

Copyright 2010, ABRACO

Trabalho apresentado durante o INTERCORR 2010, em Fortaleza/CE no mês de maio de 2010.

As informações e opiniões contidas neste trabalho são de exclusiva responsabilidade do(s) autor(es).

## **Estudo do processo de osseointegração de implantes à base de Ti via eletroquímica**

Bruno S. Gugelmin<sup>1</sup>, Haroldo de A. Ponte<sup>2</sup>, Claudia E.B. Marino<sup>3</sup>

### **Abstract**

Titanium and its alloys are an important class of biomaterials, especially in interactions with osseous tissue. The objective of this study was to test a simple and accessible methodology to obtain surfaces covered with stable and bioactive oxides, favoring osseointegration. Anodic oxidation was employed to obtain surfaces with a thin film of TiO<sub>2</sub> in samples of commercially pure titanium, grade 2, and Ti-6Al-4V alloy. The stability of these oxide layers was examined using open circuit potential and immersion tests for different periods of time in artificial blood and saliva, in addition to linear sweep voltammetry. This sweep technique, performed in potentials ranging from -1,0 V to 1,0 V and 5,0 V, was employed for the growth of the oxide layers on the polished surface of Ti metal samples. Stability was confirmed with low dissolution rates of the oxide layer in artificial physiological media. Furthermore, oxidized samples were submitted to *in vitro* immersion tests during 10 days in simulated body fluid (SBF), wherein scanning electron microscopy and x-ray photoelectron spectroscopy confirmed the ability of the anodized surfaces in nucleating hydroxyapatite, possibly indicating a favorable osseointegration when used in medical implants *in vivo*.

Key-words: Biomaterials; Titanium; Osseointegration; Anodic Oxidation; Bioactive Surfaces; Artificial Blood; Artificial Saliva; Simulated Body Fluid (SBF).

---

<sup>1</sup> Mestre em Engenharia e Ciência dos Materiais, Engenheiro Biomédico – UFPR

<sup>2</sup> Doutor, Eng. Mecânica-UFPR

<sup>3</sup> Doutora, Química - UFPR

## Resumo

O titânio e suas ligas são uma importante classe de biomateriais, especialmente em interação com o tecido ósseo. O objetivo desse estudo foi testar uma metodologia simples e acessível para obtenção de superfícies recobertas com óxidos estáveis e bioativas, favorecendo então a osseointegração. Foi utilizada a técnica eletroquímica de oxidação anódica para obter uma película de  $\text{TiO}_2$  em amostras de titânio comercialmente puro, grau 2, além da liga Ti-6Al-4V. A estabilidade dessas camadas de óxido foi analisada utilizando técnicas de potencial de circuito aberto e testes de imersão em diferentes períodos de tempo em sangue e saliva artificiais aliados à varredura linear de potenciais. Essa varredura, feita em faixas de potenciais de -1,0 V a 1,0 V e a 5,0 V, foi empregada para crescer a película de óxido na superfície polida do Ti. A estabilidade dessa camada de óxido foi confirmada com baixos índices de dissolução da película de óxido em soluções fisiológicas artificiais. Além disso, as amostras oxidadas foram submetidas à testes de imersão *in vitro* durante dez dias em *simulated body fluid* (SBF), onde foi verificada através das técnicas de MEV e XPS, a capacidade dessa superfície em nuclear hidroxiapatita em sua superfície, podendo indicar uma osseointegração favorável ao serem utilizadas em implantes médicos *in vivo*.

Palavras-chave: Biomateriais; Titânio; Osseointegração; Oxidação Anódica; Superfícies Bioativas; Sangue Artificial; Saliva Artificial; *Simulated Body Fluid* (SBF)

## Introdução

Este trabalho teve como objetivos principais o estudo da estabilidade de filmes de óxidos anódicos em meios fisiológicos artificiais e a avaliação da técnica potenciodinâmica como uma ferramenta simples para obter-se superfícies de implantes de titânio adequadas à osseointegração.

O objetivo primário seria a obtenção, por forma simples, rápida e barata, de superfícies de implantes de titânio recobertas com filmes de óxidos anódicos que permitiriam uma osseointegração apropriada. As superfícies de amostras de Ti-Grau 2 e da liga Ti-6Al-4V foram recobertas com dióxido de titânio e sua estabilidade foi testada através de medidas de potencial de circuito aberto (dissolução espontânea) e testes de imersão em saliva artificial e sangue artificial, a temperatura ambiente (dissolução forçada).

