, entre elas, fibroblastos e epiteliais, necessitam aderir à superfície e espalhar para, em seguida, crescerem. A adesão celular, portanto, é um dos pré-requisitos para a proliferação celular e a diferenciação das células antes da formação do tecido, porque ela influencia diretamente o crescimento celular, a diferenciação e a migração que leva à colonização. A análise morfológica das amostras da FIG. 5.57 evidencia o crescimento celular nos dois tipos de filmes, independente da temperatura utilizada (200 °C ou 400 °C) durante 1 hora. Está clara a forma arredondada das células apresentando vários prolongamentos citoplasmáticos que buscam ancoragem em várias direções sugerindo um bom espalhamento e adesão celular na superfície dos filmes bioativos. CLAPPER (1996) afirma que a adesão celular a uma superfície inicia-se através de uma adesão preliminar, caracterizada por ligações fracas e mudanças simples na aparência das células seguido do espalhamento celular que favorece formação de ligações fortes entre a célula e o substrato. A Figura 5.57 (e) e (f) permite visualizar a maneira como as várias células estão aderidas à superfície, chegando ao ponto de entrarem em contato umas com as outras.

Assim, os resultados mostrados na Figuras 5.57 demonstram claramente a biocompatibilidade dos filmes finos sol-gel ($\text{SiO}_2\text{-CaO}$ e $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$) que revestem a superfície do aço inox ABNT 409 comprovando que as etapas para a adesão celular à superfície descrita por CLAPPER (1996) foram plenamente concluídas.

Portanto, o ensaio de viabilidade celular nos compósitos obtidos nesse trabalho comprovou a biocompatibilidade do conjunto uma vez que as células VERO semeadas na superfície das amostras apresentaram-se metabolicamente viáveis, de modo que a interface filme / célula não provocou morte ou prejuízo à população celular, o que sugere potencial dos compósitos em aplicações clínicas.

6 CONCLUSÕES

Os resultados apresentados permitiram concluir que:

- 1- Foram sintetizados filmes finos bioativos binários e ternários, através da rota sol-gel, nas condições de temperatura e pressão ambientes, através da mistura de precursor alcóxido, tetraetil-ortossilicato (TEOS), tetraetilfosfato (TEP), álcool, ácido, água e nitrato de cálcio tetrahidratado, sem adição de qualquer outro aditivo.
- 2- Os filmes obtidos eram densos, apresentaram o indicativo de serem isentos de poros e de acompanhar harmonicamente toda a superfície do substrato, na área analisada. A sugestão de ausência de poros ou defeitos é um excelente indício de que o filme (binário e ternário) apresenta condições de funcionar como barreira contra a corrosão no substrato quando em contato com fluidos corpóreos.
- 3- Os sóis binário e ternário produziram filmes finos e transparentes.
- 4- Os filmes finos foram utilizados para revestir um substrato de aço inoxidável ABNT 409, que usualmente não é utilizado na área de implante, através de uma única etapa de revestimento utilizando a técnica de imersão.
- 5- Todos os filmes obtidos apresentaram excelente aderência ao substrato metálico. As aderências dos filmes, que foram determinadas através do método da fita e segundo a norma ABNT MB 985, corresponderam ao grau GR 0, significando que nenhuma área da película foi destacada durante o ensaio.
- 6- Ficou evidente a influencia da temperatura do tratamento térmico (secagem) na espessura dos filmes obtidos. Essa redução na espessura está coerente com os resultados das análises térmicas.

- 7- A projeção da área superficial de um filme permite o controle da interação do compósito com o ambiente onde ele será inserido. Foi possível projetar a área superficial dos filmes (binário e ternário) através da formação de protuberâncias constituídas de nitrato de cálcio inseridas de forma controlada, recobrando o substrato de aço inox ABNT 409, sem a utilização de qualquer aditivo químico ou equipamento.
- 8- Foi possível controlar a quantidade dessas protuberâncias (poucas, muitas ou nenhuma) e tamanho (pequenas ou grandes), apenas manipulando variáveis simples de temperatura e tempo no tratamento térmico (etapa de secagem) dos filmes. O tratamento térmico a que os compósitos foram submetidos abrangeu temperatura baixa, na faixa de 100 °C até 400 °C, durante um tempo reduzido da ordem de 15 minutos a 1 hora.
- 9- A ligação Si-O-Si está relacionada à proteção contra a corrosão. Foi verificado que a densificação dos filmes binário e ternário, representada pela razão de intensidade de picos Si-O-Si/Si-OH, aumenta a partir da camada mais externa do compósito em direção a mais interna, próximo ao substrato, indicando uma maior quantidade da ligação Si-O-Si (caráter hidrofóbico) na camada do filme em contato com o substrato de aço inox.
- 10- Foi verificada a possibilidade de controle da quantidade de nitrato de cálcio no filme binário. A evolução do consumo do nitrato de cálcio presente na estrutura do filme se deu a partir de parâmetros de fácil acesso como de temperatura e tempo. Foi demonstrado que em qualquer condição de tratamento térmico, o consumo se inicia a partir da camada mais interna, próxima ao substrato, em direção a mais externa, em contato com o meio ambiente.
- 11- Os resultados obtidos através do teste de biocompatibilidade empregando o SBF apresentaram o indicativo de bioatividade através da precipitação de fosfato de

cálcio com razão molar de Ca/P na faixa de 0,5 (intermediário da hidroxiapatita) na superfície dos filmes obtidos após imersão em solução que simula o fluido corporal (SBF 1,5).

- 12- Os resultados obtidos através do ensaio de viabilidade celular (MTT), empregando células VERO, comprovaram a biocompatibilidade (não citotóxicos) dos filmes bioativos obtidos, uma vez que em nenhuma das amostras analisadas foi verificada a presença de qualquer efeito tóxico. Pelo contrário, foi constatado que as células estavam firmemente aderidas ao substrato, apresentando projeções citoplasmáticas após 24 horas de cultura.
- 13- Os resultados obtidos mostraram que a originalidade desse trabalho pode ser ressaltada pelo fato de que os filmes sol-gel (binário e ternário), ora desenvolvidos, acrescentaram um diferencial superior ao substrato de aço inox ABNT 409, uma vez que elevaram o índice de viabilidade de aproximadamente 78% (aço sem revestimento) para uma faixa de 90% a 100%, em relação ao controle celular utilizado constituído de células VERO e meio de cultura.
- 14- Foi verificado que a presença das protuberâncias, constituídas de nitrato de cálcio, aumentando a área superficial dos filmes, na superfície dos filmes influenciou o crescimento celular. Os resultados comprovaram que os filmes que haviam sido secos a 200 °C e, portanto, apresentavam protuberâncias em sua superfície, produziram uma maior concentração protéica no meio de cultura. Por sua vez, os filmes secos a 400 °C, que não apresentavam as protuberâncias, produziram uma menor concentração protéica em relação aos anteriores. Entretanto, a biocompatibilidade desses últimos filmes não foi comprometida.
- 15- Os resultados demonstraram o potencial dos filmes bioativos binário e ternário sol-gel, ora desenvolvidos, para aplicações clínicas.

7 CONTRIBUIÇÕES À LITERATURA

1. FEDERMAN, Sonia Regina; COSTA, Vilma Conceição; VASCONCELOS, Daniela Cordeiro Leite; VASCONCELOS, Wander Luiz. SiO₂-CaO biofilme with surface engineered for medical application. In: IV CONGRESSO LATINO AMERICANO de ÓRGÃOS ARTIFICIAIS e BIOMATERIAIS (COLAOB 2006), Caxambu, Minas Gerais, **Anais ...** Caxambu: 2006, v.1.
2. FEDERMAN, Sonia Regina; COSTA, Vilma Conceição; VASCONCELOS, Daniela Cordeiro Leite; VASCONCELOS, Wander Luiz. Sol-Gel SiO₂-CaO-P₂O₅ biofilm with surface engineered for medical application. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS (CBECIMat), 17, Foz do Iguaçu, 2006. **Anais ...** Foz do Iguaçu: 2006(b).
3. FEDERMAN, Sonia Regina; COSTA, Vilma Conceição; VASCONCELOS, Daniela Cordeiro Leite; VASCONCELOS, Wander Luiz. Sol-Gel SiO₂-CaO-P₂O₅ biofilm with surface engineered for medical application. **Materials Research**, v. 10, n.2, p.177-181, 2007.
4. FEDERMAN, Sonia Regina; LUNA, Paulo César; MARTINS, Mardlório José; VASCONCELOS, Daniela Leite; VASCONCELOS, Wander Luiz. Effect of thermal treatment on the thickness of SiO₂-CaO-P₂O₅ bioglass thin film. In: VI SOCIEDADE BRASILEIRA de PESQUISA em MATERIAIS (SBPMat), Natal, 2007. **Anais ...** Natal: 2007.
5. FEDERMAN, Sonia Regina; VASCONCELOS, Daniela Cordeiro Leite; VASCONCELOS, Wander Luiz. **Processo de obtenção de filme sol-gel com área projetada, artigo e utilização do filme.** Pedido de patente BR 0506229-2, depositado em 15/12/2005.

Sol-Gel SiO₂-CaO-P₂O₅ Biofilm with Surface Engineered for Medical Application

Sonia Regina Federman^{a*}, Vilma Conceição Costa^b,

Daniela Cordeiro Leite Vasconcelos^c, Wander Luiz Vasconcelos^c

^aInstituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI,
Av. Amazonas 1909, 30180-092 Belo Horizonte - MG, Brazil

^bFundação Centro Tecnológico de Minas Gerais,
Av. Cândido da Silveira, 2000, 31170-000 Belo Horizonte - MG, Brazil

^cDepartamento de Engenharia Metalúrgica e Materiais, UFMG,
Rua Espírito Santo, 35, s/206, Centro, Belo Horizonte - MG, Brazil

Received: February 6, 2007; Revised: May 31, 2007

Sol-gel film in the SiO₂-CaO-P₂O₅ system was prepared from TEOS, TEP, alcohol and hydrated calcium nitrate in an acidic medium. The coatings were deposited on stainless steel using the dip-coating technique. After deposition, the composite was submitted to heat treatment, at different temperatures and exposure times to investigate the influence of such parameters on the surface morphology of the composite. The coated surfaces were characterized by AFM, SEM and FTIR. The present study showed that the formation of different textures (an important parameter in implant fixation) could be controlled by temperature and time of heat treatment.

Keywords: coatings, biofilm, sol-gel, surface

1. Introduction

The increase in the average lifespan of a human being, brought about by continuous improvements in the quality of modern life, is directly associated with the progressive deterioration of the musculoskeletal system. To keep the quality of life, scientists have been constantly searching for materials, which are able to repair defects, correct deformities, and replace damaged tissues¹⁻⁵.

