INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

AVALIAÇÃO DO RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO EM COMPÓSITOS DE ALUMINA-ZIRCÔNIA TEXTURIZADAS SUPERFICIALMENTE COM LASER DE FEMTOSSEGUNDO

Amanda Abati Aguiar

Tese apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de Doutor em Ciência
na Área de Tecnologia Nuclear- Materiais.

Orientador:

Prof. Dr. Nelson Batista de Lima

Versão Corrigida

Versão Original se encontra disponível no IPEN

São Paulo

2013

Dedico esse trabalho aos meus pais, Edson e Iara, pela minha formação, aos meus irmãos, pela descontração e ao meu marido Nelson pela constante dedicação.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, pela oportunidade de realizar este trabalho.

À CAPES, pelo apoio financeiro durante grande parte do trabalho.

Ao Dr. Nelson Batista de Lima, por sua constante disposição e empenho na orientação deste trabalho.

Ao Dr. Francisco José Correa Braga, pela troca de experiência e incentivo constante.

Ao Dr. Wagner de Rossi pelo constante suporte e realizações das texturizações superficiais nos materiais com laser de femtossegundo.

Ao Dr. Marcos Scapin e Dra. Vera Lúcia Ribeiro Salvador, pela colaboração nas medidas realizadas por fluorescência de raios x.

Ao Msc. Rene Ramos de Oliveira, pela amizade, pelo companheirismo e colaboração na parte experimental do trabalho (MEV, BET, Sinterização).

Ao Dr. José Roberto Martinelli, pelas medidas do tamanho médio de partículas dos materiais analisados neste trabalho.

À Dra. Sônia Regina Melo e ao Antônio Carlos pelas medidas de espectroscopia de infravermelho por reflectância difusa (DRIFT).

Ao Olandir pela solidariedade e empréstimo do rugosímetro.

À Fernanda Teixeira pelo serviço prestado nas inúmeras medidas do ângulo de contato.

Ao Dr. Valter Ussui, por sua amizade e constante suporte nas atividades experimentais realizadas em seu laboratório.

À Carola, por dividir suas experiências na preparação do SBF.

À Dra. Clarice Terui Kuniishi pela amizade e dedicação na correção deste trabalho.

À todos os meus amigos, Christiane Ribeiro, Stela Fernandes, Deiby Santos Gouveia, Sônia Maria Pires, que sempre estiveram ao meu lado, apoiando diretamente e indiretamente durante a execução deste trabalho.

E a todos, cujo apoio, interesse e sugestões foram indispensáveis para a conclusão deste trabalho.

AValiação DO RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO EM COMPÓSITOS DE ALUMINA-ZIRCÔNIA TEXTURIZADAS SUPERFICIALMENTE COM LASER DE FEMTOSSEGUNDO

Amanda Abati Aguiar

RESUMO

O principal objetivo deste trabalho foi estudar a influência do tratamento superficial com laser de femtossegundo em amostras de alumina e compósito de alumina-zircônia estabilizada com ítria para depósito e aderência de apatita. Os resultados obtidos mostraram que houve a formação de apatita sobre as superfícies das amostras que foram texturizadas com laser de femtossegundo e em seguida imersa em 1,5 SBF. Este método biomimético pôde, por conseguinte, tornar estas cerâmicas bioativas. Também houve a formação de apatita na superfície das amostras sem o tratamento a laser. Os efeitos da texturização na superfície para as diferentes cerâmicas e a influência do tempo de imersão em 1,5 SBF são discutidos, a fim de determinar a condição ótima para estimular a deposição e a adesão da apatita na superfície dos materiais. Finalmente, os resultados obtidos das diferentes análises são comparados. A adesão da hidroxiapatita é essencial para interação com o substrato e depende das propriedades das superfícies dos materiais. A qualidade desta adesão influenciará sua morfologia e a capacidade futura de osseointegração. As características de superfície dependem da química de superfície, energia de superfície e topografia de superfície. Geralmente, a reatividade de superfície e energia de superfície pode ser influenciada pelas características de molhabilidade, influenciando o desempenho de biomateriais. A adesão e crescimento da apatita depositada também é função da rugosidade superficial. O tratamento superficial com laser de femtossegundo melhora consideravelmente a adesão da apatita obtida pelo recobrimento biomimético nas superfícies dos materiais.

EVALUATION OF BIOMIMETIC COATING IN ZIRCONIA-ALUMINA COMPOSITE TEXTURED SURFACE WITH FEMTOSECOND LASER

Amanda Abati Aguiar

ABSTRACT

The main objective of this work was to study the influence of femtosecond laser surface treatment on samples of alumina and composite of zirconia-alumina yttria stabilized for deposit and adhesion of apatite. The results showed that there was apatite formation on the surfaces of the samples that have been textured with femtosecond laser and then immersed in SBF 1.5. This biomimetic method can therefore make these bioactive ceramics. There was also the formation of apatite in the samples without laser treatment. The effects of texturing surface for the different ceramics and the influence of immersion time in SBF 1.5 are discussed in order to determine the optimal conditions to promote the deposition and the adhesion of the apatite in the material's surface. Finally, the results of the different analyzes are compared. The adhesion of hydroxyapatite is essential for interaction with the substrate and depends on the properties of material's surface. The quality of this adhesion will influence their morphology and the future ability of osseointegration. The surface characteristics depend on the surface chemical, surface energy and surface topography. Generally, the reactivity of surface and the energy of surface can be affected by wetting characteristics influencing the performance of biomaterials. The adhesion and growth of apatite deposited is also a function of surface roughness. The femtosecond laser surface treatment greatly improves the adhesion of apatite obtained by biomimetic coating on the surfaces of materials.

SUMÁRIO

	Página
1.INTRODUÇÃO.....	1
2.OBJETIVOS.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
4. FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	46
4.1. Biocerâmicas.....	46
4. 1.1. Classificação das Biocerâmicas.....	47
4. 1.1.1. Biocerâmicas Inertes.....	47
4. 1.1.2. Biocerâmicas Ativas.....	48
4. 1.1.3. Biocerâmicas Reabsorvíveis.....	50
4. 2. Recobrimento biomimético.....	51
4. 3. Análise quantitativa de fases- método de rietveld.....	51
4.3.1. Avaliação do refinamento.....	55
4.3.1.1. Resíduos.....	55
4. 3. 2. Índice de qualidade do refinamento (“goodness of fit”- gof).....	56
4. 4. Fluorescência de raios x por dispersão de comprimento de onda (wdxrf).....	57
4.4.1. Método de parâmetros fundamentais (fp).....	57
4.4.1.1. Cálculo das intensidades teóricas para amostras infinitamente espessas ("bulk").....	57
4.4.1.2. Cálculos das intensidades teóricas para amostras de filme fino.....	60
4.4.1.2.1. Método absoluto para determinação da espessura de filmes finos.....	60
4. 5. Molhabilidade.....	64
4. 6. Influência da rugosidade.....	70
4. 7. Adesão do revestimento ao substrato.....	71
4.7.1. Teste de aderência.....	71
4.7.2. Mecanismos de falha de aderência.....	72
4.8. Interação do laser com a matéria.....	74
5. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	81
5.1. Síntese dos pós.....	82
5.2. Processamento cerâmico.....	82

5.3. Texturização com laser de femtossegundo.....	83
5.4. Recobrimento biomimético.....	84
5.5. Técnicas de caracterização.....	86
 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	 88
6.1. Caracterização dos pós sintetizados.....	88
6.2. Caracterização das cerâmicas após sinterização.....	91
6.3. Caracterização das cerâmicas sinterizadas texturizadas superficialmente com laser de femtossegundo.....	92
6.4. Caracterização das cerâmicas sinterizadas texturizadas superficialmente com laser de femtossegundo imersas em 1,5 sbf.....	108
6.4.1. Influência do tempo de imersão em 1,5 sbf das cerâmicas sinterizadas texturizadas e não texturizadas superficialmente com laser de femtossegundo.....	108
6.4.2. Influência da adesão da camada de apatita.....	117
 7. CONCLUSÕES.....	 126
 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	 128

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Características físicas das biocerâmicas de Al_2O_3 (HENCH, et al., 1993).....	06
Tabela 2: Propriedades das cerâmicas de alumina e zircônia utilizadas em implantes cirúrgicos (HENCH, et al., 1993).....	07
Tabela 3: Comparação das propriedades mecânicas entre material bioinerte (alumina, zircônia) e bioreabsorvível (hidroxiapatita) (PARK, 2003; BHUSHAN, 1991; SUCHANEK, 1998).....	10
Tabela 4: Comparação entre os processos de texturização de superfícies (AGARWAL, et al., 2000).....	16
Tabela 5: Ângulo de contato dos líquidos e energia de superfície das amostras não tratadas e tratadas com laser de CO_2 (HAO, et al., 2005).....	22
Tabela 6: Abreviações utilizadas nas equações para os cálculos das intensidades teóricas.....	59
Tabela 7: Composição dos compósitos à base de alumina e zircônia estudados.....	83
Tabela 8: Concentrações iônicas da solução empregada (mmol.dm^{-3}).....	84
Tabela 9: Quantidade de reagentes para o preparo de 1litro de 1,5 SBF.....	85
Tabela 10: Valores de área superficial específica dos pós sintetizados: 100A e 85A15TZP.....	88
Tabela 11: Quantificação de fases da cerâmica à base de alumina e zircônia.....	92
Tabela 12: Energia, fluência e número de pulsos utilizados para engenharia de superfície.....	96
Tabela 13: Quantificação de fases do compósito e da alumina tratados com laser de femtossegundo.....	101
Tabela 14: Ângulo de contato dos líquidos, componente polar, componente dispersiva, energia de superfície total e rugosidade da amostra 85A15TZP não tratada e tratada com laser de femtossegundo.....	104
Tabela 15: Ângulo de contato dos líquidos, componente polar, componente dispersiva, energia de superfície total e rugosidade da amostra 100A não tratada e tratada com laser de femtossegundo.....	105
Tabela 16: Fases da alumina e zircônia com seus respectivos números de onda (PIERRI, et al., 2006).....	107

Tabela 17: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl e Ca da amostra 85A15TZP não tratada superficialmente com laser de femtossegundo imersa em 1,5SBF por 3 dias.....	112
Tabela 18: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl e Ca da amostra 85A15TZP E = 13 μ J; Np = 1024 imersa em 1,5SBF por 3 dias.....	113
Tabela 19: Grupos da hidroxiapatita carbonatada com baixo grau de cristalinidade com seus respectivos números de onda (PIERRI, et al., 2006).....	115
Tabela 20: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl e Ca para a amostra 100A E=20 μ J; Np=1 imersa por 6 dias em 1,5SBF.....	119
Tabela 21: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl e Ca para a amostra 100A E=32 μ J; Np=32 imersa por 6 dias em 1,5SBF.....	119
Tabela 22: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl e Ca para a amostra 100A E=20 μ J; Np=1 imersa por 15 dias em 1,5SBF.....	121
Tabela 23: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl, Ca e Zr para a amostra 85A 15TZP E=7 μ J; Np=1 imersa por 15 dias em 1,5SBF.....	123
Tabela 24: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl, Ca e Zr para a amostra 85A 15TZP E=13 μ J; Np=1024 imersa por 15 dias em 1,5SBF.....	124

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Micrografia de uma amostra de titânio submetida à texturização de superfície a laser em três condições diferentes: Laser de femtossegundo, 120 fs a) ar b) vácuo c) Nd:YAG, 100 ns (AGARWAL, et al., 2000).....	16
Figura 2: Micrografia obtida por microscopia eletrônica de varredura das cavidades de Al_2O_3 ($F= 5,68 \text{ J/cm}^2$) e AlN ($F=7,01 \text{ J/cm}^2$) variando os números de pulsos (KIM, et al., 2008).....	24
Figura 3: Micrografias eletrônicas de varredura de um homopolímero submetido ao ensaio de scratch (WONG, 2003).....	44
Figura 4: Micrografias eletrônicas de varredura de um homopolímero preenchido com talco submetido ao ensaio de scratch (WONG, 2003).....	44
Figura 5: Excitação primária e secundária em uma amostra infinitamente espessa (SCAPIN, 2004).....	60
Figura 6: Feixe primário e secundário na camada simples da amostra de filme fino (VÁZQUEZ et al., 1988).....	61
Figura 7: Representação do molhamento (a) antes e (b) depois da adesão (MOTTA et al., 2004).....	65
Figura 8: Representação das energias interfaciais e ângulo de contato (RAHAMAN, 1995).....	65
Figura 9: Representação do ângulo de contato (a) maior do que 90° , (b) menor do que 90° e (c) espalhamento total (RAHAMAN, 1995).....	67
Figura 10: Aparelho de teste de aderência em revestimentos Sebastian Five - A da Quad Group, que se encontra no Departamento de Física da Universidade do Minho (TAVARES, 2002).....	72
Figura 11: Perfis temporais e espaciais de (a) elétrons e (b) temperatura na rede de cobre após irradiação com pulso com duração de 100fs e intensidade de 10^{13} W/cm^2 Ablação não foi levada em consideração (NOLTE, 2002).....	75
Figura 12: Profundidade de ablação para diferentes durações de pulsos em cobre ($\lambda=780\text{nm}$) (NOLTE, 2002).....	76
Figura 13: Imagem de microscopia eletrônica de varredura de um furo perfurado em aço inoxidável ($E=2\text{mJ} \cong F\cong 200\text{J/cm}^2$, 100 pulsos, 200fs, profundidade do buraco $\cong 140\mu\text{m}$) (NOLTE, 2002).....	77
Figura 14: Imagem de microscopia eletrônica de varredura de um furo perfurado em cobre. a) $E=5\text{mJ}$, $F\cong 250\text{J/cm}^2$, 180 fs, 100 pulsos, profundidade do buraco $\cong 180\mu\text{m}$; b) $E=70\text{mJ}$, $F\cong 3600\text{J/cm}^2$, 180 fs, 10 pulsos, profundidade do buraco $> 500 \mu\text{m}$ (NOLTE, 2002).....	78

Figura 15: Exemplos de microestruturas precisas em diferentes materiais com pulsos de laser ultracurtos. a) corte em vidro; b) furo em diamante; c) logo “FEMTO” em uma chapa de tungstênio de 100µm de espessura; d) cavidade em esmalte dentário humano (NOLTE, 2002).....	79
Figura 16: Fluxograma esquemático da metodologia adotada para síntese, processamento e caracterização de cerâmicas de alumina e zircônia estabilizada	81
Figura 17: Diagrama esquemático do funcionamento do laser de femtossegundo	84
Figura 18: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura dos pós cerâmicos sintetizados. a)100A e b) 85A15TZP	88
Figura 19: Distribuição granulométrica do pó sintetizado (100A).....	89
Figura 20: Distribuição granulométrica do pó sintetizado (85A15TZP).....	89
Figura 21: Difratoograma do pó sintetizado (100A).....	90
Figura 22: Difratoograma do pó sintetizado (85A15TZP).....	90
Figura 23: Difratoograma da amostra 100A.....	91
Figura 24: Difratoograma da amostra 85A15TZP.....	92
Figura 25: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da amostra 85A15TZP tratada superficialmente com laser de femtossegundo. a) E= 5µJ ; Np=1 b) E= 7µJ ; Np=1024 c) E= 40µJ ; Np=1024.....	93
Figura 26: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das amostras 85A15TZP e 100A tratadas superficialmente com laser de femtossegundo. a) 85A15TZP E= 30µJ ; V=20mm/min b) 85A15TZP E=30µJ ;V=50mm/min c) 85A15TZP E=30µJ ; V= 3000mm/min d) 100A E= 20µJ; V=20mm/min e) 100A E= 20µJ; V=50mm/min f) 100A E= 20µJ; V=3000mm/min.....	94
Figura 27: Quadrado do diâmetro como função da fluência do pulso para alumina pura e compósito alumina-zircônia. A fluência limiar encontrada foi 6,2J/cm ² para alumina e 2,2 J/cm ² para alumina-zircônia.....	95
Figura 28: Micrografias da amostra 85A15TZP irradiadas por laser de femtossegundo. a)Trilha individual na superfície com F=4,3J/cm ² ; Np=1024. b) Furo simples na superfície com F=2,3J/cm ² ; Np=1.....	96
Figura 29: Micrografias das amostras tratadas superficialmente com laser de femtossegundo. a) 100A E = 32 µJ; Np = 32; b) 85A15TZP E = 13 µJ; Np=1024; c) 100A E = 20 µJ; Np = 1; d) 85A15TZP E = 7 µJ; Np = 1.....	97
Figura 30: Difratoograma da amostra 85A15TZP E= 7µJ; Np = 1 texturizada com laser de femtossegundo.....	98
Figura 31: Difratoograma da amostra 85A15TZP E = 13 µJ; Np = 1024 texturizada com laser de femtossegundo.....	99
Figura 32: Difratoograma da amostra 100A E = 20 µJ; Np = 1 texturizada com laser de femtossegundo.....	99

Figura 33: Difratoograma da amostra 100A E = 32 μ J; Np = 32 texturizada com laser de femtossegundo.....	100
Figura 34: Difratoograma da amostra 100A E = 109 μ J; Np = 512 texturizada com laser de femtossegundo.....	100
Figura 35: DRIFT das amostras de alumina e alumina-zircônia antes e após o tratamento com laser de femtossegundo.....	106
Figura 36: Detalhamento do DRIFT na região de 400 a 800 cm^{-1} das amostras de alumina e alumina-zircônia antes e após o tratamento com laser de femtossegundo.....	107
Figura 37: Micrografias das amostras de alumina (100A) tratadas e não tratadas superficialmente com laser de femtossegundo imersas em 1,5 SBF por 3, 6 e 15 dias. a) 100A (3 dias); b) 100A E=20 μ J; Np=1 (3 dias); c) 100A E = 32 μ J; Np = 32 (3 dias); d) 100A (6 dias); e) 100A E=20 μ J; Np=1 (6 dias); f) 100A E = 32 μ J; Np = 32 (6 dias); g) 100A (15 dias); h) 100A E=20 μ J; Np=1 (15 dias) e i) 100A E = 32 μ J; Np = 32 (15 dias).....	109
Figura 38: Micrografias das amostras de alumina-zircônia (85A15TZP) tratadas e não tratadas superficialmente com laser de femtossegundo imersas em 1,5 SBF por 3, 6 e 15 dias. a) 85A15TZP (3 dias); b) 85A15TZP E = 7 μ J; Np = 1 (3 dias); c) 85A15TZP E = 13 μ J; Np = 1024 (3 dias); d) 85A15TZP (6 dias); e) 85A15TZP E = 7 μ J; Np = 1 (6 dias); f) 85A15TZP E = 13 μ J; Np = 1024 (6 dias); g) 85A15TZP (15 dias); h) 85A15TZP E = 7 μ J; Np = 1 (15 dias) e i) 85A15TZP E = 13 μ J; Np = 1024 (15 dias).....	110
Figura 39: Micrografia e EDS da amostra 100A não tratada superficialmente com laser de femtossegundo imersa em 1,5 SBF por 3 dias.....	111
Figura 40: Micrografia da amostra 85A15TZP não tratada superficialmente com laser de femtossegundo imersa em 1,5 SBF por 3 dias.....	112
Figura 41: Micrografia da amostra 85A15TZP E=13 μ J; Np=1024 imersa em 1,5 SBF por 3 dias.....	113
Figura 42: DRIFT das amostras de alumina e alumina-zircônia sem tratamento e após tratamento com laser de femtossegundo imersas em 1,5 SBF durante 15 dias.....	114
Figura 43: Espessura da camada de apatita formada na amostra 85A15TZP não tratada e tratada com laser de femtossegundo imersa em 1,5 SBF por 3, 6 e 15 dias.....	115
Figura 44: Espessura da camada de apatita formada na amostra 100A não tratada e tratada com laser de femtossegundo imersa em 1,5 SBF por 3, 6 e 15 dias.....	116
Figura 45: Micrografia da amostra 100A sem tratamento superficial com laser de femtossegundo imerso em 1,5 SBF por 6 dias, mostrando o comportamento da adesão da camada de apatita. Detalhe do mapa da concentração de alumínio e cálcio na linha base de análise.....	117
Figura 46: Micrografia da amostra 100A E=20 μ J; Np=1 imersa por 6 dias em 1,5SBF, mostrando o final da indentação com carga de 30N.....	118

Figura 47: Micrografia da amostra 100A E=32 μ J; Np=32 imersa por 6 dias em 1,5SBF, mostrando o final da indentação com carga de 30N.....	119
Figura 48: Micrografia das indentações mostrando o deslocamento da apatita na amostra 100A sem tratamento superficial com laser de femtossegundo imersa por 15 dias em 1,5SBF.....	120
Figura 49: Micrografia do final da indentação com carga de 30N na amostra 100A E=20 μ J; Np=1 imersa por 15 dias em 1,5SBF.....	120
Figura 50: Micrografia das indentações mostrando o deslocamento da apatita na amostra 100A E=32 μ J; Np=32 imersa por 15 dias em 1,5SBF.....	121
Figura 51: Micrografia das indentações mostrando o deslocamento da apatita na amostra 85A15TZP sem tratamento superficial com laser de femtossegundo imersa por 15 dias em 1,5SBF.....	122
Figura 52: Micrografia do final da indentação com carga de 30N na amostra 85A15TZP E=7 μ J; Np=1 imersa por 15 dias em 1,5SBF.....	123
Figura 53: Micrografia do final da indentação com carga de 30N na amostra 85A15TZP E=13 μ J; Np=1024 imersa por 15 dias em 1,5SBF.....	123
Figura 54: Perfil de concentração de alumínio e cálcio na amostra 85A15TZP E=13 μ J; Np=1024 imersa por 15 dias em 1,5SBF.....	124
Figura 55: Perfil de concentração de alumínio e cálcio na amostra 85A15TZP E=7 μ J; Np=1 imersa por 15 dias em 1,5SBF.....	125

1. INTRODUÇÃO

Os biomateriais podem ser subdivididos em categorias de acordo com suas reatividades superficiais relativas ao organismo receptor em bioinertes e bioativos (reabsorvíveis e não reabsorvíveis). A maioria dos biomateriais em uso clínico para substituição óssea ou dentária é bioinerte e poroso, devendo ser não-tóxicos, não-irritantes e não-cancerígenos, além de serem biomecanicamente estáveis, adaptáveis às suas funções e íntegros em seu tempo de uso (GROSS, et al., 1985). Materiais cerâmicos bioinertes têm sido utilizados em aplicações ortopédicas por serem relativamente inertes em relação à reação que provocam no tecido adjacente e por apresentarem boa resistência mecânica e tribológica. Quando implantados, costumam ser envolvidos por uma fina cápsula de tecido fibroso com espessura de apenas algumas camadas de células, podendo eventualmente ocorrer contato direto com o tecido ósseo. Normalmente, a espessura dessa cápsula fibrosa depende de vários fatores, tais como, tipo do tecido adjacente, saúde e idade do tecido, circulação sanguínea no tecido e na interface material-tecido, movimento na interface material-tecido, esforço mecânico do tecido, composição do implante, morfologia e porosidade na superfície do implante, reações químicas e esforço mecânico do implante (HENCH, et al., 1993).