Para validar a capacidade osseointegrativa dessas superfícies e deduzir o desempenho in vivo de implantes de titânio recobertos de uma camada de óxido anódico, foi utilizada a imersão in vitro em Simulated Body Fluid (SBF), a 37 °C. Caracterizações morfológicas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e de elementos por espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS) permitiram avaliar a presença do  $\text{TiO}_2$  e da hidroxiapatita sobre a superfície destes biomateriais.

### **Metodologia Experimental**

Antecedendo as medidas eletroquímicas iniciais, as amostras de titânio foram polidas com lixas d'água de granulometria 220, 320, e 600 respectivamente, até se atingir uma superfície visualmente uniforme. Após o lixamento manual, as amostras foram lavadas com água deionizada em abundância, seguido de uma lavagem com acetona para remover qualquer gordura que poderia ter permanecido na superfície, seguida de mais uma lavagem com água deionizada.

O crescimento do óxido anódico de titânio na superfície foi então realizado em solução de PBS utilizando o método potenciodinâmico de voltametria linear, com intervalos de varredura de potencial de  $-1,0 \text{ V} \rightarrow 1,0 \text{ V}$  e de  $-1,0 \text{ V} \rightarrow 5,0 \text{ V}$  numa velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$  em temperatura ambiente. A seguir, era realizada a medição do potencial de circuito aberto da amostra em análise durante 45 minutos (tempo máximo), ou seja, até que houvesse a estabilização do potencial. Cada amostra de Ti grau 2 e Ti-6Al-4V, com óxido crescido até  $1,0 \text{ V}$  e até  $5,0 \text{ V}$ , era submetida ao teste de imersão em sangue artificial e saliva artificial durante 1 hora, 10 dias, 30 dias e 90 dias a fim de se estudar possíveis processos de dissolução da película de óxido em meios fisiológicos.

Finalizado o teste de imersão, a amostra era retirada da solução, lavada com água deionizada em abundância, e submetida à novas medições de potencial de circuito aberto, a fim de poder compará-los aos valores obtidos previamente. Posteriormente, a amostra era submetida a uma nova voltametria linear, com a finalidade de estudar a reconstrução do filme de óxido. Esta curva de reconstrução e a carga envolvida no processo eram então comparados aos dados obtidos durante o crescimento original do óxido, permitindo-se então verificar se houve ou não alguma dissolução da camada de óxido crescida pela voltametria linear original devido ao teste de imersão.

Algumas amostras foram imersas em SBF durante 10 e 30 dias para obtenção e análise da hidroxiapatita, onde se pôde discutir o processo de osseointegração. Os testes de imersão em SBF permitem indicar a capacidade da superfície em permitir a nucleação da hidroxiapatita, o principal componente do osso humano.

As caracterizações destas diferentes superfícies, ou seja, após crescimento de óxido, após imersão em sangue e saliva artificiais, e após imersão em SBF, foram realizadas empregando-se as técnicas de MEV e XPS.

## **Resultados e Discussões**

Nas proximidades do pico anódico ( $\sim -0,55$  V) ocorrem as condições adequadas para a formação de um óxido  $\text{TiO}_2$  de espessura uniforme e de características protetoras, inibindo assim, a princípio, o processo de dissolução, independentemente do material. O processo de crescimento anódico da película de óxido na superfície do titânio segue uma estequiometria fixa sobre o efeito de um campo elétrico  $\varepsilon$  na ordem de  $10^6 \sim 10^7$  V  $\text{cm}^{-1}$ , com densidade de corrente  $j$  descrita pelo o modelo de alto campo (1,2).

No caso do titânio, tanto para o comercialmente puro como para a liga Ti-6Al-4V, a taxa de anodização fica em torno de  $2,5$  nm  $\text{V}^{-1}$  (2). Portanto, a espessura final do filme de óxido na superfície da amostra será diretamente proporcional ao potencial final aplicado na varredura linear de potenciais. Além do mais, é importante ressaltar que independentemente do tempo em que esse potencial final for mantido, a espessura não sofrerá mudanças significativas, podendo ocorrer apenas perda de moléculas de água e rearranjos estruturais decorrentes do processo de envelhecimento do filme (3).

