

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Escola de Engenharia

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais

PPGE3M

**Anodização assistida por plasma (PEO) em liga de Ti6Al4V obtida por  
manufatura convencional e manufatura aditiva (DMLS), para aplicação  
biomédica**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Eng. Pedro Bell Santos

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Célia de Fraga Malfatti

Porto Alegre

2022

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Escola de Engenharia

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais

PPGE3M

**Anodização assistida por plasma (PEO) em liga de Ti6Al4V obtida por  
manufatura convencional e manufatura aditiva(DMLS), para aplicação  
biomédica**

Pedro Bell Santos

Engenheiro Mecânico

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Pesquisa em Corrosão – LAPEC, da Escola de Engenharia da UFRGS, dentro do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais – PPGE3M, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia

Área de Concentração: Ciência e Tecnologia dos Materiais

Porto Alegre – RS

2022

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de mestre em engenharia, área de concentração ciência e tecnologia dos materiais e avaliada em sua forma final, pela orientadora e pela banca examinadora do curso de pós-graduação.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Célia de Fraga Malfatti

Banca examinadora:

Dr. Joel da Silva Rodrigues, CH-CTMECAT, IFSUL.

Dr<sup>a</sup>. Estela Kerstner Baldin, IPEN/CNEN.

Dr. Roberto Moreira Schroeder, DMET, UFRGS.

Dr<sup>a</sup>. Natasha Maurmann, Faculdade de Farmácia, UFRGS.

*Dedico este trabalho à minha família, aos meus amigos e colegas por todo o suporte durante esse intenso e árduo trabalho realizado com tanto esmero e orgulho.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais Gisele Galileo Bell e Marco Aurélio Ribeiro dos Santos, à minha avó Terezinha Galileo Bell, aos meus irmãos Luísa Bell Santos e Vitor Colombo Nunes e à minha tia avó Maria Helena Mainieri Galileo que despertou o meu interesse pela ciência e pela pesquisa. A todos agradeço pelos momentos de compreensão, apoio, amor e carinho.

A todos os amigos que se fizeram presentes durante este período apoiando, motivando e proporcionando momentos de descontração. Em especial ao amigo, e colega, Matheus Thedy Dornelles que esteve ao meu lado nesta caminhada rumo ao título de Mestre, sempre de forma descontraída e profissional. Ao ex-colega, e amigo, Eduardo Catellan que mesmo à distância se fez presente nas conquistas alcançadas durante este período. Ao meu irmão de coração, Vitor Colombo Nunes, que sempre esteve presente apoiando e motivando, sendo fundamental para que eu alcançasse esta conquista.

Agradeço à Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Célia de Fraga Malfatti pela confiança, infinita cobrança e motivação para que me tornasse, não só, um pesquisador e mestre, mas também uma pessoa melhor durante o trabalho desenvolvido e pela orientação, implacável, em cada etapa desta dissertação.

Agradeço ao Laboratório de Pesquisa em Corrosão (LAPEC), ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalurgia e de Materiais e a Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela oportunidade de realizar o mestrado e continuar fomentando a pesquisa e desenvolvimento tecnológico, mesmo num momento tão difícil para a ciência brasileira.

Aos colegas de profissão e laboratório, em especial, Estela Kerstner Baldin pelo aprendizado e parceria nos trabalhos que compõem esta dissertação, ao Victor Velho de Castro parceiro de escrita, publicações e estudos tribológicos, sempre incansável em busca de publicações e conhecimento, aos colegas Leo Marasca Antonini, Joel da Silva Rodrigues, Tobias Eduardo Schmitzhaus, Louise Brasil, Edna Jerusa Pacheco Sampaio, Adilar Gonçalves dos Santos Júnior, Leandro Noronha, Martina Cadorin pela ajuda, momentos de descontração e o sagrado café.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	4
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	5
<b>3.1. Biomateriais</b> .....	5
<b>3.1.1. Classificação dos biomateriais</b> .....	6
<b>3.2. Titânio e suas ligas</b> .....	6
<b>3.2.1. Ti-6Al-4V</b> .....	7
<b>3.2.2. Titânio em aplicações médicas</b> .....	8
<b>3.2.3. Tratamentos superficiais para Ti e suas ligas</b> .....	10
<b>3.3. Manufatura aditiva (MA)</b> .....	12
<b>3.3.1. Classificação das técnicas de MA</b> .....	13
<b>3.3.2. Sinterização Direta de Metal por Laser (DMLS)</b> .....	14
<b>3.3.3. Manufatura aditiva na biomedicina</b> .....	15
<b>3.4. Anodização Assistida por Plasma (PEO)</b> .....	16
<b>3.4.1. Fenômeno de crescimento do revestimento e mecanismos de formação</b> .....	17
<b>3.4.2. Influência do Eletrólito no processo PEO</b> .....	20
<b>3.4.3. Influência dos parâmetros elétricos</b> .....	22
<b>3.4.4. Aplicações em biomateriais</b> .....	24
<b>3.5. Desgaste</b> .....	30
<b>3.5.1. Superfície em Contato</b> .....	31
<b>3.5.2. Desgaste Adesivo</b> .....	32
<b>3.5.3. Desgaste Abrasivo</b> .....	33
<b>3.5.4. Fadiga Superficial por Desgaste</b> .....	35
<b>3.5.5. Desgaste por corrosão</b> .....	36
<b>3.5.6. Desgaste erosivo</b> .....	37
<b>3.5.7. Resistência ao Desgaste</b> .....	38
<b>3.6. Propriedades Físico-química de superfície para aplicação biomédica</b> .....	39
<b>3.6.1 Rugosidade</b> .....	39
<b>3.6.2 Molhabilidade</b> .....	40
<b>3.6.3 Interação célula-substrato</b> .....	42
<b>3.6.4 Adesão Celular</b> .....	43
<b>3.6.5 Osseointegração</b> .....	46
<b>3.7 Células-Tronco (CTs)</b> .....	47
<b>3.7.1. Células-Tronco Mesenquimais (CTMs)</b> .....	48

<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	49
<b>4.1. Materiais Empregados</b> .....	Erro! Indicador não definido.
<b>4.2. Métodos Empregados</b> .....	Erro! Indicador não definido.
<b>4.2.1. Preparação do substrato metálico de Ti-6Al-4V (manufatura convencional e manufatura aditiva)</b> .....	Erro! Indicador não definido.
<b>4.2.2. Processo PEO</b> .....	51
<b>4.2.3. Caracterização dos revestimentos PEO</b> .....	52
<b>4.3. Obtenção e caracterização das células-tronco mesenquimais</b> .....	53
<b>4.4. Ensaios de indução osteogênica</b> .....	54
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	55
<b>5.1. Revestimentos obtidos pelo processo PEO em amostras de Ti-6Al-4V produzidas por metalurgia convencional (laminada)</b> .....	55
<b>5.1.1. Conclusões Parciais</b> .....	74
<b>5.2. Revestimentos obtidos por PEO sobre liga Ti-6Al-4V ELI produzida por manufatura aditiva</b> .....	76
<b>5.2.1. Conclusões Parciais</b> .....	86
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	88
<b>7. TRABALHOS FUTUROS</b> .....	90
<b>8. TRABALHOS PUBLICADOS</b> .....	90
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICOS</b> .....	91

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Características que fazem o titânio (Ti) interessante para aplicações biomédicas. ....	9
<b>Figura 2.</b> Esquema do fenômeno de microdescargas elétricas e microestrutura do revestimento desenvolvido durante o processo PEO. Adaptado de Jiang e Wang [66]. ....	18
<b>Figura 3.</b> Superfícies em contato, L a carga aplicada. Adaptado de Sethuramiah et al. [99]. ....	32
<b>Figura 4.</b> Modelo de dois e três corpos em desgaste abrasivo. Adaptado de Stachowiak e Batchelor [112]. ....	34
<b>Figura 5.</b> Mecanismos de desgaste abrasivo: a) microcorte, b) microfratura, c) fadiga por microsulcamento, d) Grain pull-out. Adaptado de Stachowiak e Batchelor [112]. ....	35
<b>Figura 6.</b> Modelos de interação entre o agente corrosivo e uma superfície desgastada. Adaptado de Stachowiak e Batchelor [112]. ....	37
<b>Figura 7.</b> Ensaio de desgaste com configuração ball-on-plate. Adaptado de Abdelbary et al. [122]. ....	39
<b>Figura 8.</b> Fluxograma da metodologia utilizada para as amostras de metalurgia convencional de Ti-6Al-4V. ....	49
<b>Figura 9.</b> Fluxograma da metodologia utilizada para as amostras provenientes de manufatura aditiva de Ti-6Al-4V. ....	50
<b>Figura 10.</b> Imagens obtidas por MEV/FEG do substrato antes do processo eletroquímico (a) e dos revestimentos elaborados por PEO em 200V (b, c) e 300V (d, e). ....	56
<b>Figura 11.</b> Imagens obtidas por MEV/FEG das amostras cortadas transversalmente para análise da espessura de camada, (a) Ti-PEO <sub>200V</sub> e (b) Ti-PEO <sub>300V</sub> . ....	58
<b>Figura 12.</b> Mapeamento da composição química por EDS e análises de RBS dos revestimentos, (a) Ti-PEO <sub>200V</sub> e (b) Ti-PEO <sub>300V</sub> . ....	59
<b>Figura 13.</b> Difrátogramas de raios-X dos revestimentos obtidos por PEO. ....	60
<b>Figura 14.</b> Valores de ângulo de contato encontrados para os revestimentos obtidos por PEO. 61	
<b>Figura 15.</b> Coeficiente de atrito (COF) dos revestimentos obtidos por PEO em função do tempo (carga de 1N, frequência de 1Hz e comprimento de trilha de 5,0mm, utilizando uma esfera de zircônia estabilizada com ítria como contra corpo. ....	63
<b>Figura 16.</b> Análises de MEV das trilhas de desgaste após ensaios tribológicos e seus respectivos mapas de EDS. ....	66
<b>Figura 17.</b> MEV/EDS das esferas utilizadas durante os ensaios tribológicos dos revestimentos obtidos por PEO. ....	67
<b>Figura 18.</b> Imagens dos revestimentos das amostras Ti-PEO <sub>200V</sub> e Ti-PEO <sub>300V</sub> e do perfil das trilhas obtidas por interferometria óptica, após ensaio de desgaste por abrasão. ....	68
<b>Figura 19.</b> Evolução da liberação de Ca e P em função do tempo de imersão em solução DMEM (análise realizada por ICP-MS). ....	69
<b>Figura 20.</b> Fluorescência de resofurina das CTMs na amostra revestida e nos controles. ....	70
<b>Figura 21.</b> Os resultados do ensaio de resofurina das CTMs em cada condição de amostra em 11, 14, 18 e 25 dias. * = p < 0,05 entre amostras MIO entre cada tempo; # = p < 0,05 entre amostras basais em cada tempo. N = 6. ....	71
<b>Figura 22.</b> Análise MEV de células CTM's em meio basal em: amostras de revestimento de Ti-PEO <sub>200V</sub> nos dias 5 (a), 14 (c) e 25 (e); em amostras não revestidas nos dias 5 (b), 14 (d) e 25 (f). Ampliação de 500x e 2000x. ....	72
<b>Figura 23.</b> Atividade de FA normalizada pelo conteúdo de proteína total de CTMs em amostras revestidas e não revestidas nos dias 18 e 25. * = p < 0,05 entre a mesma amostra em dois pontos de tempo. N = 3. ....	74
<b>Figura 24.</b> Imagens MEV/FEG da morfologia superficial dos revestimentos obtidos por PEO. 77	

<b>Figura 25.</b> Microestruturas da liga Ti-6Al-4V fabricada por laminação (a) e fabricada por manufatura aditiva (DMLS).....	78
<b>Figura 26.</b> Imagens de MEV/FEG da morfologia transversal dos revestimentos obtidos por PEO e espectrogramas de superfície EDS.....	79
<b>Figura 27.</b> Difractogramas de raios-X de ângulo rasante (GIDRX) para os revestimentos obtidos por PEO.....	80
<b>Figura 28.</b> Valores de ângulos de contato e rugosidade superficial mensurados para os revestimentos obtidos por PEO e para o substrato metálico. ....	81
<b>Figura 29.</b> Coeficiente de atrito (COF) dos revestimentos obtidos por PEO em função do tempo.....	82
<b>Figura 30.</b> MEV das trilhas de desgastes geradas durante o ensaio de desgaste.....	84
<b>Figura 31.</b> MEV das esferas usadas durante os testes tribológicos dos revestimentos obtidos (A) TiMA-PEO <sub>200V</sub> , (B) TiMA-PEO <sub>250V</sub> , (C) TiMA-PEO <sub>300V</sub> .....	85

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Técnicas de modificação superficial visando aplicações biomédicas de Ti e suas ligas. ....	11
<b>Tabela 2.</b> Classificação das tecnologias de MA de acordo com o princípio de processamento, adaptado de Volpato e Carvalho [53]. ....	13
<b>Tabela 3.</b> Parâmetros de diferentes processos PEO e as características dos revestimentos obtidos para aplicações biomédicas. ....	27
<b>Tabela 4.</b> Parâmetros de processo usados para fabricação das amostras produzidas por DMLS da liga Ti-6Al-4V. ....	50
<b>Tabela 5.</b> Descrição das amostras empregadas na primeira e segunda partes do estudo. ....	51
<b>Tabela 6.</b> Propriedades superficiais, espessura de camada e porosidade dos revestimentos obtidos por PEO. ....	57
<b>Tabela 7.</b> Percentual atômico dos elementos constituintes dos revestimentos obtidos por PEO, por análise de RBS. ....	59
<b>Tabela 8.</b> Tempo de rompimento e taxa de desgaste avaliada após ensaio de desgaste abrasivo na configuração ball-on-plate para revestimentos PEO. ....	67
<b>Tabela 9.</b> Propriedades superficiais dos revestimentos obtidos por PEO em Ti-6Al-4V fabricados por manufatura aditiva. ....	76
<b>Tabela 10.</b> Tempo de ruptura e a taxa de desgaste avaliados após o teste de desgaste abrasivo na configuração ball-on-plate. ....	85

## LISTA DE ABREVIATURAS

AC	Corrente Alternada
ASCs	do inglês <i>Adult Stem Cells</i>
ALP	do inglês <i>Alkaline phosphatase</i>
ASTM	<i>American society for testing and materials</i>
BCC	Estrutura cristalina cúbica de corpo centrado
BCM	do inglês <i>Basal Culture Media</i>
CAD	Desenho Assistido por Computador
CC	Corrente Contínua
CCC	Estrutura cristalina de corpo centrado
CCM	do inglês <i>Cell culture media</i>
CJP	MultiJet Printing
CJP	ColorJet Printing
CLIP	do inglês <i>Continuous Liquid Interface Production</i>
COF	Coefficiente de atrito
Cp	Comercialmente puro
CTs	Células-tronco
CTMs	Células-tronco mesenquimais
CVD	do inglês <i>Chemical Vapor Deposition</i>
DLC	do inglês <i>Diamond-Like Carbon</i>
DMD	do inglês <i>Direct Metal Deposition</i>
DMEM	do inglês <i>Dulbecco's Modified Eagle's medium</i>
DMLS	do inglês <i>Direct Metal Laser Sintering</i>
DRX	Difração de Raios-X
ESCs	Células-Tronco Embrionárias
FA	Fosfatase Alcalina
FDM	do inglês <i>Fused Deposition Modeling</i>
FEG-EDS	do inglês <i>Field Emission Gun Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-ray spectrometry</i>
GIDRX	Difração de raios X de incidência rasante
HA	Hidroxiapatita
HC	Estrutura cristalina hexagonal compacta

ICP-MS	Espectrômetria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
LAPEC	Laboratório de Pesquisa em Corrosão
LENS	do inglês <i>Laser Engineered Net Shaping</i>
LOM	do inglês <i>Laminated Object Manufacturing</i>
MA	Manufatura aditiva
MAO	<i>Micro arc oxidation</i>
MEV-EDS	Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia por Dispersão de Energia de Raios-X.
MEV-FEG	Microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo
MIO	Meio de Indução Osteogênica
MO	Microscopia Óptica
MTT	<i>(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazlium Bromide</i>
PEO	do inglês <i>Plasma Electrolytic Oxidation</i>
PVD	do inglês <i>Physical Vapor Deposition</i>
RBS	Espectrometria de Retroespalhamento de Rutherford
SBF	do inglês <i>Simulated body fluid</i>
SDL	do inglês <i>Selective Deposition Lamination</i>
SLA	do inglês <i>Stereolithography</i>
SLM	do inglês <i>Selective Laser Melting</i>
SLS	do inglês <i>Selective Laser Sintering</i>
u.a.	Unidade alternativa
UCS	Universidade de Caxias do Sul
XRD	X-Ray Diffraction

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
°	Ângulo de Contato
$\theta$	Ângulo teta
pH	Potencial de hidrogênio
s	Segundos
min	Minutos
h	Horas
kgf	Quilograma-força
kg	Quilograma
V	Volts
$\Delta V$	Varição de tensão
Hz	Hertz
A	Ampére
mA	Miliampere
cm	Centímetros
cm <sup>2</sup>	Centímetros quadrados
dm	Decímetro
dm <sup>2</sup>	Decímetro quadrado
mm	Milímetro
mm <sup>3</sup>	Milímetro cúbico
nm	Nanômetro
$\mu\text{m}$	Micrômetro
$\mu\text{m}^2$	Micrometro quadrado
L	Litros
mL	Mililitro
g	Gramas
$\mu\text{g}$	Micrograma
Ca	Cálcio
P	Fósforo
Ti	Titânio

Al	Alumínio
V	Vanádio
Sn	Estanho
Fe	Ferro
Mo	Molibdênio
Nb	Nióbio
Na	Sódio
Si	Silício
Sn	Estanho
Sr	Estrôncio
Ce	Cério
Zr	Zircônio
N	Nitrogênio
K	Potássio
O	Oxigênio
H	Hidrogênio
Mg	Magnésio
MPa	Mega Pascal
$\alpha$	alfa
$\beta$	beta
Ti-CP	Titânio comercialmente puro
Ti-6Al-4V	liga titânio, alumínio e vanádio
Ti-5Al-2.5Sn	liga titânio, alumínio e estanho
Ti-6Al-6V-2Sn	liga titânio, alumínio, vanádio e estanho
Ti-10V-2Fe-3Al	liga titânio, vanádio, ferro e alumínio
Ti-15Mo-3Nb-3Al-0,2Si	liga titânio molibdênio, nióbio, alumínio e silício
Ti-6Al-2Sn-4Zr-2Mo	liga titânio, alumínio, estanho, zircônio e molibdênio
Co-Cr-Mo	liga cobalto, cromo e molibdênio
TiO <sub>2</sub>	Dióxido de titânio
Al <sub>2</sub> TiO <sub>5</sub>	Titanato de alumínio
AlPO <sub>4</sub>	Fosfato de alumínio
TiN	Nitreto de titânio
TiC	Carboneto de titânio
TiCN	Carbonitreto de titânio

$\text{AlO}_2$	Aluminato
$\text{Al}_2\text{O}_3$	Trióxido de alumínio
$\text{ZrO}_2$	Dióxido de zircônia
$\text{C}_4\text{H}_6\text{CaO}_4$	Acetato de cálcio
$\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	Fosfato trissódico
$\text{KOH}$	Hidróxido de potássio
$\text{NaOH}$	Hidróxido de sódio
$\text{Na}_2\text{SiO}_3$	Silicato de sódio
$\text{NaAlO}_2$	Aluminato de sódio
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	Fosfato monossódico
$(\text{NaPO}_3)_6$	Hexametáfosfato sódico
$R_a$	Média aritmética dos valores absolutos das ordenadas de afastamento, dos pontos do perfil de rugosidade em relação à linha.
$R_z$	Média aritmética dos cinco valores de rugosidade parcial, considerando os pontos de maior afastamento, acima e abaixo da linha média.

## RESUMO

Os revestimentos produzidos pelo processo de anodização assistida por plasma (PEO) podem ser usados para melhorar as propriedades de biocompatibilidade, desgaste e corrosão de implantes metálicos, devido a morfologia complexa e a formação de óxidos com a possibilidade da incorporação de elementos bioativos. Contudo, é necessária a compreensão do efeito dos parâmetros operacionais, bem como, do processo de fabricação sobre as propriedades desses revestimentos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da tensão na obtenção de revestimentos por PEO sobre a liga Ti-6Al-4V produzida por manufatura convencional (laminada) e manufatura aditiva, pela técnica Sinterização Direta de Metal por Laser (DMLS), visando melhorar a resistência ao desgaste e diferenciação osteogênica de células-tronco mesenquimais. Os revestimentos foram obtidos em um eletrólito à base de Ca e P, aplicando-se diferentes tensões (200 V, 250 V e 300 V), utilizando-se para isso uma fonte de corrente alternada pulsada. As caracterizações morfológicas, estruturais e físico-químicas foram realizadas por: MEV/FEG; DRX; RBS; perfilometria de contato; determinação do ângulo de contato pelo método da gota sésil. O comportamento quanto a resistência ao desgaste foi avaliado em um tribômetro na configuração “*ball-on-plate*”. Os resultados mostraram que os revestimentos obtidos apresentaram morfologia porosa, com diferentes espessuras e rugosidades, sendo essas características dependentes da tensão aplicada. Os elementos bioativos (Ca e P) foram incorporados aos revestimentos e suas concentrações aumentaram com a tensão máxima aplicada. Os revestimentos foram constituídos principalmente de óxidos de titânio nas fases rutilo e anatase. A resistência ao desgaste da amostra obtida com a tensão de 300V (Ti-PEO<sub>300V</sub>) foi prejudicada pela presença de microtrincas em sua morfologia e sua grande rugosidade superficial, em relação a amostra obtida com a tensão de 200V (Ti-PEO<sub>200V</sub>). Além disso, os revestimentos obtidos sobre Ti-6Al-4V produzido pela técnica de manufatura aditiva, evidenciaram o efeito da microestrutura sobre as propriedades tribológicas e morfológicas, como: superior resistência ao desgaste e maior espessamento de camada, em relação aos resultados encontrados nos revestimentos obtidos sobre manufatura convencional. O estudo da citocompatibilidade com células-tronco mesenquimais (CTMs), revelou que a amostra Ti-PEO<sub>200V</sub> apresentou níveis de citocompatibilidade e adesão inicial superiores aos do substrato não revestido, além de capacidade inata de osteodiferenciação de CTMs, apresentando considerável potencial para uso em aplicações de reparo ósseo.

## ABSTRACT

The coatings produced by the Plasma Electrolytic Oxidation (PEO) can be used to improve the biocompatibility, wear and corrosion properties of metallic implants, due to their complex morphology and the formation of oxides with the possibility of incorporating bioactive elements. However, it is necessary to understand the effect of operating parameters, as well as the manufacturing process on the properties of these coatings. The present work aimed to obtain PEO coatings on Ti-6Al-4V alloy produced by conventional manufacturing (laminated) and additive manufacturing, using the Direct Metal Laser Sintering (DMLS) technique, in order to improve the strength to wear and osteogenic differentiation. The coatings were obtained in an electrolyte based on Ca and P, applying different voltages (200 V, 250 V and 300 V), using a pulsed alternating current source. Morphological, structural and physicochemical characterizations were performed by: MEV/FEG; XRD; RBS; contact profilometry; determination of the contact angle by the sessile drop method. The wear resistance behavior was evaluated in a tribometer in the “ball-on-plate” configuration. The results showed that the coatings obtained presented porous morphology, with different thickness and roughness, these characteristics being dependent on the applied tension. Bioactive elements (Ca and P) were incorporated into the coatings and their concentrations increased with the maximum applied tension. The coatings consisted mainly of titanium oxides in the rutile and anatase phases. The wear resistance of the sample obtained with a voltage of 300V (Ti-PEO<sub>300V</sub>) was impaired by the presence of microcracks in its morphology and its great surface roughness, compared to the sample obtained with a voltage of 200V (Ti-PEO<sub>200V</sub>). Furthermore, the coatings obtained on Ti-6Al-4V produced by the additive manufacturing technique showed the effect of the microstructure on the tribological and morphological properties, such as: superior wear resistance and greater layer thickening. The study of cytocompatibility with mesenchymal stem cells (MSCs) revealed that the Ti-PEO<sub>200V</sub> sample showed excellent levels of cytocompatibility and initial adhesion, in addition to an innate ability to osteodifferentiate MSCs, showing considerable potential for use in bone repair applications.

## 1. INTRODUÇÃO

Na área de regeneração tecidual, muitos são os tratamentos superficiais utilizados sobre implantes de titânio e suas ligas visando melhorar suas propriedades mecânicas e osteointegração [1]. No caso específico das ligas de Ti-6Al-4V para aplicações biomédicas, problemas relacionados a resistência a corrosão e à toxicidade, devido a liberação de íons Al e V, têm sido relatados em estudos *in vitro* e *in vivo* [2,3]. Somado a isso a baixa resistência ao desgaste quando comparada a outras ligas convencionais utilizadas para biomateriais ortopédicos, como as ligas a base de Co [4,5]. É importante salientar que também não apresentam interface química promissora aos tecidos ósseos, devido a sua não bioatividade, o que compromete substancialmente seu desempenho clínico [6,7].

A manufatura aditiva (MA), tem sido amplamente aplicada em diversos setores, incluindo medicina, biomecânica, biomédica, entre outras. A técnica de sinterização direta de metal a laser (DMLS), é uma das muitas técnicas de MA para materiais metálicos. A técnica DMLS pode ser utilizada como ferramenta para produção direta de um dispositivo biomédico personalizado em ligas de titânio (Ti-6Al-4V), permitindo reduzir o tempo do processo cirúrgico, bem como os riscos de infecção e rejeição, tempo de anestesia e o risco para o paciente, tudo isso com baixo custo [8].

Revestimentos obtidos por “Plasma Electrolytic Oxidation” (PEO) têm se mostrado uma tecnologia inovadora na funcionalização superficial de materiais para aplicação biomédica [9]. PEO é considerado um tratamento eletroquímico de conversão, que proporciona a formação superficial de uma camada de óxidos metálicos. Trata-se de uma técnica análoga a anodização, porém que emprega maiores valores de potenciais e densidades de corrente, ocasionando a geração de plasma na superfície da amostra [10]. Esses revestimentos oferecem algumas vantagens como: ajuste da composição em termos de incorporação de elementos na matriz metálica, controle da microestrutura em função de espessura e porosidade do revestimento, resistência ao desgaste e corrosão [11,12].

Alguns estudos têm demonstrado que Ti e suas ligas revestidas por PEO podem ter melhoradas suas propriedades eletroquímicas, as características de biodegradabilidade, a estabilidade térmica e as propriedades dielétricas [9]. Os parâmetros operacionais têm efeitos sobre as propriedades dos revestimentos obtidos por PEO afetando as propriedades dos mesmos. Laveissière *et al.* (2019) observaram a influência da

composição de eletrólitos nas propriedades desses revestimentos, evidenciando a mudança da morfologia, da composição e da cinética de crescimento dos mesmos [13]. Enquanto que Wu et al. [14] investigou a influência da microestrutura nas características de crescimento e propriedades dos revestimentos obtidos por PEO, sobre a liga Ti-6Al-4V produzida por técnicas de MA, demonstrando que os revestimentos formados sobre o substrato sinterizado pela técnica SLM (*Selective Laser Melting*) apresentaram menos defeitos, maiores espessuras e poros de tamanho menor, quando comparados a revestimentos obtidos sobre substratos comerciais.

No campo de regeneração tecidual os revestimentos obtidos por PEO podem exercer influência nos comportamentos de bioatividade e biocompatibilidade de implantes metálicos; para a obtenção de revestimentos de TiO<sub>2</sub> sobre Ti-Cp com propriedades bioativas, eletrólitos contendo silicatos e fosfatos têm sido amplamente utilizados [15], podendo conter a adição de outros elementos como por exemplo Zn e Zr [1,16–18]. Durdu et al. demonstraram que é possível formar revestimentos à base de hidroxiapatita, e à base de apatita de cálcio e incorporar íons benéficos, como Ca e P, que são conhecidos por melhorarem a biocompatibilidade e a bioatividade de superfícies [19]. Parfenov et al. obtiveram resultados de viabilidade e proliferação de fibroblastos muito semelhantes ao do substrato de Ti-CP para os revestimentos obtidos por PEO a partir de eletrólitos à base de Ca e P [20]. A resposta biológica dos revestimentos obtidos por PEO combinados com a camada hidrotérmica de HA, sobre o substrato Ti-6Al-4V produzido por técnicas de manufatura aditiva, foram avaliados por Fazel et al. [21]. Segundo os autores, os revestimentos apresentaram resposta biológica facilitando a proliferação e diferenciação osteogênica das células.

Além disso, alguns autores têm reportado a influência destes revestimentos sobre as propriedades mecânicas superficiais da liga Ti-6Al-4V, e verificaram que o tempo de processo afetou a rugosidade superficial e a morfologia dos mesmos, influenciando diretamente na taxa de desgaste observada pela realização de ensaios tribológicos [22]. Yan et al. [23] analisaram a resistência ao desgaste de revestimentos PEO em amostras de Ti-6Al-4V, fabricadas pela tecnologia SLM, utilizando eletrólito à base de alumínio e observaram capacidades tribológicas superiores às amostras obtidas sobre substratos produzidos convencionalmente.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da tensão na obtenção de revestimentos por anodização assistida por plasma (PEO) sobre a liga Ti-

6Al-4V, produzida por manufatura convencional (laminada) e por manufatura aditiva pela técnica de Sinterização Direta de Metal (*Direct Metal Laser Sintering – DMLS*), visando melhorar a resistência ao desgaste e a diferenciação osteogênica. Em um primeiro momento, caracterizações morfológicas, físico-químicas, tribológicas e biológicas de revestimentos obtidos por PEO, sobre amostras da liga Ti-6Al-4V comercial, foram efetuadas, tendo como principal resultado a verificação da resposta bioativa e capacidade dos revestimentos de diferenciar células-tronco mesenquimais em osteoblastos. Em uma segunda parte do estudo, os revestimentos foram obtidos sobre amostras de Ti-6Al-4V produzidas por MA, com o objetivo de avaliar a resposta tribológica e morfológica dos mesmos.

## 2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da tensão na obtenção de revestimentos por anodização assistida por plasma (PEO) sobre a liga Ti-6Al-4V, produzida por manufatura convencional (laminada) e por manufatura aditiva pela técnica de Sinterização Direta de Metal (*Direct Metal Laser Sintering* - DMLS), visando melhorar a resistência ao desgaste e diferenciação osteogênica de células-tronco mesenquimais.

### *Objetivos específicos:*

- Avaliar o efeito da tensão aplicada durante o processo PEO sobre as propriedades dos revestimentos obtidos em Ti-6Al-4V fabricado por manufatura aditiva;
- Obter revestimentos capazes de incorporar elementos bioativos e apresentar capacidade de resistir à desgaste;
- Avaliar e definir qual parâmetro operacional apresentou os melhores resultados para o Ti-6Al-4V em manufatura convencional para aplicações biomédicas, em específico, diferenciação celular.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Biomateriais

Um biomaterial é um material, sintético ou natural, que é utilizado em aplicações médicas para substituir uma parte do corpo, ou tecido, e realizar uma função no corpo. É desejado que esses materiais interajam com a interface do sistema biológico. Os biomateriais devem ser biocompatíveis, isto é, devem ser amigáveis ao sistema biológico e não causar nenhum dano ao sistema, seja no nível celular ou do sistema corporal todo. Além disso, um material considerado biocompatível deve apresentar uma resposta apropriada do hospedeiro ou desempenhar a função pretendida sem apresentar reações adversas [24].

Segundo Omidi et al. [25] um biomaterial tem como característica principal a sua habilidade de estar em sistemas vivos e não ocasionar danos ou reações adversas do sistema imunológico do hospedeiro. Biocompatibilidade é o comportamento de um material em um tecido vivo que não causa um efeito adverso, como a produção de uma reação tóxica, fisiológica reativa ou imunológica [25].

Em março de 1986, uma conferência definida como “*definitions in biomaterials*”, foi organizada pela sociedade de biomateriais europeia. Nesta conferência a definição de biocompatibilidade foi definida como: “a habilidade de um material desempenhar apropriadamente no corpo uma aplicação específica” [26].

Tengvall e Lundström [27] listam uma variedade de características que os biomateriais devem possuir para cumprir seus objetivos dentro de um sistema tão agressivo, como o corpo humano. Tais como: baixa toxicidade e reatividade macromolecular; textura superficial que favoreça a adesão celular; biofuncionalidade, ou seja, propriedades mecânicas que podem mudar dependendo da aplicação; resistência a corrosão, tendo em vista manter as propriedades mecânicas e não haver excreção da prótese para o organismo; bioadesão; prevenção da adesão de bactérias e/ou facilidade em matar bactérias.

Griffith et al. [28] salientam que biomateriais são usados tanto como implantes temporários como permanentes, visa-se adaptar a superfície desses materiais para fornecer sinais físicos e químicos que orientem a diferenciação e bioformação de tecido ou se tornando biocompatível.

### 3.1.1. Classificação dos biomateriais

Existem quatro classes básicas de biomateriais: polímeros, metais, cerâmicos e compósitos. Biomateriais metálicos representam os mais utilizados da classe dos biomateriais. Os materiais metálicos mais utilizados hoje em dia são categorizados em: ligas de aço (aços inoxidáveis), ligas de cobalto, bem como, titânio e suas ligas [29].

Na escolha de biomateriais deve-se levar em consideração suas propriedades físicas, químicas e mecânicas, tais como [29]: resistência mecânica e à fadiga; rugosidade; absorção de água; bioestabilidade; bioatividade.

Os biomateriais também são classificados pela sua resposta e interação a tecidos biológicos [24]:

- Tóxicos: materiais tóxicos causam a morte do sistema no qual é inserido.
- Bioinertes: biologicamente inativos, não havendo formação de tecido fibroso. Exemplos: Aços inox e ligas Cr-Co.
- Bioativos: biologicamente ativos, sendo observado a presença de ligações químicas entre os íons do material e o tecido. Exemplo: hidroxiapatita e os compostos de fosfato de cálcio.
- Reabsorvíveis: são materiais que são absorvidos pelo organismo e substituídos por tecidos gradualmente. Exemplo: sulfato de cálcio e fosfato tricálcico.

### 3.2. Titânio e suas ligas

O titânio (Ti) está presente em 0,6% da crosta terrestre, sendo o quarto metal estrutural mais abundante. Klaproth, em 1795, foi o primeiro a identificar o até então desconhecido elemento a partir de uma análise do rutilo. Em Luxemburgo foi desenvolvido um processo comercialmente atrativo para a produção de titânio. O processo criado por Kroll (1937-1940) resultava em um titânio “esponjoso” e continua sendo usado até hoje [30].

O titânio é um material alotrópico, apresentando duas estruturas cristalinas, em diferentes temperaturas. Esta transformação de fase ocorre em 882 °C, acima desta temperatura, o titânio, apresenta-se arranjado numa estrutura cúbica de corpo centrada (CCC). Em baixas temperaturas o titânio é arranjado na estrutura hexagonal compacta (HC). Sendo conhecidas comumente como  $\alpha$  e  $\beta$ . Sendo a  $\alpha$  atribuída ao titânio, puro e

suas ligas, que se arranjam de forma hexagonal compacta (HC) e  $\beta$  denota qualquer titânio cúbico, puro ou liga [31]. Quando elementos de liga são adicionados ao titânio, eles exercem efeito sobre a transformação das fases  $\alpha$  e  $\beta$ . A adição de elementos que aumentam ou mantêm a faixa de temperatura de estabilidade da fase  $\alpha$  são chamados de  $\alpha$ -estabilizadores, sendo eles alumínio, zircônio e estanho. O mesmo ocorre com os elementos estabilizadores da fase  $\beta$ , sendo chamados de  $\beta$ -estabilizadores, estes são o vanádio, o molibdênio e o ferro.

Carbono, oxigênio, hidrogênio e nitrogênio são tratados como impurezas que possuem importância em ligas de titânio. Sendo as duas mais importantes, oxigênio e hidrogênio, já que o primeiro é um  $\alpha$ -estabilizador e o segundo um  $\beta$ -estabilizador; esses elementos considerados impurezas possuem tamanho atômico muito menor do que os elementos metálicos da liga e acabam se acumulando nos interstícios entre as posições cristalográficas dos átomos metálicos nas fases  $\alpha$  e  $\beta$  [32].

Donachie et al. [31] classificam o titânio e suas ligas em quatro categorias: não ligado ou comercialmente puro (CP) (Ti puro contendo quantidades bem definidas de oxigênio); ligas  $\alpha$  e quase- $\alpha$  (possuem altas concentrações de  $\alpha$ -estabilizadores e baixas de  $\beta$ -estabilizadores, exemplo: Ti-6Al-2Sn-4Zr-2Mo e Ti-5Al-2.5Sn); ligas  $\alpha$ - $\beta$  (formadas por uma mistura de elementos  $\beta$ -favoráveis e  $\alpha$ -favoráveis, entre estas ligas temos Ti-6Al-4V e Ti-6Al-6V-2Sn); e as ligas  $\beta$  (tendo altas concentrações de elementos  $\beta$ -estabilizadores, exemplo: Ti-15Mo-3Nb-3Al-0,2Si). É importante salientar que outros autores consideram o titânio CP como uma liga  $\alpha$ , já que é formado por fase  $\alpha$ .

### **3.2.1. Ti-6Al-4V**

O Ti-6Al-4V é uma liga  $\alpha$ - $\beta$ , o que é evidenciado devido à presença de ambas as fases,  $\alpha$  e  $\beta$ , onde é possível obter diferentes arranjos microestruturais através do histórico de processamento e também pelo tratamento térmico da liga. A fase  $\beta$  pode ficar dispersa na matriz alfa, sendo que as microestruturas podem ser classificadas como totalmente laminar, totalmente equiaxial e bimodal (duplex) que consiste de uma mistura das duas estruturas anteriores [33].

É sabido que a elevação da temperatura e que o aumento da concentração de V acarreta no aumento do campo da fase  $\beta$ . A liga Ti-6Al-4V é comercializada na condição recozida, tendo como fase dominante a fase  $\alpha$  (aproximadamente 90% do volume a

temperatura ambiente) e em pequena quantidade a fase  $\beta$  (entre 10% do volume a temperatura ambiente).

A liga  $\alpha + \beta$  mais comumente utilizada atualmente é a liga Ti-6Al-4V, responsável por 45% do peso total de todas as ligas de titânio comercializadas. Esta liga recozida, possuem boa deformabilidade. Contem altas concentrações de alumínio, sendo este um  $\alpha$ -estabilizador. O controle das propriedades destas ligas se dá por meio de tratamento térmico, o qual é responsável pelo ajuste da quantidade e os tipos de fase  $\beta$ . O tratamento de solubilização é seguido pelo envelhecimento de 480 a 650 °C visando a precipitação da fase  $\alpha$  em uma matriz de fase  $\beta$ , resultando na formação lamelar  $\alpha + \beta$  [34].

Este tipo de liga, tem uma ótima combinação de resistência e ductilidade, sendo mais fortes do que as ligas unicamente alfa ou beta. Mesmo apresentando uma limitação de aplicação em relação a temperatura de trabalho (400 °C), a liga Ti-6Al-4V possui alta resistência mecânica, boa resistência a corrosão, alto módulo de elasticidade e biocompatibilidade [19,31].

### **3.2.2. Titânio em aplicações biomédicas**

As primeiras aplicações do titânio e suas ligas foram nas estruturas de bombardeiros americanos, já que o titânio possui uma ótima relação resistência/peso sendo mais leve que os aços utilizados na época. A utilização do titânio e suas ligas em aplicações industriais tem como alicerce principal a sua resistência a corrosão à outros materiais metálicos. Sua relação resistência / peso, resistência à fadiga e propriedades mecânicas em altas temperaturas são vantajosas não apenas em aplicações aeroespaciais. Apresentando propriedades físicas, como baixo módulo de elasticidade baixa susceptibilidade paramagnética, baixa expansão térmica, boas propriedades balísticas e meia vida radioativa curta [33]. Uma das principais aplicações do titânio e suas ligas, atualmente, diz respeito a área de biomateriais, levando em consideração que o titânio já é aplicado com sucesso no corpo humano, sendo na maioria dos casos na forma de próteses ortopédicas e odontológicas [35].

É disseminado que a aplicação do titânio em implantes médico é um sucesso. Titânio vem sendo utilizado como prótese ortopédica desde os anos 50. Sendo atualmente o material preferido para próteses ortopédicas, como articulações de quadril, parafusos ósseos, articulações do joelho, gaiolas de fusão espinhal, articulações dos ombros e cotovelos. O uso de titânio e suas ligas na medicina atual é muito amplo, indo de

aplicações cardiovasculares até o uso de próteses feitas sob medida para reconstrução facial. Implantes odontológicos de titânio tiveram um aumento drástico nos últimos 20 anos, este fenômeno ocorreu devido a ótima osseointegração dos implantes ortodônticos. Atualmente o titânio CP se tornou o material de escolha de cirurgiões dentistas, já que apresenta excelentes propriedades biomecânicas (alta resistência mecânica e baixo módulo de elasticidade) e biológicas [33,36].



**Figura 1.** Características que fazem o titânio (Ti) interessante para aplicações biomédicas.

A escolha do titânio e suas ligas, para estas áreas é pela combinação de suas características (Figura 1), incluindo resistência a corrosão, biocompatibilidade, resistência mecânica, baixo módulo de elasticidade e densidade, e a capacidade de se ligar ao osso e outros tecidos [36]. No entanto, o titânio é relativamente inerte, sendo um metal resistente a corrosão devido a formação de um filme fino (de aproximadamente 4 nm) passivo, aderente e estável em condições fisiológicas, que consiste principalmente de  $TiO_2$  amorfo e não estequiométrico [35]. Steinemann mostrou que ligas de titânio (Ti-Al-V) não se integram tão bem com os ossos como o titânio CP, devido a suas altas taxas de corrosão, em relação ao Ti-Cp [37].