A great number of materials are used today to replace damaged bones and tissues, including metallic materials due to their excellent mechanical properties, such as strength and hardness. Unfortunately, these materials have two main disadvantages: 1) the tendency to release metallic ions when exposed to body fluids and 2) the formation of a non-adherent fibrous capsule around implant⁶⁻¹⁰. Considering these disadvantages, ceramic materials (bioactive materials) have been successfully used to coat metallic materials for decades. Literature^{1,5,6,11,12} shows that the importance of ceramic materials is due largely to their excellent behavior against corrosion and its capacity to spontaneously bond to and integrate with bones in the living tissue.

The sol-gel method involves hydrolyzing an alkoxide to produce a sol, which then undergoes polycondensation to form a gel. This process allows one to engineer multicomponent oxide systems on a molecular level and manipulate process parameters to achieve desired products with specific properties. This process is characterized by hydrolysis, condensation reactions, as well as its potential to apply a uniform coating on complex shapes using different methods, including dip-coating, spin-coating and spray¹³⁻¹⁵. Because of its low processing temperature, higher purity, and homogeneous materials, the sol-gel method has been intensely studied as an alternative process for preparing ceramic and glass materials for a wide variety of applications, such as in the field of bioceramics (bioactive glass)^{13,16-18}.

The high specific surface area is beneficial toward medical applications as it can accelerate surface reactions and promote the growth of living tissue. The larger the surface area is, the larger the reactivity of the material. It has been reported on the literature^{19,22} numerous

methods used to improve the surface area, such as pore control and the use of mechanical equipment pressed against the surface, which is coated with a thin layer to form protuberances, which in turn will act as the sites promoting implant/tissue interaction.

Therefore, the aim of this study is to prepare a SiO₂-CaO-P₂O₅ biofilm whose surface area could be determined using a sol-gel route. The as-prepared solution was used to coat stainless steel with the intention of exploring its mechanical properties for a bioprosthesis application. In this manner, the final composite could then be advantageously and successfully applied as a biomaterial implant.

2. Materials and Methods

Prior to coating, to improve the adhesion of films on metal surfaces, the metal surface must be prepared. In the present study, the sample, a stainless steel AISI 409, was cut in pieces of 2.0 x 2.0 cm, polished until 600 mesh to a higher surface finishing, washed with detergent, deionized water, and degreased with acetone. Finally, the sample was placed in an ultrasonic bath with acetone and dried in hot air.

The ternary film SiO₂-CaO-P₂O₅ preparation synthesis followed similar procedure to one used by Zhong et al.²³ and was as follows: the solution was prepared by mixing water, ethanol, and nitric acid, followed by the addition of TEOS (tetraethyl orthosilicate), TEP (triethylphosphate) and tetra hydrated calcium nitrate. Subsequently, the solution obtained was vigorously stirred for at least 50 minutes. The initial pH of the solution was 2 and the molar ratio of TEOS: H₂O: TEP: Ca = 1: 4: 0.03: 0.08. After stirring the mixed solution at room temperature the as-prepared solution was ready to coat. The substrate was lowered into the coating solution and withdrawn at speeds ranging between 3 and 5 cm/min at room temperature to ensure the elimination of organic residues as well as to develop a thin film. Following the deposition, samples were transferred to an oven for curing, using two heating schedules to set and solidify the SiO₂-CaO-P₂O₅ biofilm: a) the temperature was maintained at 200 °C

*e-mail: federman@inpi.gov.br

and the time processing changed from 15 minutes to 1 hour; b) the time processing was maintained at 15 minutes and the temperature increased to 400 °C. After heat treatment, the samples were removed from the oven to cool in open air, at which time the coating was found to be clear and free of any visible defects.

FTIR spectroscopy was employed to register the presence of specific chemical groups on the deposited $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ biofilm. A Variable Angle Specular Reflectance (VASR) accessory was used and the angles of incidence were 75°, 45°, and 25°. The variation of the incidence angle in the infrared spectroscopy allows an investigation of the film in layers of depth. The spectra were recorded between 4000 and 400 cm^{-1} , with a 4 cm^{-1} resolution and 64 scans.

The surface topography of the sol-gel derived thin films on stainless steel was investigated, at room temperature, with an atomic force microscope (Shimadzu Scanning Probe Microscope, SPM-9500-J3). Images were taken in dynamic tapping mode and the establishment of profile of roughness was done using the online application software, program licensed for SPM-9500 series.

Raman spectra were collected, at room temperature, in backscattering geometry using a Jobin Yvon/Horiba (model LABRAM-HR 800) instrument. An He-Ne laser (20 mW) was employed as the exciting radiation. Experimental conditions included 10 to 120 seconds for acquisition time.

Sol-gel ternary film surface morphology was analyzed by scanning electron microscopy (SEM) (JEOL, JSM-6360LV), using a secondary electron detector. Prior to SEM analysis, the surface sample was carbon coated to reduce charging in the samples.

3. Results and Discussion

Figure 1 shows the infrared spectra of three sol-gel heat treated films at 200 °C for 15 minutes in the range of 1500 to 400 cm^{-1} , obtained with a 75° angle of incidence. Figure 1 shows: a) unary film (only SiO_2), b) binary film ($\text{SiO}_2\text{-CaO}$) and c) ternary film $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$. The first two a) and b), obtained in the same manner and under the same conditions as the $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$, are illustrated only to point out the differences between the unary and binary films when compared to the ternary biofilm. Comparing the three spectra, it can be seen that the peak around the 1050 cm^{-1} , in the unary film which is associated with the transverse optical vibration mode corresponding to the asymmetric stretching of the intertetrahedral oxygen atoms in the Si-O-Si linkage^{24,26}, had in fact shifted toward larger wavenumbers (~1060 cm^{-1}) in the ternary film. This shift has been associated to the incorporation of phosphorus into the unary sol-gel film^{27,28}. In addition, on the binary film, the addition of phosphorus also led to a shift in the Si-O-Si band from 1050 to 1060 cm^{-1} , as illustrated in Table 1.

Figure 1b and c, show additional weak bands located around 1420-1340 cm^{-1} . These bands are assigned to the presence of the nitrate group on the film structure^{29,32}. However, these peaks are absent in the unary film, as shown in fig. 1a. The peak located around 932 cm^{-1} (unary film), attributed to the stretching vibrations of SiOH or SiO⁻ groups^{26,33,34}, shifted toward a large wavenumber (~938 cm^{-1}) in the ternary film; its intensity, however, decreased. It is important to recognize that the peak of around 1238 cm^{-1} , which has been attributed

to the corresponding longitudinal optical (LO) vibration mode of the Si-O-Si linkage^{24,35} in Figure 1, has the highest intensity, because of the large angle of incidence used, which is in accordance with that reported in prior literature²⁴. For the ternary films the bands at the 900-1200 cm^{-1} range were attributed to the Si-O and P-O stretching vibrations. Literature shows that there is a superposition of bands located close to one another^{34,36}.

As can be seen in Figure 2, when a small incident angle (25°) was used in the FTIR experiment, the peak located around 1230 cm^{-1} diminished its intensity, which supports that reported in the literature for all three spectra²³. It is clear that the nitrate group is also present on

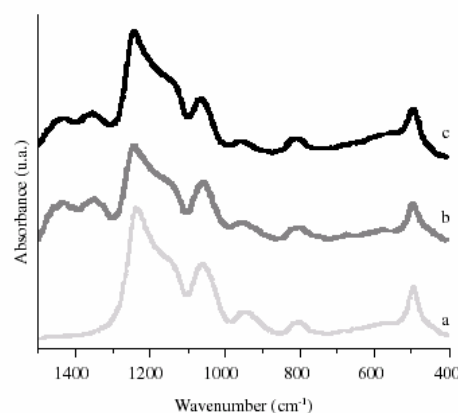


Figure 1. FTIR spectra of a) unary film; b) binary film; c) ternary film at 200 °C for 15 minutes at 75° of incidence.

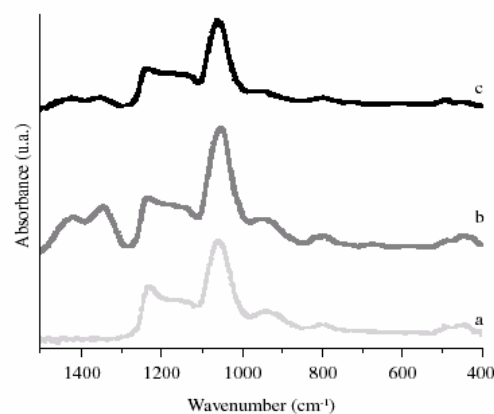


Figure 2. FTIR spectra of a) unary film; b) binary film; c) ternary film at 200 °C for 15 minutes at 25° of incidence.

Table 1. Shift in the Si-O-Si peak (cm^{-1}) caused by addition of phosphorous in unary, binary, and ternary sol-gel films.

Sol-Gel film	200 °C, 15 minutes			200 °C, 1 hour			400 °C, 15 minutes			400 °C, 1 hour		
	75°	45°	25°	75°	45°	25°	75°	45°	25°	75°	45°	25°
Unary	1050	1052	1052	1048	1050	1044	1046	1046	1046	1048	1042	1044
Binary	1050	1048	1045	1050	1049	1047	1036	1026	1024	1036	1032	1032
Ternary	1060	1054	1052	1052	1052	1050	1054	1048	1050	1054	1052	1052

the inner layer next to the substrate of $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ and $\text{SiO}_2\text{-CaO}$ sol-gel films. Comparing Figures 1 and 2, one can observe that the intensity of the peaks due to calcium nitrate tends to diminish, from the external surface (Figure 1c) to the inner surface (Figure 2c).

Figure 2 also illustrates the presence of the nitrate group located at $1408\text{-}1342\text{ cm}^{-1}$ in the inner layer, next to the metallic substrate. Comparing the spectra (c) in Figures 1 and 2, we can consider that as the intensity of peaks located around $1408\text{-}1342\text{ cm}^{-1}$ tends to diminish from the external surface (75°) to the inner surface (25°), in the case of the ternary film, when using the incidence angle of 25° , it is possible to observe a tendency of decreasing the amount of nitrate groups on the inner layer of the film. Another important feature of the $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ film is that the intensity of the peak located at 938 cm^{-1} , due to its Si-OH/Si-O-Ca vibration mode³⁵, tends to diminish in comparison with unary and binary sol-gel films. This result suggests that the change in this band is attributed to P-containing species^{33,35}.

Table 1 presents the results obtained after the phosphorous species have been added to the unary and binary sol-gel films. In the case of the ternary film (the aim of this work), it is clear that the addition of phosphorous on unary or even on binary sol-gel film tends to cause a shift from peaks near 1050 cm^{-1} toward higher wavenumbers for any heat treatment at any schedule of temperature and at any part of the layer (75° , 45° or 25°). Another feature to point out is that peaks assigned to Si-O-Si asymmetric stretching ($\sim 1050\text{ cm}^{-1}$) tend to shift slightly to lesser wavenumber, when moving from the external surface to the inner surface of the ternary film. This can be correlated with decreasing inorganic network density of this ternary film from the external to the inner surface.