Após o crescimento do filme de óxido na superfície dos eletrodos era feita a medição do potencial em circuito aberto, observando a estabilização do mesmo. Foi observado que o potencial de circuito aberto logo após o crescimento do óxido decresce rapidamente para valores menos anódicos até atingir um valor praticamente constante. Esse fato também comprova a estabilidade eletroquímica da película de óxido sobre o metal, pois não foi verificada nenhuma variação abrupta do potencial com relação ao tempo que poderia indicar alguma ruptura do filme de óxido.

No caso particular das amostras com 1 hora de imersão, de ambos os biomateriais com óxido crescido a  $5,0$  V, verificou-se que o potencial de circuito aberto ficou mais negativo (menos anódico) após a imersão. Em síntese, a camada de óxido crescida a  $5,0$  V

necessitaria de mais tempo para se estabilizar completamente. Conforme estudos realizados por MARINO e pesquisadores (2), um envelhecimento do filme de óxido poderia reduzir os defeitos superficiais da camada. Portanto, a imersão em solução fisiológica em circuito aberto possivelmente causa a variação negativa do  $E_{ca}$  e a indicação de que a amostra encontra-se eletroquimicamente mais estável.

Foi possível observar que em saliva artificial há em geral um percentual de variação maior nos valores de potencial de circuito aberto do que quando trata-se de sangue artificial. Isso quer dizer que, em condições iguais de crescimento e tempo de imersão, os valores de potenciais tendem a ficar menos negativos, particularmente para as amostras de Ti-6Al-4V submetidas à saliva. Foi também observado, através dos resultados, que a saliva artificial exerce uma variação maior no potencial de circuito aberto do Ti-6Al-4V do que no Ti Grau 2. Por exemplo, a análise das amostras que tiveram óxido crescido a 5 V e permaneceram sob o efeito da saliva artificial por 30 dias nos mostra que o Ti-6Al-4V teve uma redução de 91% no seu potencial de circuito aberto, enquanto que o Ti Grau 2 sofreu apenas 69% de redução. O mesmo pode ser visto para o caso de crescimento a 1 V, com redução de 89% e 78% respectivamente. Esse fato é relevante pois sabe-se que o Ti Grau 2 é o material usado em implantes dentários enquanto que o Ti-6Al-4V é usado para implantes ortopédicos, não ficando exposto à saliva no ambiente fisiológico. É importante que o Ti grau 2 tenha demonstrado uma maior resistência à variação do potencial de circuito aberto no ambiente salivar.

Também observou-se que o comportamento do potencial de circuito aberto com relação ao tempo de imersão é distinto para a saliva e sangue artificiais. No caso da saliva artificial, esse comportamento é diretamente proporcional, ou seja, quanto mais tempo a amostra permanece imersa em saliva, maior é a variação no seu potencial de circuito aberto. Dessa forma, o sistema encontra-se cada vez mais susceptível aos processos de dissolução à medida que fica mais tempo em contato com a saliva artificial. Já no caso do sangue artificial, verifica-se que em geral o percentual de variação do potencial de circuito aberto atinge um máximo no período de 10 dias. É provável que na imersão em sangue artificial, os processos de eletrodo já ocorreram de forma efetiva no período de 10 dias, sendo minimizados a partir desse período e indicando uma menor variação no potencial de circuito aberto.

Uma explicação plausível para o fenômeno de alteração acentuada do potencial de circuito aberto em saliva artificial é a presença de íons agressivos, como o cloreto (4-6).

Em resumo, a medida de potencial de circuito aberto pode fornecer um parâmetro importante para se analisar a “nobreza” em que se encontra o equilíbrio metal/óxido e portanto sua relativa estabilidade. Estima-se que uma osseointegração completa, com formação de calo ósseo e uma camada de osso lamelar na margem do implante, leve de 30 a 60 dias para ocorrer (7) e desta forma, se os processos de eletrodo já se efetivaram em 10 dias, isso permite que o óxido protetor apresente maior estabilidade durante os 20 dias restantes, a fim de se obter uma osseointegração efetiva em implantes ortopédicos. Já no caso da saliva, observa-se que a variação de potencial de circuito aberto segue aumentando com o tempo, indicando que talvez não se obtenha uma osseointegração tão efetiva nesse período no caso de implantes dentários, necessitando um maior tempo de recuperação cirúrgica.