Quando uma liga de titânio é implantada cirurgicamente no osso humano, uma camada de fosfato de cálcio se forma espontaneamente na sua superfície. Esta habilidade do titânio e suas ligas de formar fosfato de cálcio é uma das razões para sua melhor compatibilidade com tecidos duros em relação a outros metais. No entanto, a habilidade de formação óssea, do titânio e suas ligas, é menor do que cerâmicos bioativos a base de cálcio e fosfato, como hidroxiapatita, e vidros bioativos. Além disso, a resistência ao

desgaste do titânio e suas ligas também é um agravante, já que inviabilizam a sua utilização em juntas artificiais de implantes [38].

### **3.2.3. Tratamentos superficiais para Ti e suas ligas**

A forma de melhorar as propriedades superficiais, como a biocompatibilidade e adicionar biofuncionalidade aos metais, é o uso de tratamentos superficiais para modificação dessas, já que os processos de manufatura tradicional não permitem a adição de tais características aos metais. A modificação superficial é uma categoria de tratamento superficial dentro do campo da engenharia de superfícies. Este tipo de tratamento superficial muda a composição química da superfície, a estrutura e a morfologia dos materiais, mas nem sempre mantendo as propriedades mecânicas estruturais intactas [35].

Estes tratamentos superficiais vêm sendo estudados exaustivamente para a aceleração da formação óssea e da adesão óssea com o titânio. Porém, tratamentos superficiais que inibam a formação óssea em objetos de titânio também são necessários, para aplicação em parafusos ósseos e pregos intramedulares. Por exemplo, após a regeneração completa do osso é necessária a retirada dos fixadores (parafusos) o que ocasiona uma nova fratura localizada do osso.

Uma melhor resistência ao desgaste é uma característica que pode ser alcançada com a modificação superficial, tendo em vista que o problema mais sério em dispositivos médicos é o desgaste por fricção, como por exemplo, em juntas artificiais. Sendo estas partes formadas por ligas de Co-Cr-Mo, é de grande interesse que estas partes também sejam compostas de titânio e suas ligas assim como o resto da prótese, devido a suas melhores qualidade biomédicas em relação as ligas de Co-Cr-Mo [38].

Existem duas categorias de processos de modificação de superfície, os processos a seco e os úmidos. Os processos úmidos, são feitos em uma solução aquosa, sendo realizados por imersão, sendo em grande maioria processos eletroquímicos. Do ponto de vista da composição e espessura da camada superficial, as técnicas de modificação superficial são divididas em três categorias: revestimento de camada fina, imobilizadores de moléculas biofuncionais e formação de camada modificada na superfície. A primeira categoria abrange as técnicas de modificação superficial convencionais, que formam camadas de poucos micrômetros de espessura (PVD, CVD, anodização, plasma spray). A segunda tem como representantes a implantação por íons, tratamentos alcalinos e polarização catódica. E por último, a categoria dos tratamentos químicos e de

eletrodeposição (Sol-gel, imersão alcalina, PEO/MAO, etc.) [35,38]. A Tabela 1 apresenta as características das camadas de algumas das técnicas de modificação superficial.

**Tabela 1.** Técnicas de modificação superficial visando aplicações biomédicas de Ti e suas ligas.

Método	Camada modificada	Objetivo
Plasma Spray [39–41]	Espessuras de 30 até ~230µm de camada, compostas de titânio, HA, silicato de cálcio, Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , ZrO <sub>2</sub> , TiO <sub>2</sub> . Sendo hidrofóbicas, porosa, com ângulos de contato de 115° (hidrofóbico).	Melhorar a resistência ao desgaste, resistência à corrosão e propriedades biológicas.
DLC [42,43]	Filme fino com ~ 1 µm, compostos de TiN, TiC, TiCN, diamante e carbono semelhante ao diamante.	Melhorar a resistência ao desgaste, resistência à corrosão e hemocompatibilidade.
Sol-gel [44,45]	Filme fino de ~1 à ~10 µm, podendo ser composta de fosfato de cálcio, TiO <sub>2</sub> ou sílica, com ângulos de contato entre 10° e ~40°.	Melhorar a biocompatibilidade e bioatividade.
Oxidação anódica [46–48]	Camadas porosas com espessuras de ~10 nm à 316 nm de TiO <sub>2</sub> , com ânions incorporados do eletrólito, com ângulos de contato de 70~80°.	Produzir topografias superficiais específicas; melhora a resistência à corrosão; melhora a biocompatibilidade, bioatividade, condutividade óssea e hemocompatibilidade.
PEO [9,49]	Camada porosa com espessuras que abrangem de ~42 à ~184 µm sendo compostas de TiO <sub>2</sub> , HA, Ca, P, entre outros elementos bioativos, com ângulos de contato de 0° à 60,5°.	Melhora da resistência a corrosão e desgaste; melhora da biocompatibilidade e osseointegração.

Para produção de biomateriais, cerâmicos e polímeros podem ser eletro depositados em materiais metálicos. Os materiais a serem depositados são cerâmicas como hidroxiapatita, fosfato octacálcio, brushita, outros fosfatos de cálcio (Ca-P), DLC e TiO<sub>2</sub> (rutílo), metais tais quais magnésio e tântalo, e polímeros como colágeno, quitosano. Os substratos são tradicionalmente titânio e suas ligas. Esta combinação muda

de acordo com a aplicação requerida. Revestimentos de hidroxiapatita são utilizados com o intuito de melhorar a formação de ossos e da ligação óssea. Enquanto que revestimentos de TiO<sub>2</sub> são produzidos visando a melhoria da resistência a corrosão, desgaste e especificamente adesão óssea pela formação de camadas com uma rede de poros interligados. Estes tipos de revestimento porosos interligados são produzidos a partir do processo de anodização assistida por plasma (PEO) [35,38].

### **3.3. Manufatura aditiva (MA)**

A norma ASTM F2792 define manufatura aditiva (MA) como um “processo de união de materiais para criar objetos a partir de dados de modelos 3D, geralmente camada sobre camada, em oposição às metodologias de fabricação subtrativas” [50]. O processo consiste em imprimir sucessivamente camadas de materiais formadas umas sobre as outras, dando origem a uma peça física, a partir de um modelo CAD (desenho assistido por computador) [51]. Outros nomes, popularmente utilizados, para MA são prototipagem rápida (“*rapid prototyping*”) e impressão 3D (*3D printing*). O primeiro é um termo utilizado para se referir à tecnologia no começo de seu desenvolvimento, quando sua aplicação principal era a produção de protótipos. Já o termo impressão 3D é utilizado para se referir a equipamentos de baixas capacidades e custos [50].

Esta tecnologia foi desenvolvida por Charles Hull, em 1986, a partir de uma técnica conhecida como estereolitografia (*stereolithography* (SLA)), abrindo caminho para desenvolvimento de outras técnicas. A manufatura aditiva tem sido amplamente aplicada em diferentes indústrias, incluindo construção, prototipagem, joalheira, aeroespacial, automobilística, medicina, biomecânica, entre outras [51].

Inúmeras vantagens são apresentadas pelos diferentes processos de manufatura aditiva, assim como algumas limitações. Pode-se citar, como vantagem: a grande liberdade geométrica na fabricação, geometrias difíceis de serem obtidas por processos convencionais são possíveis por MA; uso efetivo de energia e pouco desperdício de material; não requer dispositivos de fixação e de troca de ferramenta durante a fabricação do componente, já que as peças são fixadas nas plataformas; fabricação em um único passo, já que a peça é produzida totalmente em um equipamento só; alta taxa de produção, tendo em vista que o processo é rápido em relação aos processos tradicionais; minimização de interação do operador; e, a possibilidade de produção direta de peças finais. Em contraponto, existem algumas desvantagens enquanto ao processo, podem ser

citadas: limitação de tipos de materiais que podem ser empregados; precisão e acabamento superficial relativamente baixa das peças causada pelo princípio de adição de camadas, efeito de “degraus”; alto custo envolvido para equipamentos de porte industrial; algumas peças obtidas apresentam empenamentos e distorções, provenientes do aquecimento e resfriamento intermitentes que alguns processos geram; e, por fim, baixa velocidade e altos custos para produção de grandes lotes de peças [52,53].

### 3.3.1. Classificação das técnicas de MA

O comitê da norma ASTM F42 classificou os processos de MA em sete grupos diferentes como mostrado na Tabela 2 [50]. As diferentes técnicas podem ser separadas de acordo com o estado físico do material utilizado na fabricação, com o tipo de matéria e a técnica de processamento do material. Normalmente os materiais são encontrados na forma sólida (filamentos e folhas), líquida e em pó. A técnica de processamento pode ser através de radiação UV, extrusão, jato de tinta, feixe de elétrons ou laser. Pode-se processar materiais cerâmicos, poliméricos, metais e até compósitos por MA [52–54].

**Tabela 2.** Classificação das tecnologias de MA de acordo com o princípio de processamento, adaptado de Volpato e Carvalho [53].

Classificação das tecnologias MA	Descrição dos princípios	Algumas tecnologias na categoria
Fotopolimerização em cuba	Polímero fotossensível líquido é curado em uma cuba, de forma seletiva, por polimerização ativada por luz	Estereolitografia, produção contínua com interface líquida ( <i>continuous liquid interface production – CLIP</i> )
Extrusão de material	Extrusão do material através de um orifício, sendo seletivamente depositado	Modelagem por fusão e deposição ( <i>fused deposition modeling – FDM</i> )
Jateamento de material	Seletivamente o material é depositado em pequenas gotas	Impressão por múltiplos jatos ( <i>MultiJet printing – CJP</i> )
Jateamento de aglutinante	Um agente aglutinante líquido é seletivamente depositado para unir materiais em pó	Impressão colorida por jato ( <i>ColorJet Printing – CJP</i> )
Fusão de leito de pó	Fusão seletiva por energia térmica de regiões de um leito de pó	Sinterização seletiva a laser ( <i>selective laser sintering – SLS</i> ), sinterização direta de metal a laser ( <i>direct metal laser sintering – DMLS</i> ), fusão seletiva a laser

		( <i>selective laser melting</i> – SLM), outros
Adição de lâminas	Lâminas recortadas de material são unidas (coladas) para formar um objeto	Manufatura laminar de objetos ( <i>laminated object manufacturing</i> – LOM), deposição seletiva de laminados ( <i>selective deposition lamination</i> – SDL), outros
Deposição com energia direcionada	Energia térmica é usada para fundir materiais à medida que estes são depositados	Forma final obtida com <i>laser</i> ( <i>laser engineered net shaping</i> – LENS), deposição direta de metal ( <i>direct metal deposition</i> – DMD), revestimento a <i>laser</i> tridimensional ( <i>3D laser cladding</i> ), outros

### 3.3.2. Sinterização Direta de Metal por Laser (DMLS)

O processo de sinterização direta de metal por laser (DMLS) foi desenvolvido pela EOS GmbH de Munique, Alemanha, e está disponível comercialmente como a máquina de sinterização a laser EOSINT M 250 desde 1995, assim como diversos equipamentos novos. Esta técnica possibilita a rápida produção de peças com complexas formas tridimensionais (3D) diretamente do pó metálico [55,56].

Como visto na Tabela 2, o DMLS é uma técnica de fusão por leito de pó metálico que utiliza como matéria-prima partículas de pó previamente fabricadas e com distribuição de tamanho controlada. Materiais como ligas de aços inoxidáveis, ligas de alumínio, ligas de Co-Cr-Mo, Ti-Cp e Ti-6Al-4V, são encontrados em pó para uso em MA.

DMLS é definido, pela norma ASTM F2792, como “um processo de fusão em leito de pó usado para construção de peças metálicas a partir de pós metálicos sem peças intermediárias”. Para Atzeni e Salmi [57] a tecnologia de DMLS é adequada para a fusão seletiva de pós metálicos finos a laser e para produção de peças metálicas densas. Durante o processo de obtenção de peças por DMLS para cada camada, a máquina estabelece uma película de pó, com uma espessura precisa (0,1mm). Em seguida, um feixe de laser de alta potência é direcionado ao leito de pó e programado para fundir os pós metálicos presentes em uma zona focal, de acordo com o arquivo de desenho assistido por

computador (CAD), gerando uma fina camada de metal. A plataforma desce até a espessura de camada pré-programada, e deposita uma nova película de pó e a camada seguinte é fundida com a exposição ao feixe do laser, de modo que ela esteja em conformidade com a camada anterior. Esse processo continua, camada por camada, até que o objeto seja fabricado.

As vantagens da aplicação da técnica de DMLS, assim como suas desvantagens devem ser elucidadas. O processo tem como vantagens o bom acabamento superficial e geométrico, a possibilidade da implementação de diversos metais, reutilização do pó e a capacidade de trabalhar com metais refratários. Já as desvantagens se devem ao risco de contaminação ao se utilizar um mesmo maquinário para processar diferentes pós metálicos, alto valor do equipamento, rugosidade superficial, limite de volume da peça, tensões residuais e segregação microestrutural [58,59].

### **3.3.3. Manufatura aditiva na biomedicina**

O desenvolvimento da tecnologia de MA, bem como em biomateriais, ampliaram a aplicação das técnicas de MA no campo biomédico substancialmente com a produção de implantes ortopédicos, estruturas de tecidos, órgãos artificiais, dispositivos médicos, entre outros [52].

No campo da medicina, a MA foi integrada às técnicas de imagem, como topografia computadorizada e/ou ressonância magnética, possibilitando a obtenção de biomodelos sólidos que reproduzem as estruturas anatômicas [60,61]. Com esta tecnologia a MA torna possível a criação de implantes customizados e adaptativos à necessidade do paciente.

Ciocca et al. [8] afirmam que a técnica de DMLS pode ser usada como ferramenta para produzir diretamente um dispositivo biomédico personalizado em uma liga de titânio biocompatível (Ti-Cp e Ti-6Al-4V). Além disso, a utilização da MA na área biomédica permite a redução do tempo de cirurgia, reduzindo os riscos de rejeição e infecção, o tempo de anestesia, os riscos ao paciente e os custos. A soma das vantagens que a MA pode trazer, em conjunto com a utilização de um biomaterial como Ti e suas ligas, são enormes. Tornar a superfície desses implantes mais resistentes ao desgaste, bioadesiva e bioativa, por meio de um revestimento óxido proveniente de um processo eletroquímico, poderia levar ao aumento do tempo de vida desses implantes [8].

### 3.4. Anodização Assistida por Plasma (PEO)

A técnica de Anodização Assistida por Plasma, do termo em inglês “*Plasma Electrolytic Oxidation*” (PEO), também chamada de “*Microarc Oxidation*” (MAO), é um processo eletroquímico de alta tensão, proveniente da oxidação por anodização convencional [62]. Young, et al. [63], em 1961, acreditavam que o processo de PEO fosse consideravelmente simples, envolvendo a imersão de uma amostra metálica em um eletrólito. A amostra age como ânodo e, frequentemente, um recipiente de eletrólito feito de aço inoxidável atua como contra eletrodo. Uma fonte de energia de alta voltagem é usada para aplicar tensão entre a amostra metálica e o contra eletrodo. Normalmente é utilizado um sistema de refrigeração para o eletrólito, devido à grande aumento de temperatura do processo. O revestimento proveniente do PEO começa a formar-se após a quebra dielétrica do filme de óxido anódico.

Por outro lado, Hussein et al. (2010) [64] enfatizam que o processo de PEO é um processo que envolve equipamentos de alto custo e mecanismos de formação de camada muito complexos. Sendo um processo eletroquímico de alta tensão, proveniente da oxidação por anodização convencional, que é acompanhado pelo fenômeno de evolução de faíscas (*sparks*) de plasma na interface eletrólito/peça de trabalho. Este fenômeno complexo é responsável pelo crescimento de um revestimento cerâmico promissor com boa adesão, espesso e com uma morfologia porosa [62,65].

Günterschultze e Betz (1934) investigaram o fenômeno de descargas de faísca ou “*spark discharge*”. Em meados dos anos 60, McNiell e Gruss (1966) exploraram pela primeira vez, na prática, o fenômeno de “*spark discharge*”. A partir em 1970, a utilização de descargas superficiais para deposição de óxidos em metais válvula, e suas ligas, foi amplamente desenvolvida. Tendo as primeiras aplicações industriais remetendo aos anos 70, mas a baixa qualidade e pequena eficiência no espessamento dos revestimentos atrasou o desenvolvimento da técnica. Contudo em 1980, com o desenvolvimento de novos eletrólitos, de ácidos para alcalinos, o aumento do suprimento de energia e da corrente contínua para a pulsada, viabilizaram a produção de revestimento de alta qualidade, especificamente na última década [66].

A aplicação da técnica de PEO tem muitas vantagens: uma grande gama de propriedades de revestimento, incluindo resistência ao desgaste, resistência a corrosão; não causa a deterioração das propriedades do substrato; alta resistência de ligação

metalúrgica entre o revestimento e o substrato; possibilita o processamento de peças com geometria complexas e de grande tamanho; equipamentos são simples e de fácil operação; não necessita de vácuo ou controle atmosférico; a técnica é ecologicamente correta, devido ao uso de eletrólitos alcalinos, e nenhuma exaustão nociva está envolvida com o processo [66].

Os revestimentos de PEO são caracterizados por uma estrutura porosa, sendo a evolução dos poros determinada pelas propriedades dos “*sparks*”. O tamanho desses poros e sua distribuição são influenciados por diversos parâmetros: composição do eletrólito e sua condutividade; parâmetros elétricos (exemplo: tensão aplicada e tempo de aplicação); superfície e composição do substrato, incluindo a rugosidade, tamanho de grão, estresse residual, elementos de liga, etc [67].

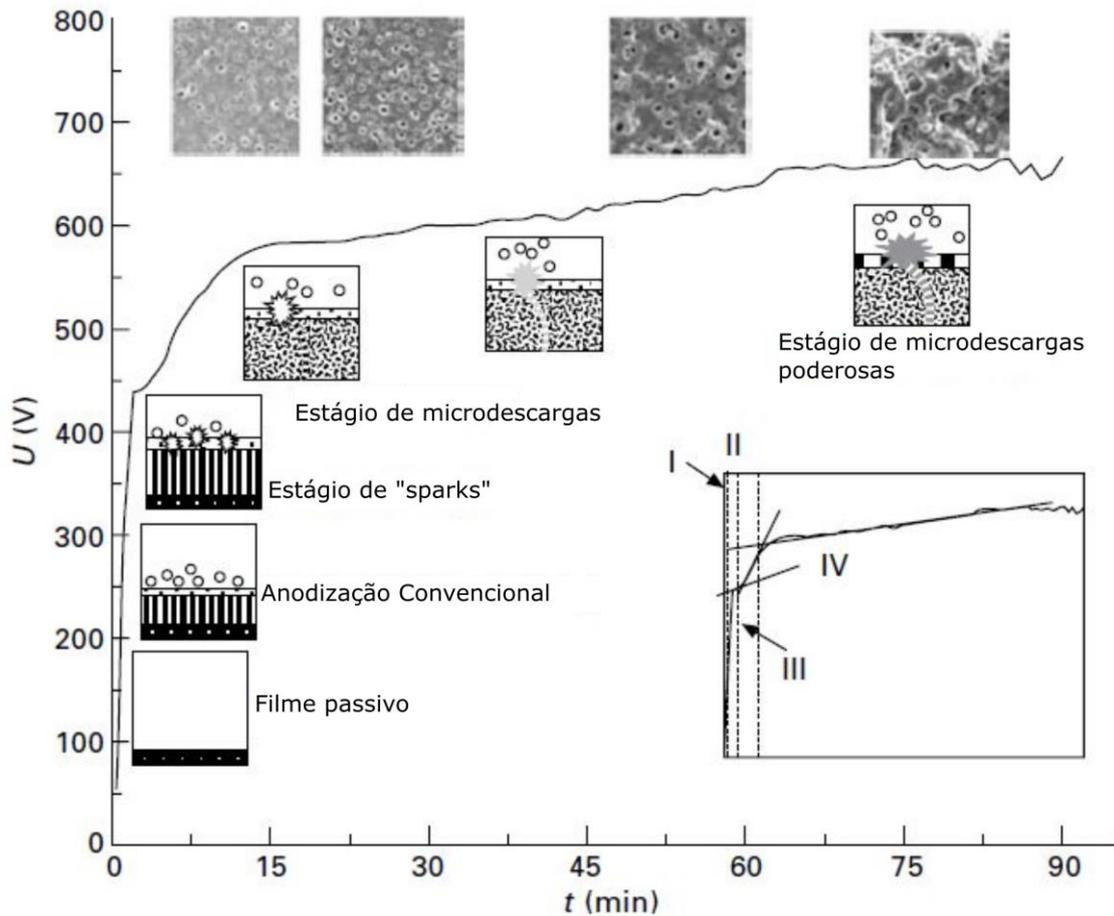
#### **3.4.1. Fenômeno de crescimento do revestimento e mecanismos de formação**

A espessura total dos revestimentos aumenta linearmente com o aumento do tempo da oxidação. No processo de PEO, uma cinética de deposição linear observada pode ser relacionada às leis de eletrólise de Faraday. Sundararajan et al. [68] propõem que o crescimento das camadas de óxido resulta apenas do material do substrato fundido que é oxidado ao fluir através dos canais de descarga criados devido à quebra da camada de óxido. Assim é formado um óxido, do substrato, que contribui para a camada ao ser ejetado dos canais e rapidamente resfriado na interface eletrólito-superfície. Canais de descarga são formados continuamente, movendo-se na superfície do revestimento e, desde que, eles tenham uma vida finita, estes são formados e fechados continuamente através do processo de revestimento, o que contribui para o espessamento do revestimento.

Hussein et al. [65], apresentam um nova visão do fenômeno de crescimento dos revestimentos obtidos por PEO, afirmando que o revestimento cresce para dentro do substrato (camada interna) e para a superfície do revestimento (camada externa) simultaneamente. Inicialmente o revestimento cresce prioritariamente para o exterior. Depois de atingir certa espessura, a camada externa perde velocidade e a camada interna começa a crescer mais rapidamente. No entanto, a espessura do revestimento continua aumentando em ambas as direções.

PEO é um processo eletroquímico que envolve eletrólise em uma solução aquosa acompanhada por um número de processos elétricos. Além disso, a liberação de oxigênio

gasoso e oxidação metálica ocorrem na superfície anódica, enquanto hidrogênio gasoso se forma na superfície catódica [69]. Um aspecto chave do processo é a criação de microdescargas na superfície do eletrodo de trabalho, em um eletrólito pela aplicação de alta tensão. O processo de formação da camada por estas microdescargas, mostrado na Figura 2, é classificado em três principais passos por um grande número de autores.



**Figura 2.** Esquema do fenômeno de microdescargas elétricas e microestrutura do revestimento desenvolvido durante o processo PEO. Adaptado de Jiang e Wang [66].

Mortazavi et al. [70] descrevem o processo de PEO no titânio CP em três etapas, analisando a resposta tensão-tempo em função da densidade de corrente, fazendo uso de um sistema de corrente alternada. No estágio inicial, a tensão aumenta linearmente com o tempo e o processo é acompanhado pela evolução de oxigênio gasoso na superfície anódica, não havendo aparição de microdescargas na superfície do ânodo; no segundo estágio, acima da tensão crítica, o sistema começa a desviar da linearidade observada anteriormente e a inclinação da curva V-t é reduzida. Devido ao alto campo elétrico, a quebra dielétrica (avalanche de elétrons) ocorre e um grande número de pequenas microdescargas são distribuídas por toda superfície do ânodo; por fim, no terceiro estágio,

a tensão anódica se mantém relativamente estável, indicando que o revestimento alcançou uma resistência constante e uma quantidade maior de tensão seria necessária para manter a mesma corrente.

Fazendo uso de um gráfico de tensão em função do tempo, apresentado na Figura 2, Jiang e Wang [66] descrevem em quatro etapas o processo, adicionando uma etapa entre a primeira e a segunda etapa apontadas por Mortazavi et al. [70]. Esta etapa intermediária é representada pela diminuição do aumento da tensão, devido a diminuição da taxa de crescimento do filme de óxido, que é atribuído à competição do crescimento anódico do revestimento e de sua dissolução no substrato.

Hussein et al. [65], também apresentaram um modelo com três etapas, mas também apontaram a possibilidade de ocorrência de uma quarta. Essa apresenta descargas mais concentradas, sendo maiores e possuindo uma vida útil mais longa. Mesmo acontecendo com menos frequência em relação as microdescargas apresentadas na terceira etapa, devido ao revestimento mais espesso são mais difíceis de serem iniciadas. Em alguns casos, essas microdescargas são tão intensas que podem causar danos irreversíveis ao revestimento.

Cada tipo de microdescarga ou descarga, corresponde a formação de um canal através do revestimento, resultando em efeitos de decomposição, canalização, fusão e solidificação do mesmo. Os tipos de processos induzidos por descargas são listados abaixo [66]:

- Migração de “curto-circuito” de íons;
- Crescimento granular do revestimento: as descargas levam a fusão, dissolução e reações químicas no substrato. Sob o efeito do rápido resfriamento proveniente do substrato frio, os produtos de óxido de fusão gerados próximos à interface revestimento-substrato solidificam para formar uma camada nano-cristalina, estando sujeita a um crescimento gradual sob o processo metalúrgico causado pelas repetidas descargas;
- Crescimento interno e externo do revestimento: ocorre simultaneamente. O crescimento interno é atribuído à continua formação de uma camada nanocristalina que consome o substrato, enquanto que os produtos óxidos das reações químicas, que ocorrem nos canais de descarga são os principais responsáveis pela formação da camada externa;
- Envolvimento de sedimentos superficiais no revestimento;

- Repetição de processo de fusão e solidificação: o revestimento de grão nanocristalinos binado com uma pequena quantidade de fase amorfa é resultado da solidificação rápida de produtos fundidos pelo substrato frio e o eletrólito.

Alguns autores observaram a ocorrência de mais uma etapa do processo PEO, chamado de regime “soft”. Este regime “soft” é desenvolvido após um período inicial do regime de “arcos” (descargas), estando associado com diminuição gradual na tensão elétrica, a baixa intensidade de emissão ótica devido ao desaparecimento das microdescargas e a redução na emissão acústica. Este regime proporciona uma taxa de crescimento de camada alta, possibilita a formação de fases cristalinas de alta temperatura e baixa porosidade [71].

Por ser um processo que aplica alta tensão, gerando altas temperaturas e pressões localizadas, é possível a formação de óxidos complexos que não são constituídos unicamente de composto do substrato, mas também dos componentes presentes no eletrólito [72]. Para Godja e colaboradores [73], a espessura da camada formada durante o processo PEO depende majoritariamente da liga do substrato e do tipo de eletrólito utilizado, além da forte influência que a densidade de corrente promove na uniformidade da espessura de camada.

### **3.4.2. Influência do Eletrólito no processo PEO**

Os efeitos intrínsecos do eletrólito no processo PEO, são: primeiro, promover a passivação do metal para formar uma película isolante fina, sendo pré-requisito para que ocorra a quebra dielétrica induzindo as microdescargas; segundo, como meio de condução de corrente, é essencial transmitir a energia necessária para a oxidação anódica ocorrer na interface metal-eletrólito; ser a fonte de oxigênio na forma de oxissal necessária para a oxidação; e finalmente, permitir que os componentes presentes no eletrólito sejam incorporados no revestimento, modificando ou melhorando as propriedades desses.

Laveissière et al. [13] citam, em seu trabalho, sobre a influência do eletrólito no processo PEO, que a composição do eletrólito é fundamental na composição, cinética de crescimento e morfologia dos revestimentos PEO, todas essas características impactam no subsequente uso dos revestimentos. Além disto, os dois mecanismos de formação de camada, deposição a partir do eletrólito e a oxidação do substrato, competem entre si, afetando o crescimento de camada, especialmente em eletrólitos complexos.

Martin et al. [74] salientam que reagentes alcalinos, tais como KOH ou NaOH, são adicionados para controle de parâmetros como condutividade e basicidade do eletrólito. Estes reagentes promovem uma melhora na taxa de crescimento da camada, assim como aumento das propriedades tribológicas. Aditivos como o silicato ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ ), aluminato ( $\text{NaAlO}_2$ ) e hexametáfosfato sódico ( $(\text{NaPO}_3)_6$ ) são vistos como agentes de melhoria das propriedades anti-corrosivas, de desgaste e de crescimento e compactação da camada, já que são responsáveis pela incorporação de silício (Si), fósforo (P) e hidroxilas ( $\text{OH}^-$ ) no revestimento.

Wang et al. [75–77], caracterizaram diversos revestimentos PEO em eletrólitos com diferentes aditivos, utilizando como substrato o Ti-6Al-4V. Aditivos como silicato ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ ) e aluminato ( $\text{NaAlO}_2$ ) proporcionaram uma melhora na resistência a corrosão e ao desgaste, mesmo formando fases diferentes. O primeiro grupo de aditivos apresentou um revestimento constituído principalmente por rutilo, acompanhado de pequenas quantidades de anatase. Enquanto o eletrólito com aluminato apresentou um revestimento constituído basicamente de titanato de alumínio ( $\text{Al}_2\text{TiO}_5$ ). Em sua primeira pesquisa, Wang et al. [77], usaram um eletrólito a base de fosfato e obtiveram um revestimento composto por rutilo, anatase e  $\text{AlPO}_4$ , biologicamente viável e com alta resistência a corrosão.

Muitos revestimentos bioativos obtidos por PEO, em titânio e suas ligas, contendo Ca-P foram formados em eletrólitos contendo sais solúveis de Ca e P, como acetato de cálcio e fosfato [11,20,78]. Estes componentes promovem a proliferação celular, osseointegração e podem facilitar uma nova estrutura óssea. No caso de revestimentos PEO, a maioria dos estudos abordam a bioativação por incorporação de espécies de Ca e P do eletrólito nas camadas de óxido, pois esses elementos são conhecidos por promover a formação de composto do tipo apatita, além de que eletrólitos com altas relações de Ca/P propiciam maiores espessuras de camada [11,78].

Li et al. [79] correlataram a presença de partículas de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ao atraso no crescimento da rampa de tensão. Wang et al. [80], salientaram que a adição de nano partículas de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  permite que os revestimentos de PEO cresçam mais rapidamente e alcancem uma tensão final mais alta. Ahounbar et al. demonstraram em seus estudos que altas relações de Ca/P aumentam a variação da tensão ( $\Delta V$ ) no sistema e conseqüentemente, formando descargas elétricas mais fortes [78]. Estes exemplos

demonstram como a presença de partículas, a composição e a quantidade de componentes altera os parâmetros elétricos do processo de PEO.

### **3.4.3. Influência dos parâmetros elétricos**

Durante o processo PEO os parâmetros elétricos, que incluem principalmente a densidade de corrente (ou tensão), frequência e o *duty cycle*, são um dos mais importantes parâmetros, sendo cruciais no crescimento, composição e na estrutura do revestimento [81,82].

Muitos pesquisadores apontam que a densidade de corrente, ou seja, a corrente aplicada dividida pela área exposta da amostra, está diretamente ligada com a morfologia final da superfície do revestimento, assim como a microestrutura e espessura, influenciando as propriedades tribológicas e anticorrosivas.

Mortazavi et al. [70] estudaram a influência de diferentes valores de densidade de corrente em revestimentos PEO, utilizando Ti-Cp como substrato. Os autores mostraram que tanto a corrente elétrica quanto a corrente iônica são cruciais para processo PEO e uma contribuição balanceada das duas é requerido para beneficiar o processo de crescimento do filme óxido. Em baixas densidades de corrente, a contribuição da corrente elétrica é dominante, gerando um grande número de canais de descarga que, por sua vez, aumentam a porosidade e a rugosidade superficial do revestimento. Com o aumento da densidade de corrente, a taxa de incorporação da corrente iônica aumenta, o que resulta na formação de um revestimento com taxas de crescimento maiores, baixa rugosidade e porosidade. Sendo assim, os autores concluíram que o aumento da densidade de corrente durante o PEO incrementa a taxa de crescimento do revestimento.

Visando analisar o controle térmico do processo PEO, na liga de Ti-6Al-4V, por meio de diferentes parâmetros elétricos Q. Xia et al. [83] variaram os seguintes parâmetros: densidade de corrente, mantendo o *duty cycle* e a frequência de trabalho constantes; a taxa de serviço, fixando a densidade de corrente e a frequência de trabalho; e por fim, variou a frequência de trabalho, mantendo os outros parâmetros constantes. Seu estudo aponta que com o aumento da densidade de corrente e da taxa de serviço, a tensão do processo PEO cresce mais rapidamente e a tensão final se torna mais alta, o que beneficia o crescimento do revestimento. Contudo, o aumento da frequência de trabalho produz tensões mais altas no estágio inicial, e então a tensão sobe mais devagar. A tensão final sobre altas frequências é mais baixa do que em frequências mais baixas. Porém,

diferentemente da densidade de corrente e da taxa de serviço, uma frequência maior é melhor para promover o crescimento inicial do revestimento e uma frequência baixa é melhor para manter um crescimento de camada tardio.

O uso da corrente pulsada para o processo PEO, possibilitada pelo recente desenvolvimento de fontes AC e CC de pulso, é explorado por inúmeros autores. Estes buscam entender a resposta do processo ao uso de corrente positiva ou negativa. O uso majoritário de uma carga negativa, ao invés de positiva, aumenta a espessura e homogeneidade da camada, reduzindo fortemente a presença de largos canais de descarga no revestimento final [84]. O uso de uma corrente bipolar nos eletrodos possibilita até mesmo a aparição de uma etapa nova no processo PEO, denominada “soft”, dependente principalmente da razão de quantidades de carga positiva para negativa sendo menor que um [85].

A corrente catódica e anódica tem grande importância no desenvolvimento e crescimento dos revestimentos PEO. Rogov et al. [86] enfatizaram o uso de corrente catódica reduz a quantidade de energia necessária para a ativação do substrato, aumentando o campo elétrico efetivo na interface óxido-metal, levando a formação de um revestimento uniforme. Wang et al. [87] correlacionaram as propriedades finais dos revestimentos PEO com a razão entre corrente anódica e catódica, concluindo que a diminuição dessa razão leva a uma série de alterações desejáveis, como: diminuição da rugosidade; aumento da dureza; a espessura da camada compacta interna aumenta, enquanto a espessura da camada externa diminui.

Wei et al. [88] demonstraram, em seus estudos sobre o Ti-6Al-4V, que a corrente anódica diminui com o aumento da distância entre os eletrodos, e que o fluxo de corrente na face frontal das amostras (exposta a face do cátodo) foi maior do que a face traseira. Isto demonstra o efeito da distância entre os eletrodos tem sobre a intensidade das descargas. Sendo assim, para a produção de um revestimento uniforme é necessário manter uma distância igual de todas as superfícies do ânodo em relação ao cátodo.

Zou et al. [89] estudaram a influência do aumento da tensão (380 V, 400 V e 420 V) nas propriedades morfológicas dos revestimentos obtidos por PEO, sobre a liga de alumínio AA6061. Os autores verificaram que o aumento da tensão aplicada aumenta a relação rutilo/anatase, dureza, espessura de camada, rugosidade dos revestimentos e concentração dos elementos incorporados através do eletrólito utilizado. Além disso, os

autores indicaram que o revestimento com melhor resposta anticorrosiva foi o obtido em 400 V já que sua camada externa, responsável pela resistência à corrosão dos revestimentos obtidos por PEO, foi a mais espessa e compacta. Zou et al. [90], também observam que o aumento da tensão aplicada durante a obtenção dos revestimentos levando ao espessamento dos mesmos, assim como a quantidade de poros e de seus tamanhos médios. Os autores salientam que mais energia de descarga induz a contração de estresse em revestimentos PEO, levando a trincas e fragilização. Além disso quanto maior a entrada de energia de pulso individual, a característica de supercrescimento local de *pits* ocorreu.

Fazel et al. [91] indicam que os revestimentos obtidos por PEO, usando o Ti-6Al-4V como substrato, possuem duas camadas, sendo composta da camada externa (porosa) e da camada interna (densa). Sendo essas camadas extremamente sensíveis aos parâmetros elétricos, onde camadas menos porosas obtidas com tensões mais baixas e mais densas, apresentam maior resistência a corrosão em relação aquelas obtidas em altas tensões, que apresentam poros grandes e camadas quebradiças. O tempo de processo também influencia na resistência à corrosão dos revestimentos obtidos por PEO. Cheng et al. [92] demonstraram que revestimentos produzidos em períodos de tempo menores (3 min) apresentam superior resistência a corrosão, indicando que esse comportamento é apresentado por revestimentos mais finos, no entanto densos.

#### **3.4.4. Aplicações em biomateriais**

Titânio e suas ligas (Ti-6Al-4V) são amplamente utilizados como implantes ortopédicos e ortodônticos, como já salientado neste trabalho. Mesmo apresentando biocompatibilidade, excelente resistência a corrosão e uma ótima relação entre peso e resistência, as propriedades bioinertes, da liga Ti-6Al-4V restringem a aplicação deste material, além disto, as propriedades mecânicas do Ti-CP deixam a desejar em relação a resistência ao desgaste. Revestimentos multifuncionais, com a presença de diferentes elementos químicos ou apresentando multicamadas, que previnem a adesão de bactérias e promovem o crescimento ósseo pela presença de elementos osteoindutores podem ser obtidos pelo processo PEO. A Tabela 3 apresenta alguns revestimentos PEO obtidos para a aplicação na área biomédica.

Dessa forma, a otimização das propriedades de revestimentos PEO é de grande importância para uma melhor utilização do titânio e suas ligas, na área biomédica. A

bioatividade desses substratos metálicos pode ser melhorada pela formação de revestimentos provenientes de eletrólitos contendo sais de cálcio e de fósforo. Alguns como: acetato de cálcio ( $C_4H_6CaO_4$ ) + fosfato trissódico ( $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ ) [78], glicerofosfato de cálcio [9,19,89,93], fosfato monossódico ( $NaH_2PO_4$ ) e di-hidrogenofosfato de cálcio [1]. É estimado que esses revestimentos obtidos com a presença de materiais bioativos na superfície podem aumentar a osseointegração, reagindo com o osso próximo a prótese e diminuindo, dessa forma, o tempo de cura [9].

Em seu trabalho utilizando Ti-CP como substrato, Santos-Coquillat et al. [1] relatam que um maior tempo de processo possibilita uma maior formação de rutilo no revestimento, assim como uma maior razão Ca/P. Contudo o revestimento com a menor razão Ca/P apresentou uma tendência maior a formação óssea. Parfenov et al. [20] também apontaram que um maior tempo de processo induz a formação de cristais de hidroxiapatita e enfatizam também que a porosidade abundante dos revestimentos, assim como sua rugosidade, ajudam na ancoragem e proliferação das células responsáveis pelo crescimento ósseo. Contudo os revestimentos obtidos por PEO em amostras de titânio metalurgicamente convencional apresentaram a mesma viabilidade, adesão e proliferação celular, do que em amostras de Ti-CP. Sendo ambas inferiores, em suas características biológicas, às amostras de Ti nanoestruturado e o Ti-nano com revestimentos PEO.

Para promover a melhora na bioatividade e resistência ao desgaste dos revestimentos à base de  $TiO_2$ , métodos de pós tratamento vem sendo explorados. Bertuccioli et al. [62] propuseram que o uso de um jateamento abrasivo com partículas de vidro. Este processo de jateamento levou a uma redução da rugosidade superficial do revestimento e da fricção, além de melhorar a resistência ao desgaste. Os autores ainda desenvolveu um revestimento duplo, obtendo primeiro uma camada em um banho com silicato e um segundo, a base de fosfato. Resultando no aumento da resistência ao desgaste do revestimento. Yang et al. [94] depositaram diferentes filmes de carbono na superfície de revestimento obtidos por PEO, para a melhora das propriedades mecânicas, sendo os filmes: um filme fino de carbono tipo diamante (DLC), um filme de carbono tipo grafite (GLC) e um filme espesso de carbono tipo diamante (PE-DLC), usando um sistema de deposição de feixe de íons híbrido, pulverização por magnetron e deposição de vapor químico aprimorado por plasma, respectivamente.

Em seu estudo, L. Sopchenski et al. [17], mostraram a viabilidade da incorporação de zinco em revestimento PEO de  $TiO_2$  fazendo uso de sua capacidade bactericida sem

induzir efeitos citotóxicos. Posteriormente, Nikoomanzari et al. [16] estudaram a influência de diferentes concentrações de dióxido de zircônio ( $ZrO_2$ ), também visando efeitos bactericidas, mas do zircônio. Este estudo apontou que o aumento da concentração de  $ZrO_2$  induz a redução da atividade antibacteriana dos revestimentos obtidos pelo processo PEO. Outro elemento incorporado a revestimentos obtidos por PEO, que visam o aumento da consolidação óssea sobre implantes, é o Cério (Ce). Revestimentos dopados com Ce apresentaram maior capacidade de induzir a formação de apatita em comparação com amostras não dopadas com Ce, já que superfícies capazes de formar mais ligações hidroxila com a água foram formadas pelos revestimentos dopados [95].

**Tabela 3.** Parâmetros de diferentes processos PEO e as características dos revestimentos obtidos para aplicações biomédicas.