Figure 3 illustrates the $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ sol-gel film which was heat treated at 200°C for 1 hour. Peaks due to nitrate groups are still present on the external layer of the ternary film. However, as shown in Figure 4, for the ternary film (Figure 4c) heat treated at 400°C for 15 minutes, one can observe the absence of relative absorption bands due to the nitrate groups ($\sim 1408\text{-}1342\text{ cm}^{-1}$). These peaks are still present, but only on the binary film (Figure 4b), suggesting that the heat treatment of the films at 400°C for at least 15 minutes leads to the decomposition of the nitrate residue on the film surface^{24,37,38}.

When calcium nitrate is decomposed by heat treatment at 400°C for 15 minutes, calcium ions remain present in the silica network, as illustrated in Figure 5. Figure 5 is a Raman spectrum of the $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ film and shows a peak located at 1090 cm^{-1} (stretching vibration) assigned to calcium carbonate^{39,40}. Figure 5 also illustrates the absence of peaks around 1046 cm^{-1} , assigned to the symmetric stretching of the nitrate groups. The absence of this absorption band confirms the total decomposition of the nitrate^{31,39}. An additional peak, in Raman spectrum, appears near 720 cm^{-1} and is also assigned to carbonate groups⁴¹.

The results shown up to now are in accordance with Figures 6 to 9. Figure 6 presents AFM image of samples coated with $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ biofilm, which was heat treated at 200°C for 15 minutes. The AFM image shows distinct protuberances, which we suspect to be due to calcium nitrate, consequently raising the surface area of the sol-gel ternary film. In Figure 7, the AFM image of the sol-gel ternary film heated at 200°C for 1 hour is shown. From this image, it can be observed that the protuberances on the ternary biofilm surface decreased and its appearance changed.

When the temperature of the heat treatment was changed to 400°C , maintaining the time (15 minutes), the density and size of protuberances on the ternary biofilm drastically diminished on its surface, as illustrated in Figure 8. Changing the time processing to 1 hour while the temperature of 400°C was maintained resulted in a low roughness surface.

Another important $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ biofilm feature to be emphasized from the AFM images is that the obtained ternary film conforms

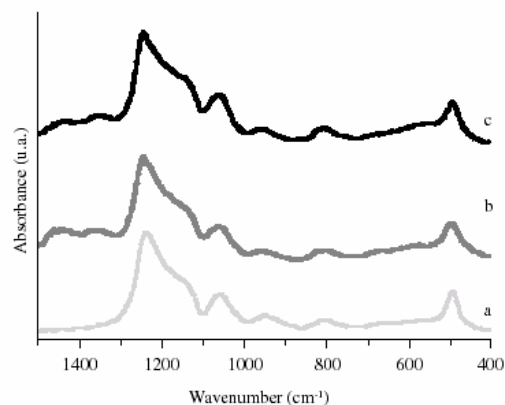


Figure 3. FTIR spectra of a) unary film; b) binary film; c) ternary film at 200°C for 1 hour at 75° of incidence.

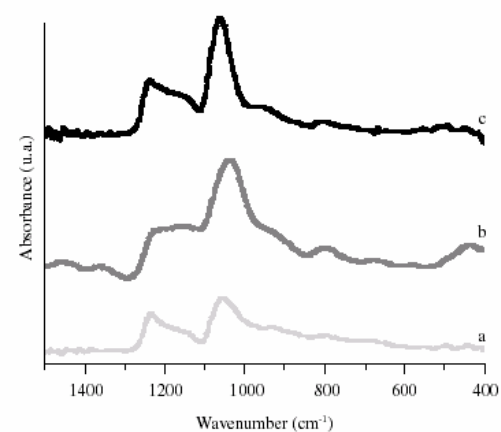


Figure 4. FTIR spectra of a) unary film; b) binary film; c) ternary film at 400°C for 15 minutes at 75° of incidence.

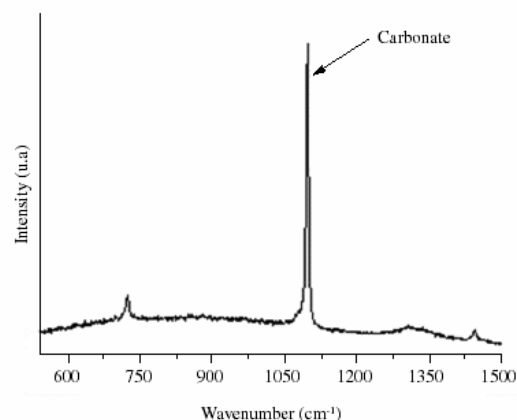


Figure 5. Raman spectrum of ternary sol-gel film heat treated at 400°C for 15 minutes.

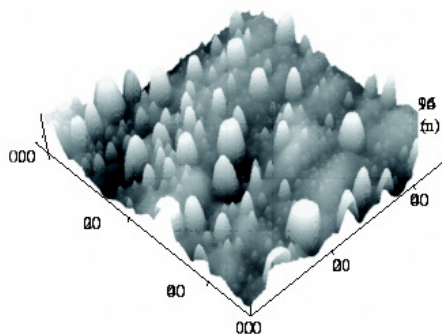


Figure 6. AFM image of ternary $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ film heated at 200 °C for 15 minutes.

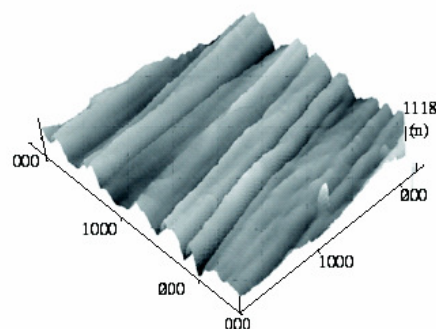


Figure 9. AFM image of ternary $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ heated at 400 °C for 1 hour.

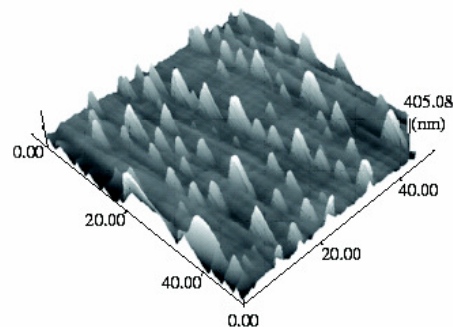


Figure 7. AFM image of ternary $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ film heated at 200 °C for 1 hour.

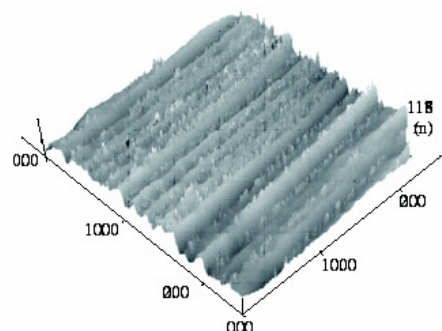


Figure 8. AFM image of ternary $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ heated at 400 °C for 15 minutes.

closely to the metallic surface. In the analyzed area through AFM, there is no suggestion of the macropores presence, cracks or any peelings from the substrate. Moreover, Figures 6 to 9 suggest that just as obtained ternary biofilm has a very small thickness, as can be seen from the parallel grinding lines beneath the $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ biofilm.

Figure 10 shows the SEM micrograph of the obtained $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ biofilm coated substrate, heat-treated at 200 °C. This result is

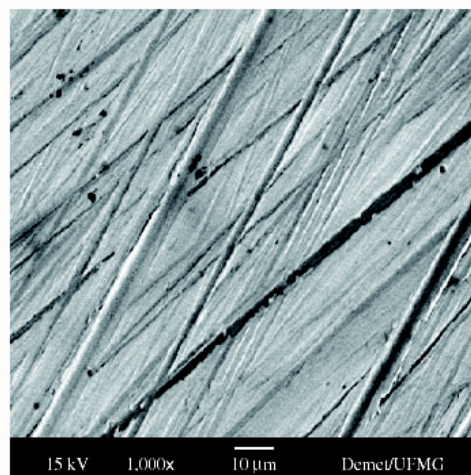


Figure 10. SEM micrograph of obtained $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ biofilm coated substrate at 200 °C.

in accordance with Figures 6 to 9 where, once again, the integrity of the ternary film can be seen, through of its strong adherence with the substrate.

4. Conclusion

The present study shows that it is possible to obtain a thin, uniform, pore/crack-free ternary biofilm in the $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ system using the sol-gel method. It also indicates that the biofilm topology can be altered, in relation to the presence (or absence) of protuberances, simply by changing the processing time and the temperature with the aim of designing its surface area.

Acknowledgments

The authors acknowledge Dr. Maria Silvia Sylva Dantas for Raman measurement and financial support from Minas Gerais Foundation of Research (Fapemig) and CNPq for financial support on this project.