A reação do tecido na presença de materiais cerâmicos pode ser influenciada pelo fato destes materiais serem atacados em meio fisiológico (DRUMMOND, et al., 1979). Hidrólise da superfície pode produzir dissolução e liberação de óxidos, o que ocorre com maior facilidade quanto maior o teor de impurezas do material (HOMSY, 1973). A quantidade de material liberado e consequentemente disponível para interagir com os elementos celulares associados ao efeito desta interação determina a extensão da reação do tecido.

Em 1991, foi proposto que a exigência essencial para um material artificial aderir ao osso era a formação de uma apatita parecida com o osso em sua superfície quando implantado no corpo; e essa formação da apatita, pode ser reproduzida em um fluido que simula o corpo humano com concentrações de íons similares a do plasma sanguíneo humano. Isso significa que a bioatividade de um material pode ser avaliada a partir da formação da apatita em sua superfície em solução simulada de fluidos corpóreos (SBF). Desde então, vários estudos tem sido realizados sobre o crescimento e aderência da apatita em vários materiais metálicos, poliméricos e cerâmicos candidatos a implantes (KOKUBO, et al., 1991). O recobrimento biomimético proporciona propriedades mecânicas

compatíveis com a estrutura óssea e induz deposição de apatita na superfície do implante, ocasionando um rápido crescimento ósseo (KIM; JEE, 2003). Outra grande vantagem deste método reside na incorporação de moléculas biologicamente ativas regulando o processo de regeneração da fratura com uma rápida regeneração óssea (WEN, et al., 1999; ROSEN, et al., 1992).

Alguns estudos avaliam o efeito de pré-tratamentos superficiais no crescimento e aderência da apatita nestes materiais. (ARIASA, 2003; FORSGREN, 2007; KOKUBO, 1996, UCHIDA, 2002, CORTES, 2005, AGUIAR, 2007, SIOSHANSI, 1996).

A vertente da utilização de um processo prévio de ativação da superfície se apoia no fato de assegurar uma adequada união interfacial entre o componente bioinerte e o bioativo a ser depositado. A integração entre a superfície da cerâmica previamente ativada e o filme depositado é otimizada pelo desenvolvimento de espécies reativas na superfície, com afinidade para íons cálcio e fósforo presentes na solução simulada de fluidos corpóreos (SBF). A natureza da ligação, neste caso, não é simplesmente mecânica, mas também promove uma melhora na resistência da interface. Há evidências de interações íntimas entre filme e substrato ao se adotar tal procedimento, do contrário, os recobrimentos obtidos podem se comportar como uma cerâmica frágil, falhando quando submetidos a cargas mecânicas (KOKUBO, et al., 1991).

As topografias superficiais de implantes ósseos têm mostrado influências nas reações celulares. Brunette ilustrou o significativo efeito de topografias superficiais de implantes dentários na orientação e migração de fibroblastos, células epiteliais e osteoblastos (BRUNETTE, 1988; BRUNETTE, et al., 1992). Além disso, uma relação geral tem surgido indicando que superfícies lisas promovem a formação do encapsulamento do implante pelo tecido fibroso, enquanto que superfícies rugosas promovem a formação de uma integração óssea mais íntima (CHEROUDI, et al., 1989; INOUE, et al., 1987). Deste modo, há uma considerável evidência que a adesão, migração e funções de adsorção das células são influenciadas pela topografia dos substratos. Sabe-se que a formação da matriz mineralizada por osteoblastos pode também ser influenciada pelas propriedades superficiais do substrato (GOMI, et al., 1993).

A maioria das propriedades superficiais determinantes para a adesão celular são a topografia e a reatividade química superficial. A topografia de uma superfície afeta substancialmente o comportamento macroscópico de um material (ASSENDER, et al., 2002). À nível celular, respostas biológicas, bem como a orientação, migração e produção

celular são diretamente influenciadas pela topografia superficial (FLEMMING, et al., 1999). Há evidências de que uma adequada rugosidade superficial em escala nano e microscópica, podem levar a um sucesso na osseointegração de implantes (RUPP, et al., 2004). Diferenciação, proliferação e produção da matriz osteoblástica (MARTIN, et al., 1995) bem como a produção de crescimentos celulares locais são afetados pela rugosidade superficial (KIESWETTER, et al., 1996).

A rugosidade superficial do substrato influencia significativamente na elaboração direcional do tecido ósseo e, desta forma, na quantificação e distribuição espacial óssea (GOMI, et al., 1993). Para Buser et al., a rugosidade na superfície de um implante geralmente demonstra aumento na aposição óssea, quando comparada com superfícies lisas (polidas) (BUSER, et al., 1991).

Quanto maior a rugosidade, menor o ângulo de contato e mais molhável é a superfície. O efeito da redução do ângulo de contato acontece em função do aumento da área superficial da superfície mais rugosa. Isto facilitaria a permanência de água nas porosidades, podendo contribuir para uma hidratação muito mais eficiente, proporcionando um filme de água mais estável, acentuando a natureza hidrofílica da superfície. Deste modo, a molhabilidade de implantes pode se tornar determinante na adsorção protéica e consequentemente na adesão celular (ZHU, et al., 2004; ADVINCULA, et al., 2006). Assim, superfícies de biomateriais com moderada hidrofiliidade, melhoram o crescimento celular e aumentam a biocompatibilidade (JANSSEN, et al., 2004).

Os aspectos inovadores da presente proposta estão relacionados com a modificação da superfície (texturização) pela aplicação do laser de femtossegundo, visando melhorar a adesão e o crescimento da hidroxiapatita. A texturização de superfícies de compósitos de alumina-zircônia tem sido pouco estudada. Poucos trabalhos sobre a modificação da superfície utilizando laser versam sobre a texturização com laser de CO₂, que produz modificações superficiais, alterando as propriedades do material de maneira deletéria, tais como, fragilização e transformação de fase da zircônia. A estrutura cristalina da zircônia deve ser tetragonal devido à estabilidade estrutural inerente a esta fase (KURELLA, et al., 2005). Além disto, existem poucos trabalhos que avaliam a adesão da hidroxiapatita obtida por método biomimético em substrato de compósito de alumina-zircônia e sua relação com as propriedades da superfície onde ocorre o crescimento.

2. OBJETIVOS

Em função dos aspectos que influenciam a deposição e a adesão dos tecidos ósseos nos biomateriais, o objetivo geral do trabalho é avaliar a adesão da hidroxiapatita, depositada pelo método biomimético, em substrato de alumina-zircônia com superfícies texturizadas com laser de femtossegundo.

Neste trabalho será focado o efeito da texturização a laser (laser de femtossegundo) em compósitos de $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ por meio da avaliação da rugosidade, da molhabilidade, da adesão e da microestrutura, a fim de promover crescimento e adesão efetiva da hidroxiapatita.

Dentro desse objetivo, inserem-se como objetivos específicos:

- Determinação das condições de operação do laser de femtossegundo para texturização controlada de superfícies de compósitos de alumina-zircônia.
- Estudo da molhabilidade do SBF em substrato de alumina-zircônia antes e após o tratamento a laser.
- Determinação das energias superficiais dos substratos antes e após o tratamento a laser.
- Avaliação da microestrutura e fases formadas com o tratamento a laser.
- Determinação da rugosidade do substrato.
- Correlação dos fatores citados acima com a adesão da hidroxiapatita no substrato.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os biomateriais podem ser compatíveis com o ambiente fisiológico por possuírem íons compatíveis, tais como potássio, cálcio, magnésio, sódio, entre outros. Esses íons podem apresentar toxicidade limitada ao tecido corpóreo (HENCH, et al., 1993).

As biocerâmicas inertes apresentam pouca ou mínima variação química durante longo período em ambiente fisiológico. Até mesmo nesses casos onde as biocerâmicas podem estar sujeitas em longo prazo por agressões químicas e mecânicas, a concentração de produto de degradação em tecidos adjacentes é facilmente controlada pelo mecanismo regulador natural do corpo. As biocerâmicas inertes mais utilizadas em implantes cirúrgicos são a alumina e zircônia (HENCH, et al., 1993).

A alumina tem alta densidade e alta pureza. Cerâmicas de alumina têm sido utilizadas para implantes e próteses por muitas décadas. Esse material é caracterizado por sua excelente biocompatibilidade, alta resistência à corrosão e elevada resistência ao desgaste. Resistência ao desgaste é de particular interesse para os componentes de implante, como articulações artificiais, sendo esta, a razão principal para o uso deste material, predominante na cabeça femoral (FISCHER, et al., 2005)

Os dispositivos de alumina são constituídos de finos grãos policristalinos produzidos pela pressão e sinterização na faixa de temperatura entre 1600°C e 1800°C dependendo das propriedades do material. Resistência a fadiga e tenacidade a fratura da alumina são funções do tamanho de grão e porcentagem de densificação. A alumina com tamanho médio de grão menor que 4µm e maior que 99,7% de pureza, exibe boa resistência a flexão e excelente resistência a compressão. Essas e outras propriedades físicas são resumidas na Tabela 1 para um implante comercialmente disponível, juntamente com as exigências da ISO e propostas de novas normas para implantes de alumina (HENCH, et al., 1993).

Um aumento do tamanho médio de grão para > 7 µm pode diminuir as propriedades mecânicas do material em torno de 20%. Existem métodos para prever o tempo de vida útil e testes estatísticos para cerâmicas submetidas a esforços mecânicos. Uma vida útil de 30 anos com resistência mecânica em torno de 12000 N ou 200 MPa tem sido prognosticada. Isso mostra que para se ter 30 anos de vida útil com falhas menores do que 1 em 100 implantes, a máxima resistência a tração que pode ser aplicada é limitada a < 200MPa. Se a tensão aplicada ao componente cerâmico for de 250MPa, dentro de 3 anos,

4% dos implantes provavelmente irão falhar e dentro de 30 anos, 7% dos implantes provavelmente falharão. Resultados de estudos de envelhecimento e fadiga mostram que é essencial que implantes de alumina sejam produzidos com o mais alto padrão de garantia de qualidade, especialmente se são utilizados como próteses ortopédicas em pacientes jovens (HENCH, et al., 1993).

Tabela 1: Características físicas das biocerâmicas de Al_2O_3 (HENCH, et al., 1993)

	Implantes cerâmicos de Alumina comercialmente disponíveis	Norma ISO 6474	Novas propostas da ISO
Alumina (% mássica)	>99,7	$\geq 99,51$	
Densidade (g/cm^3)	3,98	$\geq 3,98$	$\geq 3,94$
Tamanho médio de grão (μm)	3,6	< 7	< 4,5
Dureza (Vickers HV)	2400	> 2000	

A alumina tem excelente biocompatibilidade e resistência ao desgaste, entretanto, exibe moderada resistência a flexão e tenacidade. Por essas razões, o diâmetro da maioria das próteses de cabeças de fêmur de alumina é limitado em 32 mm (HENCH, et al., 1993).

A zircônia é excepcionalmente inerte em ambiente fisiológico (GARVIE, et al., 1984; TATEISHI, et al., 1987) e as cerâmicas de zircônia têm vantagens em relação às cerâmicas de alumina por serem mais resistentes a flexão, possuírem maior tenacidade a fratura e mais baixo módulo de Young (STREICHER, et al., 1991). As cerâmicas de zircônia utilizadas em implantes cirúrgicos podem ser de dois tipos básicos: Zircônia tetragonal estabilizada com ítria (TZP) e a zircônia estabilizada parcialmente com óxido de magnésio (Mg-PSZ). As propriedades da zircônia são comparadas com as cerâmicas de alumina na Tabela 2.

Tabela 2: Propriedades das cerâmicas de alumina e zircônia utilizadas em implantes cirúrgicos (HENCH, et al., 1993)

Propriedade	Unidade	Al ₂ O ₃	TZP	Mg-PSZ
Pureza	%	>99,7	97	96,5
Y ₂ O ₃	mol %	----	3	----
MgO	wt %	----	----	3,4
Densidade	g/cm ³	3,98	6,05	5,72
Tamanho de grão (média)	µm	3,6	0,2-0,4	0,42
Resistência a compressão	MPa	4250	2000	1850
Módulo de Young	GPa	400	150	208
Dureza	HV	2400	1200	1120
Tenacidade a fratura (K _{IC})	MN/m ^{3/2}	5	7	8

A zircônia pode ser satisfatória em próteses de quadril. Entretanto, há três controvérsias em relação à zircônia. A primeira é a redução de sua resistência com o tempo em fluidos fisiológicos; a segunda são suas propriedades de desgaste e a terceira é a radioatividade potencial do material (HENCH, et al., 1993).

A zircônia pura não costuma ser utilizada sem adição de agentes de estabilização da estrutura cristalina, uma vez que a transformação da fase tetragonal para monoclinica durante o resfriamento subsequente à etapa de sinterização provoca expansão volumétrica e consequente ruptura da cerâmica. Quando estabilizada com 3 mol% de ítria, a zircônia pode manter sua estrutura tetragonal a altas temperaturas e ser metaestável a temperatura ambiente (MORAES, 2004; HENCH, 1998).

Uma das preocupações referentes ao uso da zircônia é a sua degradação a baixas temperaturas (< 300°C) em presença de umidade. O envelhecimento ocorre por uma lenta transformação na superfície, na presença de água ou vapor de água, para a fase monoclinica estável. A transformação inicia-se na superfície por corrosão sob tensão, em grãos isolados. A transformação inicial de grãos específicos pode ser devido ao estado de desequilíbrio microestrutural ocasionado por diferentes fatores: tamanho maior de grãos,

menor quantidade de ítria, orientação específica da superfície, presença de tensão residual ou presença de fase cúbica. Essa transformação induz a uma série de eventos, ocorrendo de grão vizinho para grão vizinho. A transformação de um grão conduz a um aumento de volume, tensionando grãos vizinhos e formando micro trincas. Este mecanismo oferece um caminho para a penetração da água no volume da amostra. Essa transformação ocorre por nucleação e processo de crescimento do grão. Devido à fase monoclínica ser o estado de equilíbrio da zircônia, não há ausência de envelhecimento. Sabe-se, da literatura, que a questão do envelhecimento da zircônia é manter a ítria como dopante. Dada à moderada tenacidade da alumina e a questão do envelhecimento da zircônia, há uma tendência em desenvolver compósitos de alumina-zircônia. Este pode ser o caminho para se beneficiar da tenacidade gerada pela zircônia sem o maior obstáculo associado à sua transformação sob água ou sob ação de fluídos corpóreos (CHEVALIER, 2004). A adição da zircônia à alumina aumenta a resistência à flexão, tenacidade à fratura e a resistência à fadiga dos materiais (PIERRI, et al., 2006). A adição de alumina à zircônia retarda o envelhecimento, reduzindo drasticamente sua cinética de transformação (CHEVALIER, 2004).

A transformação martensítica deletéria da fase tetragonal para fase monoclínica em zircônia dopada com ítria, devido ao envelhecimento em água acompanhado da redução da tenacidade, é bem documentada (SATO, et al., 1985). Entretanto, testes em fluídos que simulam o plasma sanguíneo humano e em animais, tem mostrado pequenas diminuições da resistência a fratura e tenacidade da zircônia (CHRISTEL, et al., 1989; DRUMMOND, 1992). A resistência observada após dois anos nesses materiais é ainda muito maior do que a resistência da alumina testada em condições similares (DRUMMOND, 1992).

A zircônia é geralmente acompanhada por elementos radioativos com um longo tempo de meia-vida, como o tório e o urânio. Esses elementos são difíceis e custosos para se separar da zircônia. Há dois tipos de radiações nas cerâmicas de zircônia: Gama e a alfa. A radioatividade gama é encontrada também na alumina e ligas de Co-Cr. A alumina tem mais baixa radioatividade gama quando comparada com a zircônia e ligas de Co-Cr que possuem aproximadamente a mesma radioatividade; porém o nível de radiação gama em biocerâmicas de zircônia disponíveis comercialmente não é a maior preocupação. Já as partículas alfa, devido a sua alta capacidade de ionização, destroem células de tecido mole e duro. A emissão alfa observada em próteses de cabeça de fêmur de cerâmicas de zircônia é uma preocupação, embora a atividade seja pequena (HENCH, et al., 1993).

Uma consequência do alto módulo elástico da cerâmica de alumina, é que, o implante biocerâmico protegerá o osso de cargas mecânicas, permitindo que quase todas as cargas mecânicas sejam suportadas pelo implante. O osso deve estar sob certas quantidades de carga para se manter saudável, se o mesmo não sofrer carga ou sofrer carga de compressão, mudanças biológicas acontecerão, o qual leva a reabsorção e enfraquecimento ósseo e deterioração da interface implante-osso. O alto módulo de elasticidade da alumina limita sua eficácia como materiais interfaciais ósseos. A resposta para a diminuição do módulo elástico é a utilização de um material compósito (HENCH, et al., 1993).

Quando comparada aos materiais metálicos, um aspecto problemático de materiais cerâmicos é sua baixa resistência mecânica e tenacidade à fratura (MORAES et al., 2004). Em função dessas razões, tem sido proposto o uso do compósito de alumina-zircônia de alta densidade como biomaterial, como alternativa.

Materiais artificiais utilizados como preenchimento em ossos defeituosos, dependendo da natureza, são encapsulados por um tecido fibroso, isolando-o do contato com o tecido do osso. Entretanto em 1972, Hench et al. mostraram que alguns biovidros espontaneamente aderem ao osso sem a formação do tecido fibroso em sua volta. Desde então, muitos tipos de cerâmica como a hidroxiapatita sinterizada, β fosfato tricálcico sinterizado, apatita/ cerâmica bifásica, β fosfato tricálcico e vitro-cerâmica A-W contendo apatita cristalina e wollastonita tem mostrado que aderem ao osso e são usados clinicamente como importantes substitutos ósseos. Entretanto, essas cerâmicas não são compatíveis mecanicamente com relação à matriz óssea receptora.

A Tabela 3 mostra as propriedades mecânicas de materiais bioinertes (alumina, zircônia) e de materiais bioreabsorvíveis (hidroxiapatita) (PARK, 2003; BHUSHAN, 1991; SUCHANEK, 1998). Como pode ser visto na Tabela, a maior desvantagem da hidroxiapatita são suas propriedades mecânicas, onde sua tenacidade à fratura K_{IC} é $<1.2 \text{ MPa.m}^{1/2}$. Por outro lado, a tenacidade à fratura do osso humano varia de 2 a $12 \text{ MPa.m}^{1/2}$. Portanto, a aplicação de hidroxiapatita é limitada a aplicações que exigem baixa solicitação mecânica, como deposição em substratos ou implantes porosos.

Tabela 3: Comparação das propriedades mecânicas entre material bioinerte (alumina, zircônia) e bioreabsorvível (hidroxiapatita) (PARK, 2003; BHUSHAN, 1991; SUCHANEK, 1998)

Propriedades	Alumina (99.8% peso)	Hidroxiapatita	Zircônia parcialmente estabilizada com íttria
Densidade (g/cm ³)	>3,93	3,156	6,05
Dureza (Vickers)	2.400	500–800	1.200
Tenacidade à Fratura (MPa.m ^{1/2})	5–6	~1,0	7,0
Tensão de Compressão (MPa)	4.250	100–900	2.000
Módulo de Elasticidade (rigidez) (GPa)	400	70–120	150

O desenvolvimento de materiais que aderem ao osso com diferentes propriedades mecânicas é desejado (KOKUBO et al., 2006). A técnica de recobrimento biomimético, em que a formação de camada de apatita com características semelhantes à apatita biológica ocorre durante a imersão do biomaterial em SBF, teve início em 1990, quando Kokubo et al. verificaram que a imersão de uma vitro-cerâmica bioativa em um fluido acelular, isento de proteína e de composição muito próxima à do plasma sanguíneo, promove a formação de uma camada constituída por cristais de apatita carbonatada de baixa cristalinidade, similar à apatita biológica. Este processo ocorre pela reação entre íons Ca^{2+} lixiviados da vitro-cerâmica com íons PO_4^{3-} presentes na solução de SBF (KELLER, 1995; RAYNAUD, 2001).

Vários modelos biomiméticos de biomineralização de fosfatos de cálcio em superfícies cerâmicas bioativas, em meio de SBF, são propostos na literatura (KOKUBO, 2006). Esses estudos foram realizados em superfícies vítreas bioativas relativas aos sistemas $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$, $\text{Na}_2\text{O-CaO-SiO}_2$, $\text{M}_2\text{O-SiO}_2\text{-TiO}_2$ (M=Na e/ou K) e $\text{Na}_2\text{O-CaO-Al}_2\text{O}_3$, sendo os dois primeiros as composições básicas da vitro-cerâmica A-W (Apatita-

Wollastonita) e do Bioglass®. Observou-se que a formação de fosfatos de cálcio ocorre preferencialmente em materiais baseados nos sistemas CaO-SiO_2 , $\text{M}_2\text{O-SiO}_2$ e $\text{M}_2\text{O-TiO}_2$ ($\text{M}=\text{Na}$ ou K). A caracterização das superfícies vítreas indicou que a formação de fosfato de cálcio é precedida pela formação de grupos Si-OH ou Ti-OH a partir da reação de troca iônica entre os íons Na^+ , K^+ e/ou Ca^+ com H_3O^+ da SBF. A reação dos grupos funcionais com Ca^{2+} do SBF forma silicato/titanato de cálcio amorfos na superfície vítrea que, após longo tempo de imersão, reage com íons PO_4^{3-} do fluido formando fosfatos de cálcio com baixa relação Ca/P . Posteriormente, a relação Ca/P aumenta para 1,65, ocorrendo também a incorporação de íons Na^+ , Mg^{2+} e Cl^- (KOKUBO, et al., 2006).