Após a estabilização do potencial de circuito aberto, a amostra era submetida a uma nova varredura linear de potenciais nas mesmas condições originais, a fim de se analisar uma possível perda de espessura dos filmes óxidos através do processo de dissolução ou até mesmo da ruptura desses filmes. Quando os valores das taxas de reconstrução são analisados, observa-se que há um aumento na taxa de reconstrução com o tempo, atingindo-se um percentual de reconstrução máximo em 30 dias. Posteriormente, essa taxa de reconstrução sofre redução considerável quando analisados os experimentos no período de 90 dias de imersão, independentemente do meio fisiológico em questão. Este resultado indica que além de ocorrer o processo de dissolução, este não é constante, mas sim depende do tempo de imersão. Cabe lembrar que a dissolução é baixa, mas ocorre, sendo um fator relevante quando se trata de implantes dentários e ortopédicos. O processo de dissolução que ocorre em meios fisiológicos pode, a longo prazo, estar danificando a camada protetora de óxido  $\text{TiO}_2$  que confere melhor resistência à corrosão e promove uma melhor osseointegração aos implantes de titânio.

Como já mencionado anteriormente, a espessura dos filmes de óxidos anódicos de titânio está relacionada ao potencial aplicado, podendo então ser estimada pela taxa de anodização (8). Como a taxa de anodização do Ti é de  $2,5 \text{ nm V}^{-1}$  (8), a espessura das camadas de óxido crescido a 1,0 V e 5,0 V podem ser estimadas em 2,5 nm e 12,5 nm, respectivamente. Além disso, outras pesquisas (9,10) indicaram que o filme de óxido anódico consiste em uma bi-camada, sendo uma interna mais compacta em contato com o metal e outra externa mais porosa. Tratando-se de um biomaterial que atuará em conjunção com tecido ósseo, é bastante interessante se poder contar com essa porosidade para uma

ancoragem mecânica, assim como permitir uma interação mais íntima do implante com o osso através de crescimento de tecido entre os poros. Porém, apesar de essa porosidade ser benéfica no ponto de vista mecânico, essa camada porosa pode apresentar problemas para a resistência à corrosão do biomaterial. Uma camada externa mais porosa revela-se menos resistente ao ataque iônico de espécies mais agressivas, como por exemplo, os cloretos, podendo então sofrer uma dissolução mais acentuada.

De fato, a película de óxido crescida até 5,0 V sofreu um percentual de redução maior que a crescida até 1,0 V independentemente das condições experimentais. Desta forma pode-se supor que a camada porosa mais espessa nas amostras de óxidos crescidos a 5,0 V fica mais susceptível aos ataques dos íons presentes no sangue e na saliva artificiais, sofrendo então um maior percentual de redução de espessura.

Outro ponto relevante é a diferença de comportamento entre as amostras de Ti grau 2 e Ti-6Al-4V. Em especial nas amostras anodizadas a 5,0 V, é evidente que as amostras de liga sofrem uma maior taxa de reconstrução do que as de Ti grau 2 com aumento do tempo de exposição às soluções fisiológicas artificiais. De fato isso já era esperado, pois sabe-se que a adição dos elementos de liga causam uma variação da resistência à corrosão desse biomaterial em comparação com o Ti grau 2 comercialmente puro (11).

As taxas de reconstrução observadas para 90 dias de imersão sofreram uma diminuição considerável quando comparadas com as taxas de tempos de imersão anteriores. Inclusive, uma taxa de reconstrução mais baixa em 90 dias do que em 1 hora de imersão pode indicar que está ocorrendo um processo de selamento de poros na superfície do óxido de titânio. De acordo com KIM e RAMASWAMY (12), a superfície de titânio polarizada anodicamente pode atrair os íons  $\text{PO}_4^{3-}$  e incorporá-los à superfície.

Foi utilizado o *simulated body fluid* (SBF), conforme descrito por KOKUBO e TAKADAMA (13), para estudar a capacidade osseointegrativa dos implantes de titânio com superfícies oxidadas como no caso das amostras nesse experimento. O osso humano pode ser considerado basicamente como uma interação entre o mineral hidroxiapatita e fibras de colágeno, de tal forma que a nucleação da hidroxiapatita na superfície das amostras de titânio seria uma indicação bastante positiva da capacidade osseointegrativa da superfície (14,15).

Foi observado que as superfícies de óxido de titânio crescido a 5,0 V obtidas nesta pesquisa permitiram o crescimento de glóbulos de hidroxiapatita (HA) após 10 dias de exposição em meio de SBF a 37 °C, sem necessidade de troca da solução. Estes dados

indicam um bom processo de osseointegração caso fossem utilizadas em implantes ósseos. Para investigar a presença e a morfologia da HA foram feitos estudos por MEV das superfícies recobertas com óxido de titânio obtido a 5,0 V.