References

- Kawachi EY, Bertran C, Reis RR, Alves OL. Biocerâmica: Tendências e Perspectivas de uma área Interdisciplinar. *Química Nova*. 2000; 23(4):518-522.
- Vallet-Regí M. Ceramics for Medical Applications. *Journal of the Chemical Society Dalton Transactions*. 2001; 2:97-108.
- Ducheyne P, Radin S, Santos EM, inventors. University of Pennsylvania, assignee. *Incorporation of biological molecules into bioactive glasses*. US Patent 5874109; 1999 Feb 23.
- Heimann RB. Materials Science of Crystalline Bioceramics: A review of Basic Properties and Applications. *CMU Journal*. 2002; 1:23-46.
- Kokubo T, Kim HM, Kawashita M. Novel Bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials*. 2003; 24:2161-2175.
- Galliano P, Damborenea JJ, Pascual MJ, Durán A. Sol-Gel Coatings on 316L Steel for Clinical Application. *Journal of Sol-Gel Scienc and Technology*. 1998; 13:723-727.
- Niedhart C, Sax HM, Niethard FU, Telle R, inventors. *Bioactive implants and method for the production thereof*. US Patent 6818332; 2004 Nov16.
- Beloti MM, Rollo JMDA, Itman Filho A, Rosa AL. In vitro biocompatibility of duplex stainless steel with and without 0.2% niobium. *Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics*. 2004; 2:162-168.
- Durán A, Conde A, Gómez Coedo A, Dourado T, Garcia C, Ceré S. Sol-Gel Coatings for Protection and Bioactivation on Metal Used in Orthopaedic Devices. *Journal of Material Chemistry*. 2004; 14:2282-2290.
- Moritz N, Rossi S, Vedel E, Tirri T, Ylänen H, Aro H, et al. Implants Coated with Bioactive glass by CO₂-laser, na in vivo study. *Journal of Material Scienci: Mater. in Medicine*. 2004; 15:795-802.
- Rigo ECS, Oliveira LC, Santos LA, Bosh AO, Carrodegua RG. Implantes Metálicos recobertos com Hidroxiapatita. *Revista Brasileira de Engenharia Biomédica*. 1999; 15(1-2):21-29.
- Goetz M, Hotz W, Keppner H, inventors. Alusuisse Lonza Service, assignee. *Coating Substrate*. US Patent 6124039; 2000 Sept 26.
- Balamurugan SK, Rajeswari S. Bioactive Sol-Gel Hydroxyapatite surface for Biomedical Application – in vitro study. *Trends in Biomaterial Artificial Organs*. 2002; 16(1):18-20.
- Izquierdo-Barba I, Vallet-Regí M. The role of precursor concentration on the characteristics of SiO₂-CaO films. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 2003; 26:1179-1182.
- Mc Donagh C, Sheridan F, Butler T, MacCraith BD. Characterization of sol-gel-derived silica film. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 1996; 194:72-77.
- Hench L.L, Wilson J, editors. *An introduction to bioceramics*. Florida. World Scientific; 1993. p. 386.
- Saravanapavan P, Hench L. Low-temperature synthesis, structure, and bioactivity of sol-gel derived glasses in the binary CaO-SiO₂ system. *Journal of Biomedical Material Research*. 2001; 54:608-618.
- Beganskiené A, Dudko O, Suryjautusm R, Giraitis R. Water based sol-gel synthesis of hydroxyapatite. *Materials Science*. 2003; 9(4):383-386.
- Tsutomu M, Tatsumisago, Tadanaga K, Matsuda A, Hori M, Nakamura K, et al., inventors. *Article having a predetermined surface shape and method for preparation thereof*. US Patent 6849350; 2005 Feb 1.
- Katsuhide S, Kenichi N, inventors. Nippon Sheet Glass Co., assignee. *Article having uneven surface, production process for the article, and composition for the process*. US Patent 6361718; 2002 Mar 26.
- Katayama S, Yamada N, Awano M. Preparation of silicate foams using HSi(OC₂H₅)₂; and their NO_x adsorption behavior. *Journal of European Ceramic Society*. 2004; 24:1957-1960.
- Hall S R, Dominic W, Green D, Oreffo R, Mann S. A novel route to highly porous bioactive silica gels. *Journal of Material Chemical*. 2003; 13:186-190.
- Zhong J, Greenspan D C, inventors. US Biomaterials Corp., assignee. *Bioactive sol-gel compositions and method*. US Patent 6171986; 2001 Sept 01.
- Primeau N, Vautey C, Langlet M. The effect of thermal annealing on aerosol-gel deposited SiO₂ films: a FTIR deconvolution study. *Thin Solid Films*. 1997; 310:47-56.
- Zarzosa-Ortega G, Martínez JR, Espinós-Domínguez O, Ruiz F, Matutes-Aquino JA. Formation of copper-based particles trapped in a silica xerogel matrix. *Superficies y Vacío*. 2000; 11:61-65.
- Viitala R, Jokinen M, Maunu SL, Jalonen H, Rosenholm JB. Chemical characterization of bioresorbable sol-gel derived SiO₂ matrices prepared at protein-compatible pH. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 2005; 351:3225-3234.
- Ahsan R Md, Mortuza JG. Infrared spectra of xCaO(1-x-z)SiO₂zP₂O₅ glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 2005; 351:2332-2340.
- Solla EL, Borrajo JP, González P, Serra J, Liste S, Chiussi S, et al. Plasma assisted pulsed laser deposition of hydroxyapatite thin film. *Applied Surface Science*. 2005; 248:360-364.
- Miller FA, Wilkins CH. Infrared spectra and characteristic frequencies of inorganic ions – Their use in qualitative analysis. *Analytical Chemical*. 1952; 24(8):1253-1294.
- Gladsten Aric JA. *Infrared spectra of minerals and related inorganic compounds*. 1975; ISBN 0408706651.
- Briget MM, Sasirekha V, Ramakrishnan V. Plasma assisted pulsed laser deposition of hydroxyapatite thin film. *Spectrochimica Acta A*. 2005; 62:446-452.
- Chouillet C, Krafft J M, Louis C, Lauron-Pernot H. Characterization of zing hydroxynitrates by diffuse reflectance infrared spectroscopy-structural modifications during thermal treatment. *Spectrochimica Acta Part A*. 2004; 60:405-511.
- Fidalgo A, Ilharco LM. The defect structure of sol-gel-derived silica/polytetrahydrofuran hybrid films by FTIR. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 2001; 283:144-154.
- Cerruti M, Greenspan D, Powers K. Effect of pH ionic strength on the reactivity of Bioglass 45S. *Biomaterials*. 2005; 26:1665-1674.
- Nitta SV, Pisupati V, Jain A, Wayner PC, Jr W NG, Plawsky JL. Surface modified sping-on xerogel films as interlayer dielectrics. *Journal Vacio Science Technology B*. 1999; 17(1):205-212.
- Szumera M, Waclawska I, Mozgawa W, Sitarz M. Spectroscopic study of biologically active glass. *Journal of Molecular Structure*. 2005; 744-747:609-614.
- Saravanapavan P, Hench L.L. Mesoporous calcium silicate glasses. I. *Synthesis Journal of Non-Crystalline Solids*. 2003; 318:1-13.
- Laudisio, G, Branda F. Sol-gel synthesis and crystallization of 3CaO.2SiO₂ glassy powders. *Thermochimica Acta*. 2001; 370:119-124.
- Tang IN, Fung KH. Hydration and Raman scattering studies of levitated microparticles: Ba(NO₃)₂ and Ca(NO₃)₂. *Journal of Chemical Physics*. 1997; 106(5):1653-1660.
- Edwards HGM, Villar SEJ; Jehlicka J, Munshi T. RT-Raman spectroscopy study of calcium-rich and magnesium-rich carbonate minerals. *Spectrochimica Acta Part A*. 2005; 61:2273-2280.
- Simpson LJ. Electrochemically generated CaCO₃ deposits on iron studied with FTIR and Raman spectroscopy. *Electrochimica Acta*. 1998; 43(16-17):2543-2547.

8 RELEVÂNCIA DO TRABALHO

- ✓ Empregar como substrato um aço inoxidável - ABNT 409 -, normalmente não utilizado na área clínica, pelo fato do mesmo ser (i) mais barato, (ii) possuir menor teor de níquel, (iii) possuir tanto características físico-químicas quanto propriedades mecânicas similares às do aço cirúrgico, usualmente empregado, (iv) ser um aço não sensível à corrosão sob tensão.
- ✓ Alterar a área superficial do filme que reveste o substrato apenas acessando parâmetros processuais de temperatura e duração do tratamento térmico para a densificação do filme.
- ✓ Biocompatibilidade dos filmes desenvolvidos em presença do meio de cultura adotado com células VERO.
- ✓ Diferencial superior acrescentado pelos filmes binário e ternário que revestiram o aço inoxidável considerando o percentual de viabilidade celular empregando o meio de cultura com células VERO.

9 TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Realizar testes com macrófagos (células de defesa do sistema imunológico) para fortalecer os resultados obtidos com células de fibroblastos (VERO).
- ✓ Realizar testes com osteoblastos para confirmar os resultados obtidos com fibroblastos.
- ✓ Realizar teste *in vivo*.
- ✓ Realizar testes para analisar a possibilidade de usar a propriedade de ferro magnetismo do aço ABNT 409 em liberação de fármacos.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

ABE, Y.; KOKUBO, T. Apatite coating on ceramics, metals and polymers utilizing a biologic process. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 1, p. 233-238, 1990.

AIROLDI, C.; de FARIAS, R. F. Alcóxidos como precursores na síntese de novos materiais através do processo sol-gel. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n.1, p. 84-88, 2004.

ALCANTARA JUNIOR, P. **Espectroscopia molecular – Curso de Física Moderna II**, Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Departamento de Física, Março de 2002. Disponível em < www.google.com>. Acesso em 05/02/2006.

ALEMANY, M.I; VELASQUEZ, P.; DE LA CASA-LILO, M.A.; DE AZA, P.N. Effect of materials processing methods on the “in vitro” bioactivity of wollastonite glass-ceramic materials. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 351, p. 1716-1726, 2005.

ALFAYA, A., A.S.; KUBOTA, L.T. A utilização de materiais obtidos pelo processo de sol-gel na construção de biosensores. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 5, p. 835-841, 2002.

AHSAN, M.R.; MORTUZA, M.G. Infrared spectr of $x\text{CaO}(1-x-z)\text{SiO}_2z\text{P}_2\text{O}_5$ glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 351, p. 2333-2340, 2005.

ALVES, O.L.; RONCONI, C.M. Decomposição de precursores metalorgânicos: uma técnica química de obtenção de filmes finos. **Química Nova**, São Paulo, v.25, n.1, p.69-77, 2002.

ANDRADE, A.L.; VALERIO, P.; GOES, A.M.; LEITE, M.F.; DOMINGUES, R.Z. Influence of morphology on *in vitro* compatibility of bioactive glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 352, n. 32-35, p. 3508-3511, 2006.

AOKI, I.O. estado da arte no uso de organosilanos na proteção contra a corrosão de substratos metálicos. **Anais do 17º Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, Foz de Iguaçu, PR, 2006.

ARCOS, D.; REAL, R.P. del; VALLET-REGÍ, M. A novel bioactive and magnetic biphasic material. **Biomaterials**, v. 23, p. 2151-2158, 2002.

ARFSTEN, N.J.; REICH, A.; RODRIGUEZ, F.; GAVLAS, J.F. **Method for making antireflection coatings form heat-treatable inorganic substrates**. US Patent, 6.656.522, 02 Dec. 2003.

ATKINS, G.; LUTHER-DAVIES, B.; CHARTERS, R. B.; SAMOC, A.; MARE, J.S. **Sol-Gel based film**. US Patent 2003/0077456, 24 Apr. 2003.

AZEVEDO, H.S.; LEONOR, I.B.; ALVES, C.M.; REIS, R.L. Incorporation of proteins and enzymes at different stages of the preparation of calcium phosphate coating on a degradable substrate by a biomimetic methodology. **Materials Science and Engineering C**, v. 25, p. 169-179, 2005.

AZOM.COM. **Stainless steel – grade 304, 316 and 409**. Disponível em: <<http://azom.com/Details.asp>>. Acesso em: 08/05/2005.

BABONAS, G.J.; REZA, A.; SIMKIENE, I.; SABATAITYTE, J.; BARAN, M.; SZYMCZAK, R.; KARLSSON, U.O.; SUCHODOLSKIS, A. Optical properties of Fe-doped silica films on Si. **Applied Surface Science**, v. 252, p. 5391-5394, 2006.