Autor	Substrato	Eletrólito	Parâmetros elétricos	Características dos revestimentos	Ref.
Santos-Coquillat et al.	Ti-Cp (grau 1)	1. (C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> CaO <sub>4</sub> ) + (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ), em uma relação Ca/P=5.	1.Tempo: 90 s e 600 s; 2.Corrente: alternada; 3.Frequência: 50 Hz; 4.Tensão: +490 V/-60 V; 5.Densidade de corrente: 400 mA.cm <sup>-2</sup> .	1.Composição de fase: anatase e rutilo, a fração de rutilo aumentou de 23% para 85% e a relação Ca/P aumentou de 2,0 para 4,0, com maior tempo de processamento; 2.Espessura (µm): 5 (90s) e 15 (600s); 3.Rugosidade (S <sub>a</sub> ): 1,05µm (90s) e 1,88µm (600s); 4.Densidade de poros (poros.mm <sup>-2</sup> ): (38±8) × 10 <sup>3</sup> (90s) e (10±2) × 10 <sup>3</sup> (600s);	[1]
Santos-Coquillat et al.	Ti-CP(grau 1)	1.Ca(CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>2</sub> ·5H <sub>2</sub> O + NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O + Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O + NaOH (15,4/3,9/20,5/4,43 g/L); 2.Acréscimo de: ZnO + Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O + MgSO <sub>4</sub> (15,4/3,9/20,5/2,0/3,0/3,0 g/L); 3.Acréscimo de: ZnO + Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O (15,4/3,9/20,5/2,0/3,0 g/L); 4.Acréscimo de: Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O (15,4/3,9/20,5/3,0 g/L).	1.Tempo: 300 s; 2.Corrente: alternada; 3.Frequência: 50 Hz; 4.Tensão: +490V/-30 V; 5.Densidade de corrente: 300 mA.cm <sup>-2</sup> .	1.Composição de fase: TiO <sub>2</sub> , HA, apatita, SiO <sub>2</sub> , MgO, CaF <sub>2</sub> e CaTiO <sub>3</sub> ; 2. Espessura (µm): de 15 à 27; 3. Rugosidade (R <sub>a</sub> ): de 1,02 ± 0,01 a 2,29 ± 0,03µm; 4. Densidade de poros (poros.mm <sup>-2</sup> ): de 21.966 até 34.326; 5. Ângulo de contato (°): de 9 ± 1,3 a 48 ± 1,3; 6. Promovem osseointegração e liberação de elementos bioativos; 7.Aumento da resistência a corrosão.	[11]
Ahounbar et al.	Ti-CP(grau 2)	1. (C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> CaO <sub>4</sub> ) + (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) – 5 Ca/P; 2. (C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> CaO <sub>4</sub> ) + (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) – 8 Ca/P; 3. (C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> CaO <sub>4</sub> ) + (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) – 12 Ca/P; 4. (C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> CaO <sub>4</sub> ) + (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) – 18 Ca/P.	1.Tempo: 7 min; 2.Corrente: contínua; 3.Tensão: 290 V.	1. Composição de fase: HA, TiO <sub>2</sub> (anatase e rutilo) e Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ; 2. Espessura (µm): (E1)2,1/ (E2)5,9/ (E3)5,2/ (E4)6,9; 3. Densidade de poros (10 <sup>6</sup> poros.mm <sup>-2</sup> ): (E1)0,32/ (E2)0,48 / (E3)0,13/ (E4)0,08; 4.Média do poro (µm): (E1)0,37/ (E2)0,70/ (E3)0,81/ (E4)0,92;	[78]
Nikoomanzari et al.	Ti-6Al-4V	1. (12 g/L) Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O; 2. (12 g/L) Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O + (1 g/L) ZrO <sub>2</sub> ; 3. (12 g/L) Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O + (3 g/L) ZrO <sub>2</sub> ; 4. (12 g/L) Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O + (5 g/L) ZrO <sub>2</sub> .	1.Tempo: 10 min; 2.Corrente: contínua; 3.Frequência: 1000 Hz; 4.Tensão máx: 700V; 5.Densidade de corrente: 2 A/dm <sup>2</sup> .	1. Composição de fase: TiO <sub>2</sub> (anatase e rutilo), ZrTiO <sub>4</sub> e ZrO <sub>2</sub> ; 2. Espessura (µm): (E1)9,4/ (E2)9,6/ (E3)10,7/ (E4)12,7; 3. Rugosidade (µm): (E1)0,62/ (E2)1,02/ (E3)1,3/ (E4)1,5; 4. Ângulo de Contato (°): (E1)9/ (E2)15/ (E3)60/ (E4)68;	[16]
Park e Choe	Ti-6Al-4V	1. (0,15 mol/L) (C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> CaO <sub>4</sub> ) + (0,02 mol/L) Glicerofosfato de cálcio; 2. (0,12 mol/L) (C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> CaO <sub>4</sub> ) + (0,19 mol/L) Glicerofosfato de cálcio + (0,0075 mol/L) Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> + (0,0075 mol/L) ZnC <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> + (0,0075 mol/L) Mg(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> + (0,0075 mol/L) MgCl <sub>2</sub> + (0,0075 mol/L) (CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Sr.	1.Tempo: 3 min; 2.Corrente: contínua; 3.Tensão: 280 V.	1.Composição de fase: TiO <sub>2</sub> (anatase e rutilo) e HA; 2.Quando os elementos bioativos foram adicionados no processo de PEO, o tamanho do poro diminuiu; 3.Os revestimentos de PEO tem uma diminuição na resistência a polarização devido a formação de poros, e sua estabilidade tende a ser reduzida de alguma forma pela dopagem de íons funcionais.	[9]
Parfenov et al.	1.Ti-CP (Grau 4); 2.Ti-CP-Nano (Grau 4).	1. (20 g/L) Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ·12.H <sub>2</sub> O + (25 g/L) Ca(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ; V=4 L; pH=11.5.	1.Tempo: 10 min; 2.Corrente: alternada; 3.Frequência: 300 Hz; 4.Tensão: +470V/-40 V.	1.Composição de fase: TiO <sub>2</sub> (rutilo e anatase), HA, Perovskita (Ca(TiO <sub>3</sub> )), Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ; 2. Espessura (µm): 26,5 ± 3,0 µm; 3. Rugosidade (R <sub>a</sub> ): de 1,13 ± 0,09; 4. Tamanho médio dos poros (µm): 3,3 ± 0,6.	[20]

Yu e Choe (2019)	Ti-6Al-4V	<p>1. Ca/P: (0,15 mol/L) <math>\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}</math> + (0,02 mol/L) <math>\text{C}_3\text{H}_7\text{NaCaO}_6\text{P}</math>;</p> <p>2. 5Sr: (0,1425 mol/L) <math>\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}</math> + (0,02 mol/L) <math>\text{C}_3\text{H}_7\text{NaCaO}_6\text{P}</math> + (0,0075 mol/L) <math>\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}</math>;</p> <p>3. 10Sr: (0,1425 mol/L) <math>\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}</math> + (0,02 mol/L) <math>\text{C}_3\text{H}_7\text{NaCaO}_6\text{P}</math> + (0,0015 mol/L) <math>\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}</math>;</p> <p>4. 20Sr: (0,1425 mol/L) <math>\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}</math> + (0,02 mol/L) <math>\text{C}_3\text{H}_7\text{NaCaO}_6\text{P}</math> + (0,03 mol/L) <math>\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}</math>;</p> <p>5. 5Sr/5Si: (0,1425 mol/L) <math>\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}</math> + (0,02 mol/L) <math>\text{C}_3\text{H}_7\text{NaCaO}_6\text{P}</math> + (0,0075 mol/L) <math>\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}</math> + (0,001 mol/L) <math>\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}</math>;</p> <p>6. 10Sr/5Si (0,1425 mol/L) <math>\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}</math> + (0,02 mol/L) <math>\text{C}_3\text{H}_7\text{NaCaO}_6\text{P}</math> + (0,0015 mol/L) <math>\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}</math> + (0,001) <math>\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}</math>;</p> <p>7. 20Sr/5Si (0,1425 mol/L) <math>\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}</math> + (0,02 mol/L) <math>\text{C}_3\text{H}_7\text{NaCaO}_6\text{P}</math> + (0,03 mol/L) <math>\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}</math> + (0,001 mol/L) <math>\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}</math>.</p>	<p>1. Tempo: 3 min;</p> <p>2. Corrente: contínua;</p> <p>3. Tensão: 280V.</p>	<p>1. Composição química: (Ca/P)O, Al, P, Ca, Ti, V; (5,10 e 20 Sr) O, Al, P, Ca, Ti, V e Sr; (5,10 e 20Sr/5Si): O, Al, P, Ca, Ti, V, Sr e Si.</p> <p>2. Rugosidade (<math>R_a</math>): (Ca/P) 0,35 <math>\mu\text{m}</math>, (5Sr) 0,35 <math>\mu\text{m}</math>, (10Sr) 0,38 <math>\mu\text{m}</math>, (20Sr) 0,41 <math>\mu\text{m}</math>, (5Sr/5Si) 0,37 <math>\mu\text{m}</math>, (10Sr/5Si) 0,42 <math>\mu\text{m}</math> e (20Sr/5Si) 0,38 <math>\mu\text{m}</math>;</p> <p>3. Área ocupada por poros (%): (Ca/P) 8,11, (5Sr) 8,65, (10Sr) 8,97, (20Sr) 8,88, (5Sr/5Si) 8,56, (10Sr/5Si) 9,52 e (20Sr/5Si) 9,56;</p> <p>4. Diminuição do tamanho dos poros foi acompanhado do aumento do número de poros;</p> <p>5. Proliferação celular aumentou com o aumento das concentrações de Sr;</p> <p>6. Formação abundante de camadas de apatita semelhantes a ossos.</p>
Li et al.	Ti-6Al-4V	<p>P-Sr: (0,01 M) <math>\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}</math> + (0,02 M) <math>\text{C}_3\text{H}_7\text{NaCaO}_6\text{P}</math> + (0,03 M) <math>\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2</math>;</p> <p>Si-Sr: (0,01 M) <math>\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}</math> + (0,03 M) <math>\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2</math> + (0,375 M) (<math>\text{NaSiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}</math>)</p>	<p>E1:</p> <p>1. Tempo: 3 min;</p> <p>2. Corrente: alternada;</p> <p>3. Frequência: 500 Hz;</p> <p>4. Tensão: +350/-50 V;</p> <p>5. Duty Cycle: 10%.</p> <p>E2:</p> <p>1. Tempo: 3 min;</p> <p>2. Corrente: contínua;</p> <p>3. Frequência: 1000 Hz;</p> <p>4. Tensão: 200 V;</p> <p>5. Duty Cycle: 12%.</p>	<p>1. Composição de fase: (P-Sr) - <math>\text{TiO}_2</math> (anatase e rutilo), HA, Ti, (Si-Sr) - Ti;</p> <p>2. Espessura (<math>\mu\text{m}</math>): de 5 a 8 <math>\mu\text{m}</math>;</p> <p>3. Ângulo de contato (<math>^\circ</math>): (P-Sr) <math>32,4 \pm 0,1</math> e (Si-Sr) <math>41,8 \pm 0,5</math>;</p> <p>4. Revestimento P-Sr apresentou melhores propriedades biocompatíveis em relação ao revestimento Si-Sr.</p>

Somando-se aos elementos químicos que podem ser incorporados aos revestimentos obtidos por PEO, estão o Si e o Sr. O primeiro é conhecido por ser um elemento essencial em processos biológicos, mostrando ser capaz de afetar a diferenciação, proliferação e modificação de células osteogênicas, crescimento de osteoblastos e a capacidade de absorção destes. Além de agir sinergicamente com o materiais a base de Ca/P, aumentando a atividade biológica [93,96]. O Sr é um conhecido oligoelemento, que se acumula em ossos, capaz de inibir a atividade dos osteoclastos e estimular a diferenciação de células osteoblásticas, sendo responsável pela formação de colágeno, ou não, em osteoblastos maduros [96–98].

Yu e Choe [96], conduziram estudos onde diferentes eletrólitos com concentrações variadas dos seguintes elementos foram avaliadas: Ca, P, Si e Sr (Tabela 3). Seus estudos demonstraram que o aumento da quantidade de Sr, nos revestimentos, induziu ao aumento da proliferação celular. Complementarmente, Li et al. [97] realizaram estudos comparativos entre dois revestimentos obtidos por PEO em dois eletrólitos diferentes (Tabela 3). O grupo de amostras obtidos no eletrólito rico em P e Sr, apresentaram uma maior biocompatibilidade e atividade osteogênica, comparativamente as amostras obtidas no eletrólito rico em Sr e Si, sugerindo uma maior sinergia entre os elementos Ca, P e Sr.

Ahounbar et al. [78] propõem que altas relações de Ca/P aumentam a variação da tensão ( $\Delta V$ ), proporcionando descargas elétricas mais fortes, levando a formação de zonas de alta temperatura concentrada dentro dos canais de descarga do revestimento cerâmico supersaturado promovendo energia de ativação suficiente para a formação de HA. Em paralelo, Fazel et al. [21] optaram pela combinação das técnicas PEO e de síntese hidrotermal para alcançar a formação de nano-cristais de HA, em diferentes morfologias sobre a superfície de revestimentos PEO. Neste estudo, Fazel e seus colaboradores estudaram revestimentos multifuncionais em implantes de Ti-6Al-4V, fabricados por manufatura aditiva. Sendo os revestimentos formados primeiramente por uma camada espessa, porosa, contendo nanopartículas de Ag e supersaturada de Ca e P, combinada com nanocristais de hidroxiapatita. A formação da HA garantiu que os revestimentos apresentassem resposta celular positiva, assim como resposta bactericida, devido à formação nanotopográfica dos revestimentos.

### 3.5. Desgaste

A palavra tribologia deriva das palavras gregas *tribos* que significa fricção, e *logos* que significa estudo, de forma que na tradução literal é: O estudo do atrito ou a ciência que estuda o atrito.

É definida como a ciência e tecnologia da interação de superfícies em movimento relativo, em contato e sobre pressão. Abrange as áreas de atrito, desgaste e lubrificação. Estando os três mecanismos interconectados, sendo necessário o estudo conjunto desse. Ainda inclui os estudos da interação física e química de componentes, distribuição de forças e alteração de topografia [99].

Desgaste é definido como a alteração de uma superfície sólida por uma perda progressiva ou descolamento progressivo de um material devido ao movimento relativo entre esta superfície e uma substância em contato ou substâncias [100]. Já na enciclopédia da tribologia [101] o termo “desgaste” é definido como “indesejável perda contínua de material de uma ou de ambas as superfícies dos elementos tribológicos correspondentes devido ao movimento relativo das superfícies”. Porém, o fenômeno de desgaste nem sempre é proveniente de um processo físico sozinho causado pela ação mecânica, podendo ou não ser acompanhado por algum processo químico.

A forma mais comum de se classificar a ocorrência do desgaste é através de seus diferentes mecanismos. Nominalmente, os tipos de desgaste são classificados em 5 grupos, como abaixo [102]:

- Desgaste adesivo;
- Desgaste abrasivo;
- Fadiga superficial por desgaste;
- Desgaste por corrosão;
- Desgaste erosivo.

Apesar desta classificação, em uma situação tribológica, mais de um mecanismo pode estar presente em aplicações particulares. Esses mecanismos podem ser identificados pela aparência da superfície desgastada e pela natureza da aplicação [103]. Desgaste é a maior causa de perda de material e perda de performance mecânica, qualquer redução de seus danos pode resultar em economias consideráveis.

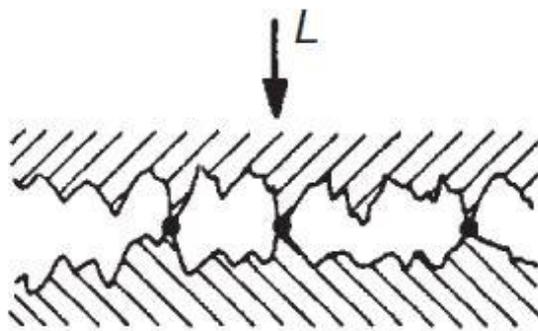
O estudo da tribologia se faz presente em uma grande gama de materiais, isto inclui os biomateriais. Alguns destes materiais são submetidos a contatos tribológicos, como implantes ortopédicos e ortodônticos [104]. A alta resistência ao desgaste e um baixo coeficiente de fricção destes implantes é de extrema importância, quando ocorre o deslizamento contra tecidos do corpo. Sahoo et al. [105] enfatiza que qualquer alteração dessas propriedades podem acarretar na perda do implante. Outra propriedade apontada como importante é a resistência a falha por fadiga, devido a movimentação cíclica, assim como a variação de cargas, que as juntas do corpo humano sofrem durante o período de vida de uma pessoa.

### **3.5.1. Superfície em Contato**

Toda superfície de engenharia é rugosa e apresenta pequenas ondulações. No ponto de vista tribológico, uma superfície é caracterizada como a camada externa ao sólido com propriedades físicas de elevado significado. A camada externa consiste de várias zonas com características físico-químicas divergentes ao material de base e do componente externo em contato [106].

A rugosidade apresentada pela superfície terá influência tanto no tipo como na intensidade de desgaste a que a peça estará sujeita, esta rugosidade pode ser denominada como “aspereza”. Os valores de rugosidade mais utilizados são  $R_a$  e  $R_z$ , onde o primeiro é a média dos valores absolutos medidos em cada ponto da superfície, e o segundo demonstra a distância entre os cinco maiores picos e os cinco vales mais baixos [99].

Quando duas superfícies são pressionadas uma contra a outra, sua área aparente de contato  $A_a$  é facilmente calculada por geometria, já a área real de contato  $A_r$  é mais difícil de ser determinada com precisão, já que é afetada pela rugosidade presente em suas superfícies. A Figura 3 apresenta duas superfícies se aproximando. As pontas das asperezas farão o primeiro contato entre as superfícies. Com o aumento da força normal, as asperezas irão deformar (achatar) e a área de contato real aumentará. Se houver tempo suficiente ocorrerá a adesão entre essas rugosidades achatadas. À medida que a força normal aumenta e os picos da rugosidade são achatados, novas superfícies são criadas e a área real de contato aproxima-se da área aparente.



**Figura 3.** Superfícies em contato, L a carga aplicada. Adaptado de Sethuramiah et al. [99].

### 3.5.2. Desgaste Adesivo

O processo de desgaste adesivo se caracteriza quando forças de ligações atômicas ocorrem entre os materiais são mais fortes que a força de um dos materiais. A maior parte do material removido permanece fixada à superfície do outro [107]. O desgaste adesivo é caracterizado por uma alta taxa de desgaste e um grande coeficiente de fricção.

Quanto mais dura a superfície, ou seja, quanto maior a relação entre a dureza da superfície e o módulo de elasticidade, maior a resistência ao desgaste adesivo. Apesar deste tipo de afirmação ser recorrente, outros autores como Gao et al. [108], afirmam que a correlação entre dureza e desgaste é limitada já que o processo de desgaste é influenciado por um grande número de fatores.

Ao pressionar-se superfícies “limpas” uma contra a outra por uma carga, algumas das asperezas em contato tenderão a se aderir umas às outras, isso ocorre pela ação das forças de atração entre os átomos superficiais dos dois materiais. Ao impor um escorregamento entre as superfícies, as adesões são rompidas, gerando danos para a superfície. Em alguns casos, partículas de um dos materiais serão quebradas e permanecerão livres, podendo riscar a superfície e cavar sulcos em ambas as peças. Essa espécie de dano é denominado de *escorreamento (scoring)* ou *“scuffing”* da superfície [109].

Juvinall e Marshek [110] se referem ao desgaste adesivo, com um fenômeno de soldagem. Devido à pressão de contato e o calor dissipado por atrito estarem concentrados em pequenas áreas localizadas de contato, as temperaturas e as pressões locais se tornam extremamente altas, fazendo com que as condições sejam favoráveis à soldagem nesses pontos. Os mecanismos de adesão causadores de dano superficial são: *fretting*, emperramento ou grimpamento (*seizure*), escoriação ou raspagem (*galling*).

*Galling* se caracteriza por ser um desgaste adesivo severo, sendo materiais dúcteis mais propensos a este mecanismo de desgaste. É uma forma de dano que surge entre sólidos deslizantes geralmente localizada, que acarreta na criação de saliências acima da superfície original, podendo envolver transferência de material [111]. Se a adesão e o cisalhamento das rugosidades superficiais causam a transferência de metal de uma superfície para a outra, o desgaste resultante é denominado de raspagem ou *galling*.

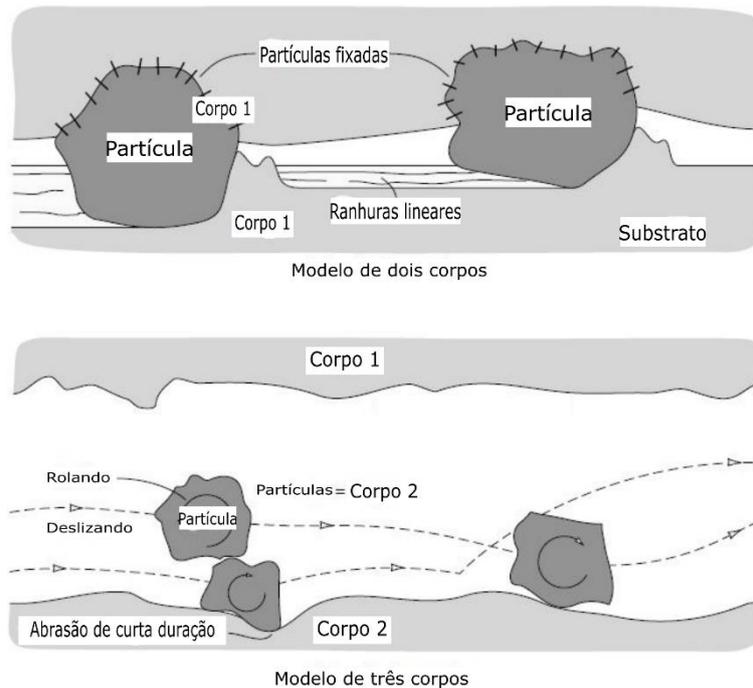
Se a soldagem (adesão) localizada das asperezas se tornar tão agressiva ao ponto de as superfícies não deslizarem uma sobre a outra, a falha resultante é chamada de *seizure* (engripamento) [110]. Sendo assim, o *seizure* pode ser considerado a forma mais agressiva do *galling*.

Em tribologia *fretting* é considerado um movimento oscilatório de pequena amplitude, usualmente tangencial, entre duas superfícies sólidas em contato [100]. Essas superfícies, normalmente estáticas, acabam sofrendo deste tipo de desgaste adesivo devido a algum tipo de vibrações aos quais são submetidas.

### **3.5.3. Desgaste Abrasivo**

Segundo Garbacz e Motyka [107], desgaste abrasivo ocorre quando uma superfície dura e rugosa desliza sobre uma superfície mais dúctil. Podendo ocorrer dois tipos de processos abrasivos: deslocamento ou remoção por corte, ocorrem quando o material se separa da superfície em forma de lascas ou detritos; e a aragem ocorre quando há deslocamento de material para os lados.

A literatura denota dois modelos básicos de desgaste abrasivo: dois corpos e três corpos. Williams et al. [103] afirma que se o desgaste depende da presença de partículas livres (embora sejam arrastadas dentro dos limites do contato), a situação é conhecida como abrasão de três corpos. Já a abrasão por dois corpos tem como agente de produção de desgaste a contraface dura em si, tendo partículas fixadas gerando riscos mais profundos na superfície mais dúctil. Ambos modelos podem ser vistos na Figura 4.



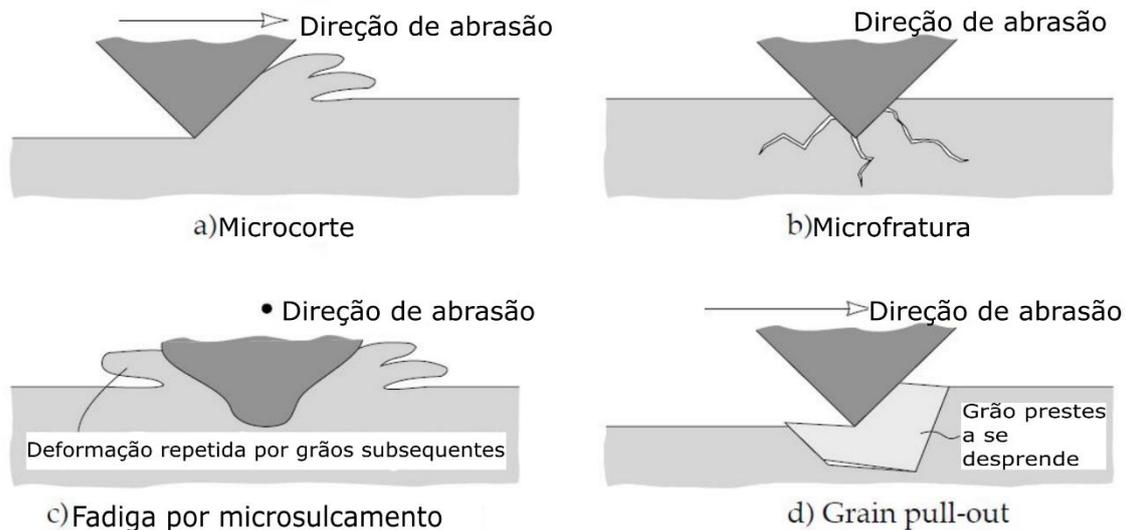
**Figura 4.** Modelo de dois e três corpos em desgaste abrasivo. Adaptado de Stachowiak e Batchelor [112].

Durante um processo de desgaste existem sempre muitos mecanismos diferentes agindo, o que não é diferente no desgaste abrasivo. Nesse, existem três mecanismos principais (Figura 5), que só foram identificados a partir de análises microscópicas, sendo: microcorte, microfratura, fadiga por microsulcamento. Ainda existem autores que adicionam um quarto mecanismo denominado de *Grain pull-out* (Extração de grãos), esse mecanismo é relativamente raro, sendo mais encontrado em materiais cerâmicos, podendo ser extremamente rápido quando as ligações intergranulares são fracas e a granulometria é grosseira [113].

O mecanismo de microcorte é representado por um modelo onde um grão afiado ou uma aspereza dura corta uma superfície mais macia. O material cortado é removido na forma de detritos de desgaste. A geometria destes detritos tem grande influência no mecanismo de desgaste por abrasão, tendo sido observado que superfícies com asperezas piramidais ou esféricas removem menos material do que com “fragmentos microcortantes” [114].

As microfraturas geralmente se iniciam a  $30^\circ$  da superfície e conforme o particulado avança sobre a mesma há um acumulo de trincas, que acabam liberando uma porção do material [112]. Este tipo de mecanismo é mais presente em metais de alta dureza e em materiais cerâmicos.

No caso do mecanismo de fadiga por microsulcamento, os detritos de desgaste são resultado da fadiga da superfície. Quando um material dúctil é desgastado por grãos arredondados não ocorre o corte da superfície, mas sim um desgaste devido a repetidas deformações superficiais [112].



**Figura 5.** Mecanismos de desgaste abrasivo: a) microcorte, b) microfratura, c) fadiga por microsulcamento, d) Grain pull-out. Adaptado de Stachowiak e Batchelor [112].

### 3.5.4. Fadiga Superficial por Desgaste

Diferentemente dos outros tipos de mecanismos de falha por desgaste, onde existe o movimento relativo de deslizamento puro entre as superfícies, o mecanismo de falha por fadiga superficial ocorre em contatos por rolamento puro, principalmente quando rolam em combinação com uma pequena porção de deslizamento [109]. Esta combinação de movimentos tem como consequência a aplicação repetida de cargas que produzem tensões nas superfícies de contato e abaixo delas, iniciando trincas que se propagam até pequenas partículas da superfície do material se separarem, produzindo uma corrosão ou uma fragmentação [110].

A fadiga superficial é recorrente em componentes de máquina como: mancais de roletes, mancais de esferas, cames, seguidores e engrenagens. Tendo em vista que esse tipo de falha ocorre quando existem tensões de contato, em qualquer ponto específico de uma superfície, que são aplicados ciclicamente. Tensões de contato, também conhecidas como tensões de Hertz, são três no total, sendo de compressão e são máximas na superfície do componente. Estas diminuem rapidamente e não linearmente com a profundidade e a distância do eixo de contato [109,110].

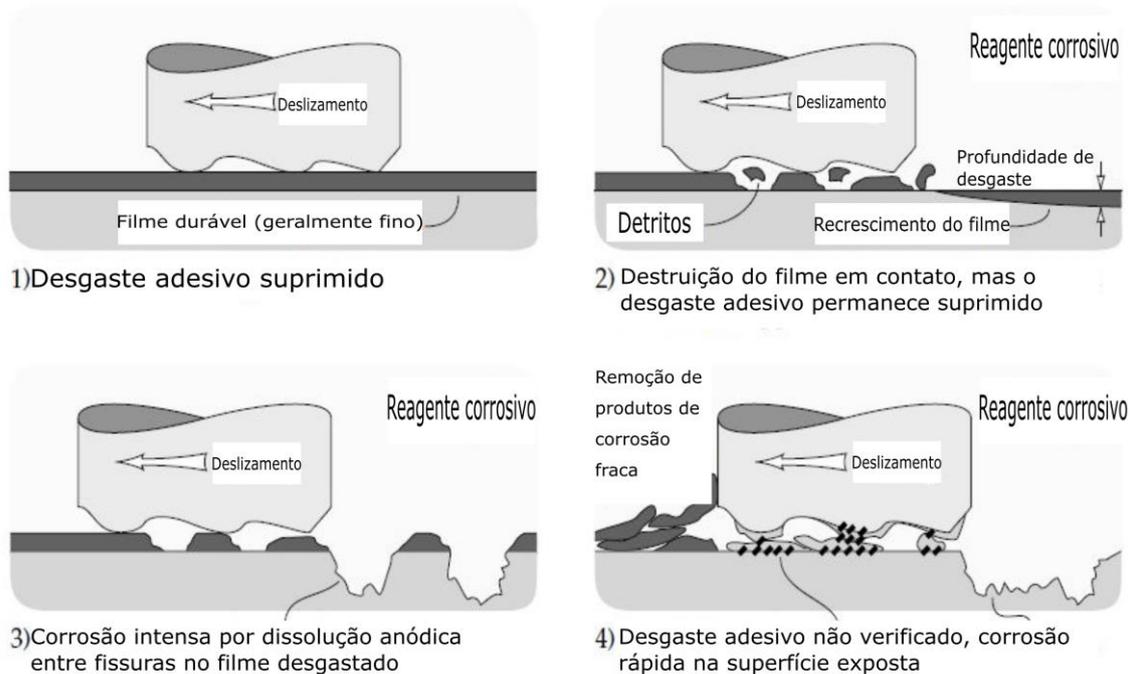
Crescimento de trincas provenientes dos repetidos movimentos cíclicos das superfícies em contato levam a falha por crateração, que é acompanhada de remoção de pequenas porções de material na superfície. Com a evolução do processo de crateração, o acabamento da superfície é comprometido e se desenvolve para uma falha por lascamento, onde ocorre a perda de porções maiores de material na superfície [109].

### **3.5.5. Desgaste por corrosão**

Desgaste corrosivo também conhecido como oxidação ou desgaste químico, é um tipo de desgaste causado por reações químicas e eletroquímicas entre a superfície e o ambiente [115]. Kato et al. [116] salienta que na situação de desgaste por corrosão, é assumida a formação de um filme fino através de uma reação triboquímica entre a superfície de contato do material e meio circundante, como ar, água ou um lubrificante.

O desgaste por corrosão requer a ocorrência de reações químicas e deslizamento. Os aspectos, corrosivo e triboquímico, do processo são distintos. Em uma ação puramente química, a superfície do material reage diretamente com os constituintes do ambiente. Em uma ação tribocorrosiva, a superfície deve ser ativada por um processo de deslizamento, para que a reação ocorra [117]. Se um material, no caso metal, é corroído para produzir um filme em sua superfície, enquanto esse é simultaneamente submetido a contato deslizante, um dos quatro processos, apresentados na Figura 6, deve ocorrer [118]:

- um filme lubrificante duradouro que inibe corrosão e desgaste deve formar-se;
- um filme fraco o qual tem tempo de vida pequeno sobre contato deslizante é produzido e uma alta taxa de desgaste deve ocorrer devido a destruição regular e recrescimento do filme. O coeficiente de atrito de ou não ser baixo neste caso;
- o filme protetor da superfície pode ser desgastado e um acoplamento galvânico entre os filmes restantes e o substrato subjacente pode resultar em rápida corrosão localizada da área desgastada da superfície;
- o processo de corrosão e de desgaste podem agir independentemente causando perda de material que é resultado dos dois processos unificados.



**Figura 6.** Modelos de interação entre o agente corrosivo e uma superfície desgastada. Adaptado de Stachowiak e Batchelor [112].

A magnitude da oxidação é determinada pelo grau de interação entre a superfície e o meio. Reatividade do óxido com o meio, espessura do filme, porosidade e fragilidade, assim como a composição do óxido são cruciais para a determinação das características do processo de corrosão [112].

### 3.5.6. Desgaste erosivo

A remoção de material pelo impacto de partículas, geralmente em alta velocidade, em superfícies é denominada desgaste erosivo [103]. Essas partículas não precisam ser necessariamente sólidas, podendo ocorrer desgaste erosivo em sistemas exposto a fluxos de água. O dano causado pelo desgaste erosivo depende da natureza, velocidade e ângulo de impacto das partículas, além da dureza relativa. De forma similar a outros tipos de desgaste, as boas propriedades mecânicas não garantem resistência ao desgaste e um estudo das características do material é necessário para minimizar o desgaste [119].

A cavitação é considerada um sistema de desgaste erosivo que ocorre em uma atmosfera líquida. O desgaste ocorre pela formação cíclica e colapso de bolhas na superfície do sólido em contato com o fluido. A formação destas bolhas é causada pela liberação de gás dissolvido do líquido onde é sustentado uma pressão negativa ou próxima de zero. Quando uma bolha colapsa na superfície, o líquido adjacente à bolha é

primeiramente acelerado e, depois, rapidamente desacelerado quando este colide com a superfície. Essas colisões geram um grande estresse que danifica o material [120].

### 3.5.7. Resistência ao Desgaste

A resistência ao desgaste é determinada a partir de testes e medições. Estes ensaios medem as características tribológicas de um material em um sistema tribológico, que descreve uma quantidade de medidas de desgaste. A principal grandeza medida para a definição da resistência ao desgaste de um material é o volume desgastado do material. A equação de Archard possibilita este cálculo relacionando a forma e o tamanho da área de contato com o desgaste, o carregamento e a dureza da superfície do material por meio de uma constante k. Sendo utilizado principalmente para modelar o desgaste abrasivo e adesivo [110].

$$V = k \frac{Fl}{H} \quad (3.1)$$

Onde:

V: volume desgastado do material mais mole (mm<sup>3</sup>);

F: força normal (kgf);

l: comprimento de deslizamento (mm);

H: dureza a penetração (kg/mm<sup>2</sup> ou psi)

k: coeficiente de desgaste.

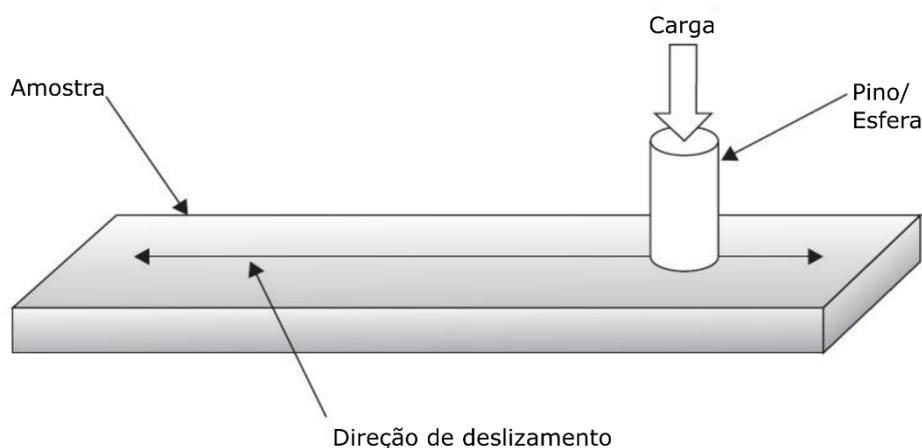
O fator “k” é denominado como coeficiente de desgaste, sendo uma propriedade adimensional do sistema deslizante, além disso, é uma função dos materiais utilizados e também da condição de lubrificação. Norton [109] enfatiza que existe uma variação dos valores do fator “k” para materiais iguais de aproximadamente 2 de ensaio para ensaio, mesmo sendo testados sob as mesmas condições. Este fenômeno é visto em ensaios para a definição do coeficiente de atrito, que tipicamente tem desvios-padrão de ± 20%. As razões para estas variações são desconhecidas, acreditando-se que ocorrem devido à dificuldade na reprodutibilidade das mesmas condições superficiais de um ensaio para o outro [121].

Apesar do coeficiente “k” fornecer importantes parâmetros que descrevem a severidade do desgaste, ele não é capaz de determinar a existência, ou não, dos variados

tipos de mecanismos de desgaste. Sendo necessário o uso posterior de microscópio óptico, e algumas vezes eletrônico, para a identificação dos mecanismos de desgaste presentes.

A melhor forma de se obter os valores do coeficiente de desgaste “k” para aplicação é a partir de ensaios tribológicos experimentais. O equipamento mais utilizado para esses ensaios é denominado Tribômetro, este pode apresentar uma grande gama de configurações. Uma das mais utilizadas para ensaios em biomateriais é a configuração *ball-on-plate*, este tipo de configuração força um contato *plane-on-plane* ou um *point-on-plane* [104].

O ensaio de desgaste com *ball-on-plate* é usado para estimar o desgaste e o coeficiente de atrito durante o deslizamento oscilante, representado na Figura 7. Este tipo de teste foi projetado para simular a geometria e os movimentos experimentados em muitos tipos de componentes de fricção, cuja a operação resulta em reversões periódicas na direção do deslizamento. Normalmente, o modelo de fricção é simulado por um pino com ponta arredonda pressionado contra uma contraparte plana, que é movida para frente e para trás [122].



**Figura 7.** Ensaio de desgaste com configuração ball-on-plate. Adaptado de Abdelbary et al. [122].

### **3.6. Propriedades Físico-química de superfície para aplicação biomédica**

#### **3.6.1 Rugosidade**

A rugosidade superficial é um parâmetro fundamental nas propriedades de revestimentos para aplicações biomédicas. Gittens et al. [123] apresenta uma definição de micro, submicro e nano-rugosidade, onde pelo menos uma de suas dimensões (altura, comprimento, largura) é menor que 100  $\mu\text{m}$ , 1  $\mu\text{m}$  e 0,1  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

Kumari et al. [124] salienta que uma alta rugosidade superficial, apresentada pelos revestimentos PEO, aumenta a bioatividade e a adesão entre o osso e a superfície do implante devido a sua área superficial melhorada.

### 3.6.2 Molhabilidade

Wenzel foi o primeiro a tentar quantificar a molhabilidade de um material através da medição do ângulo de contato, utilizando-se de uma metodologia simples para determinar a influência de uma superfície rugosa nas medições de ângulo de contato [125]. Sua teoria foi baseada no pressuposto de que uma superfície rugosa se estende até a área de interface sólido-líquido em comparação com a superfície lisa projetada. Esse modelo tem como objetivo entender a influência da rugosidade da superfície sobre o ângulo de contato, relacionando-o com sua capacidade de molhamento, sendo possível a variação entre  $0^\circ$  e  $180^\circ$  da faixa prática do ângulo de contato.

O ângulo de contato é o responsável pela classificação de uma superfície em relação a sua molhabilidade. O goniômetro é um instrumento que mede o ângulo de contato estático de um líquido com uma superfície em estudo, sendo associado a parâmetros termodinâmicos relacionadas à adesão superficial. São consideradas as seguintes classificações de molhabilidade [126]:

- superfície super-hidrofílica: ângulos de contato muito baixos ( $\theta \sim 0^\circ$ );
- superfície hidrofílica: ângulos de contato estático que variam desde baixos valores até  $30^\circ$  ( $\theta < 30^\circ$ );
- superfície intermediária: ângulos variam entre  $30^\circ$  e  $90^\circ$  ( $30^\circ < \theta < 90^\circ$ );
- superfície hidrofóbica: ângulos assumem valores maiores que  $90^\circ$  e menores que  $140^\circ$  ( $90^\circ < \theta < 140^\circ$ );
- superfície super-hidrofóbica: ângulos de contato estático superior a  $140^\circ$  ( $\theta > 140^\circ$ ).

Molhabilidade pode ser definida como a propensão de um líquido se espalhar na superfície de um sólido. Um líquido depositado na superfície de um sólido, sobre a influência da gravidade, tende a se espalhar até alcançar a coesão do líquido (forças internas), as forças de gravidade e a capilaridade (forças da tensão superficial) estarem balanceadas, e um estado de equilíbrio é alcançado. Sendo alcançado este equilíbrio, o

ângulo de contato,  $\theta$ , entre a superfície sólida e o líquido pode ser aferido. O equilíbrio corresponde ao estado mínimo de energia entre as três fases. A relação de Young descreve este estado [127], fazendo uso da Equação 3.3:

$$\gamma_{SG} = \gamma_{SL} + \gamma_{LG} \cdot \cos \theta \quad (3.3)$$

onde  $\gamma$  é o coeficiente de tensão superficial na interface do gás-sólido (SG), líquido-sólido (SL) e gás-líquido (LG). Esta relação teórica só pode ser utilizada para superfícies sólidas idealmente homogêneas e lisas. A forma de determinar se uma superfície é rugosa, ou plana, é através do fator de rugosidade “ $r$ ”. Se  $r > 1$  a superfície é considerada rugosa, já para superfícies perfeitamente lisas o valor de  $r$  é igual a 1. Substituindo o valor de  $r = 1$  na equação de Wenzel [125] obtemos  $\cos(\theta_A) = 1 \cdot \cos(\theta)$ , onde  $\theta$  é o ângulo de contato correspondente a uma superfície ideal [128]. Ângulos de contato entre  $0 < \theta < 90^\circ$  são usados para validação desta teoria.

Cassie e Baxter [129] elaboraram outra forma de descrever a heterogeneidade da superfície em função da capacidade de molhamento. A teoria de Cassie-Baxter descreve o ângulo de contato aparente para materiais compósitos, a qual é dada pela Equação 3.4:

$$\cos(\theta_A) = \phi_1 \cdot \cos(\theta_1) + \phi_2 \cdot \cos(\theta_2) \quad (3.4)$$

onde  $\phi_1$  é a fração do comprimento da interface e  $\theta_1$  é o ângulo de contato do primeiro material, enquanto  $\phi_2$ ,  $\theta_2$  são os valores respectivos do segundo material. Na prática a faixa de ângulo de contato de  $90^\circ < \theta < 180^\circ$  valida esta teoria. Em casos especiais onde um líquido em uma superfície sólida com rugosidade heterogênea deixa bolsões de gás, para  $\theta > 180^\circ$ . Nestes casos utilizamos uma equação reduzida de Cassie-Baxter:

$$\cos(\theta_A) = \phi_{LS} \cdot [\cos(\theta_1) + 1] - 1 \quad (3.5)$$

Onde  $\phi_{LS}$  é a fração da interface sólido-líquido e  $1 - \phi_{LS}$  é a fração na interface ar-líquido.