As análises semi-quantitativas por XPS confirmam a presença de hidroxiapatita na conformação em que ela se encontraria no tecido ósseo no caso da deposição *in vivo*. A fórmula química da hidroxiapatita é dada por  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Essa fórmula química mostra que a razão entre átomos de Ca e P da hidroxiapatita que compões o tecido ósseo é de 1,67. Os resultados demonstraram uma razão Ca/P média de 1,48, ou seja, um valor próximo à razão óssea de 1,67. Assim, ambos os materiais podem estar indicando a eficácia da superfície anodizada de Ti em permitir a nucleação de componentes ósseos e dessa forma favorecer a osseointegração.

## Conclusões

Os resultados de potencial de circuito aberto e dados de reconstrução do filme de óxido na superfície dos biomateriais Ti Grau 2 e Ti-6Al-4V mostram que esses materiais apresentam uma baixa dissolução de sua camada de óxido ao serem submetidas à testes de imersão em sangue e saliva artificiais. Estes dados indicam que essa camada de óxido cumpre sua função protetora, inibindo os processos corrosivos. Com relação ao meio submetido, a saliva artificial exerce uma variação maior no potencial de circuito aberto da liga Ti-6Al-4V do que no Ti Grau 2. É relevante que o biomaterial Ti grau 2 tenha demonstrado uma maior resistência à variação do potencial de circuito aberto no ambiente salivar, pois este é empregado em implantes dentários.

A caracterização do óxido protetor foi realizada através da técnica de XPS, que permitiu a identificação do óxido estável  $\text{TiO}_2$ . Pela técnica de MEV, foi possível observar uma camada de óxido uniforme, sem morfologia definida, independentemente do material.

Esses testes também foram úteis na visualização do crescimento de fosfato de cálcio sobre as camadas de óxido. Isso pode demonstrar a capacidade dessas superfícies de obterem uma osseointegração aceitável caso fossem aplicadas em implantes médicos. A estabilidade e proteção que as camadas de óxido de titânio oferecem à superfície do metal, aliada à capacidade de osseointegração do material, fazem da oxidação anódica uma modificação de superfície apropriada na fabricação de implantes médicos ósseos com facilidade e aplicabilidade.

---

**Referência Bibliográfica**

1-HEALY, K. E. AND DUCKEYNE, P. Oxidation kinetics of titanium thin films in model physiologic environments. **J. Colloid and Interface Science**, 150, 404, 1992.

2-MARINO, C.E.B. **Estudos eletroquímicos sobre os materiais biocompatíveis Ti e Ti6Al4V**. 2001. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2001.

3-OHTSUKA, T., & OTSUKI, T. The aging of the anodic oxide of titanium during potentiostatic condition by ellipsometry. **Corrosion Science** 45, 1793-1801, 2003

4-STRIETZEL, R., HÖSCH, A., KALBFLEISCH, H., BUCH, D. In vitro corrosion of titanium. **Biomaterials** 19 (16), 1495-1499, 1998.

5-BURSTEIN, G. T. & SOUTO, R.M. Observations of localised instability of passive titanium in chloride solution. **Electrochimica Acta** 40 (12), 1881-1888, 1995.

6-POPA, M.V., DEMETRESCU, I., SUH, S.-H., VASILESCU, E., DROB, P., IONITA, D., VASILESCU, C. Monitoring of titanium base alloys–biofluids interface. **Bioelectrochemistry** 71, 126–134, 2007.

7-RYHÄNEN, J., KALLIOINEN, M., SERLO, W., PERÄMÄKI, P., JUNILA, J., SANDVIK, P., NIEMELÄ, E., TUUKKANEN, J. “Bone healing and mineralization, implant corrosion, and trace metals after nickel-titanium shape memory metal intramedullary fixation” *J. of Biomedical Mat. Res. Part A* **47 (4)**, 472 - 480, 1999.

8-MARINO, C.E.B. **Óxidos anódicos de titânio: um estudo do crescimento e estabilidade em meio ácido**. 1997. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 1997.

9-HUANG, Y.Z., & BLACKWOOD, D.J. Characterisation of titanium oxide film grown in 0.9% NaCl at different sweep rates. **Electrochimica Acta** 51 (6), 1099-1107, 2005.