BALAMURUGAN, S.K.; RAJESWARI, S. Bioactive sol-gel hydroxyapatite surface for biomedical applications – in vitro study. **Trends Biomaterial Artificial Organs**, v. 16 (1), p. 18-20, 2002.

BARRAUD, N.; WEBB, J.; RICE, S.A.; KJELLEBERG, S. **Methods and compositions for regulating biofilm development**. WO Patent WO 2006/125262 A1, 30 Nov. 2006.

BAYRAKTAR, D.; TAS CÜNEYT, A. Chemical preparation of carbonated calcium hydroxyapatite powders at 37°C in urea-containing synthetic body fluids. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 19, p. 2573-2579, 1999.

BEECH, I. B.; GAYLARDE, C.C. Recent advances in study of biocorrosion – an overview. **Revista de Microbiologia**, v. 30, p. 177-190, 1999.

BEGUN, A.N.; RAJENDRAN, V.; YLÄNEN, Heimo. Effect of thermal treatment on physical properties of bioactive glass. **Materials Chemistry and Physics**, v. 96, p. 409-417, 2006.

BELLANTONE, M.; COLEMAN, N.; HENCH, L. **Silver-containing, sol-gel derived bioglass compositions**. WO 00/76486, 21 Dec. 2000.

BELOTI, M.M.; ROLLO, J.M.D.A.; ITMAN FILHO, A.; ROSA, A.L. In vitro biocompatibility of duplex stainless steel with and without 0.2% niobium. **Journal of Applied Biomaterial & Biomechanics**, v. 2, p. 162-168, 2004.

BERNDT, A. **Introduction to bioceramic**. Disponível em: <<http://www.alumni.ca/~berndta/resources/bioceramic>>. Acesso em: 25/11/2004.

BETZ, P.; HINTZE-BÜNING, H. **Scratch-resistant sol-gel coating for clear powder-slurry lacquer**. US Patent, 6.419.989, 16 July 2002.

BHANDARKAR, S.; FLEMING, D.A.; JONHONSON JR, D.W. **Process for fabricating sol-gel article involving low - shrinkage formulation**. US Patent 2002/0108399 A1, 15 Aug. 2002.

BIGERELLE, M.; ANSELME, K.; DUFRESNE, E.; HARDOUIN, P.; IOST, A. An unscaled parameter to measure the order of surfaces: a new surface elaboration to increase cells adhesion. **Biomolecular Engineering**, v. 19, p. 79-83, 2002.

BINNIG, G.K.; DESPONT, M.; VETTIGER, P. **AFM-based data storage and microscopy**. US Patent 2004/0218507 A1, 4 Nov.2004.

BIRREL, G. **Developing a technology based strategy for the UK surface engineering industry**. Serinco Metalfinishers. Disponível em: < www.serinco.demon.co.uk/introduction>. Acesso em: 24/03/2004.

BLOHOWIAK, K. Y.; OSBORNE, J. H.; KRIENKE, K. A. **Sol-gel coated metal**. US Patent 5.939.197, 17 Aug. 1999.

BORUM, L.; WILSON JR., O.C. Surface modification of hydroxyapatite. Part II. Silica. **Biomaterials**, v. 24, p. 3681-3688, 2003.

BOYAN, B.D.; HUMMERT, T.W.; DEAN, D.D.; SCHWARTZ, Z. Role of material surfaces in regulating bone and cartilage cell response. **Biomaterials**, v. 17, p. 137-146, 1996.

BRANDÃO, P.R.G.; ARAUJO, A.C.; PERES, A.E.C. Espectrometria infravermelha na investigação de espécies adsorvidas. In: SIMPÓSIO EPUSP DE CARACTERIZAÇÃO NA ENGENHARIA E INDÚSTRIA MINERAL, São Paulo, **Anais ...** São Paulo:EPUSP, novembro de 1990.

BRINKER, C.J.; HURD, A.J. Fundamentals of sol-gel dip-coating. **Journal de Physique III** France 4 p. 1231-1242, 1994.

BRINKER, C.J.; HURD, A.J.; FRYE, G.C.; ASHLEY, C.S. Sol-gel thin formation. **Chemical Processing of Advanced Materials**. ISBN 0-471.54201-6. 1992.

BRINKER, C.J.; SCHERER, G.W. **Sol-Gel: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing**. New York: Academic Press, 1990.

CAPIOTTO, N. Uso do silano BTSE como protetivo contra a corrosão de laminados de aço carbono. Dissertação (Mestrado) Escola Politécnica de São Paulo, São Paulo, 2006.

CARIDE, A.O.; ZANETTE, S.; NUNES, V. B.; GOMES FILHO, J.A microscopia do novo milênio. **Revista do CBPF**, p. 39-41. Disponível em: <www.google.com> . Acesso em: 29/01/2005.

CARVALHO, R.A.M.; LIMA, R.R.; NASCIMENTO FILHO, A.P.; SILVA, M.L.P.; DEMARQUETTE, N.R. Plasma polymerized TEOS films for nanochannels formation and sensor development. **Sensor and Actuators (B)**, v. 108, p. 955-963, 2005.

CERRUTI, M.; GREENSPAN, D.; POWERS, K. Effect of pH and ionic strength on the reactivity of Bioglass[®]. **Biomaterials**, v. 26, p. 1665-1674, 2005.

CERRONI, L.; FILOCAMO, R.; FABBRI, M.; PICONI, C.; CAROPRESO, S.; CONDÒ, S.G. Growth of osteoblast-like cells on porous hydroxyapatite ceramics: an in vitro study. **Biomolecular Engineering**

CHEMAT TECHNOLOGY. **Sol-Gel**. Disponível em: <<http://www.chemat.com>>. Acesso : 22/06/2001.

CHEN, D.G.; YAN, Y.; RAYCHAUDHURI, S.; SATO, Y.; SARKAR, A. **Plastic article having multi-layer antireflection coatings, and sol-gel process for depositing such coat.** US Patent 5.856.018, 05 Jun. 1999.

CHEN, H.; CLARKSON, B.H.; SUN, K.; MANSFIELD, J.F. Self-assembly of synthetic hydroxyapatite nanorods into an enamel prism-like structure. **Journal of Colloid and Interface**, v. 288, p. 97-103, 2005.

CHEN, Y.; XING, A.; HUANG, C. Bonding mechanism and performance of ceramic coatings by sol-gel process. **Chinese Science Bulletin**, v. 45, n. 14, July 2000.

CHOUILLET, C.; KRAFFT, J.M.; LOUIS, C.; LAURON-PERNOT, H. Characterization of zinc hydroxynitrates by diffuse reflectance infrared spectroscopy – structural modifications during thermal treatment. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 60, p. 505-511, 2004.

CHUNG, Y. J.; JEANJAQUET, S. L.; KENDIG, M. W. **Corrosion inhibiting sol-gel coatings for metal alloys.** US Patent 2003/0024432 A1, 06 Feb.2003.

CHUNG, Y. **Method of preparing organically modified aluminosilicates sol-gel films.** US Patent 5.750.203, 12 May 1998.

CLAPPER, D.L. **Cell culture support containing a cell adhesion factor and a positively-charged molecule.** US Patent 5.512.474, 30 Apr. 1996.

COOPER, C.; TSANG, E.; LEWINGTON, J. **Cell-based assay for the detection of toxic analytes.** US Patent 7.214.505, 08 May 2007.

CORNING. **A guide to silane solutions.** DOWN CORNING. Disponível em <www.google.com>. Acesso em: 01/12/2006.

CORRIU, R. J.P.; LECLERCQ, D. Recent developments of molecular chemistry for sol-gel process. **Angewandete Chemie International Edition in English**, v. 35, n. 13/14, p. 1420-1436, 26 Jul.1996.

COSTA, L.; COSTA, P.P.; GRANDI, S. **Process for preparing silica on silica-based thick vitreous films according to the sol-gel technique and thick film thereby obtained.** US Patent 6.562.408, 13 May 2003.

COSTA, V.C.; LAMEIRAS, F.; SANSVIERO, M.T.C.; SIMÕES, A.B.; VASCONCELOS, W.L. Preparation of CdS-containing sílica-titania composite by the sol-gel process. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 348, p. 190-194, 2004.

CROOK, R.A. **Mercaptofunctional silanes to deposit sol-gel coatings on metals.** US Patent 6.284.391, 04 Sept. 2001.

CRUZ, A.S.; FIGUEIREDO, C.A.; IKEDA, T.I.; VASCONCELOS, A.C.E.; CARDOSO, J.B.; SALLES-GOMES, L.F. Comparação de métodos para testar a citotoxicidade “in vitro” de materiais biocompatíveis. **Revista Saúde Pública**, v. 32 (2), p. 153-159, 1998.

DA SILVA, M. H. P.; LEMOS, A. F.; FERREIRA, J. M. F.; SANTOS, J. D. Mechanical characterisation of porous glass reinforced hydroxyapatite ceramics - bonelike®. **Material Research**, v. 6; n. 3; p. 321-325; 2003.

DA SILVA, M.H.P. **Apostila de biomateriais**. Disponível em:<www.google.com>
Acesso em: 07/04/2005.

DAGUANO, J.K.M.F.; SANTOS, C.; ROGERO, S.O. Análise citotóxica de biocerâmicas para uso em sistemas de implantes. In. CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ÓRGÃOS ARTIFICIAIS E BIOMATERIAIS, 4, (COLAOB 2006) Caxambu, Minas Gerais, 2006. **Anais ...** 2006, v.1.

DEAN-MO, L.; I-WEI, C. **Encapsulation of biomaterials in porous glass-like matrices prepared via aqueous colloidal sol-gel process**. US Patent 6.303.290, 16 Oct. 2001.

DENIZOT, F.; LANG, R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. **Journal of Immunological Method**, v. 89, p. 271-277, 1986.

DOROZHKIN, S.V. Calcium orthophosphate. **Journal of Material Science**, v. 42, p. 1061-1095, 2007.

DUCHEYNE, P.; RADIN, S.; SANTOS, E. M. **Incorporation of biological molecules into bioactive glasses**. US Patent 5.874.109, 23 Feb.1999.

DURÁN, A.; CONDE, A.; GOED, A; GÓMEZ COEDO, A.; DOURADO, T.; GARCIA, C.; CERÉ, S. Sol-Gel coating for protection and bioactivation of metals used in orthopedic devices. **Journal Material Chemical**, v. 14, p. 2282-2290, 2004.

EDWARDS, H.G.M.; VILAR, S.E.J.; JEHLICKA, J.; MUNSHI, T. FT-Raman spectroscopy study of calcium-rich and magnesium-rich carbonate minerals. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 61, p.2273-2280, 2005.