Um fator complicador para o entendimento do fenômeno de molhamento é o efeito conhecido como histerese do ângulo de contato. Este fenômeno se assemelha a outro denominado atrito estático. A diferença entre o ângulo de contato aparente medido e o ângulo de contato rela. Superfícies rugosas apresentam maiores valores de histerese, sendo mais dependente de interações químicas do que da própria heterogeneidade da superfície [130].

A forte influência exercida pela rugosidade sobre a molhabilidade de superfícies de engenharia foi comprovada por Kubiak et al. [131]. Em seu trabalho elaboraram um modelo combinado da teoria de Wenzel e da teoria de Cassie-Baxter, o qual demonstrou que a molhabilidade é melhorada em superfícies que apresentam valores de  $R_z$  na faixa de 5 a 10  $\mu\text{m}$ .

Segundo Elham Nikoomanzari et al., a molhabilidade superficial é a principal característica de um implante. O contato eficiente entre a superfície hidrofílica de um implante e a solução sanguínea/biológica pode aumentar a resposta celular e a absorção de proteínas. Além disso, a integração com tecidos moles e duros, a cicatrização da ferida ao redor dos tecidos e a osseointegração podem ser melhoradas através do aumento da molhabilidade da superfície do implante [16].

### **3.6.3 Interação célula-substrato**

As interações entre célula-substrato dependem, primeiro, das interações entre proteínas e a superfície, e subsequentemente, da interação entre células e proteínas. Tendo em vista que qualquer superfície implantada encontra primeiramente o sangue. Proteínas do sangue são adsorvidas sobre a superfície, fornecendo sítios de ligação para as integrinas da superfície celular. O implante tenta ser fagocitado por macrófagos e neutrófilos. Ao falhar, eles se fundem formando células gigantes de corpo estranho que secretam citocinas para recrutar fibroblastos. Estes secretam colágeno, entre outras proteínas, e formam uma cápsula fibrosa ao redor do implante. Esse processo é conhecido como resposta de corpo estranho, ocorrendo da mesma forma em torno de implantes metálicos, poliméricos e cerâmicos [132]. A resposta fisiológica das células em contato com a superfície de um material está relacionada diretamente com a característica biocompatível desse. A primeira fase da interação célula/material consiste basicamente dos fenômenos de adsorção, adesão e espreadimento [133]. A capacidade da célula se diferenciar e se proliferar na superfície do biomaterial é influenciada diretamente pela qualidade dessa primeira fase [134].

De fato, a primeira interação das células com a superfície do implante determina sua biocompatibilidade e durabilidade, como maior hemocompatibilidade, bioatividade e vinculação fisiológica dos tecidos circundantes [135–137]. Os principais fenômenos de interação entre células e substrato são adesão, proliferação e diferenciação [138].

Tanase et al. [139] enfatizaram que o entendimento dos mecanismos de interação entre implantes e células são de grande importância. Após a implantação, a superfície do implante entra em contato com inúmeros tipos de proteínas e células, que são afetadas pelas propriedades físico-químicas da superfície do implante como rugosidade, molhabilidade e porosidade.

A diferenciação celular e a formação de tecidos vivos em contato com implantes dependem, por um lado, da natureza química do material de contato e, por outro, das propriedades superficiais do biomaterial, incluindo: microestrutura, topografia, rugosidade, molhabilidade e energia de superfície [134]. A complexa resposta de sistemas vivos dificulta a compreensão da importância da química da superfície e da topografia em escalas nanométricas [140].

### **3.6.4 Adesão Celular**

A biocompatibilidade dos biomateriais é intimamente ligada ao comportamento celular em contato com eles e, particularmente, à adesão celular à superfície. A adesão celular é fundamental para todos os comportamentos celulares, como proliferação, migração, diferenciação, etc. Além disto, a adesão de células em biomateriais pode induzir a biocompatibilidade fazendo com que o material evite causar inflamações quando implantado, promovendo a aceleração da regeneração de tecidos ou órgãos [141].

Em biomateriais o termo “adesão” engloba diferentes fenômenos: a fase de fixação que ocorre rapidamente e envolve eventos de curto prazo, como ligações físico-químicas entre células e materiais que envolvem forças iônicas, forças de van der Waals, etc [142]. Os principais fatores que influenciam a adesão celular são: a composição química da superfície, a rugosidade superficial, topografia da superfície e a molhabilidade [16].

A hidrofobicidade, em conjunto com as cargas superficiais controlam a adsorção de proteínas e a acessibilidade do receptor-ligante, que por sua vez controla a adesão celular. A orientação e a conformação das proteínas controlam a fixação das células à superfície fazendo com que a molhabilidade seja uma característica fundamental para implantes. Além disso, o fluido biológico é aproximadamente composto de 70% de água, sendo essa o primeiro componente a encontrar qualquer implante. Quando as proteínas encontram a superfície, interações hidrofóbicas já estão estabelecidas. Superfícies hidrofóbicas levam a uma forte adsorção de proteínas com um grande aumento na

“pegada” da proteína ao longo do tempo conhecido como ‘relaxamento’. ‘Relaxamento’ é atribuído ao desdobramento da proteína após forte interação com a superfície, levando à perda da atividade biológica e inibição associada da ligação das integrinas. Já superfícies hidrofílicas tendem a demonstrar uma adsorção mais fraca de proteínas. Contudo o efeito de ‘relaxamento’ é menor, sugerindo reorientação ao longo do tempo, em vez de desdobramento das proteínas [132].

Em seu artigo de revisão, Harvey et al.[132], determinam que a superfície ótima para a adesão celular proporciona adsorção de proteínas suficiente com orientação favorável e acessibilidade de receptores ligantes. Sendo a molhabilidade crucial, para superfícies, nestes processos. O ponto ótimo do ângulo de contato fica entre 70 e 80° (moderadamente hidrofóbico) induzindo a altos níveis de proliferação e crescimento de fibroblastos e outras células [143,144], enquanto que 39° foram determinadas ideais para células endoteliais [145]. Superfícies moderadamente hidrofílicas são defendidas como mais adequadas para promover crescimento celular e biocompatibilidade, segundo Kulmarni et al. [131]. Já superfícies altamente hidrofílicas podem diminuir a adesão celular.

Em superfícies rugosas, células se arranjam randomicamente. Este tipo de arranjo celular leva a uma maior produção de matrizes de colágeno orientadas randomicamente. Porém, o crescimento de fibroblastos diminui com o aumento da rugosidade, o que pode contribuir para a diminuição da produção de colágeno em superfícies rugosas. A topografia superficial altera consideravelmente as características celulares. Células fibroblásticas e epiteliais aderem mais fortemente a superfícies lisas, enquanto que superfícies rugosas ajudam na proliferação osteoblástica e na síntese de colágeno [131].

A natureza porosa de filmes obtidos por meio de anodização convencional promove a adesão das células em implantes [146]. Essa natureza porosa pode ser potencializada por meio do processo PEO, que desenvolve revestimentos com porosidade muito maiores. Sun et al. [147] exploraram essa característica em amostras de titânio poroso. Esse tipo de material já possui uma rugosidade superficial, mas existe uma dificuldade na deposição de revestimentos Ca-P devido a sua superfície complexa. O revestimento obtido por Sun, apresentaram comportamento bioativos, parte pela composição química, mas principalmente pela natureza porosa e altamente rugosa. Além de beneficiar a adesão celular por afinidade química, o revestimento poroso é responsável pelo crescimento ósseo.

Zhang et al. [148] investigaram a resposta celular em revestimentos PEO em diferentes substratos (chapas de Ti, revestimentos TiO<sub>2</sub> e Si-TiO<sub>2</sub>). Seus resultados demonstram que as amostras revestidas tiveram melhor adesão celular, em relação as chapas nuas de Ti, devido as suas superfícies nanoestruturada porosas que facilitam a absorção de proteínas, o que é favorável para recrutamento celular.

Robinson et al. [149] realizaram estudos comparativos de resposta celular entre revestimentos PEO obtidos em eletrólitos de composição química variada, sendo eles: eletrólito a base de fosfato (Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), a base de aluminato (NaAlO<sub>2</sub>) e um eletrólito intermediário, sendo um mistura dos outros dois. Em relação a proliferação celular o revestimento PEO a base de fosfato foi o que apresentou melhor resposta, apresentando taxas de proliferação relativamente altas, enquanto os revestimentos com aluminato na composição apresentaram resposta tóxica, devido ao alumínio presente em sua composição. Contudo, Robinson e seus colaboradores afirmam que o revestimento produzido em eletrólito rico em fosfato é o mais promissor por oferecer compatibilidade celular bioquímica e adesão. Isto é atribuído à combinação da boa afinidade das células com as fases constituintes da superfície do revestimento/composição química e a topografia superficial adequada (alta rugosidade relativa e a rede de finos poros interconectados).

Murphy et al. [150] examinaram como o tamanho dos poros pode afetar a adesão celular inicial em termos da quantidade de células que se mantiveram aderidas a superfície depois de um período em cultura, e proliferação a longo prazo, mostrando que variações no tamanho de poros entre 85 e 325 µm podem ter efeitos significativos. Se os poros se tornarem muito grandes, a área superficial será reduzida a um nível que limitara a adesão celular e as células irão simplesmente migrar através da matriz do material ou o nível de contato célula-célula será tão pequeno que não possibilitara a proliferação e subsequente osteogênese. Em contra ponto, Whiteside et al. [151] afirmaram que a morfologia porosa dos revestimentos provenientes do processo PEO auxiliam na adesão celular e ancoragem de colágeno na superfície dos revestimentos, mesmo apresentando poros de uma ordem de grandeza menor. Whiteside e colaboradores obtiveram 4 revestimentos diferentes, onde dois se destacaram: o primeiro apresentou alta proliferação celular, poros grandes (~12 µm), com baixa densidade populacional de poros e uma relação Ca/P ~ 0,5; o segundo demonstrou altas concentrações de colágeno, com a maior rugosidade entre os revestimentos estudados (Ra = 2,28 µm), pequenos poros (3~5 µm), alta densidade

populacional de poros ( $1,55 \times 10^6$  poros/mm<sup>2</sup>) e alta relação atômica Ca/P na superfície do revestimento (~0,7).

### 3.6.5 Osseointegração

Osseointegração, ou osteointegração, se refere ao fenômeno em que um implante se torna tão fundido com o osso que não pode ser separado sem fratura [152]. Outra forma de definir este fenômeno é como a direta conexão estrutural e funcional entre o osso vivo e a superfície de um implante [153]. A capacidade de um implante se ligar com o osso a sua volta é fundamental para implantes ortopédicos. A insuficiência da osseointegração pode levar a formação de tecidos fibrosos e conseqüentemente ao afrouxamento da prótese. Contudo, a ligação óssea nem sempre é necessária, ou desejada, para tratamentos, onde a prótese será removida posteriormente [154].

Segundo Vanessa e John [155] o processo de osseointegração pode ser subdividido em três fases distintas: osteocondução, formação óssea e remodelação óssea. A osteocondução é o recrutamento e a migração de células osteogênicas para a superfície de um implante [156]. À medida que as células osteogênicas migram para a superfície do implante durante o processo de osteocondução, elas se diferenciam para tornarem-se secretoriamente ativas e depositam a matriz óssea diretamente sobre a superfície do implante. Durante esse processo a superfície sofre várias modificações em nível molecular, através da adsorção de proteínas do soro sanguíneo e da atividade de uma infinidade de células do sangue. A formação óssea ocorre através da formação de uma matriz extracelular mineralizada de colágeno e contém osteócitos em sua estrutura. Antes da completa diferenciação, dos osteoblastos, esses elaboram uma matriz extracelular mineralizada que não contém colágeno. Esta matriz é denominada “linha cementante”. As células osteogênicas que formam a linha cementante inicialmente secretam proteínas não colagenosas no espaço extracelular que são responsáveis pela produção de fosfato e cálcio, em seguida ocorre a mineralização e formação do colágeno. O aparecimento da matriz óssea é conseqüência da mineralização e a formação dos osteoblastos com deposição do tecido ósseo na superfície do implante [155].

As características que um revestimento necessita para a ocorrência de uma osseointegração são as mesmas necessárias para uma boa adesão celular. Tendo isto em vista pesquisadores como Echeverry-Rendón et al. [157] buscaram melhorar a osseointegração no titânio, e suas ligas, por meio da formação de revestimentos PEO.

Echeverry-Rendón e colaboradores afirmam que modificações na superfície de implantes de Ti, nas quais também está envolvida uma alteração topográfica controlada, permitem melhorias na adesão das células, aumentando a área de contato entre as células e os materiais. No entanto, não foi o suficiente para acelerar a proliferação ou migração de osteoblastos nessas superfícies. De forma diferente, Jing He et al. [18] conseguiram obter revestimentos PEO que apresentaram significativo contato osso-implante (*bone-to-implant contact*), grande força de ligação entre o implante e o tecido ósseo, e a habilidade de promover a formação rápida de um novo tecido ósseo. Ambos trabalhos utilizaram eletrólitos a base de Ca e P.

Chung et al. [98] enfatizam que, além de revestimentos PEO obtidos em Ti com adições de outros elementos bioativos como Ca, P, Zn, Sr e Si, os revestimentos de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) são excelentes candidatos para promover a osseointegração, podendo induzir o crescimento ósseo devido à sua afinidade química por proteínas, Ca<sub>2</sub> e PO<sub>4</sub>, para formar apatita óssea. Mas a formação única deste óxido na camada PEO é de extrema dificuldade por estas razões ele sempre aparece acompanhado de outro elemento químico.

### **3.7 Células-Tronco (CTs)**

Células-tronco são definidas como células que têm a capacidade de se perpetuar através da auto renovação e gerar células maduras de um tecido específico por meio de diferenciação, sendo raras na maioria dos adultos [158]. Wei et al. [159] salientam que o uso emergente de terapias baseadas em células-tronco como uma abordagem promissora da engenharia de tecidos é um dos avanços mais interessantes na medicina moderna.

Para Ghieh et al. [160] células-tronco são uma classe de células indiferenciadas que têm a capacidade única de se diferenciar em um mesmo, ou outro, tipo de célula por ativação de um sinal específico. Dois tipos de células tronco são identificados baseado em suas origens: células-tronco adultas (ASCs) e células-tronco embrionárias (ESCs). ESCs são derivadas de tecidos embrionários, especificamente do estágio de blastocisto, enquanto ASCs são derivadas de tecidos de diferentes órgãos provenientes de um indivíduo adulto.

Kraft et al. [161] enfatizaram que as células-tronco extraídas da medula óssea podem contribuir para o reparo e regeneração de uma grande variedade de tecidos, órgãos e em procedimentos ortopédicos como fusões espinhais. Sendo de fácil extração, usa-se

uma agulha de aspiração que é inserida com o auxílio de um trocarte através da crista ilíaca no espaço medular. Após o processo de aspiração são geradas colônias a partir de uma única célula.

Um subconjunto de células-tronco adultas originárias do mesoderma e localizadas em quase todos os tecidos, incluindo medula óssea e tecido adiposo, vem sendo pesquisadas até a exaustão para aplicações em engenharia de tecidos. Este subconjunto de células é denominado células-tronco mesenquimais (CTMs), embora sua origem seja mesodérmica, as CTMs podem se diferenciar em células da linhagem mesodérmica que elevam as CTMs à candidatas mais preferidas em terapias baseadas em células-tronco [159].

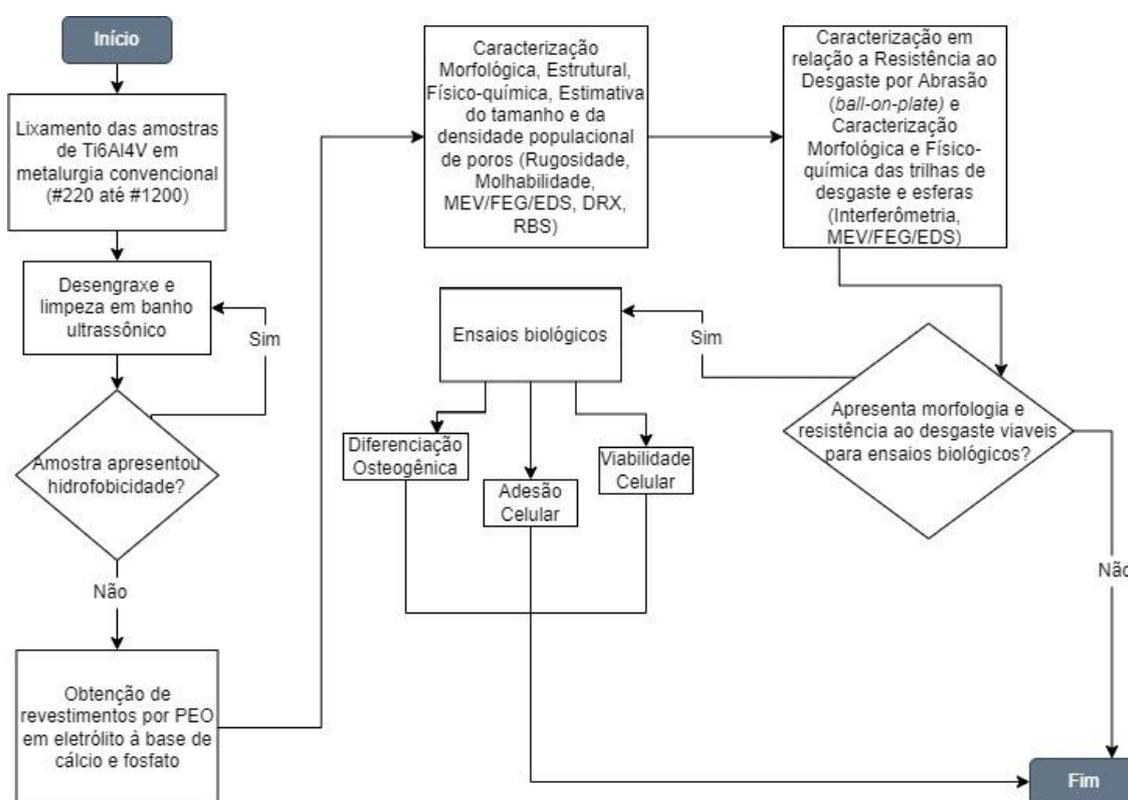
### **3.7.1. Células-Tronco Mesenquimais (CTMs)**

É de consenso geral que uma célula-tronco mesenquimal é uma célula multipotente que se divide muitas vezes e cuja progênie eventualmente dá origem a tecidos esqueléticos: cartilagem, osso, tendão, ligamento, estroma da medula, tecido conjuntivo, entre outros [162]. Yancheng et al. [163] afirmaram que CTMs são auto renováveis e possuem potencial multidirecional de diferenciação, podendo exercer efeitos terapêuticos em várias doença por meio de diferenciação direcionada, regulação de imunidade, ação anti-inflamatória e promovendo regeneração de tecidos.

CTMs são amplamente distribuídas pelo corpo e podem ser isoladas de diferentes fontes, incluindo medula óssea, coração, fluidos corpóreos e pele [164]. Segundo Kruminis-Kaszkziel et al. [165] CTMs são multipotentes e podem se diferenciar *in vitro* para osteoblastos, condroblastos e adipócitos. Elas são definidas como células com morfologia semelhante a fibroblastos, capazes de aderir em cultura a uma superfície plástica. A origem das CTMs influencia a manutenção da expressão de marcadores específicos durante o período de cultura celular. Por exemplo, a taxa de proliferação de CTMs de origem fetal são maiores quando comparadas com células isoladas de tecidos adultos.

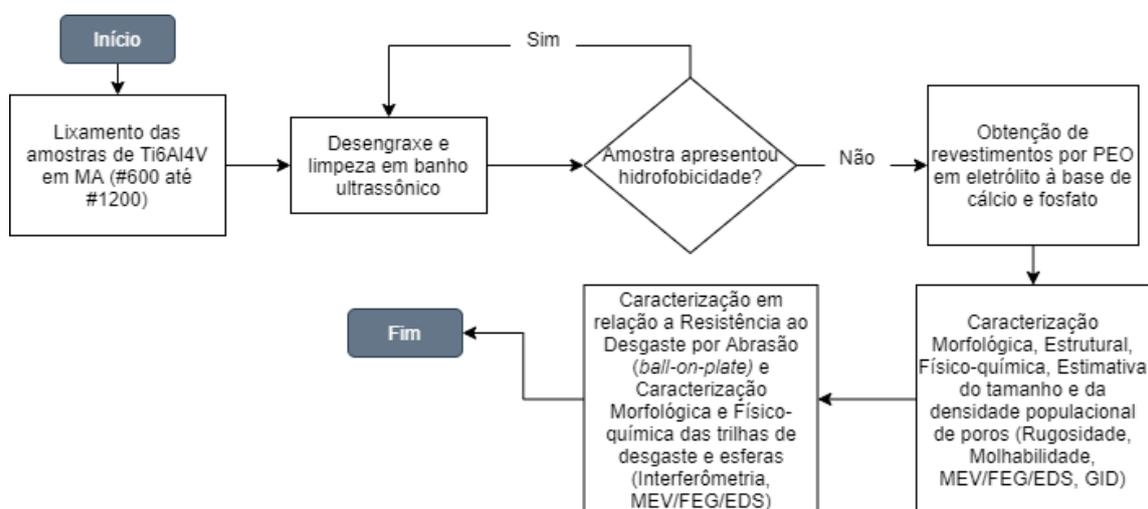
#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

A primeira parte do estudo apresentado neste trabalho constituiu da caracterização morfológica, biológica, de resistência ao desgaste e da obtenção de revestimentos obtidos pela técnica PEO em amostras de Ti-6Al-4V (chapas laminadas), provenientes de metalurgia convencional, fazendo uso de um eletrólito à base de acetato de cálcio e fosfato, onde parâmetros elétricos distintos foram aplicados. Visando obter o revestimento com melhor resposta biológica e melhor resistência ao desgaste. A metodologia utilizada nesta etapa do trabalho está representada no fluxograma apresentado na Figura 8.



**Figura 8.** Fluxograma da metodologia utilizada para as amostras de metalurgia convencional de Ti-6Al-4V.

Na segunda parte do desenvolvimento deste trabalho, os parâmetros utilizados para o processo PEO das amostras de metalurgia convencional foram utilizados para a elaboração dos revestimentos, em amostras de Ti-6Al-4V fabricadas por manufatura aditiva (DMLS). A metodologia empregada nesta etapa do trabalho pode ser vista no fluxograma apresentado na Figura 9.



**Figura 9.** Fluxograma da metodologia utilizada para as amostras provenientes de manufatura aditiva de Ti-6Al-4V.

#### 4.1. Preparação do substrato metálico de Ti-6Al-4V (manufatura convencional e manufatura aditiva)

Amostras de Ti-6Al-4V obtidas por processos convencionais de laminação e de manufatura aditiva (DLMS) que foram utilizadas para obtenção de revestimentos PEO e possuíam aproximadamente 10 mm de diâmetro e 2,5 mm de espessura. O corte a jato de água foi utilizado para a obtenção das amostras a partir de uma chapa laminada de Ti-6Al-4V. Já as amostras obtidas por MA foram produzidas a partir de pó comercial de Ti-6Al-4V por DMLS usando o equipamento de manufatura aditiva EOSINT M270 da EOS GmbH Electro Optical Systems. Os parâmetros de processamento são mostrados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Parâmetros de processo usados para fabricação das amostras produzidas por DMLS da liga Ti-6Al-4V.

Potência do feixe (W)	170
Velocidade de varredura (mm/s)	1250
Espaçamento de hachura (mm)	0,1
Espessura de camada (mm)	0,03
Estratégia	Zigzag – 45° entre as camadas

A preparação das amostras consistiu no lixamento em lixas de carbeto de silício de gramatura #220 até #1200, fazendo uso de água. Em seguida, as amostras foram

submetidas a um processo de desengraxe em água e sabão neutro, a uma temperatura de 60 °C por 10 minutos. Após desengraxe, foi realizada a limpeza, por imersão em banho ultrassônico, com água deionizada, álcool etílico, acetona e secas em ar frio. Cada etapa do banho ultrassônico foi realizada por 10 minutos.

## 4.2. Processo PEO

O eletrólito utilizado no processo PEO foi preparado a partir de uma solução contendo acetato de cálcio mono-hidratado,  $(C_2H_3O_2)_2 = 27,85$  g/L e fosfato tribásico dodecahidratado,  $(Na_3O_4P \cdot 12H_2O) = 20$  g/L, em um volume de 4 litros. Durante a obtenção dos revestimentos a temperatura dessa solução foi controlada abaixo de 40°C utilizando um banho eletrostático. Os revestimentos foram obtidos por controle potencioestático, utilizando-se como contra eletrodo uma tela de aço inoxidável e como eletrodo de trabalho a própria amostra com uma área superficial de aproximadamente 0,62 cm<sup>2</sup>.

Os valores máximos de tensão positivo e negativo foram, 200/-16 V, 250/-20 V e 300/-24 V, iniciando sempre com a tensão de 0/0, com um aumento de tensão de 1 V/s. O processo teve duração de 10 minutos a partir do término da rampa de tensão aplicada. A nomenclatura das amostras empregadas na primeira e segunda partes do estudo, estão apresentadas na Tabela 5.

**Tabela 5.** Descrição das amostras empregadas na primeira e segunda partes do estudo.

Nomenclatura	Substrato	Parâmetros elétricos
<b>Convencional Manufatura</b>		
<b>aditiva</b>		
Ti6Al4V	X	-
Ti6Al4V-MA		X
Ti-PEO <sub>200V</sub>	X	Frequência 300 Hz, <i>duty cycle</i> de 38,5% e tensão de +200V/-16V.
TiMA-PEO <sub>200V</sub>		X
TiMA-PEO <sub>250V</sub>		X
Ti-PEO <sub>300V</sub>	X	Frequência 300 Hz, <i>duty cycle</i> de 38,5% e tensão de +250V/-20V.
TiMA-PEO <sub>300V</sub>		X
		Frequência 300 Hz, <i>duty cycle</i> de 38,5% e tensão de +300V/-24V.

### 4.3. Caracterização dos revestimentos PEO

A morfologia dos revestimentos foi observada em vista de topo em microscópio de varredura de alta resolução (MEV/FEG) e de composição química (EDS), marca Tescan-Modelo Mira3, no Laboratório de Caracterização de Materiais da Universidade de Caxias do SUL (UCS).

Para as amostras obtidas sobre o substrato convencional, foi realizada análise de difração de raios-X (DRX) em equipamento de modelo X'Pert MPD (Philips), equipado com monocromador curvado de grafite e ânodo fixo de cobre, operando a 40 kV e 40 mA, com intervalo de ângulos analisados de 5 a 75° e passo de 5°.1s<sup>-1</sup>. Já para as amostras obtidas sobre o substrato fabricado em MA, a análise de difração de raios X de incidência rasante (GIXRD) foi realizada em um difratômetro Bruker D8 ADVANCED (radiação incidente Cu-K $\alpha$ ,  $\lambda = 0.15418$  nm). As medições de GIXRD foram realizadas com um ângulo de incidência de 1,5° e os padrões GID foram registrados com um tamanho de passo de 0,02° ao longo do intervalo 15-75°.

A rugosidade micrométrica foi analisada em um perfilômetro (Modelo 112, Taylor Hobson). Para quantificar a porosidade do revestimento, imagens de MEV foram analisadas usando o software ImageJ. Pelo ajuste da escala de cinza das imagens, a área superficial relativa aos objetos de interesse (poros) foi captada, sendo mais escura que sua vizinhança e calculada pelo software.

As medidas de ângulo de contato para determinar a molhabilidade dos revestimentos PEO foram realizadas pelo método da gota séssil a partir de um aparato desenvolvido pelo Laboratório de Pesquisa em Corrosão (LAPEC) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Porto Alegre, Brasil), na qual uma gota do líquido é depositada sobre a superfície por meio de uma micropipeta. A gota foi observada por meio de uma lente de baixo aumento, e o ângulo de contato medido pelo uso de um software. As medidas de ângulo de contato foram realizadas com uma solução de meio de cultura *Dulbecco's modified Eagle's medium* (DMEM) Sigma-Aldrich®, água deionizada e solução Kokubo.

A quantificação dos elementos presentes na superfície, dos revestimentos obtidos sobre o substrato de manufatura convencional foi realizada pela técnica de Espectrometria de Retroespalhamento de Rutherford (RBS) em um acelerador Tandem 3 MV, do

Laboratório de Implantação Iônica do Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), com um feixe iônico monoenergético de He<sup>+</sup> de 2 MeV e um ângulo de retroespalhamento de 165°. A simulação foi feita usando SIMNRA, através do qual uma comparação fornece a composição da amostra.

A migração de íons do revestimento para a solução DMEM, foi avaliado através de um Espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), marca Thermo Scientific, modelo: ICAP 700 SEREIES através do método de leitura SMEWW 3120 B, com o padrão utilizado na preparação da curva da Tabela Periódica para ICP.

Os ensaios tribológicos de resistência ao desgaste foram realizados com um tribômetro (controlado computacionalmente), modelo UMT-3, (CETR, Califórnia, USA), na configuração do tipo “*ball-on-plate*”. O desgaste foi realizado empregando como contra-corpo, uma esfera de zircônia estabilizada com ítria de diâmetro de 0,5 mm em movimento linear e recíproco. Utilizou-se uma carga de 1 N por 4 horas em uma frequência de 1 Hz e comprimento da trilha de 3,0 mm. Após o ensaio tribológico as amostras foram caracterizadas por interferometria óptica em equipamento da marca GT-K.

#### **4.4. Obtenção e caracterização das células-tronco mesenquimais**

As células-tronco mesenquimais (CTM) utilizadas neste trabalho foram obtidas de um fornecedor certificado (Lonza cat.number PT-2501). As células foram cultivadas em meio alfa mínimo essencial ( $\alpha$ -MEM, Sigma) suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS, Gibco), 50  $\mu$ g/mL ácido ascórbico (Gibco), penicilina (10 unidades/mL)/estreptomicina (2,5  $\mu$ g/mL) (solução P/S, Sciencell) e 2,5  $\mu$ g/mL fungizone (Gibco) – meio Basal. As células foram cultivadas até 70-80% de confluência antes dos ensaios celulares.

Antes de semear as células, as amostras foram esterilizadas com óxido de etileno a 60°C e deixadas para aeração para remover o gás tóxico. CTMs ( $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>) foram semeadas sobre o substrato e os revestimentos, sendo cultivados por um período de até 25 dias. Em paralelo, células foram cultivadas em placas de cultura celular padrão, como um controle do desempenho do sistema de cultura celular. A resposta celular foi avaliada por atividade metabólica e adesão à morfologia celular em MEV. A atividade metabólica foi quantificada por ensaio de resazurina nos dias 11, 14, 18 e 25. Após cada ponto de controle, solução de resazurina (10% V/V) foi adicionada a cada poço. As

amostras foram então medidas e a intensidade da fluorescência foi avaliada em um leitor de microplacas (Synergy HT, Biotek) a 530 e 590 nm para excitação e emissão de comprimento de onda, respectivamente.

#### **4.5. Ensaios de indução osteogênica**

Meio de Indução Osteogênica (MIO) (50 mg/mL de ácido ascórbico, 5mM  $\beta$ -glicerol fosfato, e 100nM dexametasona, todos da Gibco) foi adicionado às culturas de amostra no dia 5; as células foram permitidas crescer/diferenciar por 20 dias, alterando o MIO a cada 2-3 dias. O potencial de diferenciação dos revestimentos obtidos por PEO foram avaliados por ensaio de Fosfatase Alcalina (FA) em dois momentos (dias 18 e 25). Os resultados são expressos como  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , de atividade de FA foi determinada em lisados da camada celular e determinação colorimétrica do produto (p-nitrofenol) a 405 nm. A hidrólise foi realizada durante 30 min. Os resultados são expressos em nanomols de p-nitrofenol produzidos por min por  $\mu\text{g}$  de proteína ( $\text{nmol min}^{-1} \mu\text{g proteína}^{-1}$ ). Para normalizar os valores de FA, uma quantificação de proteína total foi realizada pelo método de Bradford usando albumina de soro bovino como padrão pelo kit DC Protein Assay (Biorad). Todos os estudos osteogênicos foram feitos contra amostras de controle com meio basal.

Para as análises de MEV, o substrato foi lavado duas vezes em salina tampão com fosfato (STF, Sigma-Aldrich) e fixada com 1,5% de glutaraldeído em tampão cacodilato de sódio (pH 7,3, 10 min, ambos da Sigma-Aldrich). Então, as amostras fixadas foram desidratadas em soluções de etanol graduado sequencial (70-100%), ponto crítico seco (CPD 7501, Polaron Range), e revestido por pulverização catódica com ouro. As amostras pulverizadas foram então analisadas por MEV (FEI Quanta 400FEG ESEM/EDAX Genesis X4M).

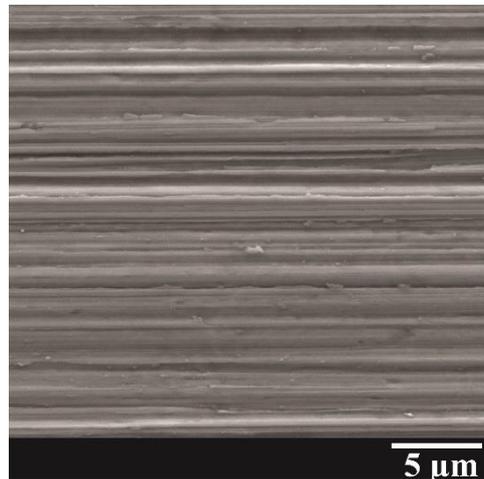
Para as análises estatísticas, seis réplicas foram utilizadas para ensaios celulares e três para os ensaios de FA. Resultados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão e os dados foram analisados por uma análise de um só caminho de variância unilateral seguida por um teste post-hoc Bonferroni. Um valor  $P \leq 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

Os resultados obtidos para todas as caracterizações foram comparados com o da liga Ti-6Al-4V, que atualmente é o material comercialmente usado para os implantes manufaturados.

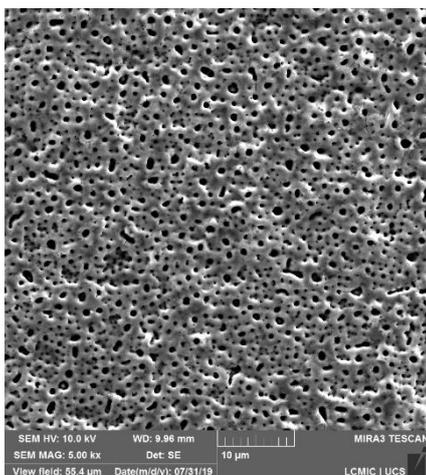
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Revestimentos obtidos pelo processo PEO em amostras de Ti-6Al-4V produzidas por metalurgia convencional (laminada)

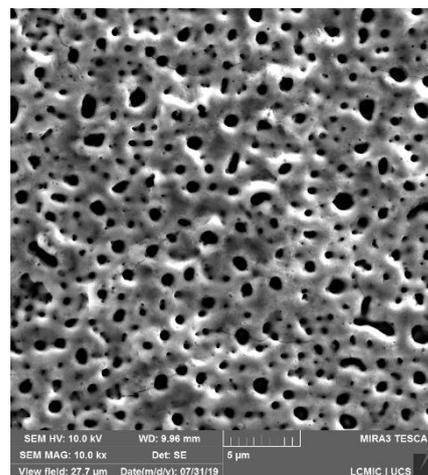
Como demonstrado na Figura 10, a morfologia da superfície das amostras varia com a tensão aplicada durante o tratamento eletroquímico. Com o aumento da tensão (e consequentemente dos valores de densidade de corrente desenvolvida pelos sistemas), a quantidade e a homogeneidade dos poros diminuíram, aumentando consequentemente os diâmetros dos mesmos (Fig. 10(b), (c), (d) e (e)). Souza et al. [166] também relatam esse fenômeno em seus estudos onde revestimentos obtidos através de PEO, usando como substrato Ti-CP, apresentaram poros de diâmetro médio de 0,9 e 3  $\mu\text{m}$  para densidades de corrente de 150 e 300  $\text{mA}/\text{cm}^2$ , respectivamente.



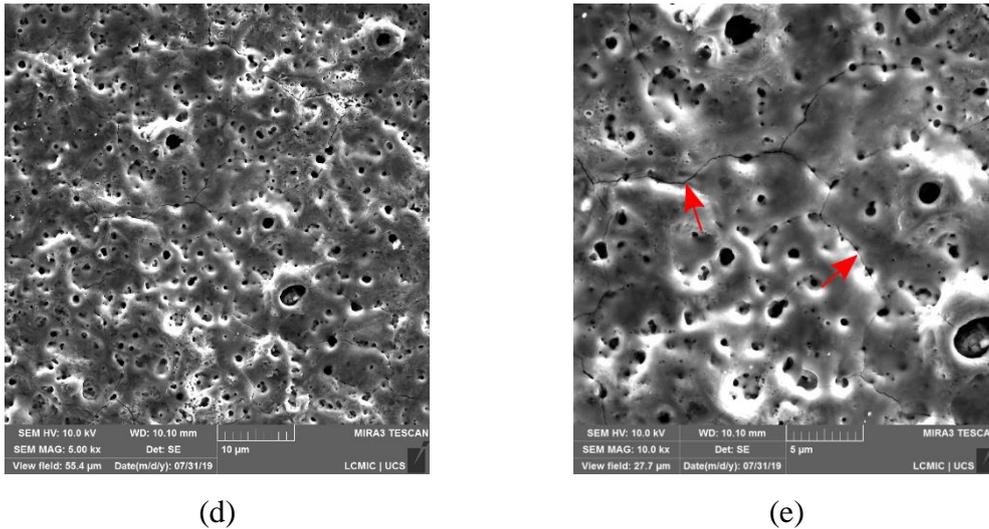
(a)



(b)



(c)



**Figura 10.** Imagens obtidas por MEV/FEG do substrato antes do processo eletroquímico (a) e dos revestimentos elaborados por PEO em 200V (b, c) e 300V (d, e).

Os poros das amostras Ti-PEO<sub>200V</sub> apresentaram geometria circular bem definida. A geometria dos poros apresentadas pelas amostras Ti-PEO<sub>300V</sub> foi semelhante à dos revestimentos obtidos pelo processo PEO, por Ríos et al. [167] que utilizaram Ti-6Al-4V como substrato, usando um eletrólito a base de P e Ca. Os autores relatam poros com diâmetros variados, encontrando poros de maior diâmetros (3,08  $\mu\text{m}^2$ ) com a morfologia de vulcão. Esta morfologia é semelhante à apresentada por Zuo et al. [89] que conduziram estudos em revestimentos obtidos por PEO em Ti-6Al-4V, fazendo uso de um eletrólito a base de P e Ca. Além disso, foi detectada a presença de microtrincas nas amostras Ti-PEO<sub>300V</sub> (Figura 10 (e)), que podem estar relacionadas ao estresse residual resultante da rápida solidificação ocorrida durante e após o processo PEO. A formação de microtrincas em revestimentos obtidos por PEO já foi observadas antes por Adelek et al. [6] e Souza et al. [166] em estudos relacionados a revestimentos obtidos por PEO utilizando eletrólitos à base de P e Ca em substratos de Ti-6Al-4V e de Ti-Cp.

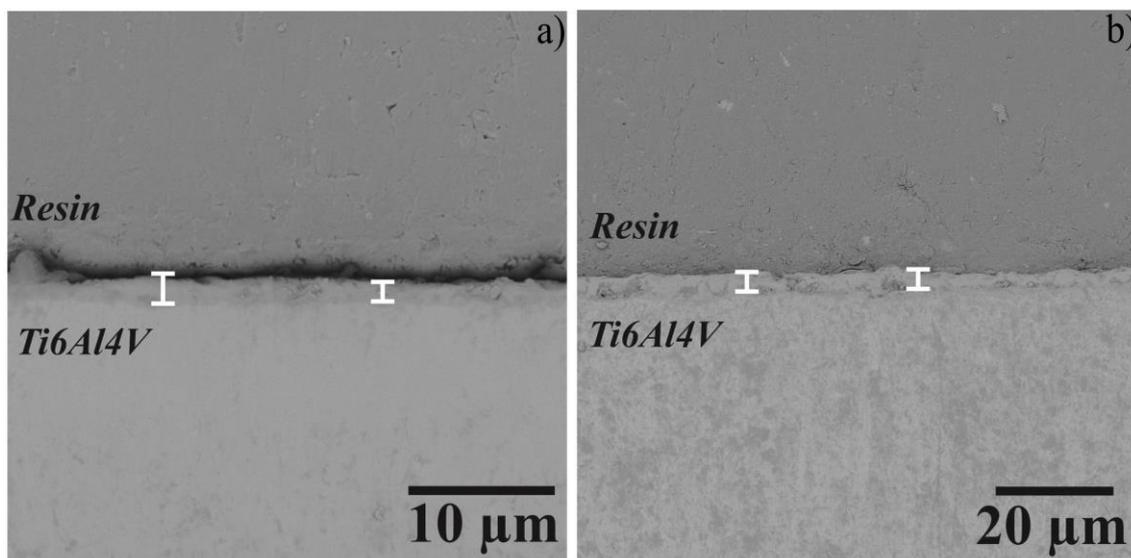
Wang et al. [168] salientam que a aparição de microtrincas está vinculada com o *duty cycle* (ciclo de trabalho) utilizado durante o processo. Em seus estudos, diferentes valores de *duty cycle* foram testados, onde as amostras com maiores valores apresentaram a formação de poro maiores e maior aparição de microtrincas. Segundo Wang et al., valores maiores de *duty cycle* induzem a formação microdescargas mais intensas e longas, que acarretam em revestimentos com um maior número de microtrincas.