Quando a alumina é imersa em SBF, o substrato cerâmico hidrofílico acumula grupos OH^- sobre a superfície. Esses grupos atuam como sítios de nucleação e induz íons Ca^{2+} do SBF na superfície do material, sendo estes, impulsionados pelas forças eletrostáticas de atração. Esses sítios se tornam mais ativados pela topografia, acarretando em uma maior entropia no sistema. A formação de uma camada de carga positiva se coordena aos íons PO_4^{3-} , OH^- e CO_3^{2-} do SBF para a nucleação de uma hidroxiapatita carbonatada deficiente em cálcio na superfície do substrato cerâmico (CHAKRABORTY, et al., 2008).

É de difícil obtenção biomateriais que satisfaçam todas as exigências para uma determinada aplicação. Por exemplo, um material candidato a implante pode ter propriedades mecânicas adequadas, mas pode ser incompatível com o ambiente biológico e vice-versa. Consequentemente é necessário alcançar um equilíbrio na escolha desses materiais. As características desses materiais são frequentemente determinadas pelas propriedades da superfície e do interior do material. Modificações realizadas no interior do material limitam as opções na seleção desses materiais, pois se subentende aplicação de novos materiais e, geralmente, não são economicamente ou tecnologicamente viáveis. Entre as alternativas disponíveis, a alteração das propriedades da superfície pode ser a solução para melhoria do desempenho desses materiais. A engenharia de superfície parece oferecer as condições necessárias para melhora da funcionalidade e biocompatibilidade de implantes (PARK, et al., 2003).

Em aplicações práticas, a superfície de um material está sujeita a influência de vários estímulos externos. Frequentemente, os fenômenos relacionados à superfície do material podem levar a desempenho ruim. Corrosão, oxidação, desgaste e fadiga são alguns fenômenos de degradação de materiais que se iniciam na superfície. Afrouxamento

de implante devido ao desgaste, associado à fraca adesão, troca iônica e corrosão são algumas das razões atribuídas ao fracasso de implantes dentro do ambiente biológico. Geralmente, as cirurgias de revisões são complexas e caras. Assim, existe um empenho constante dos cientistas em melhorar as propriedades relacionadas à superfície de biomateriais (PARK, et al., 2003).

A adesão da hidroxiapatita na superfície do substrato é essencial para interação com o meio biológico. A qualidade desta adesão influenciará a morfologia e a capacidade futura de osseointegração. A adesão da hidroxiapatita depositada em materiais, bem como sua morfologia, depende das propriedades de superfície de materiais. Estudos prévios mostram que estas características de superfície dependem da química de superfície (SIOHANSI, et al., 1996), energia de superfície (PICONI, et al., 1999) e topografia de superfície (CHEVALIER, et al., 2004). Geralmente, a reatividade de superfície e energia de superfície pode ser influenciada pelas características de molhabilidade, influenciando o desempenho dos biomateriais. Além do que, a adesão e o crescimento da apatita depositada também é função da rugosidade.

Dentre os poucos trabalhos publicados sobre tratamento de superfície em materiais cerâmicos a base de zircônia e alumina para aplicação como biomaterial pode-se destacar os trabalhos de Aguiar (AGUIAR, 2007) e Uchida (UCHIDA, et al., 2002) que pesquisaram o efeito do tratamento químico na superfície de compósitos de alumina-zircônia e Hao (HAO, et al., 2004) que utilizaram laser de CO₂ para modificar a rugosidade e energia de superfície de zircônia estabilizada com magnésia. Uchida (UCHIDA, et al., 2002) determinaram que materiais submetidos a ataque químico de ácido fosfórico e hidróxido de sódio geram grupos funcionais de Zr-OH na superfície do compósito. Aguiar (AGUIAR, 2007) mostrou que estes ataques químicos causam a transformação da zircônia tetragonal em monoclinica, reduzindo a tenacidade à fratura destes materiais, inviabilizando sua aplicação como biomaterial. Além disto, verificou que a deposição biomimética da apatita no substrato de alumina-zircônia foi efetiva em materiais rugosos sem tratamentos químicos de superfície. Hao (HAO, et al., 2004) mostraram que a molhabilidade, que é um parâmetro importante para a adesão da célula, foi mais influenciada pelas mudanças microestruturais e pelo teor de oxigênio na superfície do que pela rugosidade. Vale ressaltar que eles utilizaram laser de CO₂ contínuo, que causa a fusão da superfície quando tratada com densidade de potência superior a 1,6 KW/cm², não permitindo o controle de obtenção de superfícies muito rugosas. Nesta densidade de

potência a rugosidade encontrada foi 0,717 μm . Variando a densidade de potência ocorreram as seguintes mudanças estruturais de ordem cristalina: reordenação cristalina (0,6 kW/cm^2), estrutura hexagonal (0,9 kW/cm^2), formação de células (1,6 kW/cm^2), estrutura celular uniforme (1,9 kW/cm^2), e corais e dendritas (2,5 kW/cm^2). Não foi avaliado o quanto estas modificações superficiais alteraram os grupos funcionais e a tenacidade à fratura do material.

Densidade de potência é a potência incidente na superfície do material, por unidade de área, geralmente medida em W/cm^2 (RIBEIRO, et al., 2004).

Klopčič et. al., (KLOPČIČ, et al., 2007) estudaram a formação de apatita em cerâmicas de alumina e de zircônia imersas em solução supersaturadas de Ca/P. Eles mostraram que a formação da apatita é independente do substrato para amostras polidas. Aguiar (AGUIAR, 2007) concluiu que a formação da apatita é independente do substrato em amostras não polidas. A taxa de crescimento da apatita em superfícies não polidas é superior às aquelas com superfícies polidas. O propósito de modificar a superfície para melhorar a biocompatibilidade é, também, manter as propriedades fundamentais do interior do material. Tipicamente, modificações na superfície podem alterar os átomos, combinações ou moléculas na superfície existente quimicamente ou fisicamente, ou cobrir a superfície existente com um material diferente.

O termo "texturização da superfície" está associado à modificação física das propriedades funcionais da superfície de um objeto através de engenharia de superfície (SEMAK, et al., 1998). A adesão e o crescimento da camada de apatita a ser depositada pelo método biomimético, podem ser influenciados pela texturização da superfície. O controle da morfologia de superfície é de importância primordial. Está bem estabelecido que a estrutura física influencia nas respostas celulares e consequentemente nas aplicações de biomateriais (CHEVALIER, et al., 2004).

Engenharia de superfície a laser é um método de processamento de material que utiliza alta densidade de energia de luz focalizada para aquecer ou fundir os materiais com o intuito de gerar modificações próximas à superfície (SEMAK, et al., 1998). Dependendo do material e dos parâmetros de processo, podem ocorrer mudanças microestruturais, refinamento de grão, transformações de fase, formação de ligas, mistura de materiais e formação de compósitos na superfície, sem afetar, de fato, o material no seu interior. A focalização e a curta duração do pulso do laser em uma pequena região da amostra

estabelecem altos gradientes térmicos entre a fase líquida formada e o substrato que permanece relativamente frio abaixo da região afetada pelo laser. O alto gradiente térmico, junto com o modo de condução de transferência de calor, pode estabelecer taxas de resfriamento da ordem de 1000 K/s. Devido a taxa de resfriamento quase sempre alta (geralmente $>10^3$ K/s), ocorre frequentemente o congelamento da microestrutura em estado de não-equilíbrio, que pode afetar o comportamento mecânico e a reatividade química do material (AGARWAL, et al., 2000).

Baseado nestas premissas, a aplicação do laser em biomateriais está evoluindo rapidamente em duas frentes, em diferentes áreas. A primeira é usada para deposição de filmes finos; a outra área de interesse é a de texturização com laser na superfície de biomateriais, procurando obter estruturas micrométricas e submicrométricas. Para aplicações de texturização, vários lasers são utilizados dependendo das características do material a ser processado (AGARWAL, et al., 2000). São eles:

Texturização com laser de CO₂: Laser de CO₂ com $\lambda=10,6$ μm . Pode ser operado tipicamente em uma gama de potência de 1.5-5 kW, podendo ter emissão contínua ou pulsada (Q-Switch) com pulsos de duração temporal da ordem de nanossegundos. É utilizado para processar materiais metálicos e cerâmicos. Com esta faixa de potência, a intensidade máxima na superfície pode ser 10 MW/cm². Este laser é usado para texturização de superfícies laminadas. Porém, causa oxidação de superfície e fragilização (AGARWAL, et al., 2000).

Texturização com laser de Nd:YAG: Laser de Nd:YAG com $\lambda=1,06$ μm . Pode ser operado em uma gama de potência de até 2kW, podendo ter emissão contínua ou pulsada com pulsos de duração temporal da ordem de picossegundos. A taxa de repetição de pulso de laser de Nd:YAG pode ser eletronicamente controlada e, conseqüentemente, padrões predeterminados podem ser produzidos com precisão. A topografia consiste de crateras sobrepostas em trilhas fundidas que são produzidas com a aplicação de pulsos sobrepostos a ondas contínuas de fundo. O feixe de um laser de Nd:YAG pode ser focalizada em pontos de tamanho menores por causa do comprimento de onda mais curto quando comparado com laser de CO₂ (AGARWAL, et al., 2000).

Texturização de laser de Excimer: Polímeros não podem ser precisamente usinados por meio de luz infravermelha produzida por laser de Nd:YAG que operam a 1.064 nm e que são usados para micro-usinagem de materiais metálicos. Laser de Ultra-

Violeta (UV), operando a <400 nm, é útil para tratamento superficial de polímeros. Durante submicro usinagem da superfície de polímeros, laser UV produz a ablação do polímero, quebrando as ligações moleculares na superfície, não gerando produção de calor (CALLEWAERT, 2003).

Ablação por laser é o processo de remoção de material a partir de uma superfície sólida por irradiação com um feixe de laser (VOGEL, et al., 2003).

Texturização com laser de femtossegundo: Pulsos laser com largura temporal extremamente curta estão se tornando uma ferramenta cada vez mais utilizada no processamento de materiais. O tempo de duração do pulso da ordem de 10^{-13} a 10^{-14} s (10^{-15} s = 1 femtossegundo) faz com que duas características sejam muito diferentes daquelas encontradas com outros pulsos laser: o tempo de deposição da energia pode ser menor que o tempo de relaxação elétron-fônon e a intensidade pode chegar a 10^{18} W/cm². Assim, sob condições específicas, é possível a remoção de material de maneira inteiramente não-térmica, ou seja, um processo onde não ocorre uma fusão com posterior ressolidificação e nem mesmo uma zona afetada pelo calor. A potência extremamente alta implica em campos elétricos com amplitude capaz de causar fenômenos ainda pouco conhecidos. Assim, a sua utilização em materiais como os propostos vai levar à obtenção de superfícies cuja ablação não envolve material ressolidificado, maior controle da zona afetada e cuja estrutura de distribuição de cargas e íons será certamente muito diferente daquela obtida com os lasers tradicionais. A Tabela 4 apresenta de forma resumida a comparação do efeito produzido na superfície de materiais texturizados superficialmente por diferentes técnicas (AGARWAL, et al., 2000).

Uma das vantagens do uso de laser de femtossegundo é o preciso controle de potência e tempo de interação do feixe, de modo a controlar a morfologia, profundidade e volume das crateras, com subsequentes pequenos danos térmicos ao material. A Figura 1 apresenta a micrografia de uma amostra de titânio submetida à texturização de superfície em três condições diferentes. Vale ressaltar que pulsos extremamente curtos de feixe laser provocam danos mínimos à superfície do material nas adjacências da cratera (AGARWAL, et al., 2000).

Tabela 4: Comparação entre os processos de texturização de superfícies (AGARWAL, et al., 2000)

Processo	Resolução μm	Rugosidade superficial μm	Outros efeitos
Mecânico	100	6.3-1.6	aleatório, requer polimento
Eletrolítico	100	4.75-1.6	acabamento pobre, lento, processo não limpo
Ataque químico	250	6.3-1.6	Remoção de camadas e aleatório
LIGA	5	1-2	Radiação sincroton, muito caro
Nd: YAG Laser	50	1	Redeposição
Excimer Laser	5	$> 1 \mu\text{m}$	Razão de aspecto
Femtosegundo laser	< 1	nm	Altas potências para algumas aplicações necessitam de vácuo, processo limpo

Figura 1: Micrografia de uma amostra de titânio submetida à texturização de superfície a laser em três condições diferentes: Laser de femtosegundo, 120 fs a) ar b) vácuo c) Nd:YAG, 100 ns (AGARWAL, et al., 2000)

Rosales- Leal, Rodríguez- Valverde, et al. (2010), estudaram o efeito de quatro tratamentos para texturização de superfície em titânio comercialmente puro. Esses tratamentos foram: polimento (pTi), ataque com ácido hidrófluórico (HF) (eTi), lixamento com partículas de alumina (bTi) e lixamento com partículas de alumina+ ataque com HF (beTi). O propósito principal da texturização é otimizar o contato osso-implante, para em ordem, reduzir o tempo de cicatrização e acelerar a integração no tecido hospedeiro. A texturização de implantes dentários melhora a adesão mecânica com o osso e ao mesmo

tempo, a aspereza e as ranhuras provenientes dos tratamentos, podem atuar como sítios para adsorção protéica.

Rosales- Leal et al. (2010), avaliaram o efeito dos quatro tratamentos para texturizações de superfícies de titânio na adesão e crescimento de células osteoblásticas, a partir da topografia (rugosidade, dimensões fractais e morfologia) e molhabilidade induzida por cada tratamento.

Culturas de células foram desenvolvidas em tempos diferentes (180 min, 24h, 48h e 72h). Rugosidades menores foram encontradas em amostras de (pTi) seguidas de (eTi), (bTi) e (beTi). Em um tempo menor ou igual a 24 horas, a adesão celular foi melhor nas amostras de (bTi) e (beTi). Após 48 horas, a proliferação celular melhorou em amostras de (eTi) seguida das superfícies de (beTi). As boas respostas celulares em amostras de (eTi) é explicada pela sua particular morfologia (maiores dimensões fractais). As amostras de Ti polida mostraram superfícies lisas. Já as superfícies atacadas com ácido apresentaram morfologia com microporos com tamanhos na faixa de 1,5 e 2,5 μ m. As amostras lixadas com partículas de alumina apresentaram uma morfologia irregular e grosseira com cavidades largas; essas alterações superficiais podem significativamente retardar a adesão celular. Finalmente as superfícies lixadas com partículas de alumina e atacadas com HF exibiram uma morfologia grosseira, embora menos caótica do que as superfícies lixadas com partículas de alumina e com microporos na faixa de tamanho das amostras atacadas com HF (ROSALES-LEAL, et al., 2010).

As superfícies polidas de titânio apresentaram menor molhabilidade seguida de superfícies atacadas com HF, lixadas com partículas de alumina e lixadas com partículas de alumina e atacadas com HF (ROSALES-LEAL, et al., 2010).

Rosales- Leal et al. (2010) concluíram que a adesão e proliferação celular nas superfícies texturizadas de titânio (com tratamento) com similares químicas de superfície (eTi, beTi) foram conduzidas pelas características topográficas ; a adesão celular em um tempo ≤ 24 h é dependente da área de superfície disponível (maior rugosidade, maior adesão celular) . A proliferação celular em um tempo ≥ 48 h foi influenciada pela morfologia específica (maiores dimensões fractais). Já nas superfícies com dimensões fractais similares, o crescimento celular foi basicamente dependente da área superficial.

Triantafyllidis, Li e Stott (2004), investigaram a permeabilidade da água, a rugosidade da superfície e as características de molhabilidade, nas superfícies cerâmicas de

alumina tratadas com laser de CO₂. A falta de homogeneidade dos refratários de alumina leva a ataque químico local e a presença de poros age como sítios para espécies corrosivas, ambos ocasionando a degradação do material. Tratamentos superficiais com laser por fundição e ressolidificação tem sido um método efetivo para produzir superfícies livres de poros e superfícies homogêneas, podendo assim, reduzir ou mesmo eliminar a penetração de espécies corrosivas e sítios de ataques químicos locais. A quantidade de poros nas amostras não tratadas com laser foram medidas em $14,1 \pm 0,9\%$. As superfícies livres de trincas foram preparadas utilizando laser com densidade de 6W/mm^2 e velocidade de $0,4\text{mm/s}$. Superfícies tratadas contendo trincas termicamente induzidas foram feitas utilizando densidade na faixa de $10\text{-}90\text{ W/mm}^2$ e velocidade na faixa de $1\text{-}15\text{mm/s}$.

Triantafyllidis, Li e Stott (2004) observaram que os materiais não tratados com laser tiveram uma permeabilidade da água de $4,4\text{mg h}^{-1}\text{cm}^{-2}$. A taxa de penetração de água dentro do material era constante. A permeabilidade da água para as amostras com trincas termicamente induzidas foi de $1,1\text{ mg h}^{-1}\text{cm}^{-2}$. As amostras tratadas com laser livre de trincas nas superfícies não tiveram a permeabilidade da água medida. Isso confirma que superfícies livres de poros, livre de trincas foram produzidas, eliminando qualquer possível sítio de penetração. A permeabilidade da água para as superfícies com trincas termicamente induzidas indica superfícies livres de poros, porém, as trincas podem agir como sítios para penetração de espécies quando expostos à ambientes corrosivos. Os poros dos materiais não tratados com laser, certamente permitem também a penetração de espécies quando expostos em ambiente corrosivo.

As amostras que não foram tratadas com laser, às amostras com trincas termicamente induzidas e as tratadas com laser livre de trincas obtiveram rugosidades médias em suas superfícies, respectivamente, $R_a = 12,18\mu\text{m}$, $R_a = 5 - 9,15\mu\text{m}$ e $R_a = 4,26\mu\text{m}$. Os valores de R_a para as superfícies com trincas aumentaram com a densidade e a velocidade do laser (TRANTAFYLLIDIS, et al., 2004).

Os valores dos ângulos de contato para as amostras não tratadas com laser variaram entre 41 a 116° , representando assim, uma superfície não homogênea em termos de composição, morfologia e a presença de poros; consistindo de agregados de diferentes composições ligados a uma matriz porosa. Os valores dos ângulos de contato para amostras tratadas com laser livre de trincas são em média $25,1^\circ$. Já os valores para as amostras com trincas termicamente induzidas são em torno de $23\text{-}41^\circ$, dependendo da rugosidade da superfície. Quanto maior a rugosidade da superfície, maior o ângulo de contato. Os valores

dos ângulos de contato indicaram que a homogeneização e a densificação da superfície cerâmica, resulta em um comportamento mais uniforme de molhabilidade para os materiais tratados com laser em comparação com os materiais não tratados (TRANTAFYLLIDIS, et al., 2004).

Sendo assim, os autores concluíram que as amostras tratadas livres de trincas não são permeáveis à água, enquanto que, tanto as amostras tratadas com laser promovendo a formação de trincas quanto às amostras não tratadas com laser são permeáveis à água (TRANTAFYLLIDIS, et al., 2004).

Tratamentos a laser produziram superfícies mais lisas. Superfícies tratadas foram mais molháveis do que as superfícies não tratadas com laser. As propriedades de molhamento foram dependentes da composição e características morfológicas das superfícies. As superfícies trincadas mostraram uma tendência de aumento no ângulo de contato com a rugosidade (TRANTAFYLLIDIS, et al., 2004).

Hao, Lawrence e Chian (2004), utilizaram osteoblastos humanos fetais para examinarem mudanças na adesão de células em biocerâmicas de zircônia parcialmente estabilizada com magnésia, após tratamento com laser de CO₂. A rugosidade da superfície, microestrutura, tamanho do cristal e a energia de superfície das amostras de MgO-PSZ não tratadas e tratadas com laser de CO₂ foram caracterizadas. Estudos anteriores mostraram que características superficiais, incluindo química de superfície (SCOTCHFORD, et al., 1998; ANSELME, et al., 1999), energia de superfície (REDEY, et al., 2000) e topografia de superfície (ANSELME, et al., 2000), têm uma significativa influência na adesão, morfologia, bem como a maturação dos osteoblastos; e a extensão juntamente com a organização da rugosidade, concomitantemente influencia o comportamento celular. Em superfícies menos organizadas, a adesão e a proliferação das células são menores (ANSELME, et al., 2000).

As amostras MgO-PSZ tratadas com laser têm suas superfícies mais rugosas quando comparadas com as amostras não tratadas. A rugosidade da superfície aumentou com o aumento da densidade de potência do laser. Os valores das rugosidades médias (Ra) foram: 0,295µm (amostras não tratadas); 0,305µm (0,6Kw/cm²); 0,333µm (0,9Kw/cm²); 0,717µm (1,6Kw/cm²); 1,882µm (1,9Kw/cm²); 3,854µm (2,5 Kw/cm²). Nenhuma célula osteoblástica humana foi observada nas amostras que não foram tratadas com laser após 24 horas de incubação, enquanto que poucas células aderiram nas amostras tratadas com laser. Após 7 dias de incubação, as células osteoblásticas cresceram em todas as amostras,

entretanto, o grau de adesão da célula e seu crescimento em termos de área coberta por células variou com a densidade de potência do laser de CO₂. A densidade de potência do laser de 0,6 Kw/cm², aumentou a densidade coberta de células de aproximadamente 17% na amostra tratada em relação a amostra não tratada com laser. A densidade de potência de 0,9 Kw/cm² formou o dobro de densidade coberta por células, enquanto que nas densidades de potências mais altas de 1,6 e 1,9 Kw/cm² formou o triplo de densidade de células nas amostras tratadas comparada com as amostras não tratadas com laser, entretanto, com a maior densidade de potência do laser (2,5 Kw/cm²), não houve um maior aumento de área coberta por células. A maioria das células se espalhou em direção as “ranhuras” produzidas, tanto pelo polimento (sem tratamento), quanto pelo tratamento com laser, indicando, assim, que a topografia da superfície pode influenciar no crescimento, proliferação e ancoragem das células. Geralmente, o número de células aumenta com a densidade de potência do laser; as células nas amostras tratadas com laser na densidade de potência de 1,5 Kw/cm² foi 71% maior em relação as amostras não tratadas. Os tamanhos dos cristais são maiores nas amostras tratadas com laser do que nas amostras não tratadas (34,7nm), indicando que o cristal cresce após a radiação com laser de CO₂. A alta temperatura causada pelo feixe de laser facilita a fundição da superfície localizada, o qual somente uma pequena fração é aquecida no material subsuperficial, ocasionando gradientes térmicos e promovendo o crescimento do cristal. O tamanho do cristal aumenta com o aumento da densidade de potência do laser. O maior tamanho de cristal obtido foi 103,1nm com a densidade de potência do laser de 1,6 Kw/cm². O recobrimento das células aumentou com o aumento do tamanho do cristal, mostrando que o tamanho do cristal pode influenciar na adesão celular, porém não há uma relação linear entre o recobrimento celular e o tamanho do cristal. Os MgO-PSZ com tamanhos de cristais entre 60-100nm exibiram uma melhor adesão celular do que os tamanhos de cristais na faixa de 30-50nm (HAO, et al., 2004).