EISENBARTH, E.; VELTEN, D.; BREME, J. Biomimetic implant coating. **Biomolecular Engineering**, v. 24, p. 27-32, 2007.

FEDERMAN, S.R.; COSTA, V.C.; VASCONCELOS, D.C.L.; VASCONCELOS, W.L. SiO₂-CaO biofilm with surface engineered for medical application. In: IV Congresso

Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais (COLAOB 2006), Caxambu, Minas Gerais, **Anais ...** Caxambu: 2006, v. 1 (a).

FEDERMAN, S.R.; COSTA, V.C.; VASCONCELOS, D.C.L.; VASCONCELOS, W.L. Sol-Gel $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ biofilm with surface engineered for medical application. **Materials Research**, v. 10, n. 2, p. 177-181, 2007.

FEDERMAN, S.R.; VASCONCELOS, D.C.L.; VASCONCELOS, W.L. **Processo de obtenção de filme sol-gel com área projetada, artigo e utilização do filme.** Pedido de patente BR 0506229-2, 15/12/2005.

FELICIO-FERNANDES, G.; LARANJEIRA, M.C.M. Calcium phosphate biomaterials from marine algae. Hydrotherman synthesis and characterization. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, p. 441-446, 2000.

FIDALGO, A.; ILHARCO, L.M. The influence of the wet gels processing on the structure and properties of silica xerogels. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 84, p. 229-235, 2005.

FONSECA, K.B.; PEREIRA, H.H.; SILVA, S.N. Avaliação de falhas em implantes metálicos coxo-femoral e joelho retirados de pacientes. **Revista Matéria**, v. 10, n. 3, p. 472-480, 2005.

FUBINI, B. Surface chemistry and quartz hazard. **The Annals of Occupational Hygiene**, v. 42, n. 8, p. 521-530, 1998.

FULONG, Y.; YONGFENG, G.; YINGCHUN, L.; YONDA, Y.; HONGGANG, F.; KAI, C.; XICHUN, L. Micro-fabrication of crystalline silicon by controlled alkali etching. **Journal of Materials Processing Technology**, v. 149, p. 567-572, 2004.

FURUKAWA, K.; OHSUYE, K. **Method for animal cell culture.** US Patent 5.976.833, 02 Nov. 1999.

GADSDEN ARIC, J.A. **Infrared spectra of minerals and related inorganic compounds**. Butterworths & Co, London, 269 p, 1975.

GALLARDO, J.; GALLIANO, P. Bioactive sol-gel coatings for orthopedic prosthesis. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 19, p. 107-111, 2000.

GALLIANO, P.; DAMBORENEA, J. J.; PASCUAL, M. J.; DURÁN, A. Sol-Gel coating on 316L steel for clinical application. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 13, p. 723-727, 1998.

GAN, L.; PILLIAR, R. Calcium phosphate sol-gel-derived thin films on porous-surfaced implants for enhanced osteoconductivity. Part I: Synthesis and characterization. **Biomaterials**, v. 25, p. 5303-5312, 2004.

GARCIA, C.; CERÉ, S.; DURÁN, A. Bioactive coatings prepared by sol-gel on stainless steel 316L. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 348, p. 218-224, 2004.

GARRIDO, O. S. **Sputtering**. Disponível em: <<http://www.icmm.csic.es/fis/espa/sputtering>> . Acesso em: 23/04/2004.

GONZÁLEZ-HERNANDEZ, J.; PÉREZ-ROBLES, J.F. **Superfícies y Vacío**, v. 11, p. 1-16, Diciembre 2000.

GREENSPAN, D.C.; WEST, J.K.; LEE, S.; MEYERS, J.L.; DIAMOND, M. **Anti-inflammatory and antimicrobial uses for bioactive glass compositions**. US Patent 6.756.060, 29 June 2004.

GRIFFIN, A.; MCMILLIN, S.; GRIFFIN, C.; BARTON, K. **Bioceramic RP materials for medical models**. Disponível em: <www.google.com> . Acesso em: 29/11/2004.

GUGLIELMI, M. Sol-Gel coatings on metal. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 8, p. 443-449, 1997.

HALL, S.R.; WALSH, D.; GREEN, D.; OREFFO, R.; MANN, S. A novel route to highly porous bioactive silica gels. **Journal of Material Chemical**, v. 13, p. 186-190, 2003.

HAN, J-H.; MARTIN, S. Size effect of hematite and corundum inclusions on the efflorescence relative humidities of aqueous ammonium nitrate particles. **Journal of Geophysical Research**, v. 107, n. D10, p.3-1 – 3-9, 2002.

HAN, W-T. Synthesis and linear and non-linear optical properties of (0.8PPV + 0.2DMPPV)/silica glass composites by sol-gel process. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 259, p. 107-115, 1999.

HARUVY, Y.; WEBBER, S.E. **Fast sol-gel preparation of glasses**. US Patent 5.272.240, 21 Dec.1993.

HATTAR, S.; ASSELIN, A.; GREENSPAN, D.; OBOEUF, M.; BERDAL, SAUTIER, A. J.-M. Potential of biomimetic surfaces to promote in vitro osteoblast-like cell differentiation. **Biomaterials**, v. 26, p. 839-848, 2005.

HEIDE, G.; MÜLLER, B.; KLOESS, G.; MOSELER, D.; FRISCHAT, G.H. Structural classification of natural non-crystalline silicates. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 323, p. 68-71, 2003.

HEIMANN, R. B. Materials science of crystalline bioceramic: a review of basic properties and applications. **CMU. Journal**, v. 1(1), p. 23-46, 2002.

HENCH, L.L.; VASCONCELOS, W. Gel-Silica Science. **Annual Review Materials Science**, v. 20, p. 269-98, 1990.

HENCH, L.L.; WILSON, J. **An introduction to bioceramics**. Florida. World Scientific.1993. 386p.

HOUSE, W.A. **The physico-chemical conditions for the precipitation on phosphate with calcium**. Disponível em: <www.google.com>. Acesso em: 07/12/2004.

HUANG, Y. et al.; **Advances in sol-gel technology**. Disponível em: <www.ceramicindustry.com/CDA/ArticleInformation/features>. Acesso em: 13 Agosto 2002.

INNOCENZI, P. Infrared spectroscopy of sol-gel derived silica-based films: a spectral-microstructure overview. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 316, p. 309-319, 2003.

IRISH, D.E.; WALRAFEN, G.E. Raman and infrared spectral studies of aqueous calcium nitrate solutions. **The Journal of Chemical Physics**, v. 46, n. 1, p. 378-384, January 1967.

IZQUIERDO-BARBA, I.; CONDE, F.; OLMO, N.; LIZARBE, M.A.; GARCÍA, M.A.; VALLET-REGÍ, M. Vitreous SiO₂-CaO coatings on Ti6Al4V alloys: reactivity in simulated body fluid versus osteoblast cell culture. **Acta Biomaterialia**, v. 2, p. 445-455, 2006.

IZQUIERDO-BARBA, I.; VALLET-REGI, M. The role of precursor concentration on the characteristics of SiO₂-CaO films. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 26, p. 1179-1182, 2003.

JAIN, S.; GOOSSENS, H.; PICCHIONI, F.; MAGUSIN, P.; MEZARI, B.; DUIN, M. Synthetic aspects and characterization of polypropylene-silica nanocomposites prepared via solid-state modification and sol-gel reactions. **Polymer**, v. 46, p. 6666-6681, 2005.

JIANG, G.; SHI, D. **Coating of hydroxyapatite on highly porous Al₂O₃ substrate for bone substitutes**. John Wiley & Sons, Inc. 1998.

JUNG, S.M.; GRANGE, P. Characterization of the surface hydroxyl properties of sepiolite and Ti(OH)₄ and investigation of new properties generated over physical mixture of Ti(OH)₄-sepiolite. **Applied Surface Science**, v. 221, p. 167-177, 2004.

JUNQUEIRA, R.M.R. Caracterização de filmes finos de coloração por interferência em aços inoxidáveis. 2004. **Tese** (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Minas) Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.

KANNAN, S; BALAMURUGAN, A.; RAJESWARI, S. Development of calcium phosphate coating on type 316L SS and their in vitro response. **Trends Biomaterial Artificial Organs**, v. 16(1), p. 8-11, 2002.

KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C. A.; REIS, R. R. dos; ALVES, O. L. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n.4, p. 518-522, 2000.

KHUMMALAI, N.; BOONAMNUAYVITAYA, V. Suppression of arsenopyrite surface oxidation by sol-gel coatings. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, n. 3, v. 99, p. 277-284, 2005.

KIM, H-M. Ceramic bioactivity and related biomimetic strategy. **Current Opinion in Solid State and Material Science**, v. 7, p. 289-299, 2003.

KING, M.D.; FISHER, F.N.; THOMPSON, K.C.; WARD, A.D. Reactions on atmospheric mineral aerosol. **Central Laser Facility Annual Report**, p. 135-136, 2005.

KLEIN, L.C. **Sol-Gel Technology for thin films, fibers, preforms, electronics, and speciality shapes**. ISBN:0-8155-1154-X, Published by Noyes Publications, Park Ridge, New Jersey, 405p, 1988.

KOKUBO, T.; KUSHITANI, H.; SKKA, S. Solutions able to reproduce *in vivo* surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 24, p. 721-734, 1990.

KUKOVECZ, A.; KÓNYA, Z.; KIRICSI, I.; An FT-IR and UV-VIS study on the structure and acidity of sol-gel derived silica foam. **Journal of Molecular Structure**, v. 563-564, p. 409-412, 2001.

KWON, J.O.; SEOK, S.II.; JUNG, D. Annealing effect on photoluminescence properties of Er doped Al₂O₃-SiO₂ sol-gel films. **Journal of Non Crystalline Solids**, v. 352, p. 2841-2845, 2006.

LANDAU, L.; LEVICH, B.; Dragging of a liquid by a moving plate. **Acta Physicochimica**. URSS, Moscou, p. 42-54, 1942.

LANGE, R.; LÜTEN, F.; BECK, U.; RYCHLY, J.; BAUMANN, B.; NEBE, B. Cell-extracellular matrix interaction and physico-chemical characteristics of titanium surfaces depend on the roughness of the material. **Biomolecular Engineering**, v. 19, p. 255-261, 2002.

LANGE, R.S.A.; HEKKINK, J.H.A.; KEIZER, K; BURGGRAAF, A.J. Polimeric-silica based sols for membrane modification applications: sol-gel synthesis and characterization with SAX. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 191, p. 1-16. 1995.

LAUDISIO, G. Sol-Gel synthesis and crystallization of $3\text{CaO}\cdot 2\text{SiO}_2$ glassy powders. **Thermochimica Acta**, v. 370, p. 119-124, 2001.