A Tabela 6 apresenta as propriedades superficiais e de espessura de camada dos revestimentos obtidos através do processo PEO. Observa-se que com o aumento da tensão

final de trabalho é evidente o aumento da rugosidade superficial do revestimento. Os valores de rugosidade (Rz) expõem esse aumento brusco de rugosidade é acompanhado pelo aumento da tensão aplicada [89]. Além disso, Rao et al. [169] observaram a relação entre o aumento da rugosidade superficial e a formação de apatita em revestimentos obtidos por PEO, e atribuíram esse comportamento ao aumento da nucleação de Ca-P. Assim como, o aumento da tensão aplicada leva ao aumento da densidade de corrente aplicada na amostra, induzindo ao aumento da intensidade das microdescargas presentes no mecanismo de formação do revestimento, que por sua vez geram canais de descarga (poros) maiores [65]. Revestimentos mais espessos foram obtidos nas maiores tensões aplicadas, como pode ser observado pelos valores aferidos (Tabela 6), o que de acordo com Mortazavi et al. [70] deve-se a maior taxa de crescimento da camada de conversão ocasionada pelo aumento da densidade de corrente durante a obtenção de revestimentos PEO. Enquanto Zhang e colaboradores [170] realizaram estudos sobre a influência da adição hipofosfito de cálcio no processo de crescimento dos revestimentos obtidos por PEO. Nesse trabalho os autores concluíram que o aumento da tensão, em conjunto com o aumento da concentração do eletrólito induzem ao aumento da espessura e da rugosidade superficial dos revestimentos obtidos por PEO.

**Tabela 6.** Propriedades superficiais, espessura de camada e porosidade dos revestimentos obtidos por PEO.

<b>Amostra/propriedades</b>	<b>Ti6Al4V</b>	<b>Ti-PEO<sub>200V</sub></b>	<b>Ti-PEO<sub>300V</sub></b>
Rugosidade (Ra) (μm)	0,10 ± 0,04	0,20 ± 0,01	0,41 ± 0,01
Rugosidade (Rz) (μm)	0,61 ± 0,26	1,44 ± 0,09	2,91 ± 0,07
Espessura de Camada (μm)	-	2,35 ± 0,15	4,67 ± 0,28
Densidade populacional de poros (poros.mm <sup>-2</sup> )	-	143.163	16.327
Área dos poros			
Poro de maior área (μm <sup>2</sup> )	-	2,31	3,08
Poro de menor área (μm <sup>2</sup> )	-	0,23	0,39

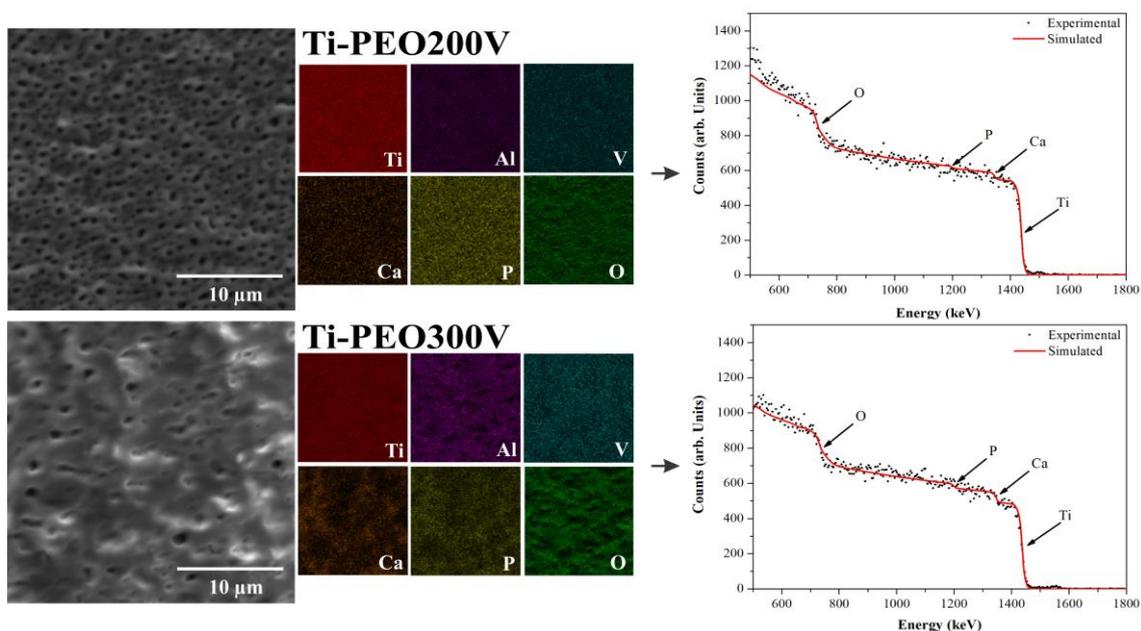


**Figura 11.** Imagens obtidas por MEV/FEG das amostras cortadas transversalmente para análise da espessura de camada, (a) Ti-PEO<sub>200V</sub> e (b) Ti-PEO<sub>300V</sub>.

Por meio da análise de EDS (Figura 12) é possível observar a presença de Ca, P, além de Ti e O, nas amostras revestidas através de PEO, indicando que a camada formada não é composta somente por óxidos de titânio mas também por elementos bioativos provenientes do eletrólito [171]. Ishizawa e Ogino [172] foram os primeiros a demonstrar a possibilidade de incorporar Ca e P na estrutura de óxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) por PEO, utilizando como substrato o Ti-CP e diferentes combinações de eletrólitos à base de P e Ca. A capacidade de incorporar diferentes elementos benéficos (Zn, Si, Mg, Mn, Sr) para diferentes aplicações desses revestimentos, é amplamente explorada por diversos autores [1,11,13,17,98].

De forma a completar os resultados obtidos por MEV/EDS foram realizadas análises por RBS. Os perfis simulados para a quantificação dos elementos Ca e P presentes nos revestimentos obtidos por PEO são apresentados na Figura 12, enquanto que os percentuais atômicos obtidos são demonstrados na Tabela 7. Pela análise dos resultados obtidos se pode verificar que o aumento da tensão aplicada induziu uma diminuição do percentual atômico do Ti e o aumento do percentual atômico do O, comparativamente ao substrato não revestido. Além disso, observa-se que a presença dos elementos Ca e P, sendo os teores desses elementos superiores para as amostras Ti-PEO<sub>300V</sub>, comparativamente à amostra Ti-PEO<sub>200V</sub>. Para Fazel et al. [91] que testaram a obtenção de revestimentos por PEO em um eletrólito contendo P, sobre Ti-CP e Ti-6Al-4V, a combinação do maior número de microdescargas de plasma em conjunto com a mobilidade eletrofotética das espécies aniônicas durante o processo de PEO pode causar

o aumento da concentração de Ca e P na superfície mais externa das amostras tratadas com PEO a 300V. Contudo, a presença dos elementos V e Al nos substratos metálicos revestidos não foi evidenciada, demonstrando ainda que este tipo de revestimento pode atuar como uma camada barreira para a migração desses íons, os quais são considerados tóxicos para a aplicação na biomédica [7]. De fato, de acordo com Santos-Coquillat et al. [1] que estudaram revestimentos obtidos por PEO em Ti-Cp, o Ca e P tendem a melhorar as características bioativas dos revestimentos, devido sua maior capacidade em adsorver as espécies  $\text{OH}^-$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  do fluido corpóreo, facilitando a formação da apatita.



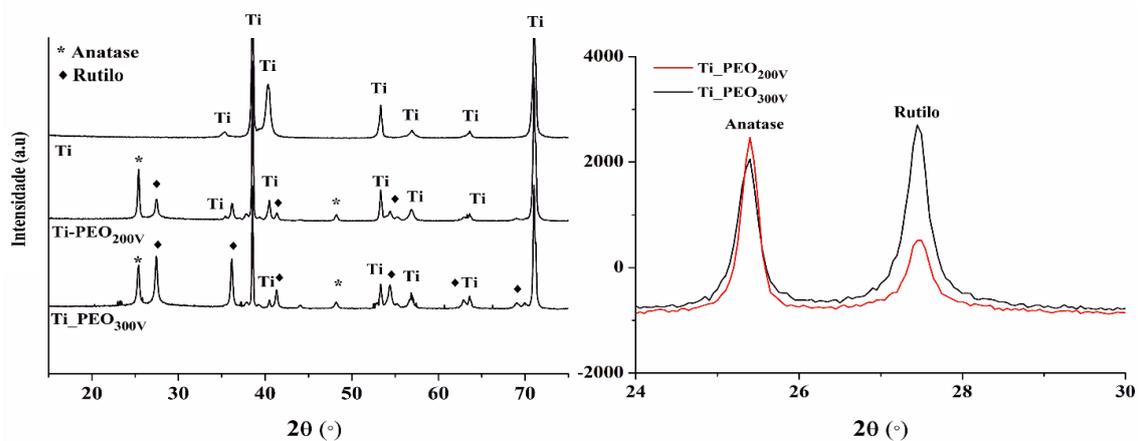
**Figura 12.** Mapeamento da composição química por EDS e análises de RBS dos revestimentos, (a) Ti-PEO<sub>200V</sub> e (b) Ti-PEO<sub>300V</sub>.

**Tabela 7.** Percentual atômico dos elementos constituintes dos revestimentos obtidos por PEO, por análise de RBS.

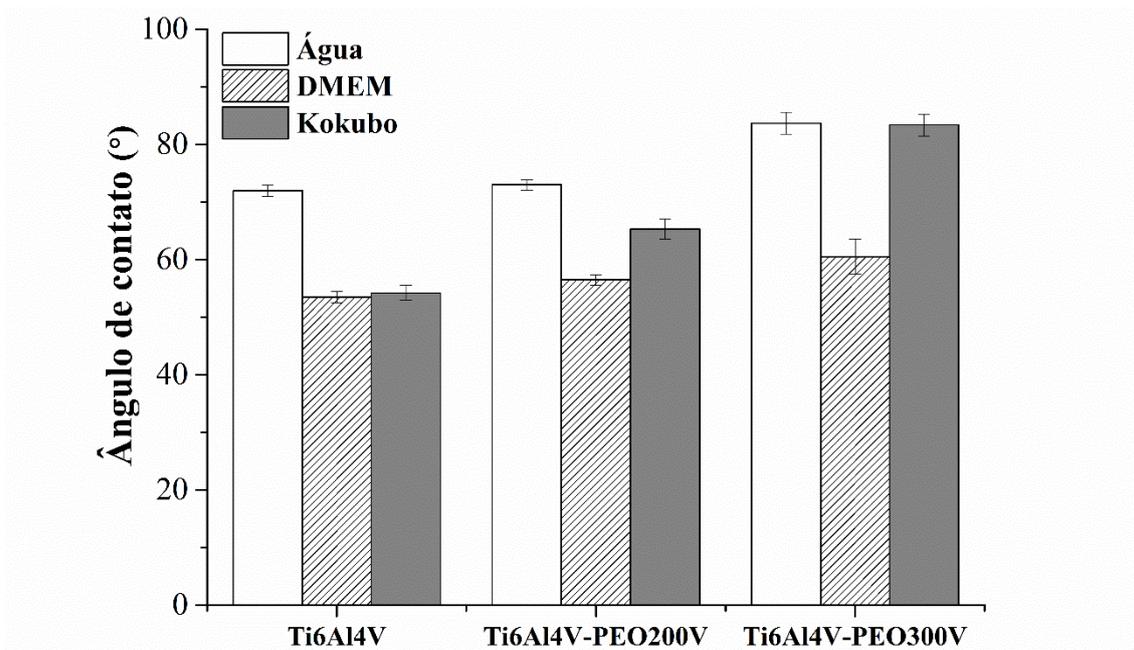
Amostra	%Ti	%Al	%V	%Ca	%P	%O	Ca/P
Ti	70 ± 35,4	26 ± 1,3	4 ± 0,2	-	-	-	-
Ti-PEO <sub>200V</sub>	47 ± 2,3	-	-	4 ± 0,2	2 ± 0,1	47 ± 2,3	2 ± 0,1
Ti-PEO <sub>300V</sub>	48 ± 2,4	-	-	7 ± 0,3	5 ± 0,2	40 ± 2	1,4 ± 0,1

A partir da análise de DRX (Figura 13), foi possível observar a presença de picos associados às fases cristalinas do óxido de titânio: anatase (JCPDS NO. 01-084-1286) e rutilo (JCPDS NO. 01-077-0442) [9]. Laveissière et al. [13] realizaram estudos visando compreender a influência da composição do eletrólito utilizado durante o processo PEO. Nesse estudo os autores relatam a presença de ambas as fases cristalinas do óxido de

titânio: anatase e rutilo. Essas fases estão presentes em todos os revestimentos, independentemente da composição química do eletrólito, sendo que ambas resultam da oxidação do substrato. Os autores ainda levantam uma hipótese de que devido à estabilidade dessas fases isomorfas, é provável que o anatase cristalize na forma de nanocristais, que gradualmente se transformam em rutilo sob o efeito da temperatura local. Isto pode estar relacionado com a maior intensidade dos picos associados à fase rutilo em relação aos picos da fase anatase para a amostra Ti-PEO<sub>300V</sub> em relação à amostra Ti-PEO<sub>200V</sub>, tendo em vista que com o aumento da tensão ocorre o aumento de temperatura das microdescargas de plasma [65]. Rios et al. [167] encontraram resultados semelhantes para revestimentos obtidos por PEO em substratos de Ti-6Al-4V, onde utilizaram um eletrólito a base de P e Ca. Ríos e seus colaboradores correlacionaram esses resultados com a energia necessária para a formação da fase rutilo e anatase a partir do óxido amorfo, assim como os outros autores citados. Sendo assim a predominância da formação da fase rutilo pode ter sido favorecida na amostras Ti-PEO<sub>300V</sub>, uma vez que essa fase necessita de uma maior quantidade de energia para sua formação, quando comparada a transformação de TiO<sub>2</sub> amorfo na fase anatase.



**Figura 13.** Difratogramas de raios-X dos revestimentos obtidos por PEO.



**Figura 14.** Valores de ângulo de contato encontrados para os revestimentos obtidos por PEO.

Na Figura 14 são apresentados os valores das medidas dos ângulos de contato, na qual pode-se verificar que as amostras revestidas por PEO apresentam maiores valores de ângulo de contato ( $^{\circ}$ ) do que o substrato metálico de Ti-6Al-4V. Essa resposta mais hidrofóbica dos revestimentos obtidos por métodos de anodização por spark em relação ao substrato já foi verificado por Bayrak et al. [173], em estudo utilizando o Ti-6Al-4V como substrato. O efeito mencionado é acentuado nas amostras Ti-PEO<sub>300V</sub>. Além disso, o comportamento apresentado pelas amostras revestidas por PEO seguiu o mesmo, independentemente do líquido usado, apresentando valores crescentes para água, seguido por solução simulada de fluido corpóreo Kokubo e solução DMEM. Nikoomanzari et al. [16] demonstram, em seus estudos com revestimentos obtidos por PEO com eletrólitos a base de Ca, P e Zn, que o aumento do ângulo de contato é acompanhado pelo aumento da rugosidade superficial dos revestimentos. Segundo os autores, essa característica pode estar relacionada ao aprisionamento das bolhas de ar na porosidade das superfícies (modelo de Cassie-Baxter) mais ásperas que impedem a formação da ligação hidroxila da água com a superfície [174]. Essa mesma característica foram verificadas por Braem et al. [175] em revestimentos modificados superficialmente por PEO, utilizando eletrólitos a base de P e Ca, em substratos de Ti-6Al-4V. Sendo assim, é provável que a amostra Ti-PEO<sub>300V</sub> tenha apresentado menor molhabilidade, em relação a amostra Ti-PEO<sub>200V</sub>, por possuir poros maiores, que possibilitariam a formação de bolsões de ar nos seus interiores [16]. Esse efeito é ainda mais visível quando os ensaios foram realizados com a solução

Kokubo, no que em água e solução DMEM, enfatizando o efeito da morfologia dos revestimentos na resposta a molhabilidade.

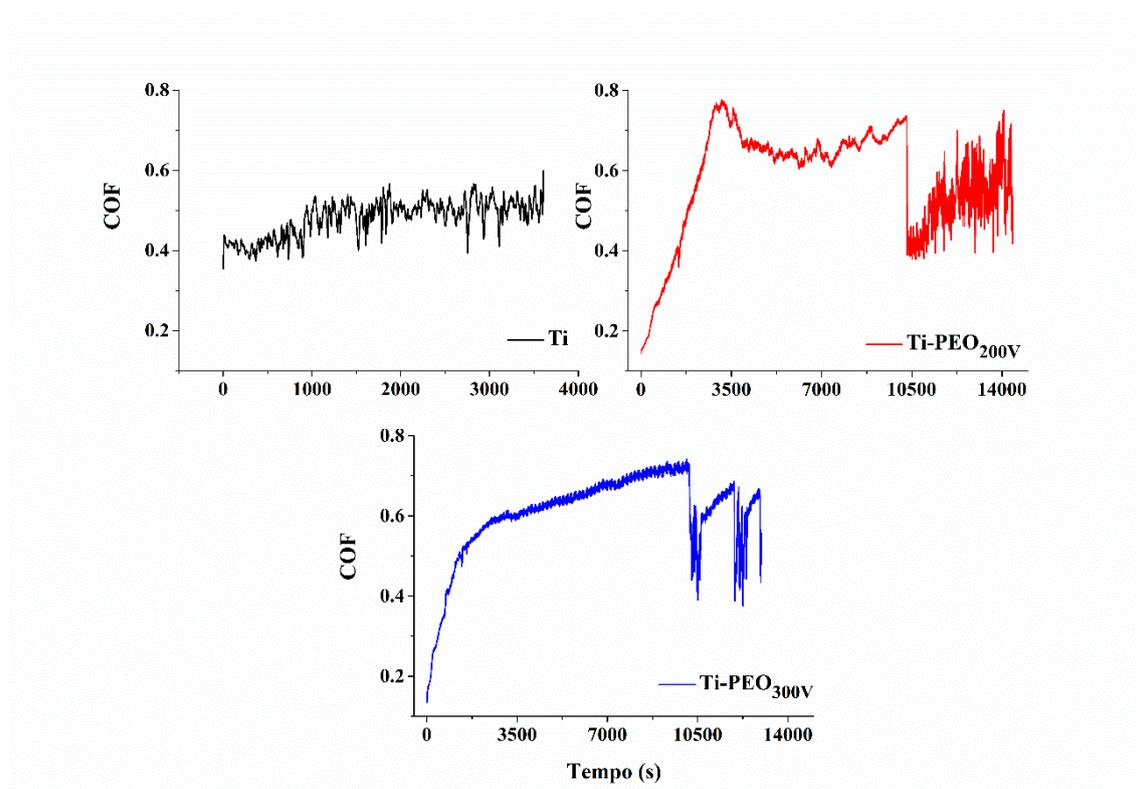
Contudo, outros autores como Kumari et al. [124] e Santos-Coquillat [1] encontraram revestimentos obtidos por PEO com resposta inversa. Os revestimentos apresentaram resposta hidrofílica em relação ao substrato metálico utilizado, Ti-6Al-4V e Ti-CP, respectivamente. Os autores vinculam o aumento da molhabilidade superficial devido a maior capacidade dos revestimentos em adsorver espécies  $\text{OH}^-$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ .

A molhabilidade é considerada uma das propriedades mais influentes nos fenômenos que ocorrem sobre uma superfície, quando relacionada ao comportamento biológico. Superfícies hidrofílicas são conhecidas por serem mais propensas a interagir com os fluidos corpóreos, promovendo uma maior adsorção de proteínas, comportamento contrário ao observado para superfícies que são consideradas hidrofóbicas [74,123,176]. No entanto, autores como Rosales-Leal [177] e Faucheux [178], que realizaram trabalhos com tratamentos de modificação superficial em Ti-CP, apontaram a existência de um ponto ótimo para os valores de ângulo de contato de revestimentos que buscam melhorar a adesão celular, próximos a  $60^\circ$  e  $70^\circ$ . Enquanto Harvey et al. [132], cita que valores ótimos de ângulo de contato, para a água, entre  $70^\circ$  e  $80^\circ$  levam ao maior crescimento e taxas de proliferação de fibroblastos e outras células. Esses valores ótimos de ângulo de contato correspondem aos valores encontrados no presente trabalho, principalmente para as amostras Ti-PEO<sub>200V</sub>.

Os coeficientes de atrito (COF), dos revestimentos obtidos por PEO, ao longo do tempo do ensaio de desgaste por abrasão na configuração *ball-on-plate*, são apresentados na Figura 15. As amostras Ti-PEO<sub>200V</sub> e Ti-PEO<sub>300V</sub> demonstraram coeficientes de atrito superiores (entre 0,6 e 0,8) em relação ao substrato, já nos primeiros momentos do ensaio. De acordo com de Viteri et al. [179], a dureza dos revestimentos formados pelo processo PEO em Ti-6Al-4V varia entre 400 e 600 HV. Esses valores são superiores aos apresentados pelo substrato metálico, sendo de aproximadamente 349 HV [180]. A maior dureza e rugosidade dos revestimentos explica o maior COF dos revestimentos em relação ao substrato metálico.

A flutuação inicial do COF ocorreu, devido à transição entre a superfície rugosa do revestimento para a superfície lisa do revestimento desgastado. Estes resultados estão de acordo com de outros autores, contudo seus ensaios foram realizados na configuração

*ball-on-disk* [92,181]. Cheng e colaboradores [92] realizaram ensaios de desgaste por abrasão, em revestimentos obtidos com diferentes tempos de processo, onde verificaram que mesmo revestimentos com mais tempo de PEO apresentam a mesma tendência a desenvolverem maiores coeficientes de atrito do que no substrato utilizado para a obtenção dos revestimentos, no caso Ti-6Al-4V. Kumari et al. [124] observaram o mesmo comportamento realizando ensaios na configuração *ball-on-plate*. As diferentes evoluções do COF durante a ação de deslizamento podem ser atribuídas às características das superfícies dissimilares dos filmes anódicos (morfologia, estrutura cristalina e composição química) [12].



**Figura 15.** Coeficiente de atrito (COF) dos revestimentos obtidos por PEO em função do tempo (carga de 1N, frequência de 1Hz e comprimento de trilha de 5,0mm, utilizando uma esfera de zircônia estabilizada com ítria como contra corpo).

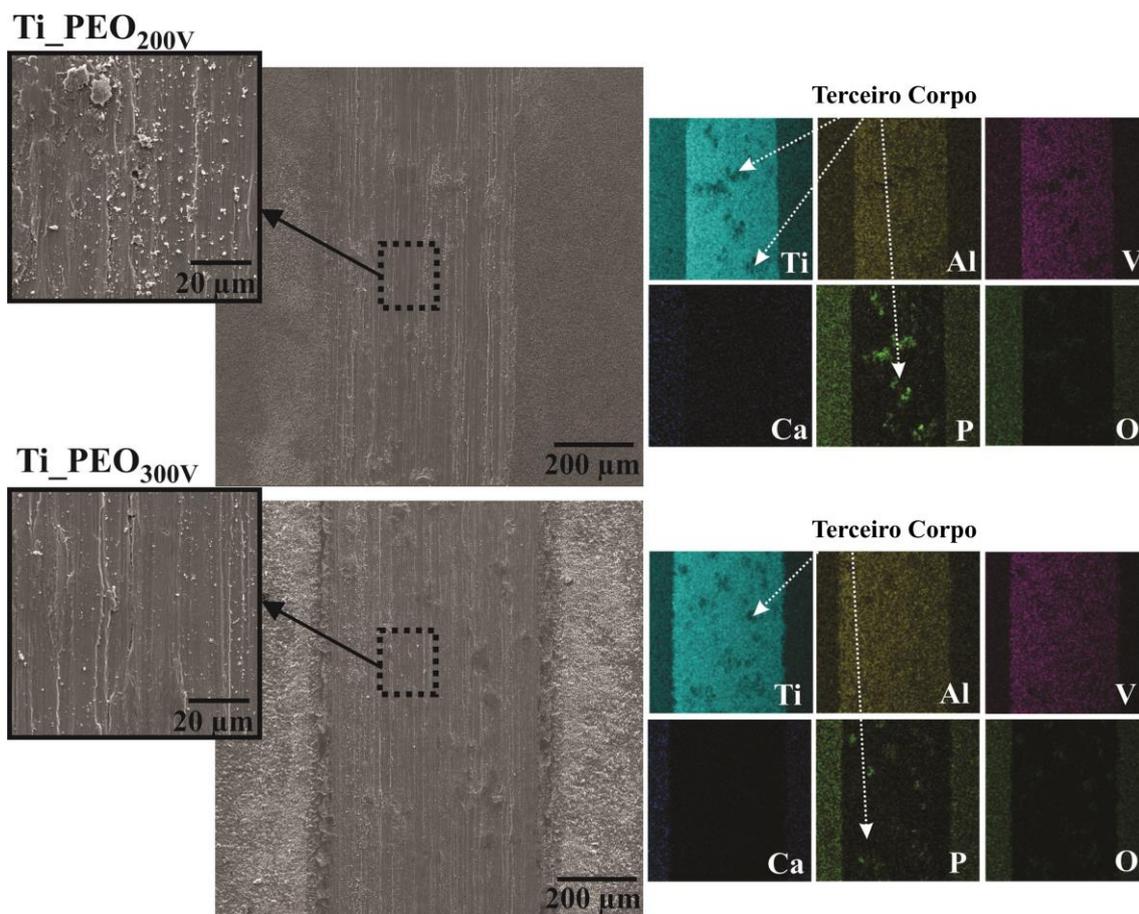
Alves et al. [183] afirmaram que os óxidos TiO<sub>2</sub>-rutilo tem a capacidade de melhorar a resistência à corrosão, quando comparados a fase anatase. Além disso, foi relatado por Yetim et al. [184] que revestimentos anódicos baseados em rutilo apresentaram boa adesão, alta resistência ao desgaste e que levam a uma redução do coeficiente de atrito. Essa redução do coeficiente de atrito relatada pelos autores se deve a capacidade de o rutilo funcionar como um lubrificante sólido [182,184].

As trilhas de desgaste de ambas as amostras (Figura 16) são caracterizadas por marcas de desgaste alinhadas na direção do movimento do pino, indicando a ocorrência de abrasão durante o ensaio. Desgaste e transferência de material foram observadas nas esferas de desgaste (Figura 17). É sabido que as ligas de titânio comumente se transferem para o contracorpo durante o deslizamento contra materiais cerâmicos [185]. Durante o processo de desgaste, junções fraturadas produzem partículas duras que ficam presas entre a superfície do revestimento, ocasionando desgaste por abrasão da superfície [12,186]. As partículas de alta dureza aderidas a esfera cerâmica (Figura 17) também contribuíram para o aumento do desgaste abrasivo. Deste modo, as amostras Ti-PEO<sub>200V</sub> e Ti-PEO<sub>300V</sub> sofreram deformação áspera, desgaste abrasivo e adesivo, assim como verificado por Manhabosco et al. [187].

As amostras Ti-PEO<sub>200V</sub>, apresentaram uma redução do COF ao longo do ensaio de desgaste. Isso provavelmente ocorreu devido à quebra dos picos e dos vales presentes nas superfícies dessas amostras, ocasionando a diminuição da força horizontal de deslizamento. Aproximadamente à 3.500 s se observa a primeira redução do coeficiente de atrito, que pode estar relacionada ao nivelamento superficial ocasionado pela remoção de pontos topográficos de maior amplitude [67]. Pela análise da Tabela 6, pode-se verificar que a amostra Ti-PEO<sub>200V</sub> apresentou valores superiores de rugosidade Rz de  $1,44 \pm 0,09 \mu\text{m}$  em relação aos apresentados pelo substrato de Ti-6Al-4V lixado que manteve sua rugosidade Rz em  $0,61 \pm 0,26 \mu\text{m}$ . Após 10.500 s, o rompimento do revestimento obtido por PEO fica evidente, sendo caracterizado pela queda abrupta do COF até valores que se aproximam do patamar apresentado pelo substrato metálico, o qual sofreu deformação plástica [67,186,188]. O mapeamento da composição química por EDS das esferas usadas nos ensaios de desgaste (Figura 17), demonstram intensos sinais de Ti, Al e V, majoritariamente na amostra Ti-PEO<sub>200V</sub>, o que demonstra a ocorrência de desgaste adesivo no substrato metálico. Doni et al. [185] explicaram que a grande oscilação dos valores de COF, após 10.500 s, pela formação e fratura periódica localizada de uma camada transferida no desgaste do substrato Ti-6Al-4V. O terceiro corpo, que pode ser evidenciado nas imagens obtidas por MEV/EDS (Figura 17), também pode ter contribuído para essa oscilação. A pequena espessura do revestimento Ti-PEO<sub>200V</sub> promoveu um maior tempo de desgaste para o substrato, causando o aparecimento de sinais mais intensos dos elementos que constituem a liga de Ti.

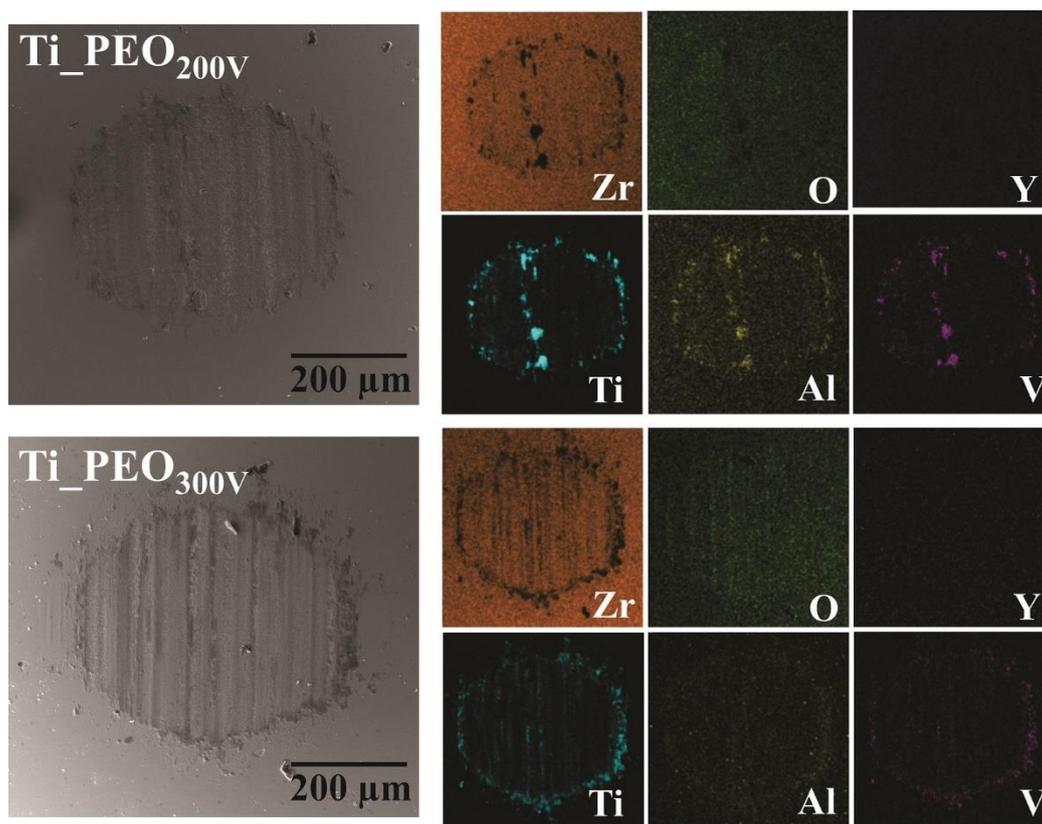
O mecanismo de rompimento do revestimento da amostra Ti-PEO<sub>300V</sub> ocorreu de forma, aparentemente, parcial e gradual, decorrendo do tempo de desgaste, apresentando a formação de terceiro corpo, sendo evidenciado pela oscilação do coeficiente de atrito, proporcionando um desgaste através do mecanismo de abrasão [67]. A amostra Ti-PEO<sub>300V</sub> também apresentou uma queda abrupta do COF em aproximadamente 10500 s, seguida de uma oscilação caracterizada pelo aumento e uma nova redução do COF até o término do ensaio. Os diferentes pontos de queda durante esta etapa do ensaio, demonstram possíveis pontos de ruptura do revestimento antes da esfera de desgaste tocasse o substrato. Portanto, as análises de EDS da esfera utilizada no teste de desgaste da Ti-PEO<sub>300V</sub> (Figura 17) indica pontos menos intensos dos elementos provenientes da liga Ti-6Al-4V, ou seja, menor desgaste adesivo decorrente do desgaste do substrato. No tempo de ruptura final, em aproximadamente 13.800 s, não houve o desgaste prolongado do substrato metálico, como ocorrido na amostra Ti-PEO<sub>200V</sub>, prevenindo uma maior adesão de Ti, Al e V na esfera de desgaste. É importante notar que as análises de EDS não indicaram a presença de Ca e P nas esferas ensaiadas. A concentração dos dois elementos foi muito pequena, como demonstrado pelas análises de RBS (Tabela 7).

Como mencionado anteriormente, a amostra Ti-PEO<sub>300V</sub> apresentou picos de difração associados a fase rutilo com intensidade superior aos picos associados à fase anatase (Figura 14). Sabe-se que a fase rutilo possui dureza superior à fase anatase, além de possuir propriedades de baixa fricção e de redução ao desgaste, conforme mencionado anteriormente. Conforme estudos realizados em revestimentos obtidos através de pulverização catódica, a fase anatase possui uma dureza entre 6 e 8 GPa, enquanto que a fase rutilo alcança valores maiores do que 17 GPa [189,190]. Contudo, quando comparamos as características tribológicas dos revestimentos, o comportamento de resistência ao desgaste demonstrado por ambos foi muito similar, onde os revestimentos tiveram seu rompimento detectado em aproximadamente 10.500 s. As fissuras evidenciadas nas imagens obtidas através de MEV (Figura 11), em conjunto com a maior rugosidade superficial da amostra Ti-PEO<sub>300V</sub>, que apresentou rugosidade Rz de  $2,91 \pm 0,07 \mu\text{m}$  (Tabela 6), levaram a fragilização do revestimento e, conseqüentemente, prejudicaram a resistência ao desgaste do mesmo, favorecendo a formação de terceiro corpo, isto fica claro pela análise das imagens de MEV/EDS (Figura 16 e 17).



**Figura 16.** Análises de MEV das trilhas de desgaste após ensaios tribológicos e seus respectivos mapas de EDS.

Além disso, a relação entre os parâmetros operacionais e as propriedades superficiais dos revestimentos obtidos no presente trabalho, estão de acordo com os resultados obtidos em estudos realizados por Zou et al. [90], que avaliou a obtenção de revestimentos PEO em substrato de alumínio (liga Al 6061), e observou o efeito negativo do aumento da tensão aplicada (400, 500 e 600V) na qualidade e desempenho de fadiga dos revestimentos.



**Figura 17.** MEV/EDS das esferas utilizadas durante os ensaios tribológicos dos revestimentos obtidos por PEO.

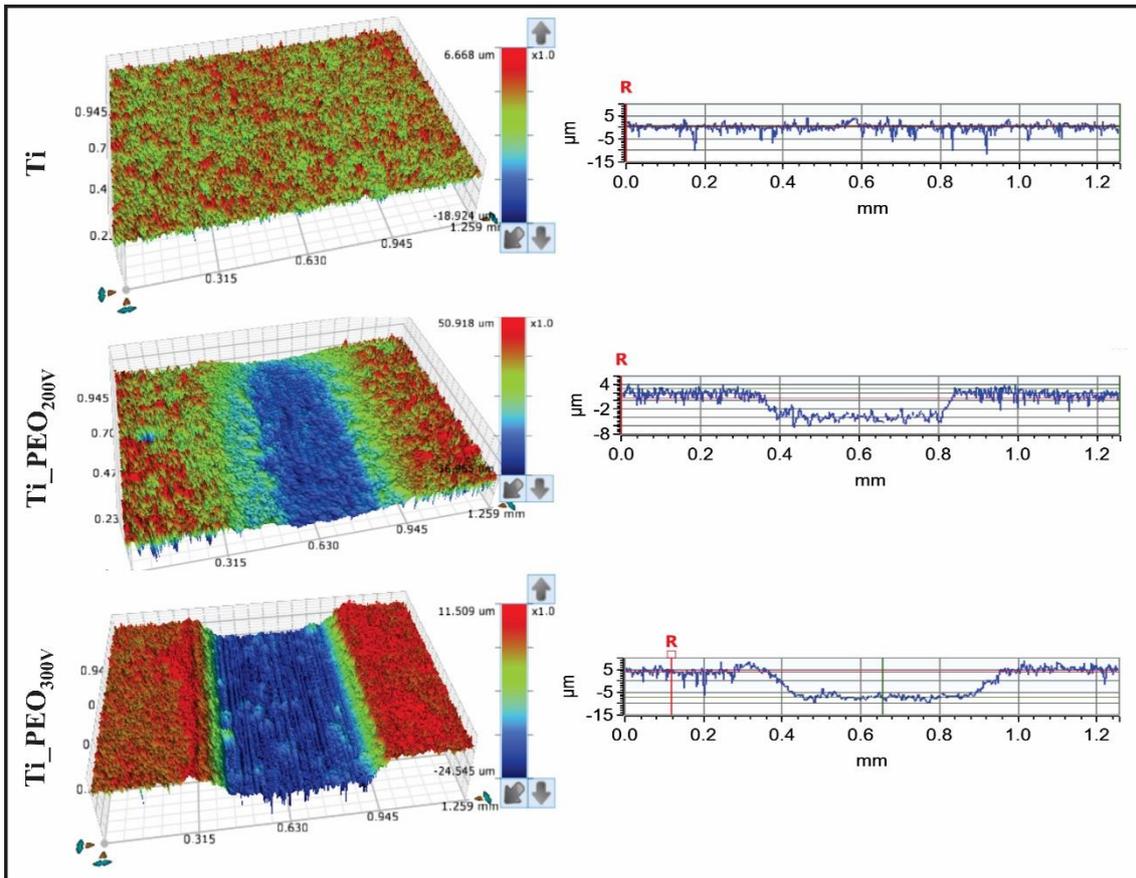
Por meio de interferometria óptica (Figura 18) das superfícies das amostras Ti-PEO<sub>200V</sub>, Ti-PEO<sub>300V</sub> e de suas respectivas trilhas de desgaste, após ensaio de desgaste por abrasão, foram obtidos os perfis das trilhas. A Tabela 8 demonstra os tempos aproximados de rompimento dos revestimentos obtidos por PEO, bem como, as taxas de desgaste calculadas pela análise de imagem das trilhas obtidas por interferometria óptica.

**Tabela 8.** Tempo de rompimento e taxa de desgaste avaliada após ensaio de desgaste abrasivo na configuração *ball-on-plate* para revestimentos PEO.

Amostra	Tempo até a ruptura do	Taxa de desgaste
	ensaio (s)	( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ )
Ti-PEO <sub>200V</sub>	10.500	$2,4 \times 10^{-4}$
Ti-PEO <sub>300V</sub>	10.500	$4,5 \times 10^{-4}$

Para as amostras Ti-PEO<sub>200V</sub> e Ti-PEO<sub>300V</sub> se obteve largura de trilha de aproximadamente  $0,6 \mu\text{m}$ , com taxas de desgastes de  $2,4 \times 10^{-4} \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  e  $4,5 \times 10^{-4} \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ , respectivamente. A resistência ao desgaste da amostra Ti-PEO<sub>300V</sub>, mesmo com espessura de camada superior, menor porosidade e uma maior quantidade da fase rutilo

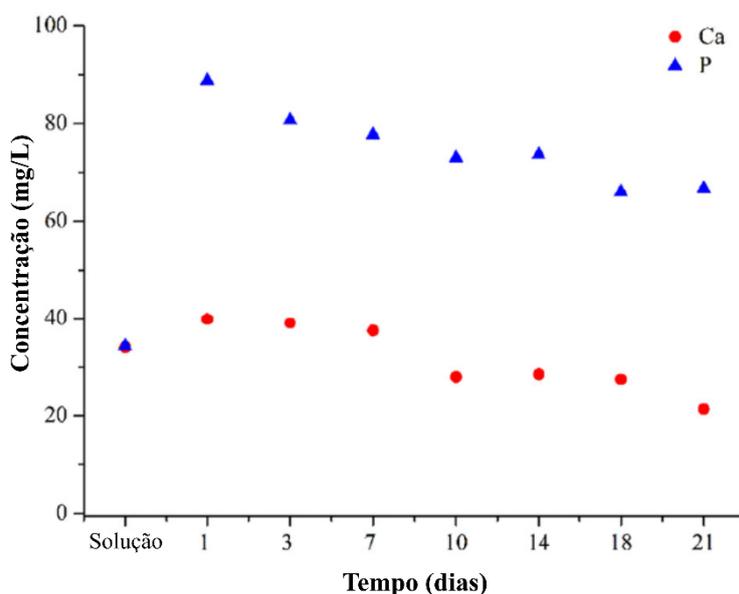
formada, apresentou resistência ao desgaste inferior em relação à amostra Ti-PEO<sub>200V</sub>. Este resultado muito provavelmente foi influenciado pela morfologia superficial, devido a maior quantidade de fissuras visualizadas em MEV (Figura 10), induzindo a um desgaste abrasivo mais severo devido a formação de terceiro corpo, junto a maior rugosidade comparativamente a Ti-PEO<sub>200V</sub> [22,191]; sendo fatores determinantes na diminuição da resistência ao desgaste das amostras Ti-PEO<sub>300V</sub>.



**Figura 18.** Imagens dos revestimentos das amostras Ti-PEO<sub>200V</sub> e Ti-PEO<sub>300V</sub> e do perfil das trilhas obtidas por interferometria óptica, após ensaio de desgaste por abrasão.