10-SOUZA, M.E.P., BALLESTER, M., FREIRE, C.M.A. EIS characterisation of Ti anodic oxide porous films formed using modulated potential. **Surf. & Coat. Tech.** 201, 7775–7780, 2007.

11-MARINO, C.E.B.; BIAGGIO, S.R.; ROCHA-FILHO, R.C.; BOCCHI, N. Voltammetric Stability of Anodic Films on the Ti6Al4V alloy in chloride medium. **Electrochimica Acta** 51, 6580–6583, 2006.

12-KIM, K. & RAMASWAMY, N. Electrochemical surface modification of titanium in dentistry. **Dental Materials Journal**, 28 (1), 20-36, 2009.

13-KOKUBO, T. & TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? **Biomaterials** 27 (15), 2907-2915, 2006.

14-WEINSTEIN, S.L., BUCKWALTER, J.A. (eds.). Turek's Orthopaedics – Principles and Their Applications, 6<sup>th</sup> ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2005.

15-HUAXIA, J., PONTON, C.B., MARQUIS P.M. Microstructural characterization of hydroxyapatite coating on titanium. **J. of Mat Science: Mat in Medicine** 3, 283-287, 1992.

## Figuras

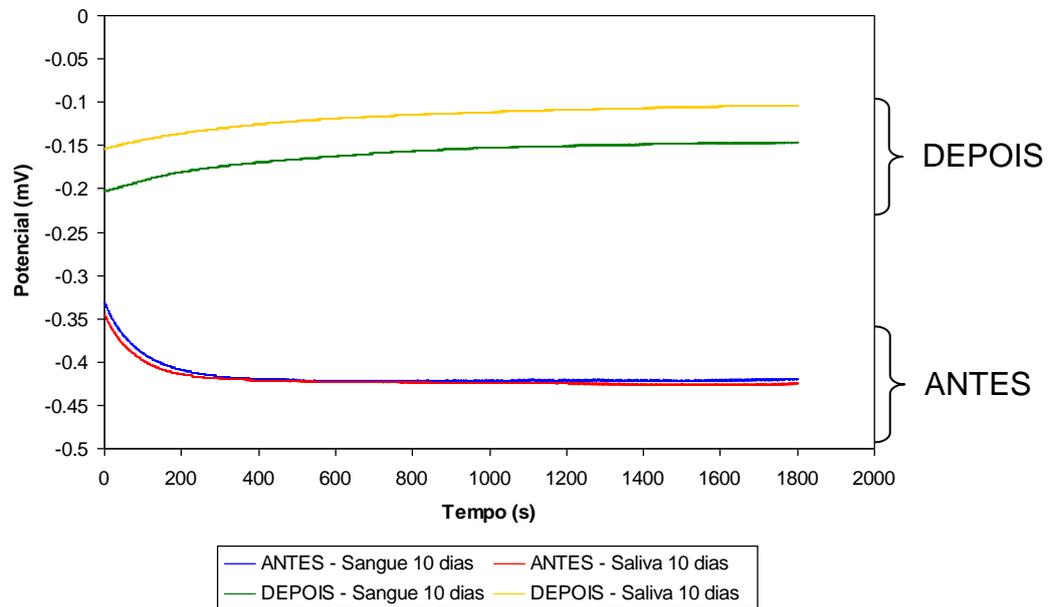


FIGURA 1 – CURVAS DE POTENCIAL DE CIRCUITO ABERTO DO Ti-6Al-4V COM ÓXIDO CRESCIDO A 5,0 V, ANTES E DEPOIS DE SUBMETIDOS A 10 DIAS EM TESTES DE IMERSÃO EM SANGUE E SALIVA ARTIFICIAIS; REFERÊNCIA: ECS.