O resultado de um dia na cultura celular das amostras não tratadas com laser, com energia de superfície, $\gamma = 52,8 \text{ mJ/cm}^2$ não mostraram aderência celular, onde que, algumas células aderiram e se espalharam nas amostras tratadas com laser (1,6 Kw/cm²), com $\gamma = 108,9 \text{ mJ/cm}^2$. A aderência e o espalhamento celular são atribuídos à diferença em energia superficial. O recobrimento celular aumenta com o aumento da molhabilidade. A adesão celular máxima ocorreu com ângulo de contato de 55° com $\cos\theta = 0,57$. As mudanças nas características de molhabilidade foram influenciadas pela energia de

superfície no material, especialmente o componente polar. Há uma relação linear entre o recobrimento celular e a energia superficial (HAO, et al., 2004).

Os autores concluíram que as respostas celulares foram mais efetivas nas amostras tratadas com laser em relação às amostras não tratadas. Geralmente, o aumento na densidade de potência do laser, causou o aumento na aderência e crescimento celular; as modificações nas superfícies, obtidas pelas rugosidades das amostras tratadas, possuem melhores respostas celulares do que as superfícies lisas, obtidas pelas amostras não tratadas. Os tratamentos a laser acarretam um aumento na energia superficial dos materiais, influenciando assim, o número inicial da aderência e espalhamento celular, aumentando a proliferação celular. Características moderadas de molhabilidade podem ser ótimas para o crescimento celular (HAO, et al., 2004).

Hao, Ma, Lawrence e Zhu (2005), mostraram que o aumento na rugosidade superficial, o teor de oxigênio na superfície e a energia de superfície levaram a uma maior molhabilidade das amostras de MgO-PSZ irradiadas a laser de CO₂.

Houve um aumento na rugosidade das superfícies das amostras tratadas em comparação com as amostras que não foram submetidas ao tratamento com laser CO₂. A rugosidade média (Ra) aumentou com o aumento da densidade de potência do laser. Para as amostras não tratadas, as amostras tratadas com densidade de potência do laser 0,9 Kw/cm² e as amostras tratadas com densidade de potência do laser 1,6 Kw/cm², os valores de rugosidades obtidos foram respectivamente: $0,295 \pm 0,217\mu\text{m}$; $0,333 \pm 0,274\mu\text{m}$ e $0,717 \pm 0,453\mu\text{m}$. A análise de XPS mostrou que o teor de oxigênio na superfície aumentou com o aumento da densidade de potência do laser. O teor de oxigênio foi de $41,6\% \pm 3,9$ para as amostras não tratadas, $44,2\% \pm 3,2$ para as amostras tratadas com densidade de potência do laser 0,9 Kw/cm² e $64,3\% \pm 5,2$ para as amostras tratadas com densidade de potência do laser 1,6 Kw/cm² (HAO, et al., 2005).

De acordo com a Tabela 5, os ângulos de contato diminuem (indicando que a molhabilidade aumenta) e a energia de superfície dos materiais aumenta com o aumento da densidade de potência do laser de CO₂ (HAO, et al., 2005).

Tabela 5: Ângulo de contato dos líquidos e energia de superfície das amostras não tratadas e tratadas com laser de CO₂ (HAO, et al., 2005)

<i>Densidade de potência do laser</i>	<i>Glicerol</i>	<i>Formamida</i>	<i>Etileno - Glicol</i>	<i>Poliglicol E-200</i>	<i>Poliglicol 15-200</i>	<i>Y_{SV}(energia superficial) mJ/cm²</i>
Não tratadas	$\theta = 79^\circ$	$\theta = 73^\circ$	$\theta = 61^\circ$	$\theta = 53^\circ$	$\theta = 35^\circ$	52,8
0,9Kw/cm ²	$\theta = 62^\circ$	$\theta = 57^\circ$	$\theta = 48^\circ$	$\theta = 40^\circ$	$\theta = 28^\circ$	66,3
1,6Kw/cm ²	$\theta = 40^\circ$	$\theta = 36^\circ$	$\theta = 29^\circ$	$\theta = 26^\circ$	$\theta = 19^\circ$	108,9

O aumento da molhabilidade é causado pelo aumento considerável da energia de superfície após o tratamento com laser de CO₂. Estudos anteriores mostraram que mudanças nas energias de superfície do MgO-PSZ foram atribuídas às mudanças em microestruturas, decorrentes do tamanho do cristal e modificações de fases (HAO, et al., 2003). A energia de superfície aumenta com o tamanho do cristal e com o aumento da fase tetragonal da zircônia na superfície do material após tratamento. Células osteoblásticas com morfologia hexagonal foram formadas nas amostras após tratamento, revelando que houve a ressolidificação das partículas fundidas. A ressolidificação local das partículas fundidas controla o crescimento do cristal sob gradientes de altas temperaturas e altas taxas de resfriamento. O aumento da molhabilidade certamente foi influenciado pelo aumento do teor de oxigênio na superfície, como resultado do tratamento. O aumento de oxigênio na superfície promove molhamento e adesão. A rugosidade da superfície aumentou com a densidade de potência do laser (HAO, et al., 2005).

Acredita-se que a molhabilidade foi o fator primário para a resposta celular e seus efeitos podem resultar na adsorção de proteína e adesão celular. A adsorção de proteínas auxilia o comportamento celular que é considerado ser uma reação fundamental para ligação biomaterial-tecido. De fato, houve uma diminuição da quantidade de albumina adsorvida e um aumento de adsorção de fibroblasto nas amostras tratadas com laser em comparação com as amostras não tratadas. A melhora da molhabilidade em decorrência do tratamento foi o mecanismo predominante na melhora da adesão do fibroblasto e adesão e crescimento das células osteoblásticas. Após 1 dia de cultura, as células osteoblásticas se espalharam e recobriram mais áreas superficiais quanto maior a energia superficial do substrato (HAO, et al., 2005).

O tratamento a laser promoveu mudanças na energia de superfície, rugosidade, teor de oxigênio na superfície e microestrutura, resultando em uma maior molhabilidade das amostras quando comparadas com as amostras não tratadas. A molhabilidade pode influenciar na adsorção protéica e respostas celulares, podendo ser predominante na melhora das funções celulares (HAO, et al., 2005).

Kim, Sohn e Jeong (2008), estudaram as características de ablação das cerâmicas Al_2O_3 e AlN quando submetidas a tratamento com laser de femtossegundo, especificamente a fluência, efeito da incubação e a taxa de ablação. A fluência é a quantidade de energia por unidade de área transferida à matéria. Geralmente, é medida em J/cm^2 (RIBEIRO, et al., 2004).

O diâmetro da cavidade gerado pelo laser aumenta à medida que aumenta a fluência. Para número de pulsos sobrepostos $N_p=5$, $N_p=10$ e $N_p=100$ com valores de fluência acima de $30\text{J}/\text{cm}^2$, o diâmetro da cavidade cresce exponencialmente. Quanto menor o número de pulsos, maior é a fluência de ablação, sendo necessária uma menor energia por área para gerar a cavidade quanto maior for o número de pulsos (KIM, et al., 2008).

A energia cumulativa no material aumenta com o número de pulsos. ‘ S ’ caracteriza a resposta do material à ablação cumulativa, representada pela fórmula: $F_{th,N} = F_{th} N^{S-1}$. Para $S<1$ existe o efeito de incubação, para $S=1$, o limiar da fluência independe do número de pulsos e para $S>1$, o material torna-se endurecido durante a ablação cumulativa. O fator de incubação (S) foi estimado como 0,7 para alumina e 0,46 para AlN . Esses resultados indicam que o AlN tem maior efeito de incubação quando comparado com a alumina (KIM, et al., 2008).

De acordo com a Figura 2, as cavidades de alumina aparecem como materiais que foram removidos camada por camada, através de rachaduras ou esfoliação; as camadas revelam as características estruturais associadas com o processo de obtenção das cerâmicas em particular. As bordas não circulares dessas cavidades ocorrem devido à ruptura, sugerindo que o material foi ablado sob intensa pressão. Embora sinais de fusão possam ser observados no centro da cavidade, há pouca fusão nas bordas, implicando que este não é o mecanismo principal na formação dessas cavidades. As cavidades das cerâmicas de nitreto de alumínio mostram diferenças na morfologia, evidenciando fusão, as áreas lisas nas paredes das crateras indicam fusão do material. As diferenças entre as morfologias das superfícies das cavidades, tanto da alumina quanto do nitreto de alumínio, devem ser

atribuídas às diferenças nas propriedades dos dois materiais. A menor condutividade térmica da alumina resulta em uma maior localização de aquecimento do laser e uma maior temperatura, sendo acompanhada por uma maior pressão local. O coeficiente de expansão térmica por ser maior na alumina, induz uma maior tensão térmica na alumina do que no nitreto, levando a esfoliação da cratera (KIM, et al., 2008).

Figura 2: Micrografia obtida por microscopia eletrônica de varredura das cavidades de Al₂O₃ ($F= 5,68 \text{ J/cm}^2$) e AlN ($F=7,01 \text{ J/cm}^2$) variando os números de pulsos (KIM, et al., 2008)

A profundidade das cavidades varia com o número de pulsos. Há um rápido aumento linear para N_p até 100 e um mais baixo aumento linear para $N_p > 100$. A baixa taxa de crescimento na profundidade da cratera para $N_p > 100$ pode ter sido devido à divergência do feixe de laser ou redeposição de materiais ejetados (KIM, et al., 2008).

A taxa de ablação média é estimada pela razão entre a profundidade da cratera e o número de pulsos incidentes. O número de pulsos foi fixado em 100. No início, as duas cerâmicas mostraram a mesma tendência, suaves ablações com baixa fluência e maiores ablações com mais alta fluência em escala semilogaritmica. Entretanto, o nitreto mostrou um excessivo aumento na taxa de ablação com maior fluência do que a alumina. Esse excessivo aumento se deve ao fato de sua maior condutividade térmica.

Para determinar se houve mudanças nas estruturas químicas dos materiais, análise de XPS foi utilizada nas amostras que não sofreram e sofreram ablação. Tanto a alumina quanto o nitreto permaneceram com as mesmas fases antes e após a ablação, implicando que as propriedades originais são mantidas nos materiais que são processados por laser de femtossegundo (KIM, et al., 2008).

As duas cerâmicas mostraram tendências similares nas variações dos diâmetros das crateras, das profundidades das crateras e da taxa média de ablação com respeito à fluência ou o número de pulsos. Porém, a morfologia da superfície das cavidades da alumina revelou que a ablação foi possivelmente ocasionada por uma intensa tensão térmica induzida por alta temperatura, gerando uma pequena fusão. No nitreto, as cavidades foram acompanhadas de fusão e ressolidificação (KIM, et al., 2008).

Perrie, Rushton, et al.(2005), estudaram a micromecânica da cerâmica de alumina em ar à taxa de repetições de 1KHz, $\lambda = 775\text{nm}$, 180fs de pulsos ópticos para otimizar as condições de processo. Características da superfície residual, a taxa de ablação e a rugosidade superficial foram determinadas por microscópio interferométrico e MEV. Foi estudada a natureza dos rejeitos da ablação.

A energia depositada por unidade de área por segundo (W cm^{-2}) na superfície do material durante a varredura do laser é dada por: $(I) = \nu E_p / [(\varphi s t) + \pi \varphi^2 / 4]$ $t = 1\text{s}$; $\nu = 10^3 \text{ Hz}$; E_p = energia do pulso (J); φ = diâmetro do spot ($3 \cdot 10^{-3}\text{cm}$) e s é a velocidade da varredura (cm s^{-1}). Esse parâmetro fornece indicação dos efeitos térmicos residuais, os quais podem levar a prejudiciais propriedades mecânicas. As características de ablação variam com a intensidade (I). Altos valores de (I), $\cong 300 \text{ W cm}^{-2}$, é caracterizado por uma significativa redeposição na superfície, fusão e ressolidificação. Reduzindo (I) para $\leq 50 \text{ W cm}^{-2}$, a microestrutura melhora notadamente. Para $(I) = 6,7 \text{ W cm}^{-2}$ e fluência $(F) = 2,8 \text{ J cm}^{-2}$, em torno das paredes e da área trabalhada, a ablação da alumina é caracterizada por modificações na microestrutura original, possivelmente através da fusão e sucessiva ressolidificação durante o processamento com laser. A morfologia mostra poros submicrométricos consistente com a criação de uma fina camada amorfa. Já a alumina processada com $(I) = 3,3 \text{ W cm}^{-2}$ e fluência $(F) = 1,4 \text{ J cm}^{-2}$, formou uma camada de aproximadamente $2\mu\text{m}$ com mais baixa porosidade no topo da cerâmica cristalina, consistente com uma rápida refusão, entretanto, não houveram sinais de microtrincas (PERRIE, et al., 2005).

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão mostraram que os rejeitos gerados pela ablação consistem principalmente de nanopartículas esféricas com diâmetros na faixa de 10nm a 1 μm , com diâmetro médio de 300nm. A difração de elétrons mostrou que essas partículas são essencialmente cristalinas, provavelmente formadas por uma rápida condensação e resfriamento (PERRIE, et al., 2005).

Com uma fluência $F = 21,5 \text{ J cm}^{-2}$, o volume da taxa de ablação é de $\sim 900 \mu\text{m}^3/\text{pulso}$, correspondente a uma profundidade de ablação de $1,3 \mu\text{m}/\text{pulso}$. A rugosidade aumenta com a profundidade quando a fluência é $2,8 \text{ J cm}^{-2}$; o crescimento da rugosidade com a profundidade surge em parte devido a redeposição dos rejeitos da ablação. Entretanto, quando a fluência é reduzida para $1,4 \text{ J cm}^{-2}$, houve um decréscimo da rugosidade (PERRIE, et al., 2005).

Concluiu-se que pulsos ópticos de femtossegundo têm sido utilizados para estudar a microestrutura da cerâmica de alumina com excelentes qualidades de borda observadas com baixas intensidades de varredura $\leq 50 \text{ W cm}^{-2}$. As superfícies sem tratamento (primitiva) têm $R_a = 0,79 \pm 0,07 \mu\text{m}$, podendo ser reduzida levemente utilizando uma fluência de pulso de $F = 1,4 \text{ J cm}^{-2}$; enquanto a rugosidade da superfície aumenta para profundidades de aproximadamente $150 \mu\text{m}$, obtidas com I de $7\text{-}50 \text{ W cm}^{-2}$. Uma camada de aproximadamente $2 \mu\text{m}$ de refusão ocorre na superfície pelo processo de laser de femtossegundo na cerâmica de alumina. A utilização de baixas intensidades $< 10 \text{ W cm}^{-2}$ minimiza a redeposição de material, a rugosidade superficial, os efeitos térmicos residuais, o qual geram fusão e ressolidificação (PERRIE, et al., 2005).

Schlie, Fadeeva, et al.(2010), utilizaram o laser de femtossegundo para nanoengenharia de topografia de superfície em sílica e titânio. O trabalho foi voltado para a criação de materiais que controla seletivamente o comportamento celular: inibindo fibroblastos, os quais isolam o implante, enquanto que, algumas células promovem a adaptação do implante, como as células nervosas para aplicações auditivas ou osteoblastos para aplicações ortopédicas, devendo ser estimuladas para promover as funções biológicas desejadas. Para esse propósito, o uso de materiais funcionalizados topograficamente foi muito promissor.

Para um planejamento preciso de topografias de superfície, tecnologia a laser utilizando pulsos curtos tem muitas vantagens sobre outros métodos com relação a baixos danos mecânicos e controle da textura superficial com geometrias complexas de uma variedade de materiais, melhorando a resolução e reduzindo as zonas afetadas termicamente. Características superficiais foram analisadas por diversas técnicas de imagem e as propriedades de molhamento foram quantificadas por um ângulo de contato estático de uma gota de água localizada na superfície (SCHLIE, et al., 2010).

Sílica e Titânio foram os materiais de escolha para dispositivos eletrônicos e aplicações ortopédicas. Foi demonstrado que a ablação do material ocasionada por laser

gerou superfícies em forma de micro espigas em ambos os materiais. O controle do tamanho e a reprodutibilidade de estruturas superficiais em diferentes materiais são benefícios comuns em processamento de materiais. As estruturas superficiais em forma de espigas foram orientadas randomicamente na superfície inteira, o qual foi observado uma auto-organização das estruturas. Por um lado, este fato limita o controle da localização da espiga na superfície. Por outro lado, a formação da estrutura pela auto-organização não depende de uma fina focalização do feixe de laser e, portanto, o tempo de processamento pôde ser diminuído, utilizando sistemas ópticos e sistemas de laser apropriados com altas taxas de repetições de pulsos (SCHLIE, et al., 2010).

A topografia da superfície do material feita pelo laser aumentou o ângulo de contato de 62° para 130° na sílica e de 80° para 160° em titânio. Embora a área de superfície específica tenha aumentado após a estruturação com laser, a área de contato para a gota da água se refere somente às pontas das estruturas de espigas. Portanto, o aumento do ângulo de contato dependente da topografia, refletiu em uma redução da área de superfície para o contato da água (SCHLIE, et al., 2010).

Com respeito a aplicações auditivas e ortopédicas, foi analisado se as estruturas modificadas por laser interferem no crescimento entre os fibroblastos e células neuroblastomas e fibroblastos versus osteoblastos respectivamente. Os fibroblastos reduziram seu crescimento celular significativamente em ambos os materiais com estrutura tipo espigas: 283,32% $\pm$ 57,74 nas amostras não tratadas com laser para 155,52% $\pm$ 14,9 na sílica com estrutura tipo espiga; 91,93% $\pm$ 4,5 em titânio com estrutura tipo espiga após 48 horas de tempo de cultura. Os materiais não tratados superficialmente com laser, não tiveram um efeito negativo na proliferação de fibroblastos, podendo ser concluído que a inibição do crescimento é um resultado de topografia. Já as células neuroblastomas cresceram muito rápido tanto nas amostras tratadas com laser quanto nas amostras de controle (amostras não tratadas superficialmente com laser). Os osteoblastos mostraram uma tendência de acelerar sua proliferação de 163,34% $\pm$ 32,05 nas amostras de controle para 203,05% $\pm$ 35,45 em estruturas tipo espigas no material de titânio (SCHLIE, et al., 2010).

Esses resultados demonstraram que ambas as características estruturais ativaram um controle celular seletivo para diferentes aplicações biomédicas. Entretanto, uma explicação clara para esse efeito é necessária. Como a adesão é considerada ser o primeiro passo na interação material-célula que ativa e guia respostas celulares, bem como a

proliferação, pode ser concluído que as topografias afetam a adesão celular, inibindo a adesão de fibroblastos e não afetando a adesão de células neuroblastomas ou melhorando a adesão de osteoblastos. As análises da molhabilidade em amostras estruturadas com laser revelaram um decréscimo da área de superfície para contato. Em outras palavras, nas estruturas tipo espigas, a área de contato para a impregnação celular foi reduzida. Esse fato tem muitas consequências para a física da adesão celular, o qual contém diferentes passos moleculares-biológicos, uma variedade de forças intermoleculares bem como forças de van der Waals, interações eletrostáticas e hidrodinâmicas, mecanismos superficiais e celulares. Teoricamente, a adesão depende da probabilidade de ligação, da força de ligação, da área de interação entre as células, da matriz extracelular, o qual é gerado entre a célula e o material e a superfície do material.

Observou-se que os fibroblastos mostraram uma redução na área de interação, já que as células aderiram somente nas pontas das estruturas tipo espigas. Já os osteoblastos e as células neuroblastomas aderiram na ponta e entre as estruturas tipo espigas. Essa maior área de interação pode ser explicada devido a esses dois tipos de células aderirem e proliferarem em estruturas tipo espigas nos materiais de titânio e sílica. Entretanto, a diversidade e a dinâmica dos componentes celulares complicam o cálculo detalhado do mecanismo da adesão celular (SCHLIE, et al., 2010).

Concluiu-se que a topografia de superfícies baseadas em laser tem muitas vantagens relacionadas a uma variedade de estruturas e geometrias, o qual pode ser produzido de uma maneira controlável e reproduzível em diferentes materiais, bem como na sílica e no titânio. Desde que as estruturas feitas por laser nos materiais forneçam um controle celular seletivo via proliferação, essa tecnologia é de grande interesse e benefício para aplicações biomédicas (SCHLIE, et al., 2010).

Filho, Fraga, Bini e Guastaldi (2011) estudaram titânio modificado superficialmente com laser de Nd:YVO₄ com fluência de 56 J cm⁻² e 280 J cm⁻²; seguidamente foram lavados em ultrassom com álcool etílico, acetona e água destilada. Posteriormente, as amostras foram colocadas em solução de hidróxido de sódio a 60°C por 24 horas e imersas em 1,5SBF durante 4 dias à 37°C, sendo divididas em dois grupos: Tratadas termicamente à 600°C por 1 hora e mantidas em estufa para secagem à 37°C.

Observou-se que as amostras tratadas com laser na fluência de 280 J cm⁻², revelaram a formação de uma superfície mais rugosa em relação às amostras tratadas com laser na fluência de 56 J cm⁻². Medidas de rugosidade mostraram que para as amostras

tratadas superficialmente com laser na fluência de 280 J cm^{-2} a rugosidade obtida foi de $1,9760 \mu\text{m}$. Para as amostras tratadas com laser na fluência de 56 J cm^{-2} a rugosidade encontrada foi $0,6874 \mu\text{m}$, já para o titânio sem tratamento superficial com laser a rugosidade foi $0,0072 \mu\text{m}$ (FILHO, et al., 2011).

As amostras tratadas termicamente tiveram um aumento na produção de partículas esféricas, que são típicas da fase de hidroxiapatita, produzidas pela difusão térmica, que pode ser explicado pelo aumento na cristalinidade do recobrimento (FILHO, et al., 2011).