A fase anatase, predominante na amostra Ti-PEO<sub>200V</sub>, tem sido relatada com melhores propriedades citocompatíveis quanto à adesão e proliferação de osteoblastos *in vitro*, bem como, tem sido mencionada como a fase que apresenta melhores características bioativas, quanto à capacidade de osteointegração *in vivo* [1]. Além disso, a morfologia dos revestimentos e a composição química desempenham um papel fundamental na adesão, proliferação e ancoragem celular. Whiteside et al. [151] afirmaram em seu trabalho com revestimentos PEO, obtidos utilizando eletrólitos à base de Ca e P em substratos de Ti-CP, que revestimentos com superior densidade populacional de poros de menor diâmetro (3~5 μm) e a maior relação Ca/P na composição química dos

revestimentos auxiliam a adesão e crescimento celular. As amostras Ti-PEO<sub>200V</sub> apresentaram essa relação de características morfológicas, quando comparadas as amostras Ti-PEO<sub>300V</sub> (Tabela 6), e apresentam maiores relações Ca/P também (Tabela 7). Santos-Coquillat et al. [1] conduziram estudos em diferenciação celular em revestimentos obtidos por PEO, no qual afirmam que os revestimentos com maior razão Ca/P apresentaram maior viabilidade e diferenciação celular. Tais características, somadas à isenção de fissuras superficiais na amostra Ti-PEO<sub>200V</sub>, em relação à Ti-PEO<sub>300V</sub>, indicam que a amostra Ti-PEO<sub>200V</sub> possui uma superfície mais promissora para adesão e crescimento celular, em relação a amostra Ti-PEO<sub>300V</sub>. Todas essas características aliadas ao superior comportamento ao desgaste demonstrado pela amostra Ti-PEO<sub>200V</sub> foram determinantes na seleção dessa amostra para a realização dos estudos de citocompatibilidade.

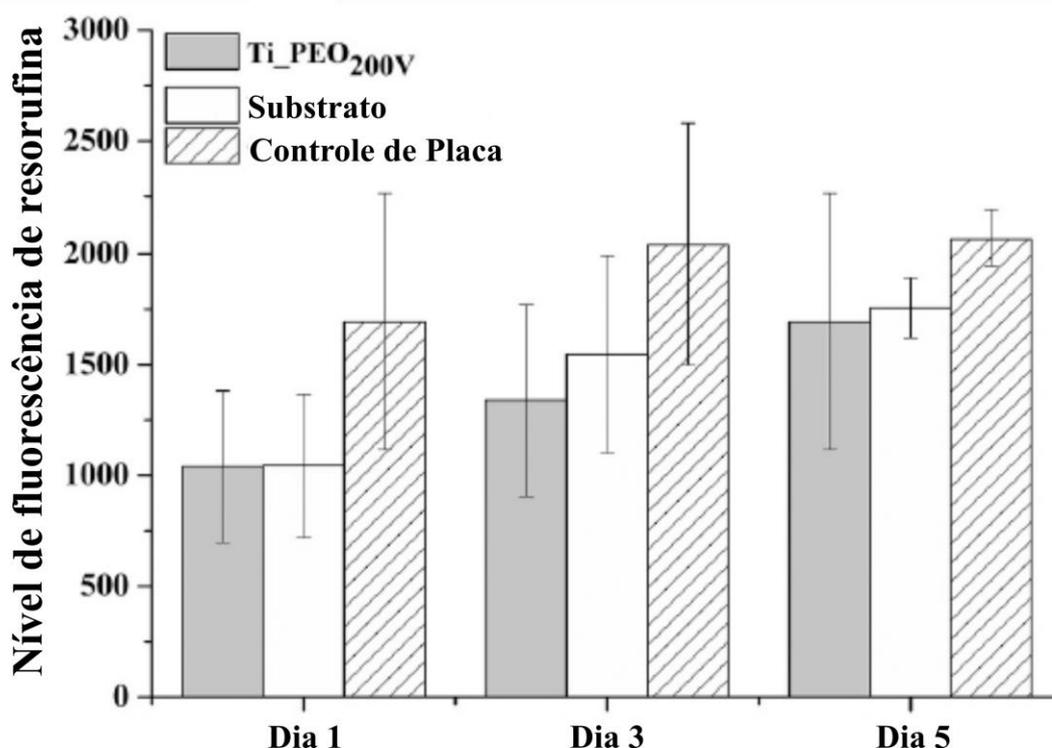


**Figura 19.** Evolução da liberação de Ca e P em função do tempo de imersão em solução DMEM (análise realizada por ICP-MS).

A Figura 19 apresenta os resultados obtidos por ensaio de ICP avaliando a evolução da migração de íons para a amostra Ti-PEO<sub>200V</sub> imersa em solução DMEM durante 21 dias. Os primeiros dias de análise mostraram uma degradação gradual dos revestimentos, indicada por um aumento na concentração de fosfato e cálcio na solução. Essa concentração diminuiu ao passar do tempo, provavelmente devido a absorção da superfície para a formação de uma camada de apatita, demonstrando a característica bioativa do revestimento Ti-PEO<sub>200V</sub>. Tal característica está de acordo com as propriedades com as propriedades observadas por Ponomarev et al. [192]. Além disso, de

acordo com An et al. [193] a liberação de íons Ca e P pode influenciar positivamente a proliferação e diferenciação de células osteoblásticas e, conseqüentemente, o comportamento de mineralização, no entanto, isso pode influenciar significativamente a atividade da enzima FA, o qual pode causar apoptose celular.

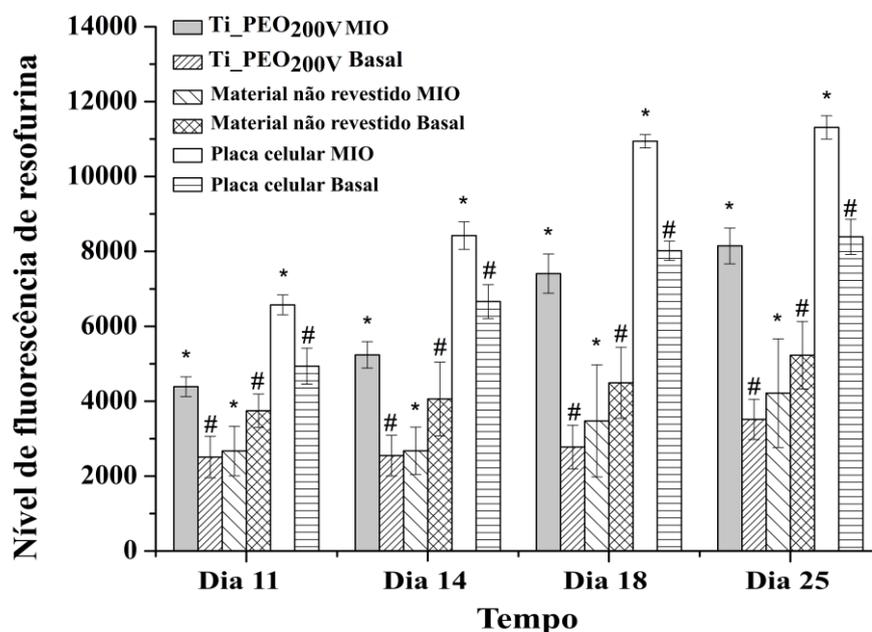
Estudos celulares feitos nas amostras Ti-PEO<sub>200V</sub> foram divididos em duas etapas: viabilidade celular inicial e diferenciação osteogênica do mesmo material com e sem MIO (Meio de Indução Osteogênica).



**Figura 20.** Fluorescência de resorufina das CTMs na amostra revestida e nos controles.

O comportamento celular inicial na superfície do Ti-PEO<sub>200V</sub> (Figura 20) demonstra nenhuma diferença estatística entre as amostras, uma vez que a fluorescência lida foi similar em cada tempo. Este estudo baseia-se na captação de resazurina por células metabolicamente ativas, onde este corante é reduzido a resorufina fluorescente via redução enzimática mitocondrial [194] significando que quanto mais metabolicamente ativa as células são, maior a fluorescência lida. Neste caso, as células proliferaram na superfície das amostras revestidas, como visto também pelas análises de MEV (Figura 22). No segundo passo, o ensaio de citocompatibilidade foi conduzido, mas as células também foram condicionadas para osteodiferenciação via MIO (Figura 21). Embora haja

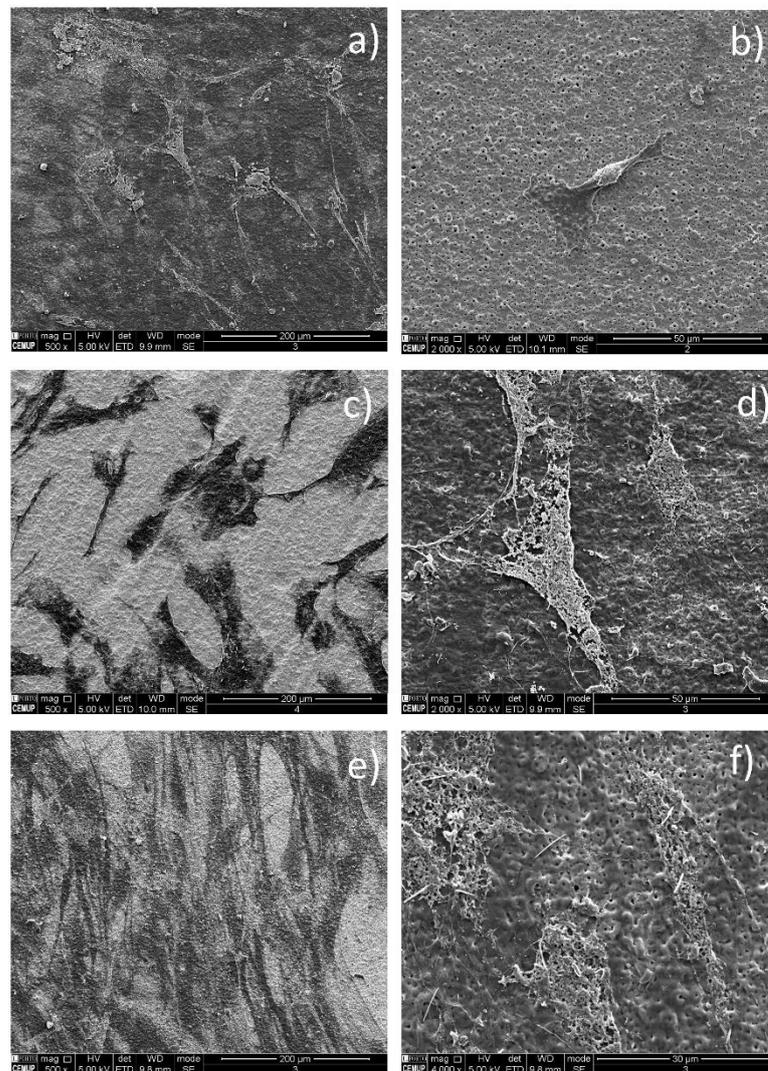
um aumento ao longo do tempo da atividade celular, como já era esperado foi observado um aumento acentuado na atividade metabólica quando submetidas à MIO na superfície do Ti-PEO<sub>200V</sub>. Esses resultados mostram que este material é adequado para a proliferação das células quando condicionado a estímulos para formação óssea. Por outro lado, quando as amostras não revestidas foram submetidas ao meio MIO, os valores de fluorescência foram estatisticamente semelhantes às condições do meio basal, o que pode ser explicado pelo efeito sinérgico que a topografia tem no comportamento da superfície celular (Figura 12). Mesmo que haja um duplo efeito (MIO e topografia) no comportamento das células nas amostras não revestidas, pode-se notar que a topografia é mais importante em relação a isso, como visto pela maior diferença na fluorescência das células quando comparamos superfícies revestidas e não revestidas na mesma condição de MIO (Figura 21).



**Figura 21.** Os resultados do ensaio de resofurina das CTMs em cada condição de amostra em 11, 14, 18 e 25 dias. \* =  $p < 0,05$  entre amostras MIO entre cada tempo; # =  $p < 0,05$  entre amostras basais em cada tempo. N = 6.

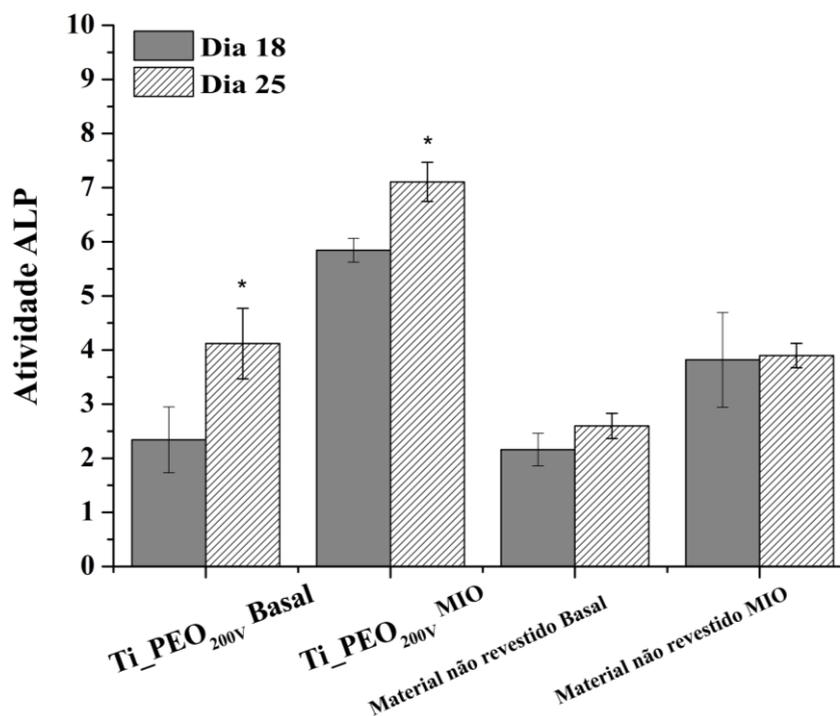
A adesão celular e o subsequente espalhamento são passos chaves para uma boa interação célula/material. O modo como esse fenômeno ocorre influencia a habilidade da célula se proliferar e diferenciar, estando intimamente ligado à morfologia do material. A análise dos resultados posteriores da topografia do Ti-PEO<sub>200V</sub>, mostraram que o aumento da rugosidade desse revestimento proporcionou adesão celular inicial, sendo esse comportamento observado benéfico para o crescimento celular, pois diminui o tempo de

adaptabilidade que as células costumam ter para biomateriais, mantendo assim o ciclo celular em andamento, sem correr o risco de entrar na fase de repouso G0 [195]. Também, como afirmado antes, o ponto ótimo para a adesão celular em superfícies modificadas ocorre para ângulos de contato de 60° à 70° em materiais revestidos. Esta afirmação é válida quando se cruzam os estudos de molhabilidade no Ti-PEO<sub>200V</sub> e o resultado de adesão obtido neste estudo. Além disso, conforme já observado anteriormente, íons Ca e P são liberados da amostra Ti-PEO<sub>200V</sub> (Tabela 6 e Figura 19), o que também explica o significativo aumento de CTMs quando comparado a amostra controle, quando somados ao ângulo de contato e topografia dos revestimentos é revelando um efeito sinérgico na adesão celular inicial, conforme visto pelas análises de MEV (Figura 22).



**Figura 22.** Análise MEV de células CTM's em meio basal em: amostras de revestimento de Ti-PEO<sub>200V</sub> nos dias 5 (a), 14 (c) e 25 (e); em amostras não revestidas nos dias 5 (b), 14 (d) e 25 (f). Ampliação de 500x e 2000x.

A Fosfatase Alcalina (FA) é o marcador inicial mais utilizado para determinação da diferenciação osteoblástica [196]. De fato, é importante distinguir entre a proliferação celular e a medição da atividade de FA. Enquanto níveis de fluorescência (Figuras 20 e 21) refletem a atividade metabólica celular, a atividade FA está intimamente relacionada à capacidade de mineralização celular. Essa relação significa que se as CTMs proliferam, mas falharam em se diferenciar, os ensaios de proliferação celular produziram valores elevados, mas a expressão FA seria residual [196]. Neste estudo, células semeadas em amostras Ti-PEO<sub>200V</sub> com MIO demonstraram uma expressão significativa maior, de atividade FA, no dia 25 do que todas outras amostras (Figura 23). Também é importante mencionar que mesmo sem MIO, CTMs semeadas em Ti-PEO<sub>200V</sub> expressaram níveis mais altos de FA do que amostras não revestidas sem MIO, significando que o revestimento obtido por PEO é capaz de induzir a altos níveis de FA mesmo sem os compostos indutores osteogênicos presentes no MIO. Este fato é ainda mais aparente quando dados do dia 25 são analisados. As CTMs no Ti-PEO<sub>200V</sub> aumentaram significativamente a expressão de FA, o qual, embora tenha um valor mais alto na condição MIO, tem uma atividade aumentada no Ti-PEO<sub>200V</sub>. A morfologia e proliferação da CTMs nestas condições basais também podem ser observadas na Figura 22(c) e (e), onde é possível observar que, no dia 14, havia uma matriz extracelular nítida cobrindo a amostra, que é aumentada no dia 25, consolidando os resultados de FA.



**Figura 23.** Atividade de FA normalizada pelo conteúdo de proteína total de CTMs em amostras revestidas e não revestidas nos dias 18 e 25. \* =  $p < 0,05$  entre a mesma amostra em dois pontos de tempo. N = 3.

### 5.1.1. Conclusões Parciais

Os revestimentos PEO obtidos no substrato de Ti-6Al-4V demonstraram morfologia irregular com a presença de poros distribuídos eventualmente sobre a superfície. O tamanho do poro, a espessura da camada e a rugosidade superficial do revestimento aumentaram proporcionalmente com o aumento da tensão aplicada.

Análises de DRX demonstraram a presença majoritária dos óxidos de titânio nas fases rutilo e anatase em ambos os revestimentos. Análises químicas de RBS demonstraram que elementos bioativos (cálcio e fósforo) foram incorporados do eletrólito por meio da técnica PEO em ambas amostras.

Em relação ao comportamento tribológico, os mecanismos de desgaste adesivo e abrasivo foram identificados. Apesar da maior espessura de camada, o revestimento Ti-PEO<sub>300V</sub> apresentou maior taxa de desgaste ( $4,5 \times 10^{-4} \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) do que o revestimento Ti-PEO<sub>200V</sub> ( $2,4 \times 10^{-4} \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Além disso, a presença de trincas na morfologia da amostra Ti-PEO<sub>300V</sub> levaram a fragilização do revestimento. Desse modo, a amostra Ti-PEO<sub>200V</sub> foi selecionada para os testes biológicos, já que demonstrou melhor comportamento tribológico do que a amostra Ti-PEO<sub>300V</sub>, predominância da fase anatase, valores ótimos

de ângulo de contato (60-70°) e maior densidade populacional de poros pequenos do que a amostra Ti-PEO<sub>300V</sub>.

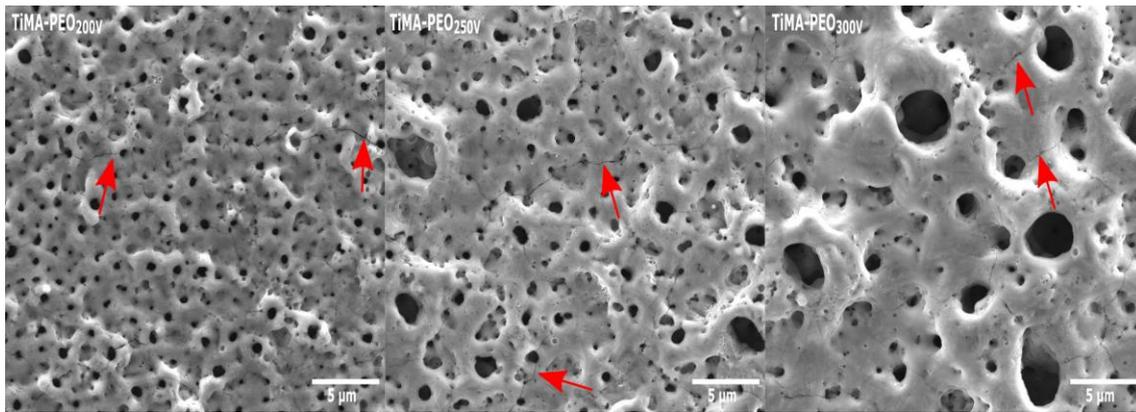
Os resultados dos testes biológicos mostraram que o comportamento de citocompatibilidade e capacidade de proliferação de CTMs na amostra Ti-PEO<sub>200V</sub> foram maiores do que os apresentados pelo Ti-6Al-4V, provavelmente devido os valores de adesão celular inicial propiciada pela topografia e molhabilidade do revestimento Ti-PEO<sub>200V</sub>. Além disso, foi obtida superior capacidade de diferenciação osteogênica pelo uso do marcador FA do revestimento obtido pelo processo PEO em relação ao substrato metálico Ti-6Al-4V, denotando seu potencial de aplicação para regeneração óssea.

## 5.2. Revestimentos obtidos por PEO sobre liga Ti-6Al-4V ELI produzida por manufatura aditiva

A Fig. 24 apresenta as imagens de MEV/FEG da morfologia superficial dos revestimentos obtidos pela técnica PEO para cada amostra. As amostras TiMA-PEO<sub>250V</sub> e TiMA-PEO<sub>300V</sub> mostraram uma morfologia tipo vulcão porosa, enquanto que a amostra TiMA-PEO<sub>200V</sub> demonstrou uma morfologia porosa bem definida. Todos os revestimentos produzidos apresentaram coloração marrom, devido à alta concentração de fosfato no eletrólito [197]. No entanto, foi observada a presença de trincas em todos os revestimentos obtidos por PEO, o aumento da intensidade e quantidade dessas trincas cresceu com o aumento da tensão final aplicada e do tempo de processo, comportamento esse também observado por Durdu et al. [191] em revestimentos obtidos sobre a liga comercial Ti-6Al-4V.

**Tabela 9.** Propriedades superficiais dos revestimentos obtidos por PEO em Ti-6Al-4V fabricados por manufatura aditiva.

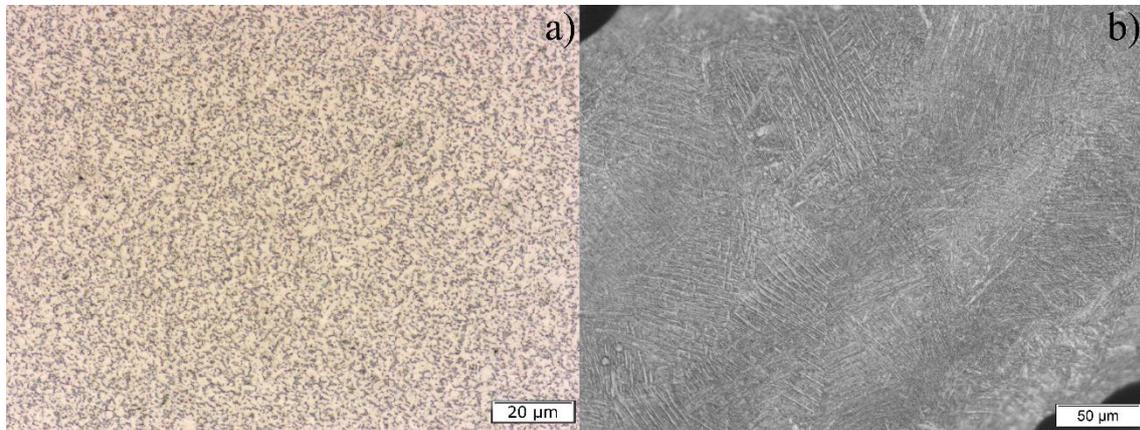
Amostras/propriedades	Ti6Al4V-MA	TiMA-PEO <sub>200V</sub>	TiMA-PEO <sub>250V</sub>	TiMA-PEO <sub>300V</sub>
Ra (μm)	0,13 ± 0,02	0,17 ± 0,04	0,28 ± 0,01	0,72 ± 0,05
Rz (μm)	1,3 ± 0,62	1,5 ± 0,36	2,33 ± 0,32	4,55 ± 0,28
Espessura total (μm)	-	2,05 ± 0,13	4,5 ± 0,33	23,83 ± 1,5
Camada externa (μm)	-	1,53 ± 0,26	3,64 ± 0,44	22,53 ± 1,25
Camada interna (μm)	-	0,41 ± 0,04	0,69 ± 0,18	1,16 ± 0,22
Densidade populacional de poros (poros.mm <sup>-2</sup> )	-	17,9×10 <sup>4</sup>	10,0×10 <sup>4</sup>	50,4×10 <sup>3</sup>
Maior área de poro (μm <sup>2</sup> )	-	1,62	5,32	18,31
Menor área de poro (μm <sup>2</sup> )	-	0,06	0,07	0,11



**Figura 24.** Imagens MEV/FEG da morfologia superficial dos revestimentos obtidos por PEO.

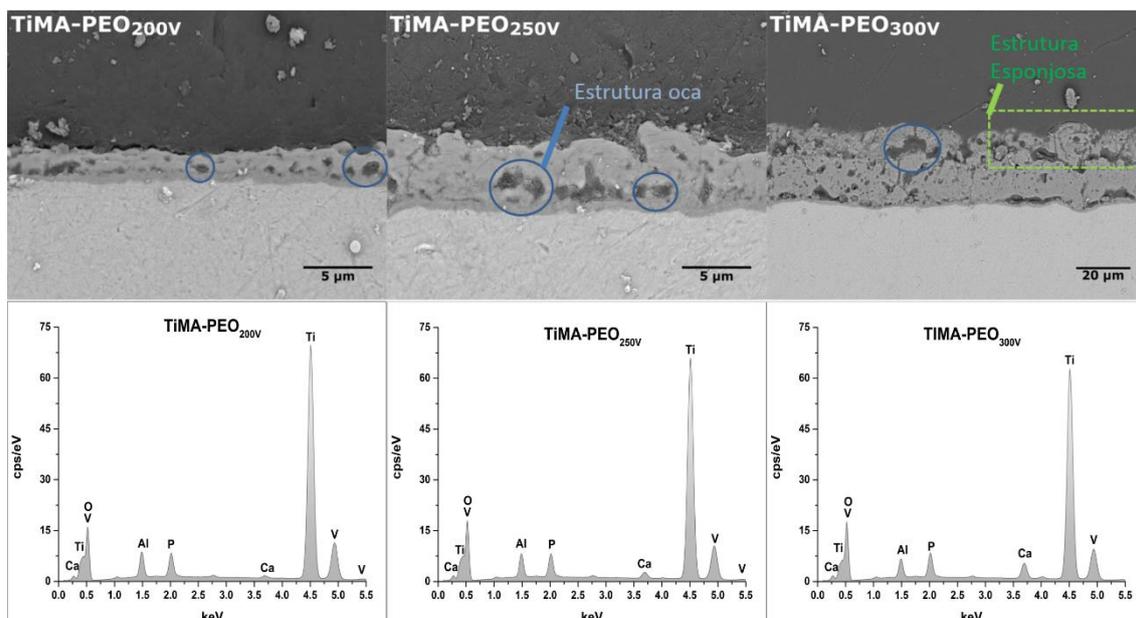
O aumento da tensão aplicada levou ao aumento da rugosidade ( $R_a$  e  $R_z$ ), espessura, área dos poros e diminuição da população de poros, conforme mostrado na Fig. 26 e Tabela 9, que exibem a morfologia do corte transversal e as propriedades superficiais das amostras, respectivamente. Esta resposta já foi observada no trabalho apresentado anterior desta dissertação e num trabalho publicado pelo autor da presente dissertação [198]. Os revestimentos obtidos sobre o substrato produzido por DMLS apresentam espessuras maiores que os revestimentos obtidos na liga comercial Ti-6Al-4V, além de demonstrar maior população de poros de menor área. Essa resposta diferente pode estar relacionada à microestrutura do substrato produzido pela técnica DMLS, uma vez que tratamentos mecânicos que refinam o grão do substrato, como a prensagem angular de canal (ECAP), aumentam a espessura e diminuem o diâmetro dos poros em comparação com amostras de granulometria grosseira. Além disso, aumentam a reatividade da superfície, a taxa de crescimento, a densidade de descargas elétricas e reduzem o tamanho da descarga, no processo PEO [199,200]. Conforme observado por Longhitano et al. [201], o substrato obtido pelo processo DMLS apresenta uma estrutura martensítica acicular constituída por  $\alpha/\alpha'$ . Considerando que, durante o processo de fabricação, uma rápida taxa de resfriamento é resultante da rápida interação do laser com a superfície fundida do material promovendo uma estrutura martensítica refinada (Fig. 25a) devido ao resfriamento abrupto do campo  $\beta$ . Por outro lado, a Liga Ti-6Al-4V comercialmente recozida possui microestrutura equiaxial  $\alpha+\beta$  (Fig. 25b), com tamanho de grão comparativamente maior do que o obtido pelo processo DMLS. De acordo com Wu et al. [14], as fases fora de equilíbrio no substrato Ti-6Al-4V manufacturado aditivamente têm um maior número de contornos de grão, devido ao seu pequeno tamanho de grão, proporcionando mais sítios de nucleação para o filme passivo no estágio inicial do processo PEO. Além disso os contornos de grão de alta energia e outros defeitos

estruturais, decorrentes da microestrutura obtida em altas taxas de resfriamento, promoveram uma maior taxa de crescimento dos revestimentos obtidos no processo de MA, devido ao armazenamento de energia excessiva que acelera a cinética de reação química.



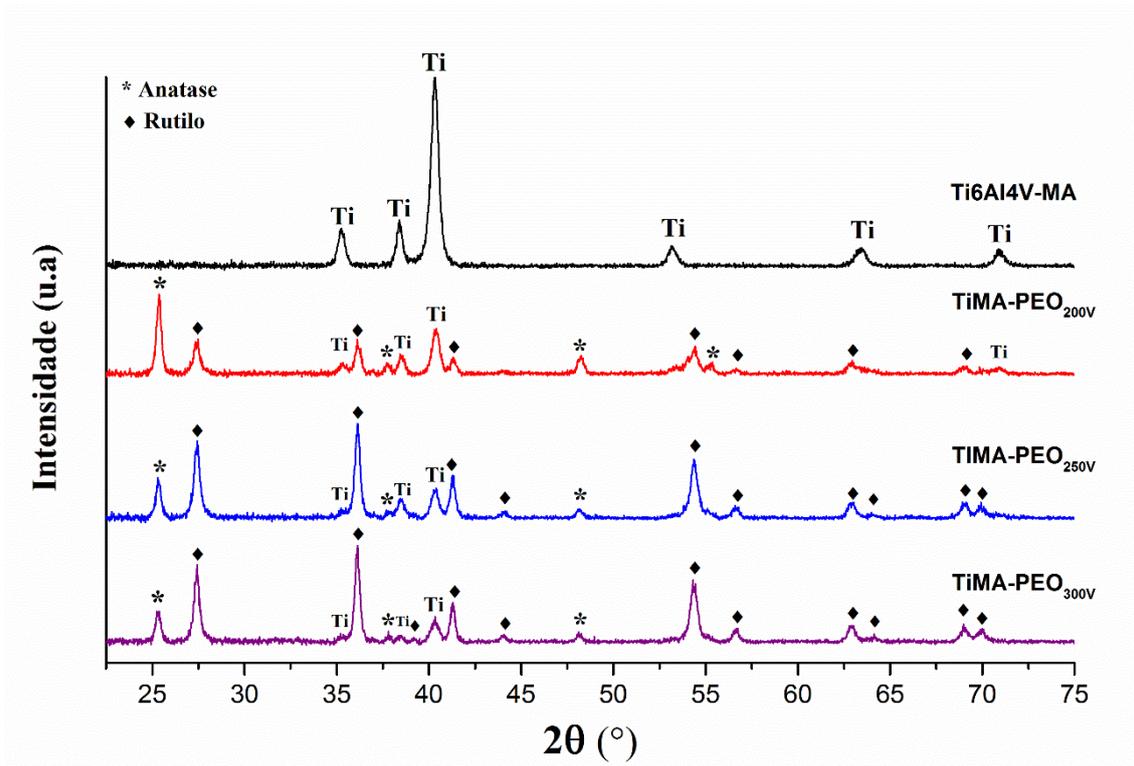
**Figura 25.** Microestruturas da liga Ti-6Al-4V fabricada por laminação (a) e fabricada por manufatura aditiva (DMLS).

Os revestimentos obtidos se apresentaram aderidos ao substrato MA compostos por duas camadas diferentes, uma camada interna densa e uma camada externa porosa, como pode ser visto na Fig. 26. Este resultado está de acordo com os encontrados por Fazel et al. [21], com revestimentos obtidos por PEO sobre a liga Ti-6Al-4V sinterizada pela técnica de fusão a laser seletiva (SLM). A camada interna, que cresce diretamente no metal sob altas pressões e temperaturas, apresenta-se na forma densa, cristalina e firmemente aderida ao substrato. Já a camada externa é amorfa devido à rápida taxa de resfriamento do eletrólito, com uma morfologia complexa e porosa formada pela existência de microdescargas provenientes do processo PEO [22,200]. Além disso, as amostras TiMA-PEO<sub>200V</sub> e TiMA-PEO<sub>250V</sub> apresentaram revestimentos mais densos, com uma estrutura oca, em relação ao revestimento formado na amostra TiMA-PEO<sub>300V</sub>, que apresentou revestimentos mais espessos, com estrutura esponjosa misturada a estrutura oca [71]. No entanto, não houve grande diferença na espessura da camada interna das amostras, o comportamento inverso ao observado para as espessuras das camadas externas, que aumentaram em função do aumento da tensão aplicada, conforme visto na Tabela 9.



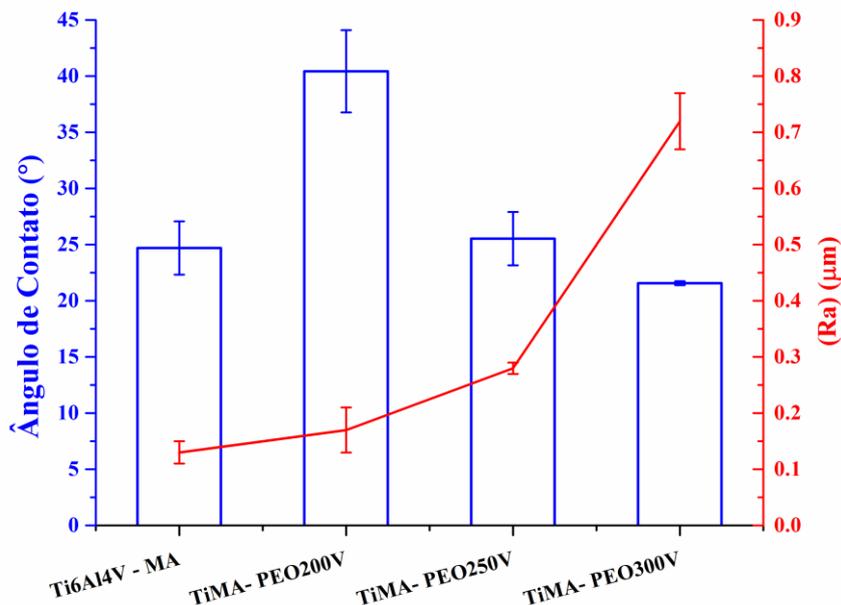
**Figura 26.** Imagens de MEV/FEG da morfologia transversal dos revestimentos obtidos por PEO e espectrogramas de superfície EDS.

A presença dos elementos Ti, Al, V, O, P e Ca foi observada na composição química dos revestimentos obtidos, por análise de EDS (Fig. 26). O fenômeno de *sparkling*, ou microdescargas elétricas, permitiu uma incorporação intensa de íons Ca e P aos revestimentos, sendo que essas espécies permanecem principalmente como íons dissolvidos ou fases amorfas dentro dos revestimentos PEO [202]. O P é normalmente encontrado bem distribuído pela espessura dos revestimentos, enquanto o Ca é tipicamente localizado na superfície do revestimento, com a diminuição da concentração em direção à região interna do mesmo [203]. Esses íons incorporados podem melhorar a bioatividade superficial, uma vez que os cátions  $\text{Ca}^{2+}$  migram para a superfície externa onde induzem a formação de apatita na presença de  $\text{OH}^-$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  em meio biológico [204]. Além disso, segundo dos Santos et al. [205], a liberação de Ca e P estimulam a atração de proteínas por esses sítios ativos e a hidrólise, estimulando a proliferação e diferenciação das células.



**Figura 27.** Difratogramas de raios-X de ângulo rasante (GIDRX) para os revestimentos obtidos por PEO.

A Fig. 27 ilustra os padrões de difração de raios-X de incidência rasante da liga Ti-6Al-4V não revestida e os revestimentos PEO produzidos em diferentes parâmetros elétricos. A análise de GIDRX indica a formação de revestimentos mistos entre as duas diferentes fases do óxido de  $\text{TiO}_2$ : anatase (JCPDS NO. 01-084-1286) –  $\text{TiO}_2$  e rutilo (JCPDS NO.01-077-0442) – fases de  $\text{TiO}_2$ ; e apenas picos da fase  $\alpha$  do Ti foram detectados na liga Ti-6Al-4V produzida pela técnica de manufatura aditiva DMLS. O aumento da tensão aplicada nas amostras resultou em um aumento na intensidade dos picos relacionados à fase rutilo e uma diminuição nos picos relacionados à fase anatase, conforme já observado por Santos et al. [198]. Isso pode ter ocorrido devido à energia de formação de ambas as fases do  $\text{TiO}_2$ , uma vez que a fase anatase requer menor energia para se formar, em relação à fase rutilo [167]. O rutilo, entre todas as fases do titânio, é conhecido por ser mais resistente ao desgaste devido às suas propriedades de redução do desgaste e baixo atrito [179,181]. Além disso, Chen et al. [206] e Chung et al. [98] fizeram comparações entre as fases anatase e rutilo em revestimentos PEO obtidos na liga Ti-6Al-4V, seus achados concluíram que o rutilo supera o anatase em termos de biocompatibilidade.

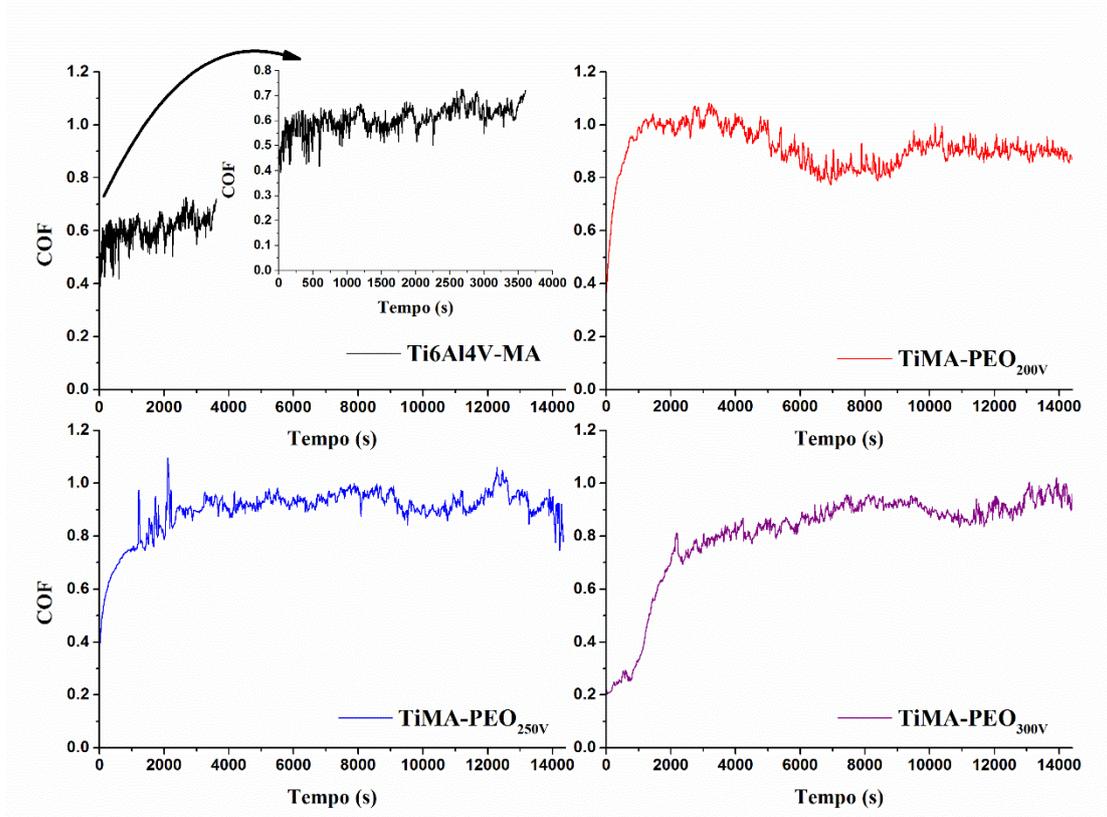


**Figura 28.** Valores de ângulos de contato e rugosidade superficial mensurados para os revestimentos obtidos por PEO e para o substrato metálico.

Pelo resultado obtido no teste da gota séssil (Fig. 28) foi possível verificar um comportamento semelhante dos revestimentos PEO em comparação a amostra Ti6Al4V-MA, apenas a amostra TiMA-PEO<sub>200V</sub> apresentou superiores valores de ângulos de contato. Os ângulos de contato, das amostras revestidas diminuíram com o aumento da tensão aplicada. Esse comportamento pode ser explicado pelo aumento da rugosidade, com a presença de grandes números de poros de maior tamanho, e quantidade de cristais de TiO<sub>2</sub> nos revestimentos esses cristais induzem a formação de grupos radicais hidroxila (-OH) na superfície, aumentando as formações de ligações de hidrogênio com moléculas de água [11,49,124]. Superfícies hidrofílicas interagem intimamente com os fluidos biológicos, permitindo a adsorção normal da proteína na superfície e as interações subsequentes com os receptores celulares [207].