LEITE, D.C.; VASCONCELOS, W.L. Desenvolvimento de equipamento de dip-coating e obtenção de filmes de sílica em substratos metálicos. **Anais do 1º Simpósio Nacional de Vidros**, São Paulo, 1995.

LENZA, R.F.S.; VASCONCELOS, W.L. Structural evolution of silica sols modified with formamide. **Materials Research**, v. 4, p. 175-179, 2001.

LI, P.; TODD, S. **Surface mineralized spinal implants**. European Patent Application EP 1.348.452 A1, 01 Oct. 2003.

LIMA, P.T.; BERTRAN, C.A.; THIM, G.P. Rotas de síntese e a homogeneidade dos precursores de mulita e cordierita. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 5, P.608-613, 1998.

LIU, J.; MIAO, X. Sol-Gel derived bioglass as a coating material for porous alumina scaffolds. **Ceramics International**, v. 30, p. 1781-1785, 2004.

MACKENZIE, J. D.; BESCHER, E.P.; Physical Properties of Sol-Gel Coating. **Journal of Sol-Gel Science and Technology** v. 19, p. 23-29, 2000.

MACKENZIE, J.D. Sol-Gel research – achievements since 1981 and prospects for the future. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 26, p. 23-27, 2003.

MAMMERI, F.; BOURHIS, E.L.; ROZES, L.; SANCHEZ, C. Elaboration and mechanical characterization of nanocomposites thin films. Part I: Determination of mechanical properties of thin films prepared by in situ polymerization of tetraethoxysilane in poly(methyl methacrylate). **Journal of European Ceramic Society**, v. 26, p. 259-266, 2006.

MARTINEZ-RAMIREZ, S.; SANCHEZ-CORTES, S.; GARCIA-RAMOS, J.V.; DOMINGO, C.; FORTES, C.; BLANCO-VARELA, M.T. Micro-Raman spectroscopy applied to depth profiles of carbonates formed in lime mortar. **Cement and Concrete Research**, v. 33, p. 2063-2068, 2003.

MASSIOT, P.; CENTENO, M.A.; CARIZOSA, I.; ODRIEZOLA, J.A. Thermal evolution of sol-gel-obtained phosphosilicate solids (SiPO). **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 292, p. 158-166, 2001.

MASSIOT, P.; CENTENO, M.A.; CARRIZOSA, I.; ODRIEZOLA, J.A. Thermal evolution of sol-gel obtained phosphosilicate solids (SiPO). **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 292, p. 158-166, 2001.

MAVROPOULOS, E. A hidroxiapatita como absorvedor de metais. **Mestrado** (Fundação Oswaldo Cruz), Escola Nacional de Saúde Pública, 1999.

MELLING, P.J.; SHELLEY, P.H. **Spectroscopic accessory for examining films and coatings on solid surface**. US Patent 6.310.348, 30 Oct. 2001.

MESSADEQ, S.H.; PULCINELL, S.H.; SANTILLI, C.V.; GUASTALDI, A.C.; MESSADDEQ, Y. Microstructure and corrosion resistance of inorganic-organic (ZrO₂-PMMA) hybrid coating on stainless steel. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 247, p. 164-170, 1999

MINAMI, T.; TATSUMISAGO, M.; TADANAGA, K. **Article having predetermined surface shape and method for production thereof.** EP Patent 1.174.258, 23 Jan. 2002.

MITCHELL, P.C.H.; PARKER, S.F.; SIMKISS, K.; SIMMONS, J.; TAYLOR, M.G. Hydrated sites in biogenic amorphous calcium phosphates: an infrared, Raman, and inelastic neutron scattering study. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 62, p. 183-197, 1996.

MORITZ, N.; ROSSI, S.; VEDEL, E.; TIRRI, T.; YLÄNEN, H.; ARO, H; NÄRHI, T. Implants coated with bioactive glass by CO₂-laser, na in vivo study. **Journal of Materials Science in Medicine**, v. 15, p. 795-802, 2004.

NEWSON, T. **Stainless steel – a family of medical device materials.** Business Briefing Medical Device Manufacturing & Technology, 2002.

NICOLODI, L.; SJÖLANDER, E.; OLSSON, K. **Biocompatible ceramics – an overview of application and novel materials.** Disponível em: <www.google.com>. Acesso em: 25/11/2004.

NIEDERAUER, G.; KIESWETTER, K.; LEATHERBURY, N. C.; GREENSPAN, D. C. **Biodegradable implant material comprising bioactive ceramic.** US Patent 6.344.496, 5 Feb. 2002.

NOCUN, M.; SIWULSKI, S.; LEJA, E.; JEDLINSKI, J. Structural studies of TEOS-tetraethoxytitanate based hybrids. **Optical Materials**, v. 27, p. 1523-1528, 2005.

OBANA, S.; TANAKA, K.; TANAKA, H.; TSUJIMOTO, A.; TAMARU, H.; TAKAHAMA, K. **Method of forming thin film on glass substrate and glass substrate coated with thin film.** European Patent EP (A1) 1.564.192, 17 Aug. 2005.

OJAMÄE, L.; AULIN, C.; PEDERSEN, H.; KÄLL, P.O. IR and quantum-chemical studies of carboxylic acid and glycine adsorption on rutile TiO₂ nanoparticles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 296, n. 1, p. 71-78, 2006.

OLIVEIRA, M.F. Estudo da influência de organo-silanos na resistência à corrosão de aço-carbono por meio de técnicas eletroquímicas. **Tese** (Escola Politécnica da Universidade de São Paulo), São Paulo, 2006.

ORÉFICE, R.L.; BRENNAN, A. Controlled modification of the structure of polymer surfaces by chemically grafting inorganic species. **Materials Research**, v. 2; n. 3; p.153-157, 1999.

ORÉFICE, R.L.; HENCH, L.L.; BRENNAN, A.B. In vitro bioactivity of polymer matrices reinforced with a bioactive glass phase. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 1, p. 78-85, 2000.

ORTEGA-ZARZOSA, G.; MARTINEZ, J.R.; DOMÍNGUEZ-ESPINÓS, O.; RUIZ, F.; MATUTES-AQUINO, J.A. Formation of copper-based particles trapped in a silica xerogel matrix. **Superfícies y Vacío**, v. 11, p. 61-65, 2000.

PACHOAL, A.L. Avaliação da resistência à corrosão em meio fisiológico de metais revestidos com nitreto de titânio. **Dissertação** (Universidade de São Paulo), São Paulo, 1998.

PADILLA, S.; ROMÁN, J.; CARENAS, A.; VALLET-REGI, M. The influence of the phosphorus content on the bioactivity of sol-gel glass ceramics. **Biomaterials**, v. 26, p. 475-483, 2005.

PEREIRA, A.P.V.; VASCONCELOS, W.L.; ORÉFICE, R.L. Novos biomateriais: híbridos orgânico-inorgânicos bioativos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 104-109, Out/Dez 99.

PÉREZ-ALONSO, M.; CASTRO, K.; ÁLVAREZ, M.; MADARIAGA, J.M. Scientific analysis versus restorer's expertise for diagnosis prior to a restoration process: the case of Santa Maria Church (Hermo, Asturias, North of Spain). **Analytica Chimica**, v. 524, p. 379-389, 2004.

PETROSYAN, H.A.; KARAPETYAN, A.M.; PETROSYAN, A.M. L-Histidine nitrates. **Journal of Molecular Structures**, v. 794, n. 1-3, p. 160-167, 2006.

PRIMEAU, N.; VAUTEY, C.; LANGLET, M. The effect of thermal annealing on aerosol-gel deposited SiO₂ films: a FTIR deconvolution study. **Thin Solid Film**, v.3 0, p. 47-56, 1997.

PUGH, S. M.; SMITH, T. J. N.; SAYER, M.; LANGSTAFF, S. D. **Synthetic biomaterial compound of calcium phosphate phases particularly adapted for supporting bone cell activity**. US Patent 6.585.992, 01 Jul. 2003.

QUAY, S.C.; CONSTANTINO, H.R.; KLEPPE, M.S.; LI, C.Y. **Compositions and methods for enhanced mucosal delivery of parathyroid hormone**. US Patent 7.244.709, 17 Jul. 2007.

QUE, W.; SUN, Z.; ZHOU, J.; LAM, Y L.; CHAN, Y.C.; KAM, C.H. Optical and mechanical properties of TiO₂/SiO₂/organically modified silane composite films prepared by sol-gel processing. **Thin Solid Films**, v. 359, p. 177-183, 2000.

QUEIROZ, A.C.; SANTOS, J.D.; MONTEIRO, F.J.; PRADO DA SILVA, M.H. Dissolution studies of hydroxyapatite and glass-reinforced hydroxyapatite ceramics. **Materials Characterization**, v. 50, p. 197-202, 2003.

RAMANAN, S.R.; VENKATESH, R. A study of hydroxyapatite fibers prepared via sol-gel route. **Materials Letter**, v. 58, p. 3320-3323, 2004.

RAMBO, C.R.; MÜLLER, F.A.; SIEBER, H.; HOFMANN, I.; GREIL, P. Biomimetic apatite coating on biomorphous alumina. **Materials Science and Engineering C**, v. 26, p. 92-99, 2006.

RAMS, J.; UREÑA, A.; LÓPEZ, M.D.; LÓPEZ, A.J. Characterization of multilayered sol-gel silica coatings on aluminium-SiC composites. **Surface & Coatings Technology**, v. 20, p. 3715-3722, 2006.

RENAUDIN, G.; RAPIN, J-P.; HUMBERT, B.; FRANÇOIS, M. Thermal behavior of nitrated AFM phase $\text{Ca}_4\text{Al}_2(\text{OH})_{12}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{Ca}_4\text{Al}_2(\text{OH})_{12}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. **Cement and Concrete Research**, v. 30, p. 307-314, 2000.

RICH, J. In vitro characterization of bioresorbable polymers and composites for drug delivery and bone replacement. **Tese (Doutorado)** Department of Chemical Technology, Helsinki University of Technology, 26 Sep.2002.

RICHTER, A.; SMITH, R.; RIES, R. Growth and morphology of biological thin films. **Applied Surface and Science**, v. 144-145, p. 419-424, 1999.

RIGO, E.C.S.; OLIVEIRA, L.C.; SANTOS, L.A.; BOSH, A.O.; CARRODEGUAS, R.G. Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 15, n. 1-2, p. 21-29, jan/ago 1999.

RODRIGUEZ, R.; ROJAS, G.; ESTEVEZ, M.; VARGAS, S. Fractal characterization of silica sol prepared by the sol-gel method: from the sol formation to the flocculation process. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 23, p. 99-105, 2002.

ROSA, A.L.; BELOTI, M.M.; van NOORT, R.; HATTON, P.V.; DEVLIN, A.J. Surface topography of hydroxyapatite affects ROS 17/2.8 cells response. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 16, n. 3, p. 209-215, July/Sept. 2002.