Todas as amostras mostraram picos bem definidos referentes à fase alfa do titânio. Porém, para as amostras submetidas ao laser, o processo de oxidação foi verificado. Para as amostras tratadas com laser com fluência de 56 J cm^{-2} , um pequeno alargamento no padrão de difração foi observado, entretanto, para as amostras tratadas com laser com fluência de 280 J cm^{-2} novos picos em $37,3^\circ$, $37,8^\circ$, $43,2^\circ$, $52,5^\circ$ e $69,7^\circ$ foram encontrados. Análises de difração de raios x mostraram a formação de óxidos de TiO , Ti_3O e Ti_6O , o qual são classificados como óxidos não estequiométricos deficientes em oxigênio. O padrão de difração de raios x mostrou também que, para as amostras após o tratamento com hidróxido de sódio, houve a formação de picos de óxidos de titanato de sódio. Segundo Kokubo, a produção de óxido de titanato de sódio na superfície pode induzir a formação de uma camada ativa e favorável para a estabilização do sistema fosfato de cálcio na superfície do substrato (FILHO, et al., 2011).

Para as amostras tratadas termicamente, os difratogramas mostraram a formação de uma mistura de fase, com a presença de hidroxiapatita, fosfato tricálcico, hidroxiapatita deficiente em cálcio, hidroxiapatita carbonatada e fases de fosfato octacálcico. Para as amostras secas em estufa, houve a formação somente das fases de fosfato octacálcico e hidroxiapatita (FILHO, et al., 2011).

Os autores concluíram que as modificações nas superfícies dos implantes empregando a ablação a laser levam a formação de óxidos que ajudam na formação da hidroxiapatita sem a necessidade de um tratamento térmico. O tratamento a laser é um procedimento promissor como modificador de superfícies de implantes, por ser considerado limpo, reproduzível, possível economicamente e satisfatório para deposição de recobrimentos bioativos (FILHO, et al., 2011).

Ghaith, Hayakawa, Kasuga e Nogami (2006) estudaram a habilidade de formação da apatita biomimética em filmes de óxidos de titânio irradiados com laser de CO_2 depositados em substratos de sílica vítrea. Filmes de óxidos de titânio amorfos derivados

de sol-gel foram cristalizados após a irradiação de um contínuo comprimento de onda do laser CO₂ na potência de 5W. A irradiação induziu a cristalização de anatase. Os resultados de difração de raios x mostraram que houve a formação de apatita nos filmes irradiados com laser dentro de 5 dias quando imersos em 1,5SBF, enquanto nenhuma apatita foi formada nos filmes não irradiados.

De acordo com os resultados de microscopia de força atômica, o filme de óxido de titânio como depositado, apresentou uma superfície relativamente lisa. Após a irradiação com laser, uma superfície ligeiramente rugosa foi formada. Keshmiri, et al. propuseram que a formação da apatita na superfície de óxido de titânio foi afetada pela morfologia da superfície (GHAITH, et al., 2006).

Cálcio e fósforo foram detectados somente nas superfícies das amostras irradiadas, esses resultados sugerem que a apatita se forma seletivamente nas porções irradiadas com laser. A irradiação com laser de CO₂ em filmes de óxidos de titânio induz aquecimento local, resultando na cristalização da anatase (GHAITH, et al., 2006).

O óxido de titânio absorve água em sua superfície, resultando na formação de grupos de óxido de titânio hidratado. O óxido de titânio hidratado interage com a carga positiva dos íons Ca²⁺ na solução e posteriormente com os íons fosfatos, resultando na formação da apatita. O filme de óxido de titânio amorfo, anteriormente a irradiação a laser não mostrou formação de apatita, embora grupos abundantes de Ti-OH foram formados, resultantes da hidrólise e condensação de alcóxido de Ti. A formação da apatita pode ser fortemente influenciada por outros fatores como a morfologia, área de superfície, carga de superfície e/ ou estrutura do cristal (GHAITH, et al., 2006).

Santos (2008) analisou a influência da anodização na topografia e química de superfícies de titânio, bem como a associação de fibronectina (FN) a estas superfícies. Superfícies de titânio tratadas ou não por anodização e incubadas ou não com FN foram levadas a interações com células osteoblásticas humanas da linhagem HOB.

O objetivo do trabalho foi analisar a associação de osteoblastos humanos a superfícies feitas de chapas de titânio tratadas por oxidação anódica e recobertas ou não com fibronectina plasmática humana (SANTOS, 2008).

Anodização é um tratamento químico que forma uma camada de óxido estável e biocompatível sobre a superfície do substrato (PUIPPE, 2003). A nova camada de óxido formada é porosa e está firmemente aderida ao substrato, o que beneficia a resposta biológica do implante.

A principal função das fibronectinas é aderir células a variadas matrizes extracelulares. Medidas de ângulo de contato mostraram que a cobertura de fibronectina à superfície do titânio resultou em uma maior hidrofiliabilidade da superfície. Quando utilizada como pré-cobertura a FN pode funcionar como ligante de adesão (SANTOS, 2008).

A adesão de células osteoblásticas geralmente é aumentada em superfícies com rugosidade média (Ra) em torno de 1µm. A rugosidade variando entre 0,8 µm e 1,90 µm otimiza respostas celulares intermediárias e finais, não afetando respostas iniciais. Superfícies lisas não favorecem essas respostas (SANTOS, 2008).

Estudos recentes revelaram que osteoblastos espraíram mais na superfície com baixa amplitude de rugosidade. No entanto, mostraram uma alta força de adesão nas superfícies mais rugosas (ANSELME & BIGERELLE, 2005).

As células osteoblásticas aderem menos a superfícies que apresentam muitas irregularidades, devido a sua inabilidade de estabelecer área de contato suficiente com o substrato. A orientação celular é um fenômeno importante causado pela topografia. Testes de migração celular demonstraram que células migram mais rapidamente em materiais com ranhuras mais profundas (CHESMEL, 1995), porém trabalhos mais recentes mostraram que ranhuras superficiais rasas induzem a orientação de grupos ou células individuais ao longo do seu eixo, levando os autores a concluir que o melhor parâmetro para a orientação da célula é a largura dos sulcos e não sua profundidade (DEN BRABER et al., 1998, PERIZZOLO et al., 2001). A importância destes estudos, é que, osteoblastos orientados tendem a mineralizar mais rapidamente, possibilitando assim, osseointegrações tecido/implante mais eficiente (BRUNETTE; CHEROUDI, 1999).

As amostras foram divididas em 3 grupos de acordo com o tratamento superficial, numeradas e classificadas, sendo (SANTOS, 2008):

Grupo A: Ti-cp anodizado com H_3PO_4 1,4M t=60s, 50V

Grupo B : Ti-cp anodizado com H_3PO_4 1,4M t=60s, 200V

Grupo C : Ti-cp anodizado com H_2SO_4 0,5M t=60s, 150V

No tratamento A, foi observado uma superfície irregular, porém com pouca porosidade. Em algumas regiões, não houve formação de poros e a morfologia se assemelhava a do titânio sem tratamento de superfície; outras regiões revelaram a formação de pequenos vulcões na superfície, evidenciando o efeito da liberação de O_2 dentro do filme. O tratamento B apresentou poros irregulares e às vezes circulares. Em algumas regiões, a

imagem sugeria uma superposição de camadas. Corroborando com outros autores (KIM, 2008; SANTOS, 2005; YANG, 2004), o aumento do potencial aplicado para uma mesma concentração de eletrólito aumentou o tamanho médio dos poros e a porosidade da superfície. As amostras tratadas com H_2SO_4 de 0,5 M apresentaram superfície com poros menores e mais regulares que as tratadas com H_3PO_4 de 1,4 M (SANTOS, 2008).

Os resultados de difração de raios x mostraram que nas amostras anodizadas com H_2SO_4 150V, houve a formação de anatásio e rutilo. Alguns autores relatam que camadas porosas de óxido de Ti produzidas por anodização e compostas principalmente de fases anatásio e rutilo podem apresentar grande habilidade de formação de apatita sobre a superfície (SANTOS, 2008).

A superfície anodizada com H_3PO_4 é pouco carregada negativamente enquanto que com H_2SO_4 é bastante carregada negativamente. Foi adsorvida uma maior quantidade de fibronectina na superfície anodizada com H_2SO_4 , 150V. A fibronectina é carregada positivamente (SANTOS, 2008).

Os resultados mostram que 68% da fibronectina da solução foram adsorvidas na superfície C. Enquanto que nas outras duas superfícies A e B onde usamos o eletrólito H_3PO_4 tivemos menos de 40%. Fato que confirma o resultado anteriormente descrito, onde a superfície C negativamente carregada atrai a FN que é carregada positivamente (SANTOS, 2008).

A adesão de osteoblastos foi crescente com o tempo de 30, 90 e 120 minutos para as amostras anodizadas com ácido sulfúrico. Enquanto que para as amostras anodizadas com ácido fosfórico, a adesão foi decrescendo com o tempo (SANTOS, 2008).

Na segunda parte do trabalho, a anodização do titânio foi realizada nas seguintes condições (SANTOS, 2008):

Grupo A: Ti-cp anodizado com H_3PO_4 de 1,4 M, $t = 60\text{s}$, 200 V

Grupo B: Ti-cp anodizado com H_2SO_4 de 0,5 M, $t = 60\text{ s}$, 150 V

Grupo C: Controle = Ti-cp sem tratamento.

As amostras de titânio anodizadas com H_3PO_4 (200V), mostraram uma menor quantidade de poros, ao mesmo tempo, poros maiores. Já as amostras anodizadas com H_2SO_4 (150V), apresentaram uma maior quantidade de poros e poros menores (SANTOS, 2008).

Os valores medidos de energia de superfície das amostras mostraram que as superfícies possuem hidrofiliidade semelhantes, independente do tratamento. Porém, a componente dispersiva da tensão superficial foi estatisticamente maior para a superfície tratada com H_2SO_4 (150V). Alguns autores associam a componente dispersiva com uma maior adesão celular por ser ela a responsável pela retenção da molécula (SANTIAGO, 2004).

As células osteoblásticas mostraram uma preferência por superfícies tratadas por anodização, onde o número de células aderidas foi comparativamente superior, em relação ao titânio polido. Com o aumento do tempo de incubação, observou-se um comportamento celular superior nos substratos anodizados por H_2SO_4 (SANTOS, 2008).

A análise realizada por contagem revelou que a presença da fibronectina na superfície, melhora a adesão de osteoblastos em relação ao número e porcentagem de células aderidas (SANTOS, 2008).

Foi concluído que a porosidade e a textura resultante da anodização das superfícies com H_2SO_4 favoreceram a adsorção de FN. As células osteoblásticas se associaram mais às superfícies revestidas com FN do que aos controles. Além disso, sobre as superfícies anodizadas e revestidas com FN as células se espalharam (SANTOS, 2008).

Waugh, Lawrence, Morgan e Thomas (2009) têm demonstrado que laser de CO_2 possui habilidade de modificar a superfície de vários polímeros. Além disso, tem sido observado que essas superfícies podem aumentar a natureza bioativa dos materiais irradiados com laser. Nesse trabalho foi utilizado laser de CO_2 para produzir trilhas (sulcos) e tramas nas superfícies de nylon 6,6. Com o processamento do laser, o ângulo de contato, a rugosidade superficial e o teor de oxigênio na superfície aumentaram, ainda que, a energia de superfície total e a polar diminuíram. O aumento no ângulo de contato e a redução nas componentes de energias superficiais são ocasionados pelas mudanças nas rugosidades devido aos padrões topográficos induzidos.

Foram utilizados quatro padrões induzidos nas superfícies das amostras de nylon 6,6: (A3) amostras com espaçamento entre sulcos de 50 microns; (B1) amostras com espaçamento entre tramas de 50 microns; (B2) amostras com espaçamento entre sulcos de 100 microns; (B3) amostras com espaçamento entre tramas de 100 microns. Além disso, a amostra de controle foi nomeada como A1. A potência utilizada do laser foi de 7W operando a 600mms^{-1} (WAUGH, et al., 2009).

Qualitativamente, as amostras de nylon 6,6 irradiadas com laser foram consideravelmente mais rugosas em comparação com as amostras de controle. O perfil de rugosidade para cada amostra confirma que o processamento a laser eleva uma variação considerável na topografia superficial. A rugosidade aumentou e uma leve periodicidade pôde ser observada nas amostras irradiadas com laser. Em comparação com as amostras de controle que tiveram alturas de picos na ordem de 0,1 a 0,2 μm , as alturas de picos para todas as amostras tratadas com laser foram em torno de 1 μm . Foi observado que uma menor periodicidade surgiu para as amostras tratadas com laser com espaçamentos de trilhas ou tramas de 50 μm . Essa menor periodicidade pode ser explicada pelo tamanho do spot do laser na superfície das amostras, permitindo que as trilhas e tramas se sobreponham, eliminando a periodicidade natural de uma varredura original do laser. Entretanto, a sobreposição da varredura assegura que toda a superfície da amostra foi irradiada e modificada em comparação com as amostras não irradiadas com laser (WAUGH, et al., 2009).

Para as amostras tratadas com laser, foi visto uma diminuição na componente polar aparente, γ^P , e na energia de superfície total, γ^T , enquanto que a rugosidade superficial e o ângulo de contato aumentaram. Teorias atuais defendem que um aumento na rugosidade de uma superfície hidrofílica plana deve resultar em um decréscimo efetivo no ângulo de contato. Entretanto, nesse trabalho não foi visto dessa maneira, já que o ângulo de contato da amostra de controle é menor do que as amostras irradiadas com laser. Isso pode ser explicado pela existência de um regime de molhabilidade misto Cassie Baxter/ Wenzel, no qual ambos os regimes estão presentes sobre a interface sólido-líquido. Isto é, a rugosidade superficial ao longo de um padrão induzido, conduzindo uma gota de água, a qual é mantida em um estágio intermediário, tal que ambos os regimes de molhabilidade coexistam. O regime de molhabilidade misto pode ter surgido por causa da observada redução na componente polar e do aumento no ângulo de contato devido ao padrão topográfico induzido por laser nas amostras hidrofílicas de nylon 6,6. Outro fator importante a ser observado é que as amostras irradiadas com laser em forma de tramas obtiveram superfícies mais lisas em comparação com as amostras irradiadas com laser em forma de trilhas. Isso se deve ao fato da sobreposição do feixe na mesma área irradiada numerosas vezes durante o processamento com laser; permitindo ao material uma refundição, causando uma ressolidificação no material se tornando mais lisas (WAUGH, et al., 2009).

Além da energia superficial e da rugosidade superficial, o teor de oxigênio na superfície de um material pode ter efeitos nos resultados de ângulos de contato. O leve aumento do teor de oxigênio nas amostras se deve ao fato da oxidação nas superfícies do nylon 6,6 durante o tratamento superficial com laser, já que o experimento foi realizado em temperatura ambiente. Pôde ser visto que a topografia superficial em termos de rugosidade pode ter um grande efeito no regime de molhabilidade e diretamente afeta o componente polar aparente, γ^P , e a energia de superfície total, γ^T . Conseqüentemente, o componente polar concomitante com a rugosidade superficial pode ser o fator principal para definir as características do ângulo de contato (WAUGH, et al., 2009).

Pôde ser visto que para todas as amostras incubadas por 24 horas, as células osteoblásticas aderiram a diferentes superfícies. As células primeiramente se fixam, aderem e se espalham pelas superfícies. Para as amostras com espaçamento entre trilhas de 100 μ m, as células proliferaram resultando em uma maior densidade coberta de células (37%); o qual foi consideravelmente maior em comparação com as amostras de controle, que teve densidade coberta de células em torno de 17%. Para as amostras com espaçamento entre tramas de 50 e 100 μ m, as densidades cobertas de células foram 23 e 34%, respectivamente. Essa menor densidade coberta de células nas amostras tratadas com laser em forma de tramas em relação às amostras tratadas com laser em forma de trilhas se deve ao fato da menor rugosidade (WAUGH, et al., 2009).

Observou-se que as amostras tratadas com laser tiveram crescimento e proliferação celular em direções randômicas em conjunção com o padrão induzido de laser. A maioria das amostras aumentou o crescimento celular em formas bipolares, exceto as amostras com espaçamento entre trilhas de 100 μ m, que foi a que obteve o maior estágio de processo de crescimento celular. Isso pode indicar que o processo de crescimento nas amostras de nylon 6,6 começa com uma morfologia bipolar e progride para uma morfologia mais radial com o tempo de incubação. As imagens de microscopia eletrônica de varredura mostraram que para todas as amostras, as células se espalharam formando numerosas filipodias. Pode-se deduzir que a modificação de superfície com laser aumentou a proliferação e a velocidade do processo de crescimento celular, permitindo assim, que o material se torne mais bioativo (WAUGH, et al., 2009).

Após 4 dias de incubação, as células osteoblásticas cresceram mais em comparação com as amostras incubadas por 24 horas. As células osteoblásticas cobriram quase todas as superfícies de cada amostra, sendo a superfície menos coberta por células, as amostras de

controle. Foi evidente que as células rapidamente começaram a proliferar sobre o período de incubação de 4 dias, tal que, para todas as amostras, a densidade coberta de células tendenciou a 100%. As micrografias eletrônicas de varredura mostraram que o crescimento celular foi mais rápido para as amostras tratadas com laser em forma de trilhas e tramas em comparação com as amostras de controle. A contagem celular foi mais alta após 4 dias de incubação nas amostras tratadas com laser em relação as amostras de controle. Isso sugere que o padrão de superfície/ rugosidade tem um significativo efeito na resposta celular, em termos de densidade coberta de células e crescimento (WAUGH, et al., 2009).

Dos resultados obtidos, não foi possível desenvolver uma correlação discernível entre a resposta celular e as características superficiais bem como a rugosidade e a energia superficial; devido a muitos outros fatores que influenciam a reação das células osteoblásticas “*in vitro*” ao nylon 6,6. Foi visto que para todas as superfícies tratadas com laser de CO₂, houve uma melhor aderência das células osteoblásticas, permitindo que o crescimento celular se torne mais rápido (WAUGH, et al., 2009).

Tanto para as amostras incubadas por 24 horas, quanto para as amostras incubadas por 4 dias, as amostras tratadas com laser com espaçamento de 50 e 100µm entre trilhas, obtiveram uma melhor resposta celular, tendo uma melhor densidade coberta por células e uma melhor média de densidade de contagem de células em comparação com as amostras tratadas superficialmente com laser em forma de tramas e das amostras de controle. Foi evidente que os padrões em forma de trilhas tiveram uma adesão preferencial e uma sinalização celular (WAUGH, et al., 2009).

Quando um objeto de alta dureza é colocado em contato com uma superfície e se move através dessa superfície, uma ranhura é formada. Esse processo é caracterizado como scratching (WONG, 2003).

Scratch é definido como a ciência e tecnologia de interações superficiais em movimentos relativos. Isso envolve o estudo de fricção, desgaste e lubrificação. Fricção e dureza estão geralmente associadas com o scratch. Fricção é uma resistência encontrada quando um corpo se move sobre outro (WONG, 2003).

Beake, Vishnyakov, Harris (2011) depositaram filmes de TiFeN, TiN e TiFeMoN em silício utilizando um sistema de feixe iônico duplo. Filmes com maior dureza exibiram altas razões de dureza e módulo de Young (H/E). Em baixas cargas de scratching, as propriedades mecânicas dos filmes controlam o comportamento de nano scratch e filmes com mais altas razões de H/E e mais baixos índices de plasticidade são mais resistentes.

Em cargas mais altas de scratching, as falhas nos filmes com maior dureza, com $H/E > 0,11$ foram acompanhadas de delaminação fora da trilha do arranhamento, sugerindo que filmes duros com $H/E \leq 0,11$ possuem uma ótima combinação de dureza e tenacidade para aplicações onde esses filmes serão expostos às altas forças de cisalhamento e deformações livres de trincas entre os grãos.

Embora o teste de scratch fosse inicialmente concebido de um teste de adesão, com cargas críticas mais altas correspondendo diretamente a filmes mais aderentes, há agora uma evidência mostrando que são as propriedades mecânicas do filme e do substrato que exercem uma significativa influência na deformação; mais do que a força de adesão somente. A carga crítica obtida é dependente de muitos fatores além da força interfacial (BEAKE, et al., 2011).

Holmberg e colaboradores (2007) mostraram que a evolução no campo da tensão durante a carga progressiva do teste de scratch é fortemente dependente das propriedades mecânicas do recobrimento e do substrato. Ichimura e Ishii (2003) mostraram que para filmes de TiN e CrN em vários substratos de aço com diferentes durezas, a carga crítica variou linearmente com a dureza do substrato e o comportamento da falha foi dominado pela plasticidade e força coesiva dos filmes mais do que sua própria adesão.

Materiais de alta dureza tipicamente têm alta razão H/E . Alta razão H/E é normalmente benéfica para resistência ao desgaste. Na prática, alta dureza e alta razão H/E são geralmente associadas com fragilidade. Em testes nano scratch, filmes finos de TiN e Si_3N_4 com razões muito altas H/E falharam mais do que com cargas críticas mais baixas associado aos filmes com propriedades mecânicas mais moderadas (BEAKE, et al., 2011).

Dez repetidas identificações para 1 mN em uma taxa de carga de 50 $\mu N/s$ foram realizadas em cada filme. O pico de carga de 1mN resultou em uma profundidade de contato em torno de 2 a 3% da espessura do filme. Embora não foi suficiente para induzir a plasticidade total nos filmes, os dados foram utilizados para investigar a homogeneidade do filme e determinar o índice de plasticidade (BEAKE, et al., 2011).

Nano scratch de carga progressiva foi realizada até 500mN. O procedimento do teste envolveu varredura de 10 $\mu m/s$ sobre trilha de 600 μm . A carga aplicada foi constante e baixa (0,1mN) sobre os primeiros 102 μm de trilha e então subiu para uma constante taxa de 10mN/s até 500mN. De 3 a 5 arranhões foram realizados em cada amostra, com trilhas separadas por 50 μm . Em particular, é preocupante que medidas de uma profundidade de

identação com 10% da espessura do filme conterão alguma contribuição das propriedades elásticas do substrato (BEAKE, et al., 2011).

Multi-ciclos de controle de carga “carga parcial-descarga” foram realizados até carga máxima de 20 mN para (1) avaliar a variação nas propriedades mecânicas do sistema de recobrimento com o aumento na profundidade da penetração. (2) Determinar a dureza do filme (região platô, invariante com a mudança de carga) e o módulo elástico do filme por extrapolação à profundidade zero (BEAKE, et al., 2011).