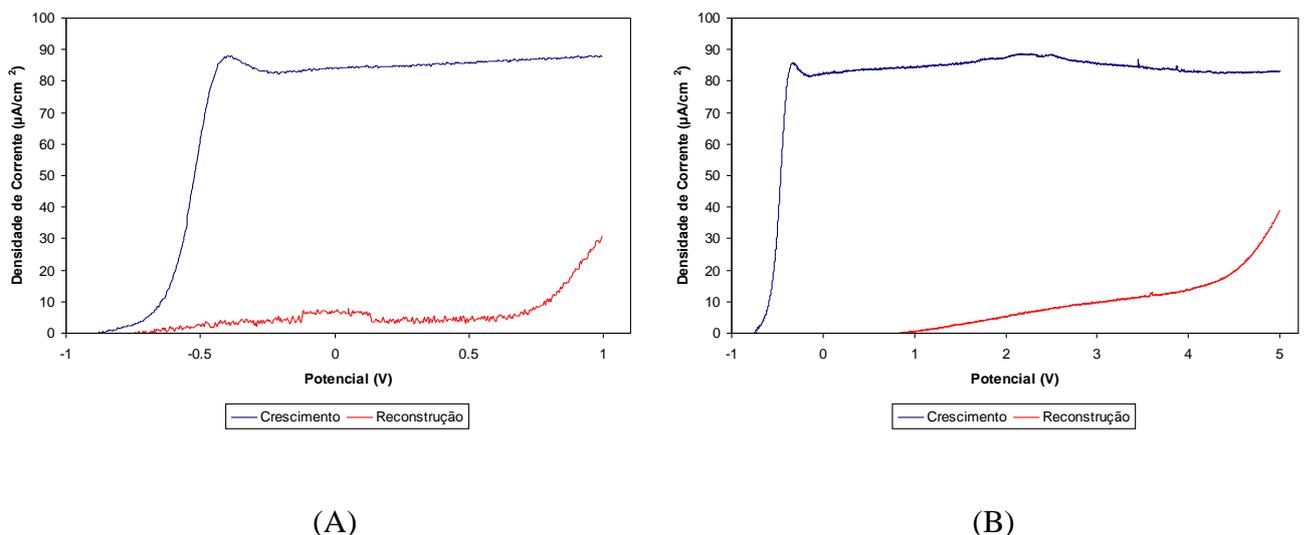


FIGURA 2 – PERFIL VOLTAMÉTRICO DO CRESCIMENTO DO FILME DE ÓXIDO EM AMOSTRAS DE Ti GRAU 2 E A RECONSTRUÇÃO APÓS TESTE DE IMERSÃO; REFERÊNCIA: ECS; VELOCIDADE DE VARREDURA DE  $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . (A) 10 DIAS EM SALIVA ARTIFICIAL (B) 30 DIAS EM SANGUE ARTIFICIAL

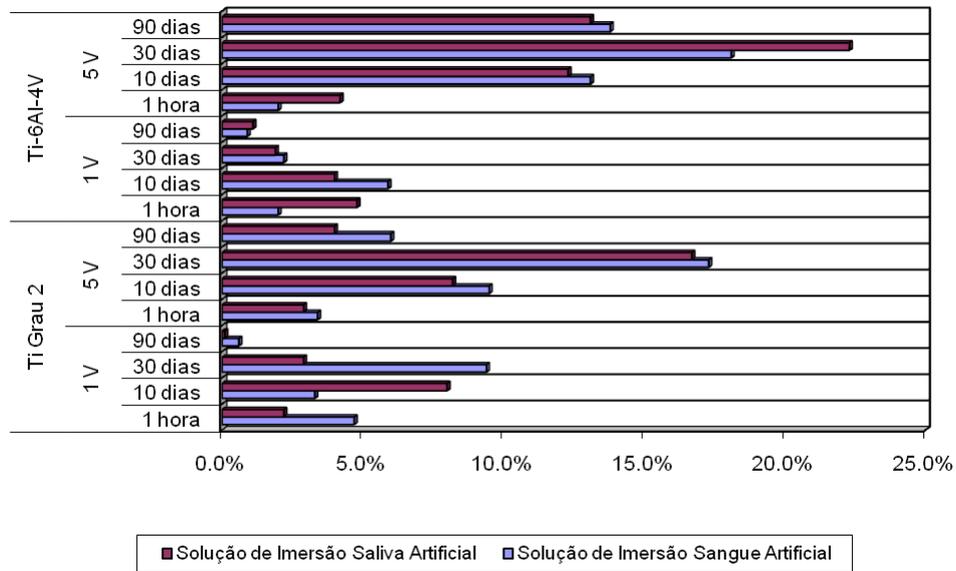
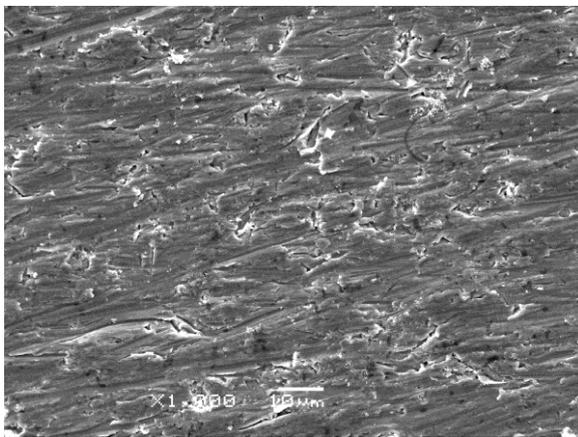
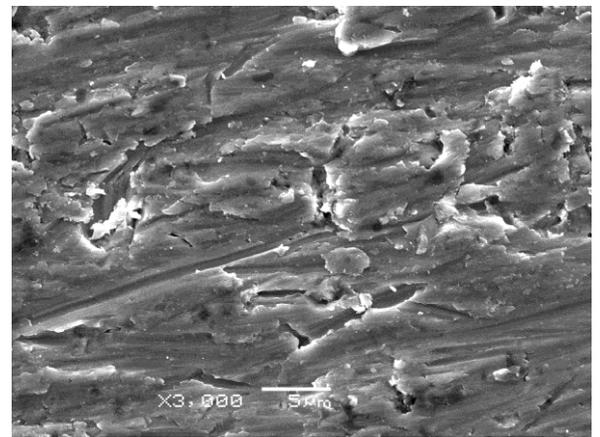