SAIZ, E.; GOLDMAN, M.; GOMEZ-VEGA, J.M.; TOMSIA, A.P.; MARSHALL, G.W.; MARSHALL, S.J. In vitro behavior of silicate glass coatings on Ti6Al4V. **Biomaterials**, v. 23, p. 3749-3756, 2002.

SALINAS, A.J.; VALLET-REGI, M.; IZQUIERDO-BARBA, I. Biomimetic apatite deposition on calcium silicate gel glasses. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 21, p. 13-25, 2001.

SANTOS, M.H.; VALERIO, P.; GOES, A.M.; LEITE, M.F.; HENEINE, L.G.D.; MANSUR, H.S. Biocompatibility evaluation of hydroxyapatite/collagen nanocomposites doped with Zn^{2+} . **Biomedical Materials**, v. 2, p. 135-141, 2007.

SARANGAPANI, S.; CALVERT, P.D. **Biomimetic calcium phosphate implant coatings and methods for making the same**. US Patent 6.129.928, 10 Oct. 2000.

SARAVANAPAVAN, P.; HENCH, L. Low-temperature synthesis, structure, and bioactivity of gel-derived glasses in the binary CaO-SiO₂ system. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 54, p. 608-618, 2001.

SARAVANAPAVAN, P.; HENCH, L. Mesoporous calcium silicate glasses I. Synthesis. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 318, p. 1-13, 2003.

SCARLETTE, T.L. **Abrasion resistant coating**. PCT Patent, WO 00/52105, 08 Sep. 2000.

SECKLER, M.M.; DANESE, M.; DERENZO, S.; VALARELLI, J.V. Influence of process conditions on hydroxyapatite crystallinity obtained by direct crystallization. **Materials Research**, v. 2, n.2, p. 59-62, 1999.

SEPULVEDA, P.; HENCH, L. Bioactive hierarchical structures for genetic control of bone morphogenesis. **Materials Research**, v. 5; p. 243-246, 2002.

SERRA, J.; GONZÁLEZ, P.; LISTE, S.; SERRA, C.; CHIUSSI, S.; LEÓN, B.; PÉREZ-AMOR, M.; YLÄNEN, H.O.; HUPA, M. FTIR and XPS studies of bioactive silica based glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 332, p. 20-27, 2003.

SHINMO, K.; NAKAMA, K. **Article having uneven surface, production process for the article, and composition for the process**. US Patent US 6.361.718, 26 Mar. 2002.

SILVA, V.V.; LAMEIRAS, F.S.; DOMINGUES, R.Z. Synthesis and characterization of calcia partially stabilized zirconia-hydroxyapatite powders prepared by co-precipitation method. **Ceramics International**, v. 27, p. 615-620, 2001.

SIMPSON, L.J. Electrochemically generated CaCO_3 deposits on iron studied with FTIR and Raman spectroscopy. **Electrochimica Acta**, v. 43, p. 2543-2547, 1998.

SITARZ, M.; HANDKE, M.; FOJUD, Z.; JURGA, S. Spectroscopic studies of glassy phospho-silicate materials. **Journal of Molecular Structure**, v. 744-747, p. 621-626, 2005.

SONG, Y.; HAHN, H.H.; HOFFMANN, E. The effects of pH and Ca/P on the precipitation of calcium phosphate. Disponível em: <www.google.com> . Acesso em: 28/11/2004.

SOUCEK, M.D.; WOLD, C.R. **Ceramer coating composition**. US Patent, 6.096.437, 01 Aug. 2000.

SOUTAR, A.; FOKKINK, B.; XIANTING, Z.; SU NEE, T.; WU, L. Sol-Gel anti-reflective coatings. **SIMTech Technical Report** (PT/01/002/ST), Surface Technology Group, Process Technology Division, 2001.

SPITSBERG, I. T.; PUTYERA, K. Depth profile and quantitative trace element analysis of diffusion aluminided type layers on Ni-base superalloys using high-resolution glow discharge mass spectrometry. **Surface and Coatings Technology**, v. 139, p. 35-43, 2001.

SWARTZ, S.; L.; MELLING, J. **Process for making sol-gel deposited ferroelectric thin films insensitive to their substrates**. US Patent 5.198.269, 30 May 1993.

SZUMERA, M.; WACLAWSKA, I.; MOZGAWA, W.; SITARZ, M. Spectroscopic study of biologically active glasses. **Journal of Molecular Structure**, v. 744-747, p. 609-614, 2005.

TAKAGI, Y.; SUZUKI, K. Quantitative surface analysis of Al-Mg-(Si) alloys by glow discharge optical emission spectroscopy. **Applied Surface Science**, v. 141, p. 177-185, 1999.

TAKAHASHI, K.; HAYAKAWA, M.Y.; HARA, H.; MOCHIZUKI, C.; SATO, M.; NEMOTO, K. Molecular precursor method for thin calcium phosphate coating on titanium. **Thin Solid Films**, v. 484, p. 1-9, 2005.

TATSCH, P. J. **Deposição de filmes finos**. Disponível em: <www.google.com>. Acesso em: 03/03/2005.

TEBECHERANI, C.T.P. **Aços Inoxidáveis**. Disponível em: <www.google.com>. Acesso em: 08/10/2004.

THAMARAISELVI, T.V.; RAJESWARI, S. Biological evaluation of bioceramic materials – review. **Trends Biomaterial Artificial Organs**, v. 18, n. 1, p. 9-17, 2004.

TROCZYNSKI, T.; YANG, Q. **Process for making chemically bonded sol-gel ceramic**. US Patent 6.284.682, 04 Sept. 2001.

TSUTOMU, M.; TATUSMISAGO, M.; TADANAGA, K.; MATSUDA, A.; HORI, M.; NAKAMURA, K; et al. Article having a predetermined surface shape and method for preparation. US Patent 6.849.350, 1 Feb. 2005.

VALLAT-SAUVAIN, E.; KROLL, U.; MEIER, J.; WYRSCH, N.; SHAH, A. Microstructure and surface roughness of microcrystalline silicon prepared by very high frequency-glow discharge using hydrogen dilution. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 266-269, p. 125-130, 2000.

VALLET-REGÍ, M. Ceramics for medical applications. **Journal Chemical Society, Dalton Transactions**, The Royal Society of Chemistry, p. 97-108, 2001.

VAN DE LEEST, R.; LUYTEN, J. **Sol-Gel modified gel casting of ceramic powders**. **European Patent EP 1.132.359**, 19 Set. 2001.

VAN DER WAL, E. **Bioactivity and surface reactivity of RF-sputtered calcium phosphate thin films**. Disponível em: <www.google.com> . Acesso em: 12/11/2004.

VAN VLACK, L.H. **Princípios de Ciência e Tecnologia dos Materiais**. Tradução em língua portuguesa da 4ª edição. Editora Campus Ltda. Rio de Janeiro. 1984. 566p.

VASCONCELOS, D.C.L. Compósitos de aços silício de grão não-orientado e aços inoxidáveis com filmes de magnésia, alumina, sílica e titânia preparados via sol-gel. 2003. **Tese** (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Minas) Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, abril de 2003.

VASCONCELOS, W.L. Características de géis de sílica, alumina e mulita depositados em substratos metálicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CERÂMICA, 39, São Paulo, 1995. **Anais ...** São Paulo:ABC, 1995, v. 1, p.27.

VERCIK, L.C. de O; DE ASSIS, C.M.; LIA FOOK, M.V.; DOS SANTOS, M.L.; GUASTALDI, A.C. Recobrimento de apatita “in vitro” sobre titânio – influência do tratamento térmico. **Eclética Química**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 25-31, 2003.

VERRIER, S.; BLAKER, J.J.; MAQUET, V.; HENCH, L.; BOCCACCINI, A.R. PDLA/Bioglass ® composites for soft-tissue and hard-tissue engineering: an in vitro cell biology assessment. **Biomaterials**, v. 25, p. 3013-3021, 2004.

VIITALA, R.; JOKINEN, M.; MAUNU, S.L.; JALONEN, H.; ROSENHOLM, J.B. Chemical characterization of bioresorbable sol-gel derived SiO₂ matrices prepared at protein-compatible pH. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 351, p. 3225-3234, 2005.

WANG, H.; LUO, H. **Compositions and methods for the prevention and removal of biofilms on inert and biological surfaces**. US Patent 2007/0059295 A1, 15 Mar. 2007.

WANG, H.Y.; DEEMAN, N.; GAUZNER, G. **Defect-free patterning of sol-gel coated substrate for magnetic recording media**. US Patent 6.623.788 B1, 23 Sep. 2003.

WILKES, G.L.; WEN, J.; JORDENS, K.J. **High abrasion resistant coating material**. US Patent 6.072.018, 06 Jun. 2000.

WILLIAMS, D.F. Biomaterials and tissues engineering in reconstructive surgery. **Sādhanā**, v.28, parts 3& 4, June/August 2003 (publicado na Índia).

XU, Y.; AXE, L. Synthesis and characterization of iron oxide-coated silica and its effect on metal adsorption. **Journal of Colloidal and Interface Science**, v. 282, p. 11-19, 2005.

YAN, Y.; HAN, Y. Structure and bioactivity of micro-arc oxidized zirconia films. **Surface & Coatings Technology**, v. 201, p. 5692-5695, 2007.

YEH, J.M.; WENG, C.J.; LIAO, W.J.; MAU, Y.W. Anticorrosively enhanced PMMA-SiO₂ hybrid coatings prepared from the sol-gel approach with MSMA as the coupling agent. **Surface & Coatings Technology**, v. 201, p. 1788-1795, 2006.

YURONG C.; LIAN, Z. Effect of thermal treatment on the microstructure and mechanical properties of gel-derived bioglass. **Materials Chemistry and Physics**. v. 94, p. 283-287, 2005.

ZHANG, W.; WANG, C.; LIU, W. Characterization and tribological investigation of sol-gel ceramic films on Ti-6Al-4V. **Science Direct Wear**, v. 260, p.379-386, 2006.

ZHONG, J.; GREENSPAN, D.C. **Bioactive sol-gel compositions and method**. US Patent 6.171.986, 9 Jan. 2001.

ZHU, A.; LU, P.; WU, H. Immobilization of poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene oxide)-poly(ϵ -caprolactone) triblock copolymer on poly(lactide-co-glycolide) surface and dual biofunctional effects. **Applied Surface Science**, v. 253, p. 3247-3253, 2007.

ZHU, P.X.; MASUDA, Y; KOUMOTO, K. Site-selective adhesion of hydroxyapatite microparticles on charged surfaces in a supersaturated solution. **Journal of Colloidal and Interface Science**, v. 243, p. 31-36, 2001.