Forças de fricção, profundidades de arranhamento e MEV pós-testes foram utilizados para investigar cargas críticas nos testes de arranhão e comportamento de falhas. Em baixa carga de scratch aplicada, o coeficiente de fricção foi inicialmente baixo para todos os filmes, elevando rapidamente para aproximadamente 0,35. A localização da falha do filme relativa ao deslocamento do identador do scratch (zona de contato deslizante) foi influenciada pela composição e propriedades mecânicas dos filmes. Delaminação dos filmes foi observado para todas as amostras testadas com exceção do $\text{TiFe}_{0,4}\text{Mo}_{0,4}\text{N}_2$. As cargas críticas foram tipicamente em torno de 140 mN, ocorrendo com uma profundidade de arranhão de aproximadamente 600nm (BEAKE, et al., 2011).

O começo da rampa para o coeficiente de fricção foi entre 0,1-0,2, subindo rapidamente para 0,3 com carga 20mN e permanecendo na faixa de 0,3-0,4 para todos os filmes até a falha. Há uma notável correlação entre a profundidade do arranhão sob carga e as propriedades mecânicas dos filmes. Filmes com maiores razões H/E, que exibem menores índices de plasticidade, mostram profundidades de arranhões menores a baixas cargas. Rachaduras hemisféricas periódicas nos revestimentos foram observadas ao lado das trilhas em ambos os materiais ($\text{TiFe}_{0,4}\text{Mo}_{0,4}\text{N}_2$; $\text{TiFe}_{0,4}\text{Mo}_{0,4}\text{N}_{2,1}$) com falha de delaminação encontrada no filme $\text{TiFe}_{0,4}\text{Mo}_{0,4}\text{N}_{2,1}$. Rachaduras intergranulares foram observadas no filme de $\text{TiFe}_{0,4}\text{Mo}_{0,4}\text{N}_2$. O filme duro de $\text{TiFe}_{0,4}\text{N}_{1,3}$ exibiu extensa falha de delaminação ao lado e atrás do identador se estendendo até 100 μm da trilha (BEAKE, et al., 2011).

Todos os filmes se mostraram mais macios e tiveram menor dureza em relação ao filme de referência TiN. Assistência iônica utilizada para a deposição dos filmes foi prejudicial para a dureza dos filmes de TiFeN. Aumentando a energia iônica de 300 para 600eV, os filmes se tornaram mais macios e menos homogêneos mecanicamente com mais incorporação de Fe e FeN (BEAKE, et al., 2011).

Mudanças nas propriedades mecânicas influenciaram o comportamento do filme no teste nano scratch. Em baixas cargas (0,1-100mN) há uma correlação entre a profundidade do arranhão e o índice de plasticidade. Delaminação foi observada em todos os filmes, com exceção do filme com menor razão H/E. Áreas grandes de delaminação foi particularmente marcada para dois dos filmes mais duros, $\text{TiFe}_{0,4}\text{N}_{1,3}$ e TiN. Diminuindo a espessura do filme, poderá também diminuir a capacidade de suportar carga, influenciando assim a carga crítica. Contudo, os filmes são suficientemente espessos para controlar as propriedades mecânicas no comportamento das falhas; como os filmes duros e frágeis podem armazenar mais energia elástica antes de falhar, resultam em uma grande área de delaminação a altas cargas devido à ausência de outros mecanismos dissipativos. Entretanto, diferenças devem ser esperadas se a espessura do filme for reduzida. Para filmes mais finos, a capacidade de suportar cargas é mais baixa e a energia elástica armazenada antes de falhar e a grande área de delaminação é consequentemente muito reduzida (BEAKE, et al., 2011).

Conclui-se que filmes de nitretos com maior dureza exibiram maiores razões H/E. Quando a carga aplicada durante o nano scratch é baixa, as propriedades mecânicas dos filmes

controlam o comportamento nano scratch. A carga baixa, filmes com maiores razões H/E e menores índices de plasticidade são mais resistentes ao scratch. A carga elevada de scratch, filmes mais duros com elevada razão H/E ($>0,11$) apresentaram falhas de delaminação. Filmes que possuem mais baixa razão H/E, possuem uma ótima combinação de dureza e tenacidade para aplicações onde serão expostos a altas forças de cisalhamento. Microscópio de alta resolução sugere que a não formação de propagação de trincas, o qual permite localizar a deformação plástica do material, alivia a formação de tensões durante o teste de nano scratch, deste modo minimizando a delaminação, embora outros mecanismos dissipativos possam ser importantes (BEAKE, et al., 2011).

Rohanizadeh, LeGeros, Harsono e Bendavid depositaram um recobrimento aderente de apatita em substrato de titânio utilizando dois métodos:

- Imersão do titânio em solução ácida de fosfato de cálcio para a deposição da monetita (CaHPO_4);
- Hidrólise em solução de NaOH dos cristais de monetita para formação de apatita.

Trilhas feitas por scratch demonstraram que o material do recobrimento foi “esmagado”, “espremido”, sem fratura no interior e nas bordas das trilhas até o ponto de falha do recobrimento (ROHANIZADEH, et al., 2005).

O ponto de falha de adesão do recobrimento foi detectado por um aumento no sinal acústico da amostra. Essa carga é chamada de carga crítica (L_c) medida em Newton e corresponde à resistência de ligação entre o recobrimento e o substrato (ROHANIZADEH, et al., 2005).

As trilhas foram obtidas nas amostras por um aumento constante de carga com taxa de 100N/min enquanto as amostras foram deslocadas com uma velocidade constante de 10mm/min (ROHANIZADEH, et al., 2005).

Observou-se um recobrimento uniforme em toda a superfície do titânio após a incubação em solução ácida de cálcio e fósforo. O recobrimento consiste de cristais grandes e retangulares. A difração de raios x identificou esses cristais como monetita, onde a localização do pico mais alto está em $2\theta=26,5^\circ$ (ROHANIZADEH, et al., 2005).

As amostras recobertas com monetita foram imersas em solução de NaOH à 75°C por 24 horas. As análises de difração de raios x mostraram que a localização do pico mais alto da apatita encontra-se em $2\theta=31,8^\circ$. As micrografias eletrônicas de varredura mostraram que os cristais da apatita encontram-se aglomerados em torno dos cristais grandes da monetita. A seção transversal do recobrimento vista pelo MEV mostrou porosidade e espessura de aproximadamente $70\mu\text{m}$ (ROHANIZADEH, et al., 2005).

A carga de falha (carga crítica), no qual o recobrimento começa a ser removido e a superfície do titânio se torna visível, foi medida no ponto do primeiro aumento no sinal acústico da superfície do titânio. A média da carga crítica do recobrimento foi $13,1 \pm 1,3\text{N}$ utilizando teste scratch com $200\mu\text{m}$ de raio; e a tensão média da ligação do recobrimento foi $5,2\text{MPa}$. Nenhuma fratura ou lascas foram observadas na borda ou dentro da trilha; o material do recobrimento foi esmagado ao longo da trilha (ROHANIZADEH, et al., 2005).

Constataram-se evidências da presença de resíduos de recobrimento nas áreas as quais o recobrimento foi removido durante os testes de scratch. Mesmo após o recobrimento parecer visualmente removido, as análises de EDS demonstraram a presença de cálcio, fósforo e alta porcentagem de sódio na superfície do titânio. A presença de sódio pode ser explicada devido à formação de titanato de sódio durante a transformação da monetita para apatita na solução de hidróxido de sódio (ROHANIZADEH, et al., 2005).

Foi observado que a falha ocorreu dentro do recobrimento mais do que na interface recobrimento/titânio, indicando a baixa força de coesão do recobrimento comparado com a força de adesão na superfície do titânio. Nota-se que os resultados do teste scratch variam em função da espessura do recobrimento, ductilidade, dureza do recobrimento, taxa de aplicação de carga e a dureza do substrato. Nesse trabalho, o recobrimento foi esmagado e deslocado para ambos os lados da trilha do scratch, sem qualquer lasca ou fratura. O sinal acústico começou a aumentar (ponto de leitura da carga crítica) no ponto onde o recobrimento começou a ser removido do substrato e a superfície do titânio se tornou visível (falha adesiva). Anteriormente ao ponto de falha do recobrimento, pequenas micro-trincas laterais foram observadas dentro da trilha devido à delaminação do recobrimento. A ausência de fratura indica que o material de recobrimento foi esmagado sem se separar do substrato. O esmagamento de materiais de recobrimentos sem fratura pode ser a razão para a grande diferença entre a carga crítica medida nesse trabalho comparado com outros trabalhos para outros tipos de recobrimentos (ROHANIZADEH, et al., 2005).

Concluiu-se que a deposição química a partir de uma solução ácida de cálcio é uma alternativa de técnica de recobrimento. O recobrimento obtido foi poroso e composto de fase cristalina de apatita. Boa adesão de recobrimento foi obtida comparada com outros métodos de recobrimentos a baixas temperaturas. Nesse método, utilizando ácido fosfórico diluído em solução de cálcio houve a formação de carga superficial positiva $[\text{Ti-OH}_2]^+$ que se liga aos grupos fosfatos (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} e PO_4^{3-}) e permite mais sítios de nucleação para deposição de cálcio e fosfato. Além disso, solução ácida de cálcio pode também modificar a topografia superficial do titânio e aumentar a integração mecânica entre o substrato e o recobrimento de Ca-P. Formação de TiNa durante a transformação de cristais monetita para apatita podem também favorecer a deposição e adesão da apatita (ROHANIZADEH, et al., 2005).

Wong (2003) realizou três tipos de testes em seu trabalho:

Teste A: aceleração constante de 100 mm/s com aumento linear de carga normal de 0 a 50N.

Teste B: Força de 30N e aceleração constante de 100 mm/s.

Teste C: Força de 30N e taxa de aceleração linear de 0 a 140 mm/s.

O comprimento da trilha para todos os testes foi fixado em 100 mm e os testes foram conduzidos a temperatura ambiente. A largura da trilha foi maior para o teste C, seguida do teste B e A (WONG, 2003).

No teste C, a aceleração da ponta do scratch induziu ambas as inércias: horizontal (direção da trilha) e vertical (atuando para baixo). A inércia vertical induzida é devido ao efeito friccional. Ambas as inércias aumentaram as forças normal e tangencial atuando no substrato; assim aumentando a largura e a profundidade da trilha. O aumento da carga no teste A, também induziu inércia vertical, porém a magnitude da inércia induzida foi muito menor do que no teste C (WONG, 2003).

Com a presença da inércia induzida, a largura da trilha para o teste A foi menor em comparação com o teste B, onde não houve qualquer inércia adicional induzida. Uma possível razão para essa anomalia foi devido à pré-existência da alta profundidade de penetração devido à alta carga inicial no teste B, o qual leva uma maior resistência comparada com o deslizamento horizontal. Isso, em troca, induz uma maior força de scratch requerida para guiar a ponta do scratch para manter uma velocidade constante de 100 mm/s quando comparado com o teste A (WONG, 2003).

Para um copolímero de polipropileno preenchido com talco sobre as três condições de testes, foi observado que a largura da trilha permaneceu constante ao longo da trilha para as condições do teste B e C; enquanto houve um gradual aumento na largura da trilha para o teste A. Características superficiais mínimas foram observadas no começo da trilha enquanto danos severos com proeminentes marcas de ondulações estavam presentes em direção ao final da trilha. Essas marcas de ondulações são na verdade linhas de fraturas curvadas que apareceram periodicamente (WONG, 2003).

Pôde ser notado que a existência da largura da trilha inicial encontrada nas amostras foi causada pela pré-existência de pequena massa da ponta do scratch e da unidade de controle de carga, o qual é em torno de 5N (WONG, 2003).

Há uma relação linear de largura da trilha com a carga normal. O teste A permitiu identificar a transição do mar-scratch, podendo determinar a carga normal crítica para a transição. Amostras trilhadas na condição do teste A foram examinadas na carga exata e na localização ao longo da trilha, onde a ranhura da trilha se tornou muito visível (WONG, 2003).

Para homopolímeros de polipropileno, a superfície é lisa com nenhuma característica proeminente exceto para as bordas visíveis antes da linha de transição. Após

a linha de transição, linhas de fraturas curvas apareceram espaçadas uma da outra, indicando um aumento na severidade do dano superficial. Para homopolímeros de polipropileno preenchidos com talco, anteriormente a linha de transição, depressões superficiais foram formadas devido ao deslizamento da ponta do scratch. A ranhura da trilha foi tão superficial que pôde ser chamado de mar-scratch. Após a linha de transição, traçados superficiais e deformações plásticas em larga escala ocorreram (WONG, 2003).

Scratches feitos pelos testes B e C não exibiram a transição devido a uma severa pré-existência de indentação inicial causada por um peso de 30N (WONG, 2003).

Kita et al. observou que para velocidade e peso constante nas realizações dos testes, a ponta do scratch tem uma tendência de saltar ou pular durante o scratch, dependendo do tipo do polímero e das condições dos testes aplicados. Esse efeito acontece quando a ponta do scratch penetra profundamente. Quando a resistência da ponta do scratch de arar a superfície se torna maior do que a força do scratch, saltos ocorrem com a ponta podendo continuar a movimentação adiante subindo-o verticalmente.

Amostras que foram submetidas às condições de carga progressiva (teste A) foram imersas em água e sonicadas por 30 minutos em ultrassom com energia de 70W e 42KHz. A energia gerada pela vibração ultrasônica remove sobras das regiões que foram submetidas ao ensaio de scratch. Na Figura 3, a região 1 mostra características de onda como deformação, o qual é visto em superfícies de polipropileno submetido ao scratch a baixas cargas e baixas velocidades; a região 2 mostra uma transição nas características superficiais, a largura da ranhura aumenta rapidamente, as linhas parabólicas regulares não estão mais presentes pois são substituídas por uma frágil irregular tipo de falha. Linhas de fratura são claramente visíveis, interessante, a ranhura segue um padrão sigmoidal regular após ter alcançado a largura máxima e gradualmente enfraquece levando a uma ranhura mais lisa. A região 3 mostra outro tipo de transição; nesse caso, a superfície ranhurada é mais severa e o material deformado forma lábios que transbordam para o lado da ranhura. Em um estágio posterior, a superfície é predominantemente composta por linhas de fratura randômicas. As regiões 4 e 5 mostram que as superfícies que foram submetidas ao teste scratch permaneceram inalteradas. A região 5 foi submetida a sonicação (WONG, 2003).

Figura 3: Micrografias eletrônicas de varredura de um homopolímero submetido ao ensaio de scratch (WONG, 2003)

Figura 4: Micrografias eletrônicas de varredura de um homopolímero preenchido com talco submetido ao ensaio de scratch (WONG, 2003)

Na Figura 4, a região 1 mostra a transição do mar para scratch em homopolímero preenchido com talco. As características superficiais são pouco perceptíveis antes da transição, exceto por uma leve diferença na textura da superfície comparada com a superfície que não foi submetida ao teste scratch. Após a transição, uma mudança drástica ocorre na superfície evidenciando uma grande deformação plástica (WONG, 2003).

A região 2 mostra uma transição muito similar a região 1. A região 3 mostra uma superfície mais rugosa em comparação com a superfície mais lisa da região 3 da Figura 3. A região 4 apresenta uma superfície bastante rugosa com grandes acúmulos nas laterais de debris e fibrilas, sugerindo que a adição de talco afeta as características superficiais durante o teste de scratch induzindo deformação dúctil. A região 5 foi submetida a sonicação (WONG, 2003).

A comparação entre os dois materiais revelam algumas tendências interessantes. É observado que o coeficiente de fricção do scratch aumenta com a distância do scratch em ambos os materiais; onde o oposto é verdadeiro para a dureza do scratch. Entretanto, o decréscimo da dureza do scratch é muito mais drástico em homopolímeros preenchidos com talco; embora o talco permita ao polímero resistir a melhores deformações a baixas cargas, o material rapidamente degrada e se torna mais fraco (WONG, 2003).

4. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

4.1. Biocerâmicas

Pesquisas e desenvolvimentos dentro das últimas quatro décadas têm facilitado o uso de materiais cerâmicos no corpo humano para reparar e reconstruir danos nos tecidos duros dentro do sistema músculo-esquelético. Exemplos de tais aplicações incluem a substituição de implantes para artroplastia femoral ou joelho, reconstrução maxilofacial, implantes dentários, reconstrução para a doença periodontal, próteses ósseas, reparação óssea após a cirurgia, trauma ou dano de doença (SUCHANEK, et al., 1998; KUNDU, et al., 2004).

O termo '**Biocerâmica**' aplica-se às composições de cerâmicas selecionadas com capacidade em formar uma interface de compatibilidade biológica estável com os tecidos circundantes, com o intuito de exercer mecanicamente e de forma eficiente a função do tecido que está sendo substituído. Vantajosas propriedades mecânicas de certas biocerâmicas incluem alta rigidez, baixo coeficiente de atrito e boa resistência ao desgaste (THAMARAISELVI, et al., 2004). Embora essas propriedades contribuam para aplicações em superfícies de articulação, a reduzida confiabilidade sob cargas de tração e falhas quebradiças catastróficas que as cerâmicas estão sujeitas, torna a sua aplicação limitada como implantes sujeitos à cargas (SUCHANEK, et al., 1998).

É essencial reconhecer que nenhum biomaterial é apropriado para todas as aplicações biomédicas. Uma das classes de biomateriais, como: materiais cerâmicos, vidros e vitro-cerâmicas são geralmente utilizados para reparar ou substituir os tecidos. O sucesso desses materiais depende de uma fixação estável ao tecido conectivo. O mecanismo da fixação no tecido está diretamente ligado ao tipo de resposta do tecido na interface implante-tecido. (HOFFMAN et al., 1996).

Nenhum material implantado em tecido vivo é totalmente inerte, pois todos os materiais provocam uma resposta ao organismo. A resposta ocorre na interface tecido-implante e depende de muitos fatores, tais como: tipo de tecido, saúde do tecido, idade do tecido, circulação de sangue no tecido, circulação de sangue na interface, composição do implante, fases do implante, morfologia da superfície do implante, porosidade da superfície do implante, reações químicas do implante, entre outros. Há quatro tipos de respostas tecido-implante: 1) **Tóxica** - Se o material é tóxico, o tecido ao redor do material morre. 2) **Inerte** - Um tecido fibroso de espessura variada é formado ao redor do implante. 3) **Bioativo** – Tecido forma uma ligação interfacial com o implante. 4) **Reabsorvível** - Se o

material é solúvel no meio, uma substituição de tecido ocorre e o material é reabsorvido (HENCH, et al., 1993).

É essencial que um implante não provoque uma resposta tóxica, evitando que as células morram ao redor dos tecidos, ou liberem substâncias químicas, que possam migrar para os fluídos corpóreos causando danos aos pacientes (BLACK, 1999). Um dos maiores interesses para que a cerâmica seja utilizada como implante, é sua ausência de toxicidade (HENCH, et al., 1993).

4. 1.1. Classificação das biocerâmicas

Dentre as classes de biomateriais, as biocerâmicas utilizadas para implantes podem ser classificadas quanto ao seu comportamento no organismo como inertes e ativas (HENCH, et al., 1993).

4. 1.1.1. Biocerâmicas Inertes

São biocerâmicas que tem pouca ou mínima variação química durante longos períodos de exposição ao meio fisiológico. A resposta mais comum do tecido ao implante é a formação de uma cápsula fibrosa não aderente em torno do material implantado. Por ser um mecanismo de proteção, o tecido fibroso é formado com o intuito de isolar o implante do organismo, podendo levar com o tempo a um completo encapsulamento do implante. Metais e a maioria dos polímeros produzem esse tipo de resposta interfacial. As cerâmicas inertes como a alumina (Al_2O_3) e a zircônia (ZrO_2), também desenvolvem cápsulas fibrosas em suas interfaces. A estabilidade química da alumina e zircônia resulta em uma camada fibrosa muito fina. Os implantes metálicos mais reativos quimicamente formam camadas interfaciais ainda mais finas (HENCH, et al., 1993).

Se o biomaterial inerte for submetido a cargas e movimentos interfaciais, as cápsulas fibrosas podem obter espessura de centenas de micrômetros, ocasionando a perda do implante. Perdas em implantes invariavelmente levam a falhas clínicas por uma variedade de razões, o qual inclui fratura do implante ou do osso adjacente ao implante (HENCH, et al., 1993).

A alumina e zircônia por serem biocerâmicas inertes e possuírem qualidades mecânicas, podem exercer uma função estrutural. A utilização desses materiais também pode ser na forma de compósitos, denominados ZTA (zirconia toughened alumina), com maior tenacidade, resistência em ambientes com pH agressivo e maior resistência ao

desgaste. Porém, pelo fato de serem materiais bioinertes, não sendo capazes de se ligar ao tecido ósseo, é necessário realizar um recobrimento eficaz e que garanta a formação de uma camada de biocerâmica que atenda as exigências do setor médico-odontológico (PICONI et al., 1999). Dentre as diversas técnicas estudadas e propostas para este fim, o recobrimento biomimético com modificação prévia da superfície se destaca pela otimizada ligação formada entre o substrato e a biocerâmica que o recobre, além da possibilidade de formação de camada bioativa sobre diversos materiais (RIGO et al., 1999; KOKUBO et al., 1997; ABE et al., 1990).

4. 1.1.2. Biocerâmicas Ativas

Material bioativo é definido como “um material que provoca uma resposta biológica específica na interface do material o qual resulta na formação do osso entre o tecido e o material” (HENCH, et al., 1993).

Materiais bioativos são os materiais com características intermediárias, entre os reabsorvíveis e os bioinertes (HOFFMAN et al., 1996; HENCH, et al., 1993).

Os materiais bioativos possuem diferentes taxas e espessuras de ligações interfaciais. Vidros bioativos como o biovidro, cerâmica vítrea bioativa como A/W; hidroxiapatita sintética densa, compósitos bioativos como a hidroxiapatita – polietileno e recobrimentos bioativos como a hidroxiapatita em ligas porosas de titânio, são materiais que formam ligação interfacial com o osso. A dependência do tempo de ligação, resistência de ligação, mecanismo de ligação, espessura da zona de ligação, resistência mecânica e a tenacidade à fratura diferem para vários materiais (HENCH, et al., 1993).

É essencial igualar a forma, fases e propriedades de um implante bioativo com a taxa de ligação e sua função no corpo. Mudanças relativamente pequenas na composição podem afetar se a biocerâmica é inerte, reabsorvível ou bioativa. Em 1981, foi descoberto que certas composições de vidros bioativos formam ligações tanto com tecidos conectivos moles quanto com o osso. As composições de materiais bioativos que se liga com os tecidos conectivos moles devem ter taxas mais elevadas de reação superficial (HENCH, et al., 1993).

Uma característica comum de todos os implantes bioativos é a formação de uma camada de hidroxiapatita carbonatada ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6 (\text{CO}_3)_2$) em suas superfícies quando expostos em soluções fisiológicas simuladas ou em contato com tecidos vivos. A fase da hidroxiapatita carbonatada é equivalente em composição e estrutura à fase mineral do osso

e cresce como aglomerados policristalinos. A reação do tecido ósseo ao material bioativo (biovidro) ocorre da seguinte maneira: há troca de íons Na^+ do implante com íons H^+ do fluido extracelular, formando na superfície do implante um filme de gel rico em sílica e de uma camada rica em fosfato de cálcio sobre este filme. Posteriormente ocorre a diferenciação e a proliferação de osteoblastos na interface, os quais geram fibrilas de colágeno e mucopolissacarídeos, que incorporados à camada de gel formam uma frente de mineralização. Quando esta frente se encontra com a frente de mineralização do osso circunvizinho, o implante torna-se osteointegrado, sem nenhum tecido conjuntivo se interpondo entre sua superfície e o osso (HENCH, et al., 1982). Nem sempre, porém, a reação do tecido ósseo se dá dessa forma, pois a osteogênese que ocorre na interface é um fenômeno extremamente delicado (HULBERT, et al., 1970) e pequenas variações de composição podem tornar o material suscetível à dissolução no interior do organismo, com desenvolvimento de reação inflamatória secundária que pode acelerar esta dissolução, tornando o processo incontrolável. A liberação de Al_2O_3 , Ta_2O_5 e ZrO_2 também pode inibir a mineralização normal e resultar na formação de tecido fibroso (GROSS et al., 1985).

Os vidros bioativos promovem reparação tecidual, não são tóxicos, não induzem respostas alérgicas ou carcinogênicas, como confirmado por meio de testes “*in vitro*” e “*in vivo*”. O biovidro é geralmente composto por SiO_2 , Na_2O , CaO , P_2O_5 , CaF_2 (HOFFMAN et al., 1996).

Vitro-cerâmicas são microcristais que se precipitam sobre a matriz vítrea durante um tratamento térmico, de forma espontânea ou germinada (adições de Pt, ZrO_2) (HOFFMAN et al., 1996).

Biocerâmicas à base de fosfatos de cálcio (hidroxiapatita (HA), fosfato tricálcico (TCP) ou a mistura de ambos) apresentam excelente biocompatibilidade e se ligam diretamente ao osso, sem interposição de qualquer outro tipo de tecido (DUCHEINE, 1985; GROSS, et al., 1990). Isso é explicado pelo fato destes materiais serem compostos dos mesmos íons que formam a fase mineralizada do osso natural, sendo, portanto capazes de participar do equilíbrio cálcio/fosfato no organismo (BARTH, et al., 1988). O grau de reatividade dos fosfatos de cálcio é motivo de controvérsia, sendo considerados fatores de influência a composição química (proporção HA/TCP), a estrutura cristalina e o processo de fabricação do material (HULBERT, et al., 1970). Conforme a combinação desses fatores, um implante de fosfato de cálcio pode até ser totalmente reabsorvido.

A hidroxiapatita (HA) é um material cerâmico bioativo encontrado naturalmente na porção mineral dos ossos e dos dentes humanos. Sintetizado quimicamente pode ser clinicamente aplicado como material de substituição óssea dentro do corpo humano para correção de defeitos ósseos. A HA tem a seguinte fórmula química, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (NORTON, et al., 2006).

Suas principais vantagens são:

- Alta biocompatibilidade;
- Osteocondutividade, ou seja, ao serem implantadas no sítio ósseo, não induzem resposta imunológica; são capazes de ligar-se diretamente ao tecido ósseo e permitirem o crescimento do osso ao longo de sua superfície (LEGEROS, 2008).

Suas principais desvantagens são:

- Baixa resistência mecânica;
- Quando de origem animal, há problemas com impurezas e contaminações.

4. 1.1.3. Biocerâmicas Reabsorvíveis

Os biomateriais reabsorvíveis sofrem degradação gradual em um período de tempo, sendo substituídos por tecido natural, levando a regeneração dos tecidos ao invés da substituição. Uma fina ou inexistente camada interfacial entre material-tecido é formado. Grandes quantidades de materiais são metabolizadas por células, deste modo, os constituintes de um implante reabsorvível devem ser metabolicamente aceitáveis, sendo assim, uma limitação severa nas composições que podem ser utilizadas (HENCH, et al., 1993).

Suturas reabsorvíveis compostas de poli (ácido lático), poli (ácido glicólico) são metabolizadas pelo organismo para dióxido de carbono e água. Entretanto, sua função por um período de tempo é manter o tecido unido durante a cicatrização da lesão para assim se dissolver e desaparecer. Cerâmicas de fosfato tricálcico (TCP) se degradam para sais de cálcio e fosfato, podendo ser utilizados para preenchimento dos espaços ósseos (HENCH, et al., 1993).

O desenvolvimento de biocerâmicas reabsorvíveis pode apresentar dificuldades tais como:

- Manutenção da resistência e da estabilidade da interface durante o período de degradação e substituição por tecido natural;
- Controle de taxas de reabsorção para o reparo de tecido ósseo (Alguns materiais dissolvem muito rapidamente outros lentamente);

4. 2. Recobrimento biomimético

Existem muitos métodos de recobrimentos, como o CVD (*chemical vapor deposition*), deposição por plasma, imersão em soluções particuladas, deposição eletroquímica, biomimético, entre outros.

O recobrimento biomimético é caracterizado pela imersão dos materiais em uma solução sintética que simula o plasma sanguíneo (SBF), para geração dos núcleos que proporcionarão o crescimento apropriado de uma camada de apatita “*in vitro*”. Como a alumina-zircônia são materiais bioinertes é importante fazer um tratamento superficial com laser de femtossegundo, com o objetivo de aumentar a área de superfície específica, facilitando a deposição da hidroxiapatita que cresce consumindo íons Ca e P da solução de SBF.

4. 3. Análise quantitativa de fases – método de rietveld

O desenvolvimento de métodos computacionais aplicados a difratometria de pó tem possibilitado a análise estrutural de padrões de difração digitalizados. O método de Rietveld (RIETVELD, 1969) é uma aplicação dos princípios básicos de física da difração e de parâmetros cristalográficos fundamentais, como parâmetros de rede, estados de oxidação e posições de ocupação na célula unitária para o cálculo das intensidades do padrão de difração.

O método de Rietveld é baseado na construção de um padrão de difração calculado, de acordo com o modelo estrutural. O padrão calculado é obtido pela introdução direta dos dados cristalográficos, como:

- a) simetria do grupo espacial
- b) posições atômicas
- c) posições de ocupação
- d) parâmetros de rede

O padrão calculado ao se ajustar ao padrão observado fornece dados dos parâmetros estruturais do material e parâmetros do perfil de difração. O termo refinamento no método de Rietveld refere-se ao processo de ajuste do modelo de parâmetros utilizados no cálculo de um padrão de difração, que seja o mais próximo do observado. O refinamento é conduzido pela minimização da soma das diferenças entre as intensidades calculadas e observadas, a cada passo angular do padrão de difração.

Os parâmetros, específicos de cada fase, que variam durante o refinamento são (YOUNG, 1995):

- a) estruturais: posições atômicas, parâmetros da célula unitária, fatores de ocupação, fator de escala, parâmetros de vibração térmica (isotrópicos e anisotrópicos) e parâmetro térmico isotrópico geral.
- b) não estruturais: parâmetros da largura à meia altura (U, V, W), assimetria, 2θ zero, orientação preferencial e coeficientes da radiação de fundo.

O método de Rietveld é aplicado ao intervalo angular total do padrão de difração, aumentando a precisão dos dados obtidos. O problema de sobreposição de picos é minimizado, permitindo o máximo de extração de informações do padrão de difração.

Os requisitos básicos para o refinamento pelo método de Rietveld são (HILL; MADSEN, 1987):

- a) medidas precisas de intensidades dadas em intervalos 2θ ;
- b) um modelo inicial próximo à estrutura real do cristal;
- c) um modelo que descreva a forma, largura e erros sistemáticos nas posições dos picos de Bragg;

O método de Rietveld pode ser aplicado na análise quantitativa de fases, ajuste de parâmetros de célula e estudos estruturais como: determinação de tamanho de cristalitos, distribuição de cátions, incorporação de átomos e formação de vacâncias, posições atômicas e posições de ocupação.

A partir de métodos matemáticos é possível a construção de um padrão de difração teórico. O padrão calculado é comparado ao padrão observado experimentalmente e as

diferenças nas intensidades são minimizadas pelo método de mínimos quadrados (YOUNG, 1995):

$$Q_v = \sum_i w_i (y_{icalc} - y_{iobs})^2 \quad (\text{Eq 1})$$

onde y_i = intensidade da i-ésima posição 2θ e $w_i = 1/y$

O método parte de um modelo estrutural que descreve o espalhamento pelo fator de estrutura (BOHNER, 2000):

$$F_{hkl} = \sum_j N_j f_j e^{[2\pi i(hx_j + ky_j + lz_j)]} [-B_j (\frac{\sin^2 \theta}{\lambda^2})] \quad (\text{Eq 2})$$

Onde F_{hkl} é o fator de estrutura; N_j é o fator de ocupação do j-ésimo átomo; f_j é fator de espalhamento; h, k e l são os índices de Miller; x_j , y_j e z_j são as coordenadas atômicas; B_j é o fator de temperatura isotrópico; θ é o ângulo de difração; λ é o comprimento de onda utilizado na difração de raios x (BOHNER, 2000).

A intensidade calculada y_{calc} é combinada com as possíveis reflexões hkl e com base no modelo estrutural, constantes físicas e variáveis instrumentais é definida (BOHNER, 2000):

$$y_{icalc} = S \sum_{hkl} L_{hkl} |F_{hkl}|^2 \phi(2\theta_i - 2\theta_{hkl}) P_{hkl} A + y_{ib} \quad (\text{Eq 3})$$

Onde y_{icalc} é a intensidade calculada; S é o fator de escala de Rietveld; L_{hkl} é um fator que contém os fatores de Lorentz, polarização e multiplicidade; ϕ é a intensidade analítica da função de perfil escolhida; P_{hkl} é a função de orientação preferencial; A é o fator de absorção instrumental; y_b é a intensidade da radiação de fundo no i-ésimo passo (BOHNER, 2000).

Quando S é combinado com o número de fórmulas por célula unitária, Z, M massa da fórmula unitária e V, volume da célula unitária, a fração em peso W_p da fase p em uma mistura de n fases é determinada por (YOUNG, 1995):

$$w_p = \frac{S_p(ZMV)_p}{\sum_{i=1} (ZMV)_i} \quad (\text{Eq 4})$$

Portanto, além da determinação de estruturas cristalográficas a partir de padrões de difração experimentais, é possível determinar a concentração de cada fase em uma mistura (YOUNG, 1995).

A quantificação de fases não depende de padrões internos ou externos ou curvas de calibração (YOUNG, 1995).

O ajuste do padrão de difração calculado ao padrão observado é baseado na aplicação de um método estatístico que minimize os erros durante os ciclos do refinamento. O método aplicado é o método dos mínimos quadrados. Este método apresenta algumas vantagens como rapidez de resolução e determinação dos erros estatísticos em cada ciclo do refinamento. Entretanto, devido à grande correlação das variáveis envolvidas, o método pode levar a divergência dos valores durante os ciclos do refinamento. A aplicação deste método no programa é feita pelo algoritmo de Newton-Raphson (YOUNG, 1995).

O refinamento inclui os parâmetros estruturais e não estruturais durante a execução dos ciclos, o que pode levar à divergência ou falso mínimo quando o padrão observado apresenta sobreposição ou alargamento de picos (YOUNG, 1995).

Os programas LHPMRietica⁽¹⁾, GSAS⁽¹⁾, RIETAN⁽¹⁾, FULLPROF⁽¹⁾ e outros têm como opção a aplicação do método de Le Bail⁽¹⁾ no refinamento. A utilização deste método permite que o refinamento dos parâmetros de perfil e estrutura sejam refinados em duas etapas distintas, o que pode facilitar o refinamento de padrões que apresentam sobreposição de picos. Por este método é possível estimar com precisão e rapidez os parâmetros de rede, o que facilita a identificação das fases contidas no padrão (YOUNG, 1995).

¹ <http://www.ccp14.ac.uk/>.

4.3.1. Avaliação do refinamento

4.3.1.1. Resíduos

As quantidades utilizadas para avaliar o progresso do refinamento e a concordância entre o perfil observado e calculado são os resíduos obtidos a partir das diferenças das intensidades observadas e calculadas (YOUNG, 1995).

O resíduo R_p é estimado a partir da seguinte expressão (YOUNG, 1995):

$$R_p = \frac{\sum_i |y_{io} - y_{ic}|}{\sum_i y_{io}} \quad (\text{Eq 5})$$

onde i é o i -ésimo passo

O resíduo R_{WP} considera o erro associado a cada valor da intensidade uma função do número de contagens, utilizando o fator de ponderação $w(2\theta)$ (YOUNG, 1995):

$$R_{WP} = \sqrt{\frac{\sum_i w_i(2\theta_i)(y_{io} - y_{ic})^2}{\sum_i w(2\theta_i)y_{io}^2}} \quad (\text{Eq 6})$$

onde $w(2\theta_i) = 1/[\text{variança de } y_{io}] = 1/y_{io}$

O efeito do fator de ponderação é reduzir a contribuição do erro devido ao desajuste na parte superior dos picos, portanto as regiões mais próximas da borda inferior dos picos devem ser observadas (YOUNG, 1995).

Os valores para R_{WP} para bons resultados é de 2-10%, enquanto que os valores típicos obtidos variam de 10-20%. Para avaliar a qualidade do ajuste compara-se o valor final de R_{WP} com o valor do erro esperado. O erro esperado (R_{exp}) é derivado do erro estatístico associado às intensidades medidas (YOUNG, 1995):

$$R_{EXP} = \sqrt{\frac{(N - P)}{\sum_i w(2\theta_i)y_{io}^2}} \quad (\text{Eq 7})$$

Onde:

N = número de observações

P = número de parâmetros variáveis

O denominador contém a soma das intensidades observadas, e quanto maior a intensidade no intervalo menor será o resíduo. Estes resíduos dependem da intensidade da radiação de fundo: o aumento da intensidade da radiação de fundo implica a redução dos valores de R (YOUNG, 1995).

4. 3. 2. Índice de qualidade do refinamento (“goodness of fit”- gof)

O cálculo do parâmetro *Gof* inclui o número de variáveis sob refinamento. Através deste parâmetro pode se avaliar se uma mudança no número de parâmetros pode diminuir o erro residual (YOUNG, 1995).

$$Gof = S^2 = \sqrt{\frac{\sum w(2\theta_i) x(y_{i0} - y_{ic})^2}{(N - P)}} = \left(\frac{R_{WP}}{R_{EXP}}\right)^2 \quad (\text{Eq 8})$$

Os valores dos desvios padrão são calculados a partir da expressão:

$$\sigma_m^2 = A_{mm}^{-1} S^2 \quad (\text{Eq 9})$$

onde A_{mm}^{-1} é o elemento diagonal da inversa da matriz normal no procedimento de minimização por mínimos quadrados. Se S^2 é diferente da unidade e/ou varia com as condições experimentais, pode se concluir que os fatores de ponderação não são apropriados (a estatística de contagem não é a fonte primária do erro), ou os modelos teóricos para a estrutura ou picos de difração estão incompletos ou incorretos (YOUNG, 1995).

O resíduo R_B é uma medida da concordância entre as intensidades de Bragg medidas e calculadas. As intensidades observadas estão ligadas ao modelo estrutural e R_B é um indicador do ajuste dos parâmetros estruturais.

$$R_B = \frac{\sum_K I |I_{KO} - I_{KC}|}{\sum_K I_{KO}} \quad (\text{Eq 10})$$

onde I_{ko} e I_{kc} são as intensidades observada e calculada, respectivamente para as reflexões de Bragg (YOUNG, 1995).

R_{WP} é o indicador estatístico que melhor representa a aproximação já que o numerador é o resíduo minimizado no procedimento de mínimos quadrados. Os fatores que modificam R_{WP} são as diferenças na forma dos picos (como a largura) e a estatística da radiação de fundo. R_B é menos afetado pela estatística da radiação de fundo, sendo também um indicador importante principalmente da aproximação entre o modelo estrutural calculado e a estrutura real (YOUNG, 1995).

4. 4. Fluorescência de raios x por dispersão de comprimento de onda (wdxrf)

A Fluorescência de raios x por dispersão de comprimento de onda (WDXRF) consiste em incidir um feixe de raios x em uma amostra e produzir radiações fluorescentes (transições eletrônicas dos elétrons das camadas mais internas dos átomos), que são características para cada elemento químico. Estas radiações são difratadas por um cristal analisador (de acordo com a lei de Bragg) e captadas por um detector.

A técnica WDXRF é aplicada para a determinação qualitativa e quantitativa de maiores e menores constituintes e traços em diversos tipos de materiais.

4.4.1. Método de parâmetros fundamentais (fp)

4.4.1.1. Cálculo das intensidades teóricas para amostras infinitamente espessas (“bulk”)

O Método de Parâmetros Fundamentais (FP) consiste em calcular a intensidade teórica dos elementos químicos por meio de amostras de composição química conhecida, (próxima ou não da amostra) submetida aos parâmetros instrumentais bem definidos, como excitação do tubo de raios x e geometria óptica.

Relacionando-se a intensidade fluorescente teórica calculada e a medida para cada elemento químico, pode-se obter uma curva de sensibilidade do equipamento e assim, determinar a composição química e as impurezas de amostras desconhecidas.

O método foi apresentado em 1955 por Sherman, passando por modificações em 1966 por Shiraiwa e Fujino. Nestes últimos algoritmos foi introduzida uma correção para a radiação fluorescente secundária, graças ao advento dos modernos computadores, que possibilitaram cálculos mais refinados. Em 1968, Criss e Birks conseguiram quantificar matematicamente a intensidade fluorescente em termos de parâmetros físicos fundamentais e instrumentais, que são as bases para as correções do efeito de matriz. As maiores dificuldades encontradas referem-se às expressões que constavam de integrais múltiplas, laboriosas de serem resolvidas na prática. Outra dificuldade consistia também na obtenção do espectro primário do tubo de raios x com precisão. A partir de 1977, o método começou a ser utilizado para filmes finos e atualmente é utilizado para qualquer tipo de amostra.

Os cálculos teóricos para a intensidade fluorescente de raios x baseiam-se nos seguintes critérios (KATAOKA, 1989):

- Todos os elementos devem estar uniformemente distribuídos na amostra;
- A intensidade fluorescente característica é proporcional à concentração do elemento medido;
- Os efeitos de intensificação e ou absorção da matriz podem ser calculados usando-se as constantes físicas, isto é, coeficiente de absorção de massa, rendimento de fluorescência, etc;
- A intensidade fluorescente de raios x proveniente da amostra é dependente da configuração do equipamento e das condições de medida.

De acordo com esses critérios a intensidade teórica é calculada por meio da Equação 11:

$$I_i = I_{P_i} + I_{S_i} \quad (\text{Eq11})$$

onde;

I_i = intensidade teórica;

I_{P_i} = excitação primária;

I_{S_i} = excitação secundária.

As intensidades de excitação primária e secundária são obtidas por meio das Eq. 12 e 13, respectivamente.

$$I_{P_i} = \frac{K(\lambda_i)}{\sin \psi_2} \int_{\lambda_{\min}}^{\lambda_i} \frac{Q_i(\lambda)}{X} I_0(\lambda) d\lambda \quad (\text{Eq12})$$

$$I_{Si} = \frac{K(\lambda_i)}{2 \sin \psi_2} \sum_j \int_{\lambda_{\min}}^{\lambda_c^j} \frac{Q_j(\lambda) Q(\lambda_j)}{X} I_0(\lambda) \cdot Y \cdot d\lambda \quad (\text{Eq 13})$$

Os algoritmos Q, X e Y são obtido por meio das Eq. 14, 15 e 16, respectivamente.

$$Q_i(\lambda) = \tau_i(\lambda) W_i \left(1 - \frac{1}{J_i}\right) \omega_i R_p^i \quad (\text{Eq 14})$$

$$X = \frac{\mu(\lambda)}{\sin \psi_1} + \frac{\mu(\lambda_i)}{\sin \psi_2} \quad (\text{Eq 15})$$

$$Y = \frac{\sin \psi_1}{\mu(\lambda)} \ln \left[1 + \frac{\mu(\lambda)}{\mu(\lambda_j) \sin \psi_1} \right] + \frac{\sin \psi_2}{\mu(\lambda_i)} \ln \left[1 + \frac{\mu(\lambda_i)}{\mu(\lambda_j) \sin \psi_2} \right] \quad (\text{Eq 16})$$

Na Tabela 6 são apresentadas as abreviações das fórmulas para os cálculos da intensidade teórica.

Tabela 6: Abreviações utilizadas nas equações para os cálculos das intensidades teóricas

K	fração da radiação fluorescente que passa através do colimador em direção ao cristal analisador;
I_0	radiação incidente proveniente do espectro primário de raios X;
ψ_1, ψ_2	ângulos incidentes e emergentes;
W_i	composição química;
μ_λ	coeficiente de absorção de massa total;
$\tau_i(\lambda)$	coeficiente de absorção de fóton;
ω_i	rendimento de fluorescência;
$1 - \frac{1}{J_i}$	salto de absorção (“Jump”)
R_p^i	probabilidade de ocorrer transição;
λ_i, λ_e^i	comprimento de onda de raios X fluorescente e barreira de absorção (“edge”);
$\lambda_{\min}$	comprimento de onda mínimo.

Na Figura 5 é mostrada a produção das radiações secundárias dos elementos i e j , a excitação primária I_{Pi} para um comprimento de onda λ_i , incidindo com um ângulo ψ_i , em uma amostra infinitamente espessa (“bulk”), sofrendo absorção do elemento j e intensificação do elemento i .

Figura 5 – Excitação primária e secundária em uma amostra infinitamente espessa (SCAPIN, 2004)

4.4.1.2. Cálculos das intensidades teóricas para amostras de filme fino

4.4.1.2.1. Método absoluto para a determinação da espessura de filmes finos

O método absoluto é utilizado para verificar se a especificação da espessura de uma amostra de filme fino é ou não concordante, visto que, para a sua aplicação é necessário o uso de amostra de espessura conhecida. Este método consiste em medir as intensidades fluorescentes do macro constituinte do substrato de uma amostra de filme fino, sem o filme (branco) e com o filme. Correlacionando-se as intensidades e as espessuras de uma série de amostras e por meio de regressão linear, obtém-se uma curva.