A evolução do coeficiente de fricção (COF) durante o deslizamento da amostra Ti6Al4V-MA e dos diferentes revestimentos produzidos por PEO contra esferas de zircônia, é mostrada na Fig. 29. Para a amostra Ti6Al4V-MA, os valores de COF apresentaram-se na faixa de 0,5-0,7 durante o teste de duração de 3600 segundos de deslizamento, o que está de acordo com os dados da literatura [23,208]. Já para todas as amostras revestidas, foram medidos valores de COF mais elevados, variando de 0,7 a 1, resultado próximo ao encontrado por Alves et al.[12], em seu estudo sobre revestimentos obtidos por PEO sobre Ti-6Al-4V comercial, utilizando uma solução rica em Ca- e P-.

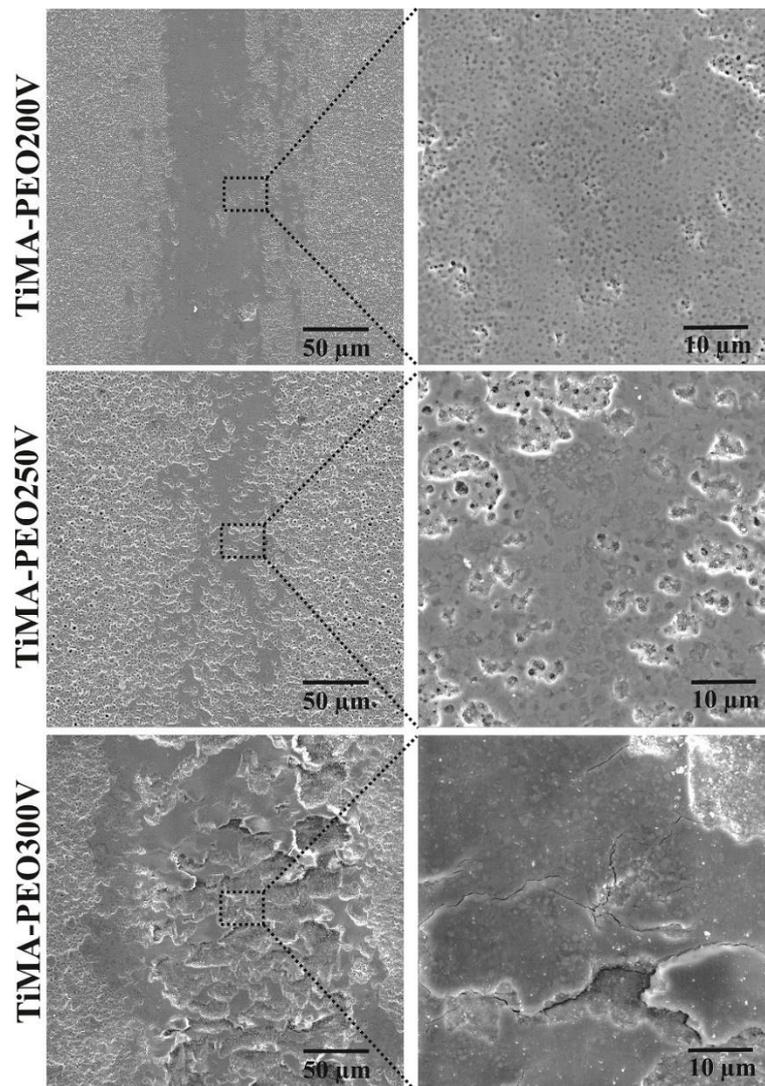
Para essas amostras, a flutuação inicial no COF ocorreu, provavelmente devido à transição entre a superfície rugosa do revestimento para a superfície mais lisa do revestimento desgastado [181,209]. Os testes foram interrompidos aos 14400 segundos de deslizamento para as amostras revestidas. Pode-se observar também que os valores de COF, para as amostras revestidas, foram influenciados pelos valores de rugosidade, morfologia e dureza superior, em relação ao substrato, devido à flutuação verificada nos primeiros metros do ensaio [209]. De acordo com a literatura, revestimentos obtidos por PEO apresentam valores de dureza entre 400 e 600 HV [179], enquanto a amostra Ti6Al4V-MA apresenta valores próximos a 332 HV [210]. A topografia porosa, característica dos revestimentos produzidos pelo PEO, é primeiramente nivelada, e as forças de atrito tornam-se grandes, conduzindo a alta dos valores de COF [211]. Além disso, a contínua flutuação nas curvas de COF pode ser atribuída à estrutura porosa e a rugosidade dos revestimentos [23]. Além disso, os valores de COF dos revestimentos permaneceram em níveis superiores aos do substrato durante todo o ensaio, indicando que não houve uma ruptura completa dos revestimentos durante o teste de desgaste.



**Figura 29.** Coeficiente de atrito (COF) dos revestimentos obtidos por PEO em função do tempo.

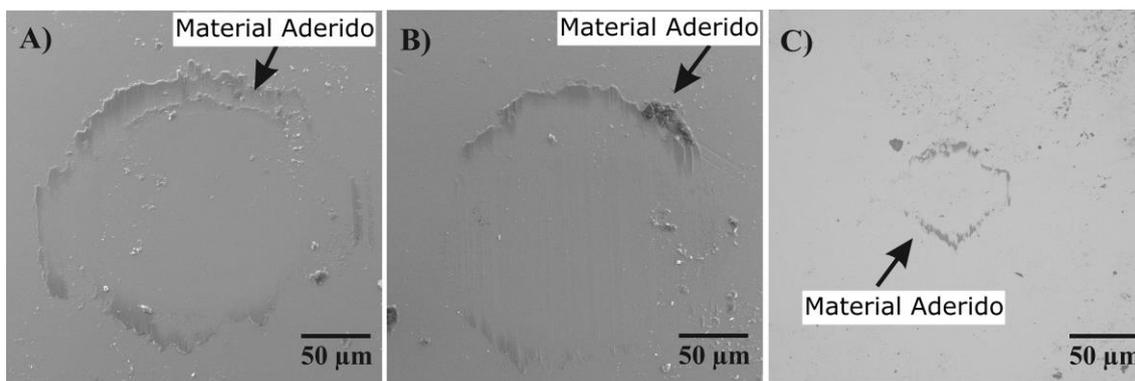
As morfologias das trilhas de desgaste, dos revestimentos e do substrato, foram analisadas por MEV/EDS (Fig. 30). Pela a análise dessas imagens, confirmou-se que as amostras revestidas não romperam, uma vez que não foi verificada a presença de marcas de desgaste por deslizamento alinhadas à direção do movimento do pino. Para as amostras TiMA-PEO<sub>200V</sub> e TiMA-PEO<sub>250V</sub>, observou-se que o polimento das camadas externas formadas dos revestimentos teve a morfologia nivelada e relativamente lisa, sendo as camadas internas não alcançadas durante o teste de deslizamento. Ambas as fases TiO<sub>2</sub>, anatase e rutilo, apresentam propriedades lubrificantes e de baixo atrito, conforme mencionado anteriormente, o que pode explicar este tipo de comportamento após o alisamento das trilhas de desgaste [22]. Tal comportamento pode ser confirmado uma vez que foi verificada a presença de poros atrás da trilha de desgaste, indicando que a esfera de zircônia não foi capaz de desgastar totalmente a camada externa. No entanto, a amostra TiMA-PEO<sub>300V</sub> apresentou formação de trincas. De acordo com Lawn et al. [212] a remoção de material em sólidos duros e quebradiços é a mecânica do dano sob micro e nano contatos e está diretamente relacionada à geometria do corpo em contato com o material quebradiço. Esferas normalmente duras geram contatos predominantemente elásticos, com a formação de trincas cônicas hertzianas acima de uma carga crítica. Essas trincas se expandem gradativamente, com o deslizamento repetido das esferas de zircônia na superfície do revestimento, levando à delaminação e rompimento localizado do revestimento, observado na Fig. 30 [211].

É importante salientar que foram identificadas microtrincas nas amostras TiMA-PEO<sub>200V</sub> e TiMA-PEO<sub>250V</sub> em menor magnitude que as trincas encontradas na amostra TiMA-PEO<sub>300V</sub>, não ocorrendo delaminação. Durdu e Usta [22] indicaram a possibilidade das partículas, produzidas através do ensaio de desgaste, atuarem como lubrificantes entre o revestimento e a esfera de desgaste, esse fenômeno pode ter ocorrido nas amostras TiMA-PEO<sub>200V</sub> e TiMA-PEO<sub>250V</sub>. Porém, conforme demonstrado por outros autores [67] e como observado para os revestimentos obtidos por PEO sobre substrato convencional [198], a tendência de aumento do COF pode ser gerada pela formação de um terceiro corpo devido ao arrancamento do material gerado pela delaminação localizada do revestimento. Dessa forma, a formação de terceiro corpo pode ter contribuído para o aumento do COF detectado entre 800 segundos e 2500 segundos da distância percorrida na amostra TiMA-PEO<sub>300V</sub>. Além disso, pode ter contribuído para as oscilações do COF detectadas nos testes das demais amostras.



**Figura 30.** MEV das trilhas de desgastes geradas durante o ensaio de desgaste.

Os resultados da análise de MEV das esferas de desgaste utilizadas no teste de desgaste são apresentados na Fig. 31. Foi verificada uma pequena quantidade de material aderido em todas as esferas utilizadas, levando à conclusão de que houve desgaste adesivo em todas as amostras revestidas, além do desgaste abrasivo verificado anteriormente.



**Figura 31.** MEV das esferas usadas durante os testes tribológicos dos revestimentos obtidos (A) TiMA-PEO<sub>200V</sub>, (B) TiMA-PEO<sub>250V</sub>, (C) TiMA-PEO<sub>300V</sub>.

Os resultados da taxa de desgaste das amostras (Tabela 10) indicam um desgaste mais agressivo na amostra TiMA-PEO<sub>300V</sub> ( $2,60 \times 10^{-5} \text{ mm}^3/\text{s}$ ) em relação às outras duas amostras, TiMA-PEO<sub>200V</sub> ( $1,99 \times 10^{-6} \text{ mm}^3/\text{s}$ ) e TiMA-PEO<sub>250V</sub> ( $2,19 \times 10^{-6} \text{ mm}^3/\text{s}$ ). Esses resultados indicam que a densidade dos revestimentos, o tamanho dos poros (Tabela 9) e a morfologia (Fig. 24) desempenham um papel fundamental na resistência ao desgaste. Uma vez que os dois revestimentos mais densos (TiMA-PEO<sub>200V</sub> e TiMA-PEO<sub>250V</sub>) apresentaram menores taxas de desgaste em relação a amostra TiMA-PEO<sub>300V</sub>, que por sua vez possui uma estrutura mista “*hollow-sponge*”, como mencionado anteriormente, com poros maiores devido à maior tensão aplicada que induz a formação de descargas mais intensas durante a formação de revestimentos. Enquanto as amostras TiMA-PEO<sub>200V</sub> e TiMA-PEO<sub>250V</sub> tiveram uma distribuição uniforme de energia nas primeiras fases da formação dos revestimentos, resultando em microdescargas menos intensas e menores, acarretando em uma menor quantidade de defeitos.

**Tabela 10.** Tempo de ruptura e a taxa de desgaste avaliados após o teste de desgaste abrasivo na configuração ball-on-plate.

Amostra	Tempo (s)	Taxa de desgaste ( $\mu\text{m}/\text{s}$ )
Ti6Al4V-MA	3.600	$9,79 \times 10^{-5}$
TiMA-PEO <sub>200V</sub>	14.400	$1,99 \times 10^{-6}$
TiMA-PEO <sub>250V</sub>	14.400	$2,19 \times 10^{-6}$
TiMA-PEO <sub>300V</sub>	14.400	$2,60 \times 10^{-5}$

Em comparação com os revestimentos obtidos por PEO em Ti-6Al-4V fabricado por manufatura convencional, apresentado no item 5.5 da presente dissertação e publicado em artigo [198], os valores de COF apresentados para os revestimentos

formados no substrato produzido em DMLS possuem valores maiores. No entanto, os revestimentos produzidos sobre o substrato fabricado por MA não romperam durante o teste de desgaste abrasivo da mesma forma que todos os revestimentos produzidos na liga comercial Ti-6Al-4V. Esta melhoria na resistência ao desgaste pode ser correlacionada à maior espessura e menor presença de defeitos dos revestimentos obtidos no substrato produzido por DMLS. Conforme a hipótese de Wu et al. [14], o pequeno tamanho dos poros dos revestimentos obtidos sobre substrato produzido por MA, indicou a formação de finas descargas que contribuem para o aumento do tempo de oxidação, espessamento e redução das formações de microtrincas na morfologia dos revestimentos.

Mesmo com a maior espessura de camada entre as amostras estudadas, a amostra TiMA-PEO<sub>300V</sub> ( $23,83 \pm 1,5 \mu\text{m}$ ) apresentou inferior resistência ao desgaste devido à sua frágil camada externa que, ao sofrer desgaste abrasivo, desenvolveu trincas que levaram a delaminação localizada. Nem mesmo a possível presença de maiores quantidades de rutilo foi capaz de conferir-lhe melhores propriedades tribológicas em comparação com as outras duas amostras revestidas [211]. Em relação às amostras TiMA-PEO<sub>200V</sub> e TiMA-PEO<sub>250V</sub>, foi possível dizer que ambas apresentam resistência ao desgaste muito semelhantes e superiores a apresentada pelas amostras TiMA-PEO<sub>300V</sub>, embora apresentassem menor espessura de camada,  $2,05 \pm 0,13 \mu\text{m}$  e  $4,5 \pm 0,33 \mu\text{m}$ , respectivamente. Sendo assim, esse resultado pode ser consequência da formação de uma camada mais compacta, com poros de diâmetro menor e respectivamente em maior quantidade e pela relação entre as fases rutilo/anatase.

### **5.2.1. Conclusões Parciais**

Os revestimentos obtidos por PEO sobre o substrato de Ti-6Al-4V, produzido por DMLS demonstraram uma típica estrutura porosa. O aumento da tensão aplicada levou ao aumento da rugosidade, espessura, área dos poros e diminuição da população de poros, nos revestimentos. As três amostras apresentaram adesão dos revestimentos ao substrato metálico, com espessuras de camada influenciadas pelos parâmetros elétricos. As amostras TiMA-PEO<sub>200V</sub> ( $2,05 \pm 0,13 \mu\text{m}$ ) e TiMA-PEO<sub>250V</sub> ( $4,5 \pm 0,33 \mu\text{m}$ ) apresentaram revestimentos mais densos e finos (ainda que sejam observados espaços vazios na camada porosa-estrutura oca), comparativamente ao revestimento da amostra TiMA-PEO<sub>300V</sub> ( $23,83 \pm 1,5 \mu\text{m}$ ), o qual apresentou revestimentos mais espessos, com uma estrutura esponjosa misturada a estrutura oca.

Os revestimentos foram constituídos majoritariamente por TiO<sub>2</sub> em duas de suas fases: anatase e rutilo. Além disso, observou-se a presença dos elementos bioativos Ca- e P- foram incorporados a composição química do revestimento.

Todos os revestimentos demonstraram uma resposta hidrofílica em relação aos ensaios de molhabilidade. Apenas a amostra TiMA-PEO<sub>200V</sub> apresentou valores superiores de ângulo de contato (de 33° a 43°) comparativamente com o substrato metálico (de 23° a 28°).

As amostras revestidas apresentaram valores de COF superiores ao apresentado pelo substrato metálico, 0,7-1 e 0,5-0,7, respectivamente. Não foi constatado o rompimento total de nenhum dos revestimentos estudados. Os mecanismos de desgaste adesivo e abrasivo com formação de terceiro corpo, foram identificados como os responsáveis pelo desgaste das amostras.

Os revestimentos mais finos tiveram menores taxas de desgaste, TiMA-PEO<sub>200V</sub> ( $1,99 \times 10^{-6} \mu\text{m}^3/\text{s}$ ) e TiMA-PEO<sub>250V</sub> ( $2,19 \times 10^{-6} \mu\text{m}^3/\text{s}$ ), em relação a amostra mais espessa TiMA-PEO<sub>300V</sub> ( $2,60 \times 10^{-5} \mu\text{m}^3/\text{s}$ ). Aliados aos resultados de taxa de desgaste, a delaminação parcial da amostra TiMA-PEO<sub>300V</sub> que acarretou num rompimento parcial do revestimento, demonstrou que os revestimentos das amostras TiMA-PEO<sub>200V</sub> e TiMA-PEO<sub>250V</sub> apresentaram comparativamente uma melhor resistência ao desgaste, corroborando com a morfologia observada. Sendo assim, esse resultado vem da formação de uma camada mais compacta e com poros menores em maiores quantidades.

## 6. CONCLUSÕES

Com relação aos estudos sobre a *obtenção de revestimentos pelo do processo PEO em amostras de Ti-6Al-4V produzidas através de metalurgia convencional (laminado) e Resistência ao desgaste de revestimentos obtidos por PEO na liga Ti-6Al-4V ELI produzidas por manufatura aditiva* se conclui que a tensão aplicada influencia diretamente nas propriedades morfológicas dos revestimentos. A espessura de camada, a rugosidade, os tamanhos dos poros aumentam proporcionalmente com o aumento da tensão aplicada. Todos os revestimentos analisados, em ambos estudos, foram compostos por TiO<sub>2</sub>, nas fases rutilo e anatase. Além disso, observou-se a incorporação de Ca e P em todos os revestimentos, com aumento de suas concentrações em função do aumento da tensão aplicada.

Foi verificado um aumento na espessura dos revestimentos obtidos sobre o substrato por DMLS, em relação aos revestimentos obtidos sobre o substrato convencional. Esse aumento foi propiciado pela microestrutura martensítica dos substratos MA, que possuem granulometria mais refinada, maior quantidade de contornos de grão e fases metaestáveis, quando comparados a microestrutura da liga Ti-6Al-4V comercial.

Em relação aos resultados de ângulo de contato, os revestimentos obtidos sobre o substrato convencional apresentaram valores ótimos (de 60° a 80°) para adesão celular e posterior diferenciação celular. Enquanto que as amostras obtidas sobre o substrato, produzido por MA apresentaram uma resposta hidrofílica (de 22° a 44°).

Quanto ao comportamento tribológico, para todos os revestimentos os mecanismos de desgaste adesivo e abrasivo foram identificados, no entanto, os revestimentos obtidos sobre o substrato convencional apresentaram valores de COF inferiores aos apresentados pelos revestimentos formados sobre o substrato Ti-6Al-4V-MA. No estudo *obtenção de revestimentos através do processo PEO em amostras de Ti-6Al-4V produzidas através de metalurgia convencional (laminado)*, o revestimento Ti-PEO<sub>300V</sub> apresentou maior taxa de desgaste ( $4,5 \times 10^{-4}$  µm/s) do que o revestimento Ti-PEO<sub>200V</sub> ( $2,4 \times 10^{-4}$  µm/s). Somado a isso, a presença de trincas na morfologia da amostra Ti-PEO<sub>300V</sub> levaram a sua fragilização e posterior rompimento. Já a amostra Ti-PEO<sub>200V</sub> foi selecionada para os testes biológicos, já que demonstrou melhor comportamento tribológico do que a amostra Ti-PEO<sub>300V</sub>, mesmo que ambas tenham apresentando rompimento após 10.500 segundos de ensaio. Já para o estudo *Resistência ao desgaste de*

revestimentos obtidos por PEO na liga Ti-6Al-4V ELI produzidas por manufatura aditiva, os revestimentos não apresentaram rompimento de suas camadas. As amostras mais finas e densas (TiMA-PEO<sub>200V</sub> e TiMA-PEO<sub>250V</sub>) apresentaram resistência ao desgaste superior a amostra mais densa e quebradiça (TiMA-PEO<sub>300V</sub>), tendo valores menores de taxa de desgaste  $1,99 \times 10^{-6}$  mm/s e  $2,19 \times 10^{-6}$  mm/s, respectivamente. Provavelmente a resposta superior ao desgaste dos revestimentos formados sobre o Ti6Al4V-MA, deve-se a sua maior espessura de camada e a microestrutura do substrato que promoveram uma formação de canais de descarga mais finos e microdescargas mais controladas, que, por sua vez, produziram revestimentos mais densos e compactos.

As propriedades biológicas dos revestimentos foram investigadas no estudo *obtenção de revestimentos através do processo PEO em amostras de Ti-6Al-4V produzidas através de metalurgia convencional (laminado)*. O comportamento de citocompatibilidade e capacidade de proliferação de CTMs na amostra Ti-PEO<sub>200V</sub>, no meio indutor, foram maiores do que os apresentados pelo Ti-6Al-4V convencional. Além disso, os revestimentos demonstraram capacidade superior de diferenciação osteogênica pelo uso do marcador FA em relação ao substrato metálico Ti-6Al-4V convencional, denotando seu potencial de aplicação para regeneração óssea. Provavelmente devido a melhor adesão celular inicial propiciada pela topografia e ângulos de contato ótimos dos revestimentos Ti-PEO<sub>200V</sub>.

Dessa forma, conclui-se que os revestimentos obtidos pela técnica PEO possuem as características necessárias para serem aplicados como biomateriais, sendo citocompatíveis e capazes de diferenciar CTMs em células osteogênicas. Além de apresentarem elevada resistência ao desgaste e propriedades morfológicas promoveram a proliferação celular. No entanto, estudos biológicos ainda precisam ser realizados sobre os revestimentos obtidos sobre o substrato MA. Estes revestimentos apresentaram superior resistência ao desgaste, em relação aos obtidos sobre manufatura convencional, mantendo as propriedades morfológicas e físico-químicas que conferiram ótima resposta biológica no estudo *obtenção de revestimentos através do processo PEO em amostras de Ti-6Al-4V produzidas através de metalurgia convencional (laminado)*.

## **7. TRABALHOS FUTUROS**

Avaliação do efeito dos parâmetros elétricos sobre as propriedades de resistência à corrosão, dos revestimentos obtidos por PEO em manufatura aditiva.

Estudo de outros eletrólitos que contribuam para diferenciação osteogênica e condrogênica.

## **8. TRABALHOS PUBLICADOS**

Artigos publicados:

P.B. Santos, E.K. Baldin, D.A. Krieger, V.V. de Castro, C. Aguzzoli, J.C. Fonseca, M. Rodrigues, M.A. Lopes, C. de F. Malfatti, Wear performance and osteogenic differentiation behavior of plasma electrolytic oxidation coatings on Ti-6Al-4V alloys: Potential application for bone tissue repairs, Surface and Coatings Technology. 417 (2021) 127179. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2021.127179>.

P.B. Santos, E.K. Baldin, D.A. Krieger, V.V. de Castro, C. Aguzzoli, C. de F. Malfatti, Revestimentos Cerâmicos Produzidos por Anodização Assistida por Plasma (PEO) em Ti-6Al-4V, Seminário de Inovação e Tecnologia do IFSul, 8, 2019, Sapucaia do Sul. Anais, 437-446.

E.K. Baldin, P.B. Santos, V.V. de Castro, C. Aguzzoli, N. Maurmann, J. Girón, P. Pranke, C. de F. Malfatti. Plasma Electrolytic Oxidation (PEO) coated CP-Ti: wear performance on reciprocating mode and chondrogenic - osteogenic differentiation, Journal of Bio- and Tribo-Corrosion. <https://doi.org/10.1007/s40735-021-00627-z>.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICOS

- [1] A. Santos-Coquillat, E. Martínez-Campos, M. Mohedano, R. Martínez-Corriá, V. Ramos, R. Arrabal, E. Matykina, In vitro and in vivo evaluation of PEO-modified titanium for bone implant applications, *Surface and Coatings Technology*. 347 (2018) 358–368. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2018.04.051>.
- [2] F. Yu, O. Addison, A.J. Davenport, A synergistic effect of albumin and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accelerates corrosion of Ti6Al4V, *Acta Biomaterialia*. 26 (2015) 355–365. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.07.046>.
- [3] N. Somsanith, T.S.N.S. Narayanan, Y.-K. Kim, I.-S. Park, T.-S. Bae, M.-H. Lee, Surface medication of Ti–15Mo alloy by thermal oxidation: Evaluation of surface characteristics and corrosion resistance in Ringer’s solution, *Applied Surface Science*. 356 (2015) 1117–1126. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.08.181>.
- [4] B.K.C. Ganesh, N. Ramanaiah, P.V.C. Rao, Effect of Surface Treatment on Tribological Behavior of Ti-6Al-4V Implant Alloy, *Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering*. 11 (2012) 735.
- [5] M. Long, H.J. Rack, Friction and surface behavior of selected titanium alloys during reciprocating-sliding motion, *Wear*. 249 (2001) 157–167. [https://doi.org/10.1016/S0043-1648\(01\)00517-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1648(01)00517-8).
- [6] S.A. Adeleke, S. Ramesh, A.R. Bushroa, Y.C. Ching, I. Sopyan, M.A. Maleque, S. Krishnasamy, H. Chandran, H. Misran, U. Sutharsini, The properties of hydroxyapatite ceramic coatings produced by plasma electrolytic oxidation, *Ceramics International*. 44 (2018) 1802–1811. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.10.114>.
- [7] Y. Zhang, P. Xiu, Z. Jia, T. Zhang, C. Yin, Y. Cheng, H. Cai, K. Zhang, C. Song, H. Leng, W. Yuan, Z. Liu, Effect of vanadium released from micro-arc oxidized porous Ti6Al4V on biocompatibility in orthopedic applications, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 169 (2018) 366–374. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.05.044>.
- [8] L. Ciocca, M. Fantini, F. De Crescenzo, G. Corinaldesi, R. Scotti, Direct metal laser sintering (DMLS) of a customized titanium mesh for prosthetically guided bone regeneration of atrophic maxillary arches, *Med Biol Eng Comput*. 49 (2011) 1347–1352. <https://doi.org/10.1007/s11517-011-0813-4>.
- [9] M.-G. Park, H.-C. Choe, Corrosion behaviors of bioactive element coatings on PEO-treated Ti-6Al-4V alloys, *Surface and Coatings Technology*. 376 (2019) 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2018.07.093>.
- [10] D. Zhai, K. Feng, Preparation of micro/nano-structured ceramic coatings on Ti6Al4V alloy by plasma electrolytic oxidation process, *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*. 29 (2019) 2546–2555. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(19\)65162-9](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(19)65162-9).
- [11] A. Santos-Coquillat, M. Mohedano, E. Martinez-Campos, R. Arrabal, A. Pardo, E. Matykina, Bioactive multi-elemental PEO-coatings on titanium for dental implant applications, *Materials Science and Engineering: C*. 97 (2019) 738–752. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.097>.
- [12] S.A. Alves, R. Bayón, V.S. de Viteri, M.P. Garcia, A. Igartua, M.H. Fernandes, L.A. Rocha, Tribocorrosion Behavior of Calcium- and Phosphorous-Enriched Titanium Oxide Films and Study of Osteoblast Interactions for Dental Implants, *J Bio Tribo Corros*. 1 (2015) 23. <https://doi.org/10.1007/s40735-015-0023-y>.
- [13] M. Laveissière, H. Cerda, J. Roche, L. Cassayre, L. Arurault, In-depth study of the influence of electrolyte composition on coatings prepared by plasma electrolytic oxidation of TA6V alloy, *Surface and Coatings Technology*. 361 (2019) 50–62. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2018.12.122>.

- [14] G. Wu, Y. Wang, M. Sun, Q. Zhang, J. Yao, Influence of microstructure of TC4 substrate on the MAO coating, *Surface Engineering*. 36 (2020) 827–836. <https://doi.org/10.1080/02670844.2019.1693732>.
- [15] G.-W. Lin, J.-S. Chen, W. Tseng, F.-H. Lu, Formation of anatase TiO<sub>2</sub> coatings by plasma electrolytic oxidation for photocatalytic applications, *Surface and Coatings Technology*. 357 (2019) 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2018.10.010>.
- [16] E. Nikoomezari, A. Fattah-alhosseini, M.R. Pajohi Alamoti, M.K. Keshavarz, Effect of ZrO<sub>2</sub> nanoparticles addition to PEO coatings on Ti–6Al–4V substrate: Microstructural analysis, corrosion behavior and antibacterial effect of coatings in Hank’s physiological solution, *Ceramics International*. (2020) S0272884220304065. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.02.084>.
- [17] L. Sopchenski, K. Papat, P. Soares, Bactericidal activity and cytotoxicity of a zinc doped PEO titanium coating, *Thin Solid Films*. 660 (2018) 477–483. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2018.05.055>.
- [18] Jing He, Wei Feng, Bao-Hong Zhao, Wei Zhang, Zeng Lin, In Vivo Effect of Titanium Implants with Porous Zinc-Containing Coatings Prepared by Plasma Electrolytic Oxidation Method on Osseointegration in Rabbits., *International Journal of Oral*. 33 (2018) 298-298–310.
- [19] S. Durdu, Ö.F. Deniz, I. Kutbay, M. Usta, Characterization and formation of hydroxyapatite on Ti6Al4V coated by plasma electrolytic oxidation, *Journal of Alloys and Compounds*. 551 (2013) 422–429. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2012.11.024>.
- [20] E.V. Parfenov, L.V. Parfenova, G.S. Dyakonov, K.V. Danilko, V.R. Mukaeva, R.G. Farrakhov, E.S. Lukina, R.Z. Valiev, Surface functionalization via PEO coating and RGD peptide for nanostructured titanium implants and their in vitro assessment, *Surface and Coatings Technology*. 357 (2019) 669–683. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2018.10.068>.
- [21] M. Fazel, H.R. Salimijazi, M. Shamanian, M. Minneboo, K. Modaresifar, I.A.J. van Hengel, L.E. Fratila-Apachitei, I. Apachitei, A.A. Zadpoor, Osteogenic and antibacterial surfaces on additively manufactured porous Ti–6Al–4V implants: Combining silver nanoparticles with hydrothermally synthesized HA nanocrystals, *Materials Science and Engineering: C*. 120 (2021) 111745. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111745>.
- [22] S. Durdu, M. Usta, The tribological properties of bioceramic coatings produced on Ti6Al4V alloy by plasma electrolytic oxidation, *Ceramics International*. 40 (2014) 3627–3635. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2013.09.062>.
- [23] X. Yan, C. Chen, R. Bolot, W. Ma, C. Deng, J. Wang, Z. Ren, H. Liao, M. Liu, Improvement of tribological performance by micro-arc oxidation treatment on selective laser melting Ti6Al4V alloy, *Mater. Res. Express*. 6 (2019) 096509. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab2a47>.
- [24] S. Bose, A. Bandyopadhyay, Chapter 1 - Introduction to Biomaterials, in: A. Bandyopadhyay, S. Bose (Eds.), *Characterization of Biomaterials*, Academic Press, Oxford, 2013: pp. 1–9. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415800-9.00001-2>.
- [25] M. Omid, A. Fatehinya, M. Farahani, Z. Akbari, S. Shahmoradi, F. Yazdian, M. Tahriri, K. Moharamzadeh, L. Tayebi, D. Vashaei, Characterization of biomaterials, in: *Biomaterials for Oral and Dental Tissue Engineering*, 2017: pp. 97–115. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100961-1.00007-4>.
- [26] D. Williams, X. Zhang, eds., I - Introduction, in: *Definitions of Biomaterials for the Twenty-First Century*, Elsevier, 2019: pp. 1–14. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818291-8.00001-8>.
- [27] P. Tengvall, I. Lundström, Physico-chemical considerations of titanium as a biomaterial, *Clinical Materials*. 9 (1992) 115–134. [https://doi.org/10.1016/0267-6605\(92\)90056-Y](https://doi.org/10.1016/0267-6605(92)90056-Y).

- [28] L.G. Griffith, Emerging Design Principles in Biomaterials and Scaffolds for Tissue Engineering, *Annals of the New York Academy of Sciences*. 961 (2002) 83–95. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb03056.x>.
- [29] L.T. Kuhn, Chapter 5 - Biomaterials, in: J.D. Enderle, J.D. Bronzino (Eds.), *Introduction to Biomedical Engineering (Third Edition)*, Academic Press, Boston, 2012: pp. 219–271. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374979-6.00005-8>.
- [30] G. Lütjering, J.C. Williams, *Titanium*, 2nd ed., Springer Berlin Heidelberg, 2007. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-73036-1> (accessed March 26, 2020).
- [31] M.J. Donachie, *Titanium : a technical guide*, 2000. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat07377a&AN=sabi.000667455&site=eds-live> (accessed March 26, 2020).
- [32] G. Terlinde, T. Witulski, G. Fischer, Forging of Titanium, in: *Titanium and Titanium Alloys*, John Wiley & Sons, Ltd, 2005: pp. 289–304. <https://doi.org/10.1002/3527602119.ch11>.
- [33] *Titanium : Physical Metallurgy, Processing, and Applications*, (2015). <http://eds.a.ebscohost.com/eds/ebookviewer/ebook/bmxlymtfXzk1NzgzMF9fQU41?sid=81538626-c72f-4f25-9b22-f129c6675370@pdc-v-sessmgr03&vid=2&hid=/&format=EB> (accessed March 26, 2020).
- [34] L.M. Antonini, C. de F. Malfatti, P. Alegre, Avaliação do efeito de superfícies nanoestruturadas de Ti6Al4V na indução da osteogênese de células-tronco mesenquimais derivadas de medula óssea murina, (2016) 158.
- [35] D.M. Brunette, P. Tengvall, M. Textor, P. Thomsen, *Titanium in Medicine: Material Science, Surface Science, Engineering, Biological Responses and Medical Applications*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2001. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-56486-4>.
- [36] F.H. (Sam) Froes, Titanium for medical and dental applications—An introduction, in: *Titanium in Medical and Dental Applications*, Elsevier, 2018: pp. 3–21. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812456-7.00001-9>.
- [37] S.G. Steinemann, Titanium—the material of choice?, *Periodontol.* 2000. 17 (1998) 7–21. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1998.tb00119.x>.
- [38] T. Hanawa, Transition of surface modification of titanium for medical and dental use, in: *Titanium in Medical and Dental Applications*, Elsevier, 2018: pp. 95–113. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812456-7.00005-6>.
- [39] S. Singh, K.K. Pandey, A. Islam, A.K. Keshri, Corrosion behaviour of plasma sprayed graphene nanoplatelets reinforced hydroxyapatite composite coatings in simulated body fluid, *Ceramics International*. 46 (2020) 13539–13548. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.02.139>.
- [40] G. Singh, N. Sharma, D. Kumar, H. Hegab, Design, development and tribological characterization of Ti–6Al–4V/hydroxyapatite composite for bio-implant applications, *Materials Chemistry and Physics*. 243 (2020) 122662. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.122662>.
- [41] T. Hussain, Cold Spraying of Titanium: A Review of Bonding Mechanisms, Microstructure and Properties, *KEM*. 533 (2012) 53–90. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.533.53>.
- [42] M. Ohring, Chapter 6 - Chemical Vapor Deposition, in: M. Ohring (Ed.), *Materials Science of Thin Films (Second Edition)*, Academic Press, San Diego, 2002: pp. 277–355. <https://doi.org/10.1016/B978-012524975-1/50009-4>.
- [43] S. Bhattacharjee, H. Niakan, Q. Yang, Y. Hu, J. Dynes, Enhancement of adhesion and corrosion resistance of diamond-like carbon thin films on Ti–6Al–4V alloy by nitrogen doping and incorporation of nanodiamond particles, *Surface and Coatings Technology*. 284 (2015) 153–158. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2015.08.072>.

- [44] J. Zha, H. Roggendorf, Sol–gel science, the physics and chemistry of sol–gel processing, Ed. by C. J. Brinker and G. W. Scherer, Academic Press, Boston 1990, xiv, 908 pp., bound—ISBN 0-12-134970-5, *Advanced Materials*. 3 (1991) 522–522. <https://doi.org/10.1002/adma.19910031025>.
- [45] O. Çomaklı, M. Yazıcı, H. Kovacı, T. Yetim, A.F. Yetim, A. Çelik, Tribological and electrochemical properties of TiO<sub>2</sub> films produced on Cp-Ti by sol-gel and SILAR in bio-simulated environment, *Surface and Coatings Technology*. 352 (2018) 513–521. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2018.08.056>.
- [46] Y.T. Sul, C.B. Johansson, Y. Jeong, T. Albrektsson, The electrochemical oxide growth behaviour on titanium in acid and alkaline electrolytes, *Med Eng Phys*. 23 (2001) 329–346. [https://doi.org/10.1016/s1350-4533\(01\)00050-9](https://doi.org/10.1016/s1350-4533(01)00050-9).
- [47] A.I. Costa, L. Sousa, A.C. Alves, F. Toptan, Tribocorrosion behaviour of bio-functionalized porous Ti surfaces obtained by two-step anodic treatment, *Corrosion Science*. (2020) 108467. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2020.108467>.
- [48] M.L. Vera, J. Schuster, M.R. Rosenberger, H. Bernard, C.E. Schvezov, A.E. Ares, Evaluation of the Haemocompatibility of TiO<sub>2</sub> Coatings Obtained by Anodic Oxidation of Ti-6Al-4V, *Procedia Materials Science*. 8 (2015) 366–374. <https://doi.org/10.1016/j.mspro.2015.04.086>.
- [49] J. Han, Y. Cheng, W. Tu, T.-Y. Zhan, Y. Cheng, The black and white coatings on Ti-6Al-4V alloy or pure titanium by plasma electrolytic oxidation in concentrated silicate electrolyte, *Applied Surface Science*. 428 (2018) 684–697. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.09.109>.
- [50] F42 Committee, Terminology for Additive Manufacturing Technologies, ASTM International, n.d. <https://doi.org/10.1520/F2792-12A>.
- [51] T.D. Ngo, A. Kashani, G. Imbalzano, K.T.Q. Nguyen, D. Hui, Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges, *Composites Part B: Engineering*. 143 (2018) 172–196. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.02.012>.
- [52] N. Guo, M.C. Leu, Additive manufacturing: technology, applications and research needs, *Front. Mech. Eng*. 8 (2013) 215–243. <https://doi.org/10.1007/s11465-013-0248-8>.
- [53] N. Volpato, C. Ahrens, A. Munhoz, C. Costa, J. De Carvalho, J. dos Santos, J. Silva, J. Foggiatto, M.S. Fernandes de Lima, *Manufatura Aditiva - Tecnologias e aplicações da impressão 3D*, 2017.
- [54] G.A. Longhitano, M.A. Larosa, A.L.J. Munhoz, C.A. de C. Zavaglia, M.C.F. Ierardi, G.A. Longhitano, M.A. Larosa, A.L.J. Munhoz, C.A. de C. Zavaglia, M.C.F. Ierardi, Surface Finishes for Ti-6Al-4V Alloy Produced by Direct Metal Laser Sintering, *Materials Research*. 18 (2015) 838–842. <https://doi.org/10.1590/1516-1439.014415>.
- [55] M.W. Khaing, J.Y.H. Fuh, L. Lu, Direct metal laser sintering for rapid tooling: processing and characterisation of EOS parts, *Journal of Materials Processing Technology*. 113 (2001) 269–272. [https://doi.org/10.1016/S0924-0136\(01\)00584-2](https://doi.org/10.1016/S0924-0136(01)00584-2).
- [56] A.R.R. Bineli, A.P.G. Peres, A.L. Jardini, R.M. Filho, DIRECT METAL LASER SINTERING (DMLS): TECHNOLOGY FOR DESIGN AND CONSTRUCTION OF MICROREACTORS, (n.d.) 7.
- [57] E. Atzeni, A. Salmi, Study on unsupported overhangs of AlSi10Mg parts processed by Direct Metal Laser Sintering (DMLS), *Journal of Manufacturing Processes*. 20 (2015) 500–506. <https://doi.org/10.1016/j.jmapro.2015.04.004>.
- [58] L.E. Murr, S.M. Gaytan, D.A. Ramirez, E. Martinez, J. Hernandez, K.N. Amato, P.W. Shindo, F.R. Medina, R.B. Wicker, Metal Fabrication by Additive Manufacturing Using Laser and Electron Beam Melting Technologies, *Journal of Materials Science & Technology*. 28 (2012) 1–14. [https://doi.org/10.1016/S1005-0302\(12\)60016-4](https://doi.org/10.1016/S1005-0302(12)60016-4).
- [59] L. Thijs, F. Verhaeghe, T. Craeghs, J.V. Humbeeck, J.-P. Kruth, A study of the microstructural evolution during selective laser melting of Ti-6Al-4V, *Acta Materialia*. 58 (2010) 3303–3312. <https://doi.org/10.1016/j.actamat.2010.02.004>.