FIGURA 3 – TAXA DE RECONSTRUÇÃO DOS FILMES DE ÓXIDO

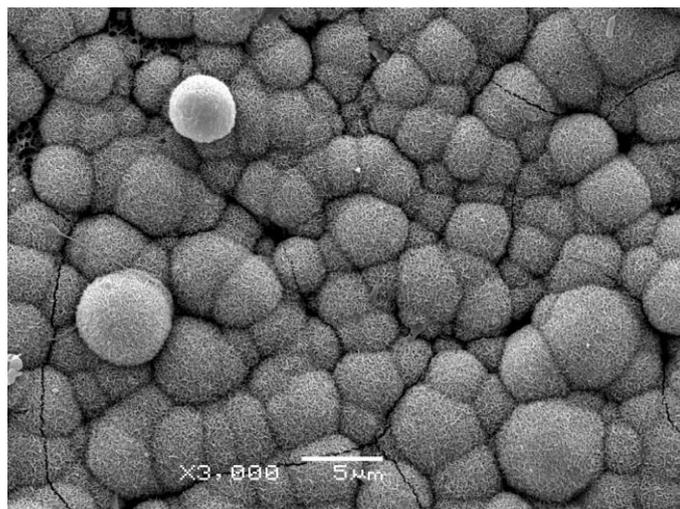


(A)

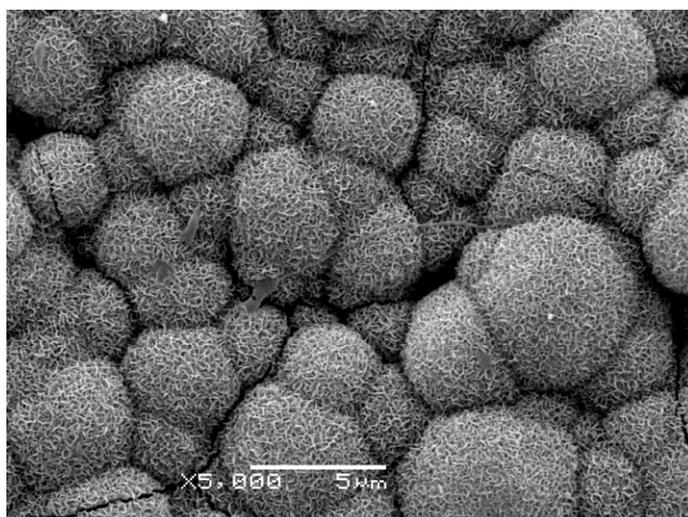


(B)

FIGURA 4 – FOTOMICROGRAFIAS DA SUPERFÍCIE DO Ti GRAU 2 RECOBERTA COM ÓXIDO CRESCIDO ATÉ 1,0 V. (A) AUMENTO 1000X (B) AUMENTO 3000X



(a)



(b)

FIGURA 5 – FOTOMICROGRAFIA DA SUPERFÍCIE DO Ti RECOBERTO COM HIDROXIAPATITA. AUMENTO de 3000x (a) e 5000X. (b) após 10 dias de imersão em SBF.