As intensidades das amostras sem o filme (branco) e as com o filme e o coeficiente angular da curva, são substituídos na Eq. 25, desta forma é possível determinar a espessura do filme.

Na Figura 6 é mostrado um modelo de uma camada simples de filme fino e as interações do feixe de raios x monocromático colimado, incidindo sobre um material. O feixe incidente primário [$I_0^*(\lambda)$] que passa pela amostra terá sua intensidade atenuada de acordo com a Eq. (17) (VÁZQUEZ et al., 1988).

Figura 6 - Feixe primário e secundário na camada simples da amostra de filme fino (VÁZQUEZ et al., 1988)

$$I_o(\lambda)_i = I_0^*(\lambda)_i \exp[-\mu_f(\lambda)_i \rho x \cos \psi_1] \quad (\text{Eq 17})$$

Onde:

$I_0^*(\lambda)$ = intensidade do feixe primário para o comprimento de onda λ_i ;

$I_o(\lambda)_i$ = intensidade que alcança o substrato após passar pelo filme;

$\mu_f(\lambda)_i$ = coeficiente de absorção de massa do filme para o comprimento de onda λ_i ;

ρ = densidade do filme;

ψ_1 = ângulo entre a radiação incidente e a superfície da amostra;

x = espessura do filme; e

ψ_2 = ângulo entre a radiação emergente e a superfície da amostra;

A intensidade fluorescente gerada dentro do substrato será dada pela Eq.(18).

$$I_{Su} = \int_{\lambda_o}^{\lambda_{edge}} \frac{I_o(\lambda)_i \mu_{Su}(\lambda)_i \cos \psi_1}{\mu_{Su}(\lambda)_i \cos \psi_1 + \mu_{Su}(\alpha) \cos \psi_2} d\lambda \quad (\text{Eq 18})$$

Onde:

I_{Su}	=	intensidade fluorescente do elemento substrato;
K	=	constante que leva em conta o arranjo geométrico da amostra, o detector e os parâmetros fundamentais do elemento substrato;
λ_0	=	comprimento de onda mínimo do espectro da radiação incidente;
λ_{edge}	=	comprimento de onda da borda de absorção ("absortion edge");
$\mu_{Su}(\lambda)_i$	=	coeficiente de absorção do elemento substrato para o comprimento de onda incidente; e
$\mu_{Su}(\alpha)$	=	coeficiente de absorção de massa do elemento substrato para o seu comprimento de onda do $Su_{(KLIII)}$.

A constante K é determinada por meio da Eq.(19)

$$K = q \cos \psi_1 \left[\frac{S_k - 1}{S_k} \right] W_k f_k \quad (\text{Eq 19})$$

Onde:

q	=	fração da radiação que passa pelo colimador em direção ao cristal analisador;
S_k	=	descontinuidade de absorção;
W_k	=	rendimento fluorescente; e
f_k	=	probabilidade da emissão da radiação fluorescente pelo estado excitado do nível de energia K.

O comprimento de onda efetivo ($\bar{\lambda}$), é considerado como um comprimento de onda monocromático, que está entre o limite de comprimento mínimo e a barreira de absorção ("edge") do analito. Levando-se em conta essa consideração, a Eq.(17) poderá ser escrita de acordo com a Eq.(20)

$$I_{Su}^f = K \frac{I_o(\bar{\lambda})_i \mu_{Su}(\bar{\lambda})_i \text{cosec} \psi_1}{\mu_{Su}(\bar{\lambda})_i \text{cosec} \psi_1 + \mu_{Su}(\alpha) \text{cosec} \psi_2} (\lambda_{edge} - \lambda_o) \quad (\text{Eq 20})$$

Onde:

$\mu_{\text{Su}}(\bar{\lambda})_f$ = coeficiente de absorção de massa do elemento substrato para o comprimento de onda efetivo do filme.

A intensidade I_{Su}^f da linha fluorescente $\text{Su}_{(\text{kLIII})}$ excitada no substrato, será medida após passar pelo filme e expressa pela Eq.(21)

$$I_{\text{Su}}^f = I^f \exp[-\mu_f(\alpha)_{\text{Su}} \cos \psi_2] \rho x \quad (\text{Eq 21})$$

Onde:

$\mu_f(\alpha)_{\text{Su}}$ = coeficiente de absorção de massa do filme para o comprimento de onda do substrato $\text{Su}_{(\text{kLIII})}$.

Combinando-se as Eq.(20) e (21) teremos a Eq.(22)

$$I_{\text{Su}}^f = K \frac{I_o^* (\bar{\lambda})_i \mu_{\text{Su}} (\bar{\lambda})_i \cos \psi_1 \cdot \exp[-\mu_f(\lambda)_i \rho x \cos \psi_1] \exp[-\mu_f(\alpha) \rho x \cos \psi_2]}{\mu_{\text{Su}} (\bar{\lambda})_i \cos \psi_1 + \mu_{\text{Su}}(\alpha) \cos \psi_2} (\lambda_{\text{edge}} - \lambda_o) \quad (\text{Eq 22})$$

Arranjando a Eq.(22), teremos a Eq.(23)

$$I_{\text{Su}}^f = K \frac{I_o^* (\bar{\lambda})_i \mu_{\text{Su}} (\bar{\lambda})_i \cos \psi_1 \exp \left\{ -[\mu_f(\lambda)_i \rho x \cos \psi_1] + [\mu_f(\alpha)_{\text{Su}} \cos \psi_2] \rho x \right\}}{\mu_{\text{Su}} (\bar{\lambda})_i \cos \psi_1 + \mu_{\text{Su}}(\alpha) \cos \psi_2} (\lambda_{\text{edge}} - \lambda_o) \quad (\text{Eq 23})$$

A espessura do filme será então determinada, pelo quociente da intensidade do substrato com o filme (I_{su}^f) pela intensidade do substrato sem o filme (I_s), de acordo com a Eq.(24)

$$\frac{I_{Su}}{I_S} = \exp \{ - [\mu_f(\lambda)_i \operatorname{cosec} \psi_1 + \mu_f(\alpha)_{Su} \operatorname{cosec} \psi_2] \rho x \} \quad (\text{Eq 24})$$

Aplicando-se $\ln$ a Eq.(24) teremos a Eq.(25)

$$\ln I_{Su} = \ln I_S - [\mu_f(\lambda)_i \operatorname{cosec} \psi_1 + \mu_f(\alpha)_{Su} \operatorname{cosec} \psi_2] \rho x \quad (\text{Eq 25})$$

4. 5. Molhabilidade

A superfície de um sistema tem sempre um excesso de energia comparado ao seu interior. Os átomos superficiais têm energia mais alta que os internos que estão rodeados de vizinhos. A energia de superfície γ é definida como um aumento da energia livre no sistema ΔG por unidade de nova área superficial criada dA , ou seja, é o trabalho reversível dw_r requerido para aumentar a superfície por unidade de área, e pode ser descrita pela seguinte equação 26 (CHIDAMBARAM et al., 1992; GINDL, 2001):

$$dw_r = -\Delta G = \gamma^* dA \quad (\text{Eq 26})$$

Como ilustrado na Figura 7 para cada interface sólido-vapor A_{SV} e interface líquido-vapor A_{LV} estão associadas as energias γ^{SV} e γ^{LV} . Quando uma gota toca a fase sólida (Figura 7b), a área individual sólido e líquido desaparece, dando lugar a uma nova área sólido-líquido A_{SL} e a sua respectiva energia interfacial γ^{SL} . Baseado na Figura 7, a equação que descreve a energia livre do sistema pode ser deduzida matematicamente (MOTTA et al., 2004):

$$G_a = A_{LV} \gamma^{LV} + A_{SV} \gamma^{SV} \quad (\text{Eq 27})$$

$$G_b = A_{SV} \gamma^{SV} + A_{LV} \gamma^{LV} + A_{SL} \gamma^{SL} \quad (\text{Eq 28})$$

onde G_a e G_b são as energias livres de Gibbs antes e depois do molhamento, respectivamente, como mostrado na Figura 7. Considerando que depois do molhamento $A_{SL} = 1$ e subtraindo este valor das áreas A_{SV} e A_{LV} iniciais, então:

$$G_b = (A_{SV} - 1) \gamma^{SV} + (A_{LV} - 1) \gamma^{LV} + \gamma^{SL} \quad (\text{Eq 29})$$

Figura 7: Representação do molhamento (a) antes e (b) depois da adesão (MOTTA et al., 2004)

Assim, a mudança na energia livre pode ser calculada:

$$\Delta G = G_b - G_a = (A_{SV} - 1)\gamma^{SV} + (A_{LV} - 1)\gamma^{LV} + \gamma^{SL} - A_{LV}\gamma^{LV} - A_{SV}\gamma^{SV} \quad (\text{Eq 30})$$

$$\Delta G = \gamma^{SL} - \gamma^{SV} - \gamma^{LV} \quad (\text{Eq 31})$$

As variáveis γ^{SL} e γ^{SV} são difíceis de serem determinadas, mas baseado na Figura 8, ΔG pode ser calculado como função de γ^{LV} . Em uma situação de equilíbrio tem-se que:

$$\gamma^{SV} = \gamma^{SL} + \gamma^{LV} \cos \theta \therefore \gamma^{SL} - \gamma^{SV} = -\gamma^{LV} \cos \theta \quad (\text{Eq 32})$$

Figura 8: Representação das energias interfaciais e ângulo de contato (RAHAMAN, 1995)

Considerando que $\gamma^{SL} - \gamma^{SV} + \gamma^{LV} \cos \theta$ é o trabalho de adesão do sólido no líquido, tem-se que:

$$W_A^{SL} = -\frac{\partial G}{\partial A_{SL}} \quad (\text{Eq 33})$$

O trabalho de adesão, w_A , é um parâmetro que está relacionado com o nível de interação entre as superfícies em contato. Considerando um caso simples onde uma interface entre dois materiais é estabelecida por ligações químicas, w_A pode ser interpretado como o trabalho por unidade de área necessário para romper as ligações interfaciais e criar duas superfícies sem deformação plástica dos materiais base (NASCIMENTO et al., 2003 ; NOWOK et al., 1997).

A partir da equação 33 avalia-se que:

- Se w_A^{SL} for positivo implica em $\frac{\partial G}{\partial A_{SL}}$ negativo; assim, a energia livre de Gibbs diminuirá à medida que a interface sólido-líquido aumentar e o líquido se espalhará espontaneamente.
- Se w_A^{SL} for igual a zero a configuração será estável (equilíbrio), sem variação da área da interface sólido-líquido.
- Se w_A^{SL} for menor que zero, o líquido contrai e diminui a área sólido-líquido.

O termo $\gamma^{SL} - \gamma^{SV}$ representa a força motora do molhamento (NASCIMENTO et al., 2003; NOWOK et al., 1997).

O sistema molha quando este parâmetro ($\gamma^{LV} \cos \theta$) é maior que zero (TAGUCHI et al., 2004). Substituindo a equação 32 na 31, obtêm-se a Equação de Young:

$$-\Delta G = w_A^{SL} = \gamma^{LV} (1 + \cos \theta) \quad (\text{Eq 34})$$

onde ΔG é a mudança na energia livre de Gibbs do sistema e θ é o ângulo de contato que representa a molhabilidade de uma superfície sólida por um líquido.

Por definição tem-se que (RAHAMAN, 1995; HADIAN et al., 1994; ANEZIRIS et al., 2005): quando $\theta > 90^\circ$, não há o molhamento do sólido pelo líquido, ou seja, não ocorre o espalhamento do líquido (Figura 9a); quando $\theta < 90^\circ$, há o molhamento e o líquido se espalha espontaneamente (Figura 9b); quando $\theta \approx 0^\circ$, o líquido se espalha indefinidamente sobre o sólido, ou seja, o molhamento é total (Figura 9c).

Figura 9: Representação do ângulo de contato (a) maior do que 90° , (b) menor do que 90° e (c) espalhamento total (RAHAMAN, 1995)

A energia de superfície total ($\gamma^t = \gamma^p + \gamma^d$) das cerâmicas utilizadas neste trabalho foi calculada a partir da seguinte equação de Fowkes (ZENKIEWICZ, 2007):

$$\left(\gamma_s^d * \gamma_l^d\right)^{0,5} + \left(\gamma_s^p * \gamma_l^p\right)^{0,5} = 0,5\gamma_l(1 + \cos \theta) \quad (\text{Eq 35})$$

Onde “p” e “d” referem-se, respectivamente, às componentes polar e dispersiva (não polar) da energia de superfície. A componente polar inclui todas as interações entre o sólido e o líquido, tais como dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido, ligações de hidrogênio, entre outras, enquanto que a componente dispersiva é resultante de interações de dipolo momentâneo (MARTINS, 2005).

Porém, dois termos são desconhecidos: γ_s^d e γ_s^p . Por essa razão, a utilização somente da equação 35 se torna insuficiente para determinar a energia de superfície total.

Sendo assim, são necessários, dois ângulos de contato utilizando dois líquidos, levando a duas equações, com diferentes valores de coeficientes constantes. Como resultado, um sistema de duas equações lineares é obtido (ZENKIEWICZ, 2007):

$$\begin{aligned} x + ay &= b(1 + \cos \theta_1) \\ x + cy &= d(1 + \cos \theta_2) \end{aligned} \quad (\text{Eq 36})$$

Onde:

$$x = (\gamma_s^d)^{0,5}; y = (\gamma_s^p)^{0,5}$$

θ_1 e θ_2 são os valores dos ângulos de contato dos dois líquidos medidos;

a, b, c, d são os coeficientes relativos aos líquidos.

Substituindo $(\gamma_s^d)^{0,5}$ por x e $(\gamma_s^p)^{0,5}$ por y na equação 35, tem-se (ZENKIEWICZ, 2007):

$$\left. \begin{aligned} x(\gamma_{l1}^d)^{0,5} + y(\gamma_{l1}^p)^{0,5} &= 0,5\gamma_{l1}(1 + \cos \theta_1) \\ x(\gamma_{l2}^d)^{0,5} + y(\gamma_{l2}^p)^{0,5} &= 0,5\gamma_{l2}(1 + \cos \theta_2) \end{aligned} \right\} \quad (\text{Eq 37})$$

Dividindo a equação 37 por $(\gamma_{l1}^d)^{0,5}$ na primeira equação e por $(\gamma_{l2}^d)^{0,5}$ na segunda equação tem-se (ZENKIEWICZ, 2007):

$$\left. \begin{aligned} x + y \frac{(\gamma_{l1}^p)^{0,5}}{(\gamma_{l1}^d)^{0,5}} &= 0,5 \frac{\gamma_{l1}}{(\gamma_{l1}^d)^{0,5}} (1 + \cos \theta_1) \\ x + y \frac{(\gamma_{l2}^p)^{0,5}}{(\gamma_{l2}^d)^{0,5}} &= 0,5 \frac{\gamma_{l2}}{(\gamma_{l2}^d)^{0,5}} (1 + \cos \theta_2) \end{aligned} \right\} \quad (\text{Eq 38})$$

Deste modo:

$$a = \left(\frac{\gamma_{l1}^p}{\gamma_{l1}^d} \right)^{0,5} \quad b = 0,5 \frac{\gamma_{l1}}{(\gamma_{l1}^d)^{0,5}} \quad c = \left(\frac{\gamma_{l2}^p}{\gamma_{l2}^d} \right)^{0,5} \quad d = 0,5 \frac{\gamma_{l2}}{(\gamma_{l2}^d)^{0,5}}$$

Sendo o líquido 1 (11) a água e o líquido 2 (12) o etileno-glicol e; sabendo que a $\gamma_{\text{água}}^d$, $\gamma_{\text{água}}^p$, $\gamma_{\text{água}}^t$, $\gamma_{\text{etileno-glicol}}^d$, $\gamma_{\text{etileno-glicol}}^p$ e $\gamma_{\text{etileno-glicol}}^t$ são tabelados e constantes (GOOD, et al., 1992), acham-se os valores de a, b, c e d (ZENKIEWICZ, 2007).

Tendo calculado os coeficientes dos líquidos, os valores a, b, c e d são substituídos na equação 36, para finalmente obter a componente dispersiva e a componente polar de cada sólido (γ_s^d) e (γ_s^p) . A soma das duas componentes é a energia de superfície total de cada cerâmica (ZENKIEWICZ, 2007).

Vale ressaltar que a reação dipolo-dipolo é uma ligação intermolecular que consiste na atração de moléculas polares (dipolos), isto é, aquelas que não apresentam distribuição uniforme de carga ao longo de sua superfície. As pontes de hidrogênio são casos particulares da interação dipolo-dipolo, em que o dipolo molecular é fixo e de grande intensidade. Esse fenômeno ocorre quando o hidrogênio está ligado a um dos três elementos mais eletronegativos - flúor, oxigênio e nitrogênio- (F-H; O-H; N-H), pois a diferença de eletronegatividade entre o hidrogênio e esses elementos é muito grande. Exemplos de ligações dipolo-dipolo: CH₃OH; CHCl₃; HCl; H₂S; CO; HCCl₃, entre outras.

4. 6. Influência da rugosidade

Considerando que tanto a osseointegração quanto a molhabilidade dependem das rugosidades das superfícies, é importante fazer a descrição desta propriedade a fim de definir os parâmetros de quantificação.

A rugosidade é uma importante propriedade no que tange aos fenômenos superficiais, pois possibilita o aumento da área superficial, afeta o coeficiente de atrito e proporciona a retenção mecânica de materiais estranhos.

De acordo com Elias e Lima (2001), tem-se procurado quantificar a influência da rugosidade na osseointegração a fim de se atingir a melhor condição superficial, mas até esta data não foi possível chegar a um consenso quanto ao melhor tratamento superficial e nível ideal de rugosidade. O emprego do rugosímetro permite quantificar os diferentes parâmetros da rugosidade, entre eles, R_a , R_z , R_t , R_y e R_q , sendo que a rugosidade média (R_a) é o parâmetro mais empregado no estudo da rugosidade superficial dos materiais. A rugosidade média (**R_a**) é a média aritmética dos valores absolutos das ordenadas de afastamento (y_i), dos pontos do perfil de rugosidade em relação à linha média, dentro do percurso de medição (l_m). A rugosidade média (**R_z**) é a média aritmética dos cinco valores de rugosidade parcial. Rugosidade parcial (Z_i) é a soma dos valores absolutos das ordenadas dos pontos de maior afastamento, acima e abaixo da linha média, existentes no comprimento de amostragem. A rugosidade total (**R_t**) corresponde à distância vertical entre o pico mais alto e o vale mais profundo no comprimento de avaliação (l_m), independentemente dos valores de rugosidade parcial (Z_i). A rugosidade máxima (**R_y**) é definida como o maior valor das rugosidades parciais (Z_i) que se apresenta no percurso de medição (l_m). (**R_q**) é a rugosidade média quadrática (STEVIE, 1992).

Levando-se em consideração que a interação das células com o implante é afetada pela topografia em níveis macroscópicos e à rugosidade em nível microscópico, espera-se que o aumento da área superficial do implante, aumente o número de sítios possíveis para as células se ligarem, facilite o crescimento dos tecidos e aumente a estabilidade mecânica (ELIAS E LIMA, 2001). Porém, isto não é uma regra geral. Para os autores, o nível de rugosidade deve ser controlado porque as células necessitam de pontos de ancoragem na superfície do implante para iniciar a proliferação e garantir a biofixação. Se a superfície possui rugosidade muito menor que o tamanho das células, poderá ocorrer ausência dos sítios de fixação. Por outro lado, se o implante possuir grandes números de picos ou vales, mas, estes possuem superfícies lisas às células, igualmente, não poderão se fixar.

Em se tratando da rugosidade, Morra et al., (1990), enfatizam que a histerese do ângulo de contato é uma ferramenta de suma importância para gerar subsídios a respeito da rugosidade e energia de superfícies. O efeito da rugosidade é o de aumentar a molhabilidade do sólido.

Carey (1992) afirmou que a histerese do ângulo de contato nada mais é do que uma consequência da não-homogeneidade ou aspereza da superfície.

4. 7. Adesão do revestimento ao substrato

4.7.1. Teste de aderência

O teste de identificação deslizante (scratch test) possibilita a caracterização da aderência do revestimento ao substrato utilizado. A Sociedade Americana para Testes de Materiais (ASTM D 907-70) (TAVARES, 2002) define adesão como “o estado no qual duas superfícies estão ligadas através de forças interfaciais que podem por sua vez serem constituídas por forças de valência ou forças interligantes ou ainda de ambas”. Estas forças de ligação podem ser do tipo van der Waals, eletrostáticas e/ou forças de ligação química (eficiente nas interfaces).

Este teste de aderência é um teste qualitativo do revestimento bastante crítico, já que, caso a aderência seja fraca há que refletir sobre as condições de deposição (que envolvem muitos parâmetros) de modo a garantir um produto final aderente que contemple as exigências da sua futura aplicação. No entanto, estes testes pecam na quantificação da aderência, o que lhes renega para um caráter mais qualitativo do que quantitativo (TAVARES, 2002).

Informações empíricas garantem que um dos fatores que proporcionam uma boa adesão tem a ver com a qualidade do polimento e limpeza prévia dos substratos antes da deposição (TAVARES, 2002).

O teste de adesão consiste no riscar de uma amostra. Esta é fixa numa mesa deslizante sendo deslocada com uma velocidade preestabelecida segundo a direção do risco. Ao aplicar-se uma carga crescente sobre a superfície do revestimento através de um identador, tipo ponta de diamante hemisférica, vai-se monitorizando a carga até ao surgimento da superfície do substrato; indício de falha de aderência. Esta falha ocorre para uma carga específica: carga crítica (TAVARES, 2002).

A Figura 10 mostra um aparelho de “scratch” que possui um sensor acústico detectando ondas acústicas pertencentes à gama de frequências entre os 50 e 400 kHz, sendo insensível às vibrações mecânicas dos instrumentos (0 – 30 kHz). Durante o teste são emitidas ondas acústicas elásticas resultantes da libertação de energia no instante das falhas de aderência. Posteriormente, a intensidade do sinal é integrada em relação ao tempo e transformada de imediato num espectro de energia, possibilitando a identificação do mecanismo que provoca a falha de aderência. A força tangencial quando calculada fornece dados importantes acerca do coeficiente de atrito (TAVARES, 2002).

Figura 10: Aparelho de teste de aderência em revestimentos Sebastian Five - A da Quad Group, que se encontra no Departamento de Física da Universidade do Minho (TAVARES