- [60] A.L. Jardini, M.A. Larosa, R.M. Filho, C.A. de C. Zavaglia, L.F. Bernardes, C.S. Lambert, D.R. Calderoni, P. Kharmandayan, Cranial reconstruction: 3D biomodel and custom-built implant created using additive manufacturing, *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 42 (2014) 1877–1884. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2014.07.006>.
- [61] A.L. Jardini, M.A. Larosa, C.A. de C. Zavaglia, L.F. Bernardes, C.S. Lambert, P. Kharmandayan, D. Calderoni, R.M. Filho, Customised titanium implant fabricated in additive manufacturing for craniomaxillofacial surgery, *Virtual and Physical Prototyping*. 9 (2014) 115–125. <https://doi.org/10.1080/17452759.2014.900857>.
- [62] Bertuccioli, Garzoni, Martini, Morri, Rondelli, Plasma Electrolytic Oxidation (PEO) Layers from Silicate/Phosphate Baths on Ti-6Al-4V for Biomedical Components: Influence of Deposition Conditions and Surface Finishing on Dry Sliding Behaviour, *Coatings*. 9 (2019) 614. <https://doi.org/10.3390/coatings9100614>.
- [63] L. Young, *Anodic oxide films*, Academic Press, London; New York (N.Y.), 1961.
- [64] R.O. Hussein, X. Nie, D.O. Northwood, A. Yerokhin, A. Matthews, Spectroscopic study of electrolytic plasma and discharging behaviour during the plasma electrolytic oxidation (PEO) process, *J. Phys. D: Appl. Phys.* 43 (2010) 105203. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/43/10/105203>.
- [65] R.O. Hussein, X. Nie, D.O. Northwood, An investigation of ceramic coating growth mechanisms in plasma electrolytic oxidation (PEO) processing, *Electrochimica Acta*. 112 (2013) 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.08.137>.
- [66] B.L. Jiang, Y.M. Wang, 5 - Plasma electrolytic oxidation treatment of aluminium and titanium alloys, in: H. Dong (Ed.), *Surface Engineering of Light Alloys*, Woodhead Publishing, 2010: pp. 110–154. <https://doi.org/10.1533/9781845699451.2.110>.
- [67] Sankara Narayanan, J. Kim, H. Wook Park, High performance corrosion and wear resistant Ti-6Al-4V alloy by the hybrid treatment method, *Applied Surface Science*. (2019) 144388. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.144388>.
- [68] G. Sundararajan, L. Rama Krishna, Mechanisms underlying the formation of thick alumina coatings through the MAO coating technology, *Surface and Coatings Technology*. 167 (2003) 269–277. [https://doi.org/10.1016/S0257-8972\(02\)00918-0](https://doi.org/10.1016/S0257-8972(02)00918-0).
- [69] E.I. Meletis, X. Nie, F.L. Wang, J.C. Jiang, Electrolytic plasma processing for cleaning and metal-coating of steel surfaces, *Surface and Coatings Technology*. 150 (2002) 246–256. [https://doi.org/10.1016/S0257-8972\(01\)01521-3](https://doi.org/10.1016/S0257-8972(01)01521-3).
- [70] G. Mortazavi, J. Jiang, E.I. Meletis, Investigation of the plasma electrolytic oxidation mechanism of titanium, *Applied Surface Science*. 488 (2019) 370–382. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.05.250>.
- [71] J. Martin, A. Nominé, V. Ntomprougkidis, S. Migot, S. Bruyère, F. Soldera, T. Belmonte, G. Henrion, Formation of a metastable nanostructured mullite during Plasma Electrolytic Oxidation of aluminium in “soft” regime condition, *Materials & Design*. 180 (2019) 107977. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.107977>.
- [72] A.L. Yerokhin, X. Nie, A. Leyland, A. Matthews, S.J. Dowey, Plasma electrolysis for surface engineering, *Surface and Coatings Technology*. 122 (1999) 73–93. [https://doi.org/10.1016/S0257-8972\(99\)00441-7](https://doi.org/10.1016/S0257-8972(99)00441-7).
- [73] N. Godja, N. Kiss, Ch. Löcker, A. Schindel, A. Gavrilovic, J. Wosik, R. Mann, J. Wendrinsky, A. Merstallinger, G.E. Nauer, Preparation and characterization of spark-anodized Al-alloys: Physical, chemical and tribological properties, *Tribology International*. 43 (2010) 1253–1261. <https://doi.org/10.1016/j.triboint.2010.01.007>.
- [74] J. Martin, P. Leone, A. Nominé, D. Veys-Renaux, G. Henrion, T. Belmonte, Influence of electrolyte ageing on the Plasma Electrolytic Oxidation of aluminium, *Surface and Coatings Technology*. 269 (2015) 36–46. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2014.11.001>.
- [75] Y.M. Wang, B.L. Jiang, T.Q. Lei, L.X. Guo, Microarc oxidation coatings formed on Ti6Al4V in Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> system solution: Microstructure, mechanical and tribological properties,

- Surface and Coatings Technology. 201 (2006) 82–89.  
<https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2005.10.044>.
- [76] Y.M. Wang, B.L. Jiang, T.Q. Lei, L.X. Guo, Microarc oxidation and spraying graphite duplex coating formed on titanium alloy for antifriction purpose, *Applied Surface Science*. 246 (2005) 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2004.11.010>.
- [77] Y. Wang, T. Lei, B. Jiang, L. Guo, Growth, microstructure and mechanical properties of microarc oxidation coatings on titanium alloy in phosphate-containing solution, *Applied Surface Science*. 233 (2004) 258–267. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2004.03.231>.
- [78] E. Ahounbar, S.M. Mousavi Khoei, H. Omidvar, Characteristics of in-situ synthesized Hydroxyapatite on TiO<sub>2</sub> ceramic via plasma electrolytic oxidation, *Ceramics International*. 45 (2019) 3118–3125. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.10.206>.
- [79] X. Li, B.L. Luan, Discovery of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> particles incorporation mechanism in plasma electrolytic oxidation of AM60B magnesium alloy, *Materials Letters*. 86 (2012) 88–91. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2012.07.032>.
- [80] Y. Wang, D. Wei, J. Yu, S. Di, Effects of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nano-additive on Performance of Micro-arc Oxidation Coatings Formed on AZ91D Mg Alloy, *Journal of Materials Science & Technology*. 30 (2014) 984–990. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2014.03.006>.
- [81] J. Martin, A. Melhem, I. Shchedrina, T. Duchanoy, A. Nominé, G. Henrion, T. Czerwicz, T. Belmonte, Effects of electrical parameters on plasma electrolytic oxidation of aluminium, *Surface and Coatings Technology*. 221 (2013) 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2013.01.029>.
- [82] Z. Yao, Q. Xia, Q. Shen, P. Ju, P. Su, B. Hu, Z. Jiang, A facile preparation of ceramic coatings on Ti alloys for thermal protection systems, *Solar Energy Materials and Solar Cells*. 143 (2015) 236–241. <https://doi.org/10.1016/j.solmat.2015.07.009>.
- [83] Q. Xia, J. Wang, G. Liu, H. Wei, D. Li, Z. Yao, Z. Jiang, Effects of electric parameters on structure and thermal control property of PEO ceramic coatings on Ti alloys, *Surface and Coatings Technology*. 307 (2016) 1284–1290. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2016.07.073>.
- [84] F. Jaspard-Mécuson, T. Czerwicz, G. Henrion, T. Belmonte, L. Dujardin, A. Viola, J. Beauvir, Tailored aluminium oxide layers by bipolar current adjustment in the Plasma Electrolytic Oxidation (PEO) process, *Surface and Coatings Technology*. 201 (2007) 8677–8682. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2006.09.005>.
- [85] J. Martin, A. Nominé, F. Brochard, J.-L. Briçon, C. Noël, T. Belmonte, T. Czerwicz, G. Henrion, Delay in micro-discharges appearance during PEO of Al: Evidence of a mechanism of charge accumulation at the electrolyte/oxide interface, *Applied Surface Science*. 410 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.03.088>.
- [86] A. Rogov, The role of cathodic current in plasma electrolytic oxidation of aluminium: Current density “scanning waves” on complex-shape substrates, *Journal of Physics D Applied Physics*. 51 (2018) 405303. <https://doi.org/10.1088/1361-6463/aad979>.
- [87] J.-H. Wang, M.-H. Du, F.-Z. Han, J. Yang, Effects of the ratio of anodic and cathodic currents on the characteristics of micro-arc oxidation ceramic coatings on Al alloys, *Applied Surface Science*. 292 (2014) 658–664. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.12.028>.
- [88] D. Wei, Y. Zhou, D. Jia, Y. Wang, Characteristic and in vitro bioactivity of a microarc-oxidized TiO<sub>2</sub>-based coating after chemical treatment, *Acta Biomaterialia*. 3 (2007) 817–827. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2007.03.001>.
- [89] Y. Zuo, T. Li, X. Jiang, M. Wu, Y. Zhang, F. Chen, Tribocorrosion behavior of Ca–P MAO coatings on Ti6Al4V alloy at various applied voltages, *J. Mater. Res.* (2019) 1–10. <https://doi.org/10.1557/jmr.2019.344>.
- [90] Y. Zou, Y. Wang, Z. Sun, Y. Cui, T. Jin, D. Wei, J. Ouyang, D. Jia, Y. Zhou, Plasma electrolytic oxidation induced ‘local over-growth’ characteristic across substrate/coating interface: Effects and tailoring strategy of individual pulse energy,

- Surface and Coatings Technology. 342 (2018) 198–208.  
<https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2018.02.091>.
- [91] M. Fazel, H.R. Salimijazi, M.A. Golozar, M.R. Garsivaz jazi, A comparison of corrosion, tribocorrosion and electrochemical impedance properties of pure Ti and Ti6Al4V alloy treated by micro-arc oxidation process, *Applied Surface Science*. 324 (2015) 751–756.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.11.030>.
- [92] Y. Cheng, X.-Q. Wu, Z. Xue, E. Matykina, P. Skeldon, G.E. Thompson, Microstructure, corrosion and wear performance of plasma electrolytic oxidation coatings formed on Ti–6Al–4V alloy in silicate-hexametaphosphate electrolyte, *Surface and Coatings Technology*. 217 (2013) 129–139. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2012.12.003>.
- [93] J.-M. Yu, H.-J. Kim, S.-G. Ahn, H.-C. Choe, Plasma electrolytic oxidation of Ti-6Al-4V alloy in electrolytes containing bone formation ions, *Applied Surface Science*. 513 (2020) 145776. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.145776>.
- [94] W. Yang, Y. Gao, P. Guo, D. Xu, L. Hu, A. Wang, Adhesion, biological corrosion resistance and biotribological properties of carbon films deposited on MAO coated Ti substrates, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 101 (2020) 103448.  
<https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.103448>.
- [95] X. Rao, C.L. Chu, Q. Sun, Synthesis of porous Ce-doped titania coating containing CaTiO<sub>3</sub> by MAO and its apatite inducing ability, *Surface and Coatings Technology*. 302 (2016) 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2016.05.077>.
- [96] J.-M. Yu, H.-C. Choe, Morphology changes and bone formation on PEO-treated Ti-6Al-4V alloy in electrolyte containing Ca, P, Sr, and Si ions, *Applied Surface Science*. 477 (2019) 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.11.223>.
- [97] R. Li, B. Ying, Y. Wei, H. Xing, Y. Qin, D. Li, Comparative evaluation of Sr-incorporated calcium phosphate and calcium silicate as bioactive osteogenesis coating orthopedics applications, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 600 (2020) 124834. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.124834>.
- [98] C.-J. Chung, R.-T. Su, H.-J. Chu, H.-T. Chen, H.-K. Tsou, J.-L. He, Plasma electrolytic oxidation of titanium and improvement in osseointegration, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 101B (2013) 1023–1030.  
<https://doi.org/10.1002/jbm.b.32912>.
- [99] A. Sethuramiah, R. Kumar, Tribology in Perspective, in: *Modeling of Chemical Wear*, Elsevier, 2016: pp. 1–23. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804533-6.00001-9>.
- [100] Standard Terminology Relating to Wear and Erosion, *Annual Book of ASTM Standards*. 03.02 (2017).  
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=&AN=edsatm.098784&site=eds-live> (accessed April 14, 2020).
- [101] Q.J. Wang, *Encyclopedia of Tribology*, 2013. <http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-92897-5> (accessed April 14, 2020).
- [102] S.-W. Zhang, ed., Chapter 3 - An Introduction to Wear, in: *Tribology and Interface Engineering Series*, Elsevier, 2004: pp. 33–38. [https://doi.org/10.1016/S0167-8922\(04\)80005-1](https://doi.org/10.1016/S0167-8922(04)80005-1).
- [103] J. Williams, *Engineering Tribology*, 1st ed., Cambridge University Press, 2005.  
<https://doi.org/10.1017/CBO9780511805905>.
- [104] Y. Yan, Tribology and tribocorrosion testing and analysis of metallic biomaterials, in: *Metals for Biomedical Devices*, Elsevier, 2019: pp. 213–234.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102666-3.00007-9>.
- [105] P. Sahoo, S.K. Das, J. Paulo Davim, 1 - Tribology of materials for biomedical applications, in: J.P. Davim (Ed.), *Mechanical Behaviour of Biomaterials*, Woodhead Publishing, 2019: pp. 1–45. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102174-3.00001-2>.
- [106] J.G. Lenard, Tribology, in: *Primer on Flat Rolling*, Elsevier, 2014: pp. 193–266.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-099418-5.00009-3>.

- [107] H. Garbacz, M. Motyka, Tribology, in: Nanocrystalline Titanium, Elsevier, 2019: pp. 193–208. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814599-9.00010-9>.
- [108] N. Gao, C.T. Wang, R.J.K. Wood, T.G. Langdon, Tribological properties of ultrafine-grained materials processed by severe plastic deformation, *J Mater Sci.* 47 (2012) 4779–4797. <https://doi.org/10.1007/s10853-011-6231-z>.
- [109] R.L. Norton, Projeto de máquinas, 2013. <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/books/9788582600238> (accessed April 14, 2020).
- [110] R.C. Juvinall, K.M. Marshek Co-autor, Fundamentos do projeto de componentes de máquinas, 2016. <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/books/9788521630715> (accessed April 15, 2020).
- [111] ASTM G40-17, (n.d.). [https://www.techstreet.com/standards/astm-g40-17?product\\_id=2001727](https://www.techstreet.com/standards/astm-g40-17?product_id=2001727) (accessed April 14, 2020).
- [112] G.W. Stachowiak, A.W. Batchelor, eds., Chapter 11 - Abrasive, Erosive and Cavitation Wear, in: *Engineering Tribology (Fourth Edition)*, Butterworth-Heinemann, Boston, 2014: pp. 525–576. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397047-3.00011-4>.
- [113] M.V. Swain, Microscopic observations of abrasive wear of polycrystalline alumina, *Wear.* 35 (1975) 185–189. [https://doi.org/10.1016/0043-1648\(75\)90152-0](https://doi.org/10.1016/0043-1648(75)90152-0).
- [114] S.K. Dean, E.D. Doyle, Significance of grit morphology in fine abrasion, *Wear.* 35 (1975) 123–129. [https://doi.org/10.1016/0043-1648\(75\)90147-7](https://doi.org/10.1016/0043-1648(75)90147-7).
- [115] H.M. Alojali, K.Y. Benyounis, Advances in Tool wear in Turning Process, in: *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*, Elsevier, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.04031-5>.
- [116] K. Kato, Classification of wear mechanisms/models, *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology.* 216 (2002) 349–355. <https://doi.org/10.1243/135065002762355280>.
- [117] C. Zhang, 14 - Understanding the wear and tribological properties of ceramic matrix composites, in: I.M. Low (Ed.), *Advances in Ceramic Matrix Composites*, Woodhead Publishing, 2014: pp. 312–339. <https://doi.org/10.1533/9780857098825.2.312>.
- [118] G. Aldrich-Smith, P.A. Dearnley, Corrosion-wear mechanisms of 316L Austenitic Stainless Steel with magnetron sputtered S-phase and CrN coatings., in: D. Dowson, M. Priest, C.M. Taylor, P. Ehret, T.H.C. Childs, G. Dalmaz, A.A. Lubrecht, Y. Berthier, L. Flamand, J.-M. Georges (Eds.), *Tribology Series*, Elsevier, 2000: pp. 173–180. [https://doi.org/10.1016/S0167-8922\(00\)80123-6](https://doi.org/10.1016/S0167-8922(00)80123-6).
- [119] K.P. Balan, Chapter Eleven - Wear, in: K.P. Balan (Ed.), *Metallurgical Failure Analysis*, Elsevier, 2018: pp. 203–233. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814336-0.00011-1>.
- [120] A. Karimi, F. Avellan, Comparison of erosion mechanisms in different types of cavitation, *Wear.* 113 (1986) 305–322. [https://doi.org/10.1016/0043-1648\(86\)90031-1](https://doi.org/10.1016/0043-1648(86)90031-1).
- [121] E. Rabinowicz, The least wear, *Wear.* 100 (1984) 533–541. [https://doi.org/10.1016/0043-1648\(84\)90031-0](https://doi.org/10.1016/0043-1648(84)90031-0).
- [122] A. Abdelbary, 7 - Methodology of testing in wear, in: A. Abdelbary (Ed.), *Wear of Polymers and Composites*, Woodhead Publishing, Oxford, 2014: pp. 159–183. <https://doi.org/10.1533/9781782421788.159>.
- [123] R.A. Gittens, R. Olivares-Navarrete, Z. Schwartz, B.D. Boyan, Implant osseointegration and the role of microroughness and nanostructures: Lessons for spine implants, *Acta Biomaterialia.* 10 (2014) 3363–3371. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.03.037>.
- [124] R. Kumari, C. Blawert, J.D. Majumdar, Microstructures and Properties of Plasma Electrolytic Oxidized Ti Alloy (Ti-6Al-4V) for Bio-implant Application, *Metal and Mat Trans A.* 47 (2016) 788–800. <https://doi.org/10.1007/s11661-015-3256-y>.
- [125] R.N. Wenzel, RESISTANCE OF SOLID SURFACES TO WETTING BY WATER, *Ind. Eng. Chem.* 28 (1936) 988–994. <https://doi.org/10.1021/ie50320a024>.

- [126] Nanotecnologia experimental, 2018.  
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=nlebk&AN=2125381&site=eds-live> (accessed April 24, 2020).
- [127] T.S. Chow, Wetting of rough surfaces, *J. Phys.: Condens. Matter.* 10 (1998) L445–L451.  
<https://doi.org/10.1088/0953-8984/10/27/001>.
- [128] G. Whyman, E. Bormashenko, T. Stein, The rigorous derivation of Young, Cassie–Baxter and Wenzel equations and the analysis of the contact angle hysteresis phenomenon, *Chemical Physics Letters.* 450 (2008) 355–359.  
<https://doi.org/10.1016/j.cplett.2007.11.033>.
- [129] A.B.D. Cassie, S. Baxter, Wettability of porous surfaces, *Trans. Faraday Soc.* 40 (1944) 546. <https://doi.org/10.1039/tf9444000546>.
- [130] K. Grundke, K. Pöschel, A. Synytska, R. Frenzel, A. Drechsler, M. Nitschke, A.L. Cordeiro, P. Uhlmann, P.B. Welzel, Experimental studies of contact angle hysteresis phenomena on polymer surfaces — Toward the understanding and control of wettability for different applications, *Advances in Colloid and Interface Science.* 222 (2015) 350–376.  
<https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.10.012>.
- [131] K.J. Kubiak, M.C.T. Wilson, T.G. Mathia, Ph. Carval, Wettability versus roughness of engineering surfaces, *Wear.* 271 (2011) 523–528.  
<https://doi.org/10.1016/j.wear.2010.03.029>.
- [132] A.G. Harvey, E.W. Hill, A. Bayat, Designing implant surface topography for improved biocompatibility, *Expert Review of Medical Devices.* 10 (2013) 257–267.  
<https://doi.org/10.1586/erd.12.82>.
- [133] D.A. Puleo, A. Nanci, Understanding and controlling the bone–implant interface, *Biomaterials.* 20 (1999) 2311–2321. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(99\)00160-X](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(99)00160-X).
- [134] F. Di Palma, A. Guignandon, A. Chamson, M.-H. Lafage-Proust, N. Laroche, S. Peyroche, L. Vico, A. Rattner, Modulation of the responses of human osteoblast-like cells to physiologic mechanical strains by biomaterial surfaces, *Biomaterials.* 26 (2005) 4249–4257. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.10.041>.
- [135] G.S. Kaliaraj, M. Bavanilathamuthiah, K. Kirubaharan, D. Ramachandran, T. Dharini, K. Viswanathan, V. Vishwakarma, Bio-inspired YSZ coated titanium by EB-PVD for biomedical applications, *Surface and Coatings Technology.* 307 (2016) 227–235.  
<https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2016.08.039>.
- [136] S. Ferraris, A. Venturello, M. Miola, A. Cochis, L. Rimondini, S. Spriano, Antibacterial and bioactive nanostructured titanium surfaces for bone integration, *Applied Surface Science.* 311 (2014) 279–291. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.05.056>.
- [137] M.R. Kaluđerović, J.P. Schreckenbach, H.-L. Graf, First titanium dental implants with white surfaces: Preparation and in vitro tests, *Dental Materials.* 30 (2014) 759–768.  
<https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.04.005>.
- [138] K. Anselme, M. Bigerelle, Topography effects of pure titanium substrates on human osteoblast long-term adhesion, *Acta Biomaterialia.* 1 (2005) 211–222.  
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2004.11.009>.
- [139] C.E. Tanase, M. Golozar, S.M. Best, R.A. Brooks, Cell response to plasma electrolytic oxidation surface-modified low-modulus  $\beta$ -type titanium alloys, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 176 (2019) 176–184. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.12.064>.
- [140] A. Wennerberg, T. Albrektsson, Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review, *Clin Oral Implants Res.* 20 Suppl 4 (2009) 172–184.  
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2009.01775.x>.
- [141] X. Zhao, L. Jin, H. Shi, W. Tong, D. Gorin, Y. Kotelevtsev, Z. Mao, Recent advances of designing dynamic surfaces to regulate cell adhesion, *Colloid and Interface Science Communications.* 35 (2020) 100249. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2020.100249>.
- [142] K. Anselme, Osteoblast adhesion on biomaterials, *Biomaterials.* 21 (2000) 667–681.  
[https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(99\)00242-2](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(99)00242-2).

- [143] Y. Tamada, Y. Ikada, Fibroblast growth on polymer surfaces and biosynthesis of collagen, *J Biomed Mater Res.* 28 (1994) 783–789. <https://doi.org/10.1002/jbm.820280705>.
- [144] I.K. Kang, Y. Ito, M. Sisido, Y. Imanishi, Attachment and growth of fibroblast cells on polypeptide derivatives, *J Biomed Mater Res.* 23 (1989) 223–239. <https://doi.org/10.1002/jbm.820230207>.
- [145] P.B. van Wachem, A.H. Hogt, T. Beugeling, J. Feijen, A. Bantjes, J.P. Detmers, W.G. van Aken, Adhesion of cultured human endothelial cells onto methacrylate polymers with varying surface wettability and charge, *Biomaterials.* 8 (1987) 323–328. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(87\)90001-9](https://doi.org/10.1016/0142-9612(87)90001-9).
- [146] D.S. Dunn, S. Raghavan, R.G. Volz, Gentamicin sulfate attachment and release from anodized Ti-6Al-4V orthopedic materials, *Journal of Biomedical Materials Research.* 27 (1993) 895–900. <https://doi.org/10.1002/jbm.820270708>.
- [147] J. Sun, Y. Han, K. Cui, Microstructure and apatite-forming ability of the MAO-treated porous titanium, *Surface and Coatings Technology.* 202 (2008) 4248–4256. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2008.03.020>.
- [148] Z. Zhang, J. Sun, H. Hu, Q. Wang, X. Liu, Osteoblast-like cell adhesion on porous silicon-incorporated TiO<sub>2</sub> coating prepared by micro-arc oxidation, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials.* 97B (2011) 224–234. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31804>.
- [149] H.J. Robinson, A.E. Markaki, C.A. Collier, T.W. Clyne, Cell adhesion to plasma electrolytic oxidation (PEO) titania coatings, assessed using a centrifuging technique, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials.* 4 (2011) 2103–2112. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.07.009>.
- [150] C.M. Murphy, M.G. Haugh, F.J. O'Brien, The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen–glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering, *Biomaterials.* 31 (2010) 461–466. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.09.063>.
- [151] P. Whiteside, E. Matykina, J.E. Gough, P. Skeldon, G.E. Thompson, In vitro evaluation of cell proliferation and collagen synthesis on titanium following plasma electrolytic oxidation, *Journal of Biomedical Materials Research Part A.* 94A (2010) 38–46. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.32664>.
- [152] A. Hudecki, G. Kiryczyński, M.J. Łos, Chapter 7 - Biomaterials, Definition, Overview, in: M.J. Łos, A. Hudecki, E. Wiecheć (Eds.), *Stem Cells and Biomaterials for Regenerative Medicine*, Academic Press, 2019: pp. 85–98. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812258-7.00007-1>.
- [153] P.-I. Branemark, Osseointegration and its experimental background, *The Journal of Prosthetic Dentistry.* 50 (1983) 399–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-3913\(83\)80101-2](https://doi.org/10.1016/S0022-3913(83)80101-2).
- [154] W. Jin, P.K. Chu, Orthopedic Implants, in: R. Narayan (Ed.), *Encyclopedia of Biomedical Engineering*, Elsevier, Oxford, 2019: pp. 425–439. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.10999-7>.
- [155] V.C. Mendes, J.E. Davies, Uma nova perspectiva sobre a biologia da osseointegração, *Revista da Associação Paulista de Cirurgios Dentistas.* 70 (2016) 166–171.
- [156] J.E. Davies, Mechanisms of endosseous integration, *Int J Prosthodont.* 11 (1998) 391–401.
- [157] M. Echeverry-Rendón, O. Galvis, D. Quintero Giraldo, J. Pavón, J.L. López-Lacomba, E. Jiménez-Piqué, M. Anglada, S.M. Robledo, J.G. Castaño, F. Echeverría, Osseointegration improvement by plasma electrolytic oxidation of modified titanium alloys surfaces, *J Mater Sci: Mater Med.* 26 (2015) 72. <https://doi.org/10.1007/s10856-015-5408-4>.
- [158] T. Reya, S.J. Morrison, M.F. Clarke, I.L. Weissman, Stem cells, cancer, and cancer stem cells, *Nature.* 414 (2001) 105–111. <https://doi.org/10.1038/35102167>.

- [159] L. Wei, Z.Z. Wei, M.Q. Jiang, O. Mohamad, S.P. Yu, Stem cell transplantation therapy for multifaceted therapeutic benefits after stroke, *Prog. Neurobiol.* 157 (2017) 49–78. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2017.03.003>.
- [160] F. Ghieh, R. Jurjus, A. Ibrahim, A.G. Geagea, H. Daouk, B. El Baba, S. Chams, M. Matar, W. Zein, A. Jurjus, The Use of Stem Cells in Burn Wound Healing: A Review, *Biomed Res Int.* 2015 (2015). <https://doi.org/10.1155/2015/684084>.
- [161] D.L. Kraft, E.R. Walck, A. Carrasco, M.D. Crocker, L. Song, M.G. Long, M.A. Mosse, B. Nadeem, G.T. Imanbayev, A.D. Czechowicz, M.J. McCullough, The MarrowMiner: A Novel Minimally Invasive and Effective Device for the Harvest of Bone Marrow, *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 26 (2020) 219–229. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.08.027>.
- [162] A.I. Caplan, Mesenchymal stem cells, *Journal of Orthopaedic Research.* 9 (1991) 641–650. <https://doi.org/10.1002/jor.1100090504>.
- [163] S. Yancheng, Z. Junhui, X. Hualiang, L. Zhujian, C. Hong, L. Wei, K. Ling, Mesenchymal stem cells in knee osteoarthritis treatment: A systematic review and meta-analysis, *Journal of Orthopaedic Translation.* (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jot.2020.03.015>.
- [164] A.H.K. El-Hashash, Chapter 11 - Mesenchymal stem cells in human health and diseases: general discussion, remarks, and future directions, in: A.H.K. El-Hashash (Ed.), *Mesenchymal Stem Cells in Human Health and Diseases*, Academic Press, 2020: pp. 179–199. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819713-4.00011-6>.
- [165] E. Kruminis-Kaszkiel, A. Osowski, E. Bejer-Oleńska, M. Dziekoński, J. Wojtkiewicz, Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells from Wharton's Jelly Towards Neural Stem Cells Using a Feasible and Repeatable Protocol, *Cells.* 9 (2020) 739. <https://doi.org/10.3390/cells9030739>.
- [166] G.B. de Souza, G.G. de Lima, N.K. Kuromoto, P. Soares, C.M. Lepienski, C.E. Foerster, A. Mikowski, Tribo-mechanical characterization of rough, porous and bioactive Ti anodic layers, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials.* 4 (2011) 796–806. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2010.09.012>.
- [167] J.M. Ríos, D. Quintero, J.G. Castaño, F. Echeverría, M.A. Gómez, Comparison among the lubricated and unlubricated tribological behavior of coatings obtained by PEO on the Ti6Al4V alloy in alkaline solutions, *Tribology International.* 128 (2018) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.triboint.2018.07.010>.
- [168] Y.M. Wang, D.C. Jia, L.X. Guo, T.Q. Lei, B.L. Jiang, Effect of discharge pulsating on microarc oxidation coatings formed on Ti6Al4V alloy, *Materials Chemistry and Physics.* 90 (2005) 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2004.10.025>.
- [169] X. Rao, C.L. Chu, Q. Sun, Y.Y. Zheng, Fabrication and apatite inducing ability of different porous titania structures by PEO treatment, *Materials Science and Engineering: C.* 66 (2016) 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.04.038>.
- [170] X.L. Zhang, Zh.H. Jiang, Zh.P. Yao, Zh.D. Wu, Electrochemical study of growth behaviour of plasma electrolytic oxidation coating on Ti6Al4V: Effects of the additive, *Corrosion Science.* 52 (2010) 3465–3473. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2010.06.017>.
- [171] C. Fei, Z. Hai, C. Chen, X. Yangjian, Study on the tribological performance of ceramic coatings on titanium alloy surfaces obtained through microarc oxidation, *Progress in Organic Coatings.* 64 (2009) 264–267. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2008.08.034>.
- [172] H. Ishizawa, M. Ogino, Formation and characterization of anodic titanium oxide films containing Ca and P, *Journal of Biomedical Materials Research.* 29 (1995) 65–72. <https://doi.org/10.1002/jbm.820290110>.
- [173] Ö. Bayrak, H.G. Asl, A. Ak, Protein adsorption, cell viability and corrosion properties of Ti6Al4V alloy oxidized by plasma and anodic oxidation, *Ijmmm.* 0 (n.d.) 0–0. <https://doi.org/10.1007/s12613-020-2020-5>.
- [174] S.B. Patel, A. Hamlekhan, D. Royhman, A. Butt, J. Yuan, T. Shokuhfar, C. Sukotjo, M.T. Mathew, G. Jursich, C.G. Takoudis, Enhancing surface characteristics of Ti-6Al-4V for

- bio-implants using integrated anodization and thermal oxidation, *J Mater Chem B*. 2 (2014) 3597–3608. <https://doi.org/10.1039/c3tb21731k>.
- [175] A. Braem, L. Van Mellaert, T. Mattheys, D. Hofmans, E. De Waelheyns, L. Geris, J. Anné, J. Schrooten, J. Vleugels, Staphylococcal biofilm growth on smooth and porous titanium coatings for biomedical applications, *J Biomed Mater Res A*. 102 (2014) 215–224. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34688>.
- [176] M. Fazel, H.R. Salimijazi, M. Shamanian, I. Apachitei, A.A. Zadpoor, Influence of hydrothermal treatment on the surface characteristics and electrochemical behavior of Ti-6Al-4V bio-functionalized through plasma electrolytic oxidation, *Surface and Coatings Technology*. 374 (2019) 222–231. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2019.05.088>.
- [177] J.I. Rosales-Leal, M.A. Rodríguez-Valverde, G. Mazzaglia, P.J. Ramón-Torregrosa, L. Díaz-Rodríguez, O. García-Martínez, M. Vallecillo-Capilla, C. Ruiz, M.A. Cabrerizo-Vílchez, Effect of roughness, wettability and morphology of engineered titanium surfaces on osteoblast-like cell adhesion, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 365 (2010) 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2009.12.017>.
- [178] N. Fauchoux, R. Schweiss, K. Lützow, C. Werner, T. Groth, Self-assembled monolayers with different terminating groups as model substrates for cell adhesion studies, *Biomaterials*. 25 (2004) 2721–2730. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.09.069>.
- [179] V.S. de Viteri, R. Bayón, A. Igartua, G. Barandika, J.E. Moreno, C.P.-J. Peremarch, M.M. Pérez, Structure, tribocorrosion and biocide characterization of Ca, P and I containing TiO<sub>2</sub> coatings developed by plasma electrolytic oxidation, *Applied Surface Science*. 367 (2016) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.01.145>.
- [180] ASM Material Data Sheet, (n.d.). <http://asm.matweb.com/search/SpecificMaterial.asp?bassnum=MTP641> (accessed December 19, 2020).
- [181] S. Aliasghari, P. Skeldon, G.E. Thompson, Plasma electrolytic oxidation of titanium in a phosphate/silicate electrolyte and tribological performance of the coatings, *Applied Surface Science*. 316 (2014) 463–476. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.08.037>.
- [182] A. Alsaran, Ç. Albayrak, Effect of single and duplex surface treatments on wear properties of CP-Ti, *Surface Engineering*. 27 (2011) 205–210. <https://doi.org/10.1179/026708410X12687356948391>.
- [183] S.A. Alves, R. Bayón, A. Igartua, V.S. de Viteri, L.A. Rocha, Tribocorrosion behaviour of anodic titanium oxide films produced by plasma electrolytic oxidation for dental implants, *Lubrication Science*. 26 (2014) 500–513. <https://doi.org/10.1002/lis.1234>.
- [184] A.F. Yetim, Investigation of wear behavior of titanium oxide films, produced by anodic oxidation, on commercially pure titanium in vacuum conditions, *Surface and Coatings Technology*. 205 (2010) 1757–1763. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2010.08.079>.
- [185] Z. Doni, A.C. Alves, F. Toptan, J.R. Gomes, A. Ramalho, M. Buciumeanu, L. Palaghian, F.S. Silva, Dry sliding and tribocorrosion behaviour of hot pressed CoCrMo biomedical alloy as compared with the cast CoCrMo and Ti6Al4V alloys, *Materials & Design (1980-2015)*. 52 (2013) 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2013.05.032>.
- [186] C. Martini, L. Ceschini, F. Tarterini, J.M. Paillard, J.A. Curran, PEO layers obtained from mixed aluminate–phosphate baths on Ti–6Al–4V: Dry sliding behaviour and influence of a PTFE topcoat, *Wear*. 269 (2010) 747–756. <https://doi.org/10.1016/j.wear.2010.07.011>.
- [187] T.M. Manhobosco, S.M. Tamborim, C.B. dos Santos, I.L. Müller, Tribological, electrochemical and tribo-electrochemical characterization of bare and nitrided Ti6Al4V in simulated body fluid solution, *Corrosion Science*. 53 (2011) 1786–1793. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2011.01.057>.

- [188] A.L. Yerokhin, X. Nie, A. Leyland, A. Matthews, Characterisation of oxide films produced by plasma electrolytic oxidation of a Ti–6Al–4V alloy, *Surface and Coatings Technology*. 130 (2000) 195–206. [https://doi.org/10.1016/S0257-8972\(00\)00719-2](https://doi.org/10.1016/S0257-8972(00)00719-2).
- [189] O. Zywitzki, T. Modes, H. Sahm, P. Frach, K. Goedicke, D. Glöß, Structure and properties of crystalline titanium oxide layers deposited by reactive pulse magnetron sputtering, *Surface and Coatings Technology*. 180–181 (2004) 538–543. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2003.10.115>.
- [190] T. Modes, B. Scheffel, Chr. Metzner, O. Zywitzki, E. Reinhold, Structure and properties of titanium oxide layers deposited by reactive plasma activated electron beam evaporation, *Surface and Coatings Technology*. 200 (2005) 306–309. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2005.02.080>.
- [191] S. Durdu, M. Usta, A.S. Berkem, Bioactive coatings on Ti6Al4V alloy formed by plasma electrolytic oxidation, *Surface and Coatings Technology*. 301 (2016) 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2015.07.053>.
- [192] V.A. Ponomarev, E.A. Orlov, N.A. Malikov, Y.V. Tarasov, A.N. Sheveyko, E.S. Permyakova, K.A. Kuptsov, I.A. Dyatlov, S.G. Ignatov, A.S. Ilnitskaya, N.A. Gloushankova, B. Subramanian, D.V. Shtansky, Ag(Pt) nanoparticles-decorated bioactive yet antibacterial Ca- and P-doped TiO<sub>2</sub> coatings produced by plasma electrolytic oxidation and ion implantation, *Applied Surface Science*. 516 (2020) 146068. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.146068>.
- [193] S. An, J. Ling, Y. Gao, Y. Xiao, Effects of varied ionic calcium and phosphate on the proliferation, osteogenic differentiation and mineralization of human periodontal ligament cells in vitro, *Journal of Periodontal Research*. 47 (2012) 374–382. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2011.01443.x>.
- [194] B. Alonso, R. Cruces, A. Pérez, C. Sánchez-Carrillo, M. Guembe, Comparison of the XTT and resazurin assays for quantification of the metabolic activity of *Staphylococcus aureus* biofilm, *Journal of Microbiological Methods*. 139 (2017) 135–137. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2017.06.004>.
- [195] K. Holkar, A. Vaidya, P. Pethe, V. Kale, G. Ingavle, Biomaterials and extracellular vesicles in cell-free therapy for bone repair and regeneration: Future line of treatment in regenerative medicine, *Materialia*. 12 (2020) 100736. <https://doi.org/10.1016/j.mtla.2020.100736>.
- [196] J. Wang, F. Ye, L. Cheng, Y. Shi, J. Bao, H. Sun, W. Wang, P. Zhang, H. Bu, Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells promoted by overexpression of connective tissue growth factor, *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 10 (2009) 355. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0820252>.
- [197] Y. Jiang, J. Wang, B. Hu, Z. Yao, Q. Xia, Z. Jiang, Preparation of a novel yellow ceramic coating on Ti alloys by plasma electrolytic oxidation, *Surface and Coatings Technology*. 307 (2016) 1297–1302. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2016.05.027>.
- [198] P.B. Santos, E.K. Baldin, D.A. Krieger, V.V. de Castro, C. Aguzzoli, J.C. Fonseca, M. Rodrigues, M.A. Lopes, C. de F. Malfatti, Wear performance and osteogenic differentiation behavior of plasma electrolytic oxidation coatings on Ti-6Al-4V alloys: Potential application for bone tissue repairs, *Surface and Coatings Technology*. 417 (2021) 127179. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2021.127179>.
- [199] Z.Q. Yao, Yu. Ivanisenko, T. Diemant, A. Caron, A. Chuvilin, J.Z. Jiang, R.Z. Valiev, M. Qi, H.-J. Fecht, Synthesis and properties of hydroxyapatite-containing porous titania coating on ultrafine-grained titanium by micro-arc oxidation, *Acta Biomaterialia*. 6 (2010) 2816–2825. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.12.053>.
- [200] M. Aliofkhaezai, D.D. Macdonald, E. Matykina, E.V. Parfenov, V.S. Egorkin, J.A. Curran, S.C. Troughton, S.L. Sinebryukhov, S.V. Gnedenkov, T. Lampke, F. Simchen, H.F. Nabavi, Review of plasma electrolytic oxidation of titanium substrates: Mechanism, properties,

- applications and limitations, *Applied Surface Science Advances*. 5 (2021) 100121. <https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2021.100121>.
- [201] G.A. Longhitano, M.A. Arenas, A. Conde, M.A. Larosa, A.L. Jardini, C.A. de C. Zavaglia, J.J. Damborenea, Heat treatments effects on functionalization and corrosion behavior of Ti-6Al-4V ELI alloy made by additive manufacturing, *Journal of Alloys and Compounds*. 765 (2018) 961–968. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.06.319>.
- [202] I.-J. Hwang, H.-C. Choe, Hydroxyapatite coatings containing Zn and Si on Ti-6Al-4V alloy by plasma electrolytic oxidation, *Applied Surface Science*. 432 (2018) 337–346. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.01.313>.
- [203] E. Matykina, R. Arrabal, P. Skeldon, G.E. Thompson, Transmission electron microscopy of coatings formed by plasma electrolytic oxidation of titanium, *Acta Biomaterialia*. 5 (2009) 1356–1366. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.10.007>.
- [204] S. Yu, Z. Yu, G. Wang, J. Han, X. Ma, M.S. Dargusch, Biocompatibility and osteoconduction of active porous calcium–phosphate films on a novel Ti–3Zr–2Sn–3Mo–25Nb biomedical alloy, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 85 (2011) 103–115. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.02.025>.
- [205] A. dos Santos, J.R. Araujo, S.M. Landi, A. Kuznetsov, J.M. Granjeiro, L.Á. de Sena, C.A. Achete, A study of the physical, chemical and biological properties of TiO<sub>2</sub> coatings produced by micro-arc oxidation in a Ca–P-based electrolyte, *J Mater Sci: Mater Med*. 25 (2014) 1769–1780. <https://doi.org/10.1007/s10856-014-5207-3>.
- [206] H.-T. Chen, C.-J. Chung, T.-C. Yang, C.-H. Tang, J.-L. He, Microscopic observations of osteoblast growth on micro-arc oxidized  $\beta$  titanium, *Applied Surface Science*. 266 (2013) 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2012.11.087>.
- [207] R.A. Gittens, L. Scheideler, F. Rupp, S.L. Hyzy, J. Geis-Gerstorfer, Z. Schwartz, B.D. Boyan, A Review on the Wettability of Dental Implant Surfaces II: Biological and Clinical Aspects, *Acta Biomater*. 10 (2014) 2907–2918. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.03.032>.
- [208] F. Bartolomeu, M. Sampaio, O. Carvalho, E. Pinto, N. Alves, J.R. Gomes, F.S. Silva, G. Miranda, Tribological behavior of Ti6Al4V cellular structures produced by Selective Laser Melting, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 69 (2017) 128–134. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.01.004>.
- [209] Y. Chen, T. Cheng, X. Nie, Wear failure behaviour of titanium-based oxide coatings on a titanium alloy under impact and sliding forces, *Journal of Alloys and Compounds*. 578 (2013) 336–344. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2013.05.199>.
- [210] G.A. Longhitano, M.A. Larosa, A.L. Jardini, C.A. de C. Zavaglia, M.C.F. Ierardi, Correlation between microstructures and mechanical properties under tensile and compression tests of heat-treated Ti-6Al-4V ELI alloy produced by additive manufacturing for biomedical applications, *Journal of Materials Processing Technology*. 252 (2018) 202–210. <https://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2017.09.022>.
- [211] X. Yang, W. Wang, W. Ma, Y. Wang, J. Yang, S. Liu, H. Tang, Corrosion and wear properties of micro-arc oxidation treated Ti6Al4V alloy prepared by selective electron beam melting, *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*. 30 (2020) 2132–2142. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(20\)65366-3](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(20)65366-3).
- [212] B.R. Lawn, O. Borrero-Lopez, H. Huang, Y. Zhang, Micromechanics of machining and wear in hard and brittle materials, *Journal of the American Ceramic Society*. 104 (2021) 5–22. <https://doi.org/10.1111/jace.17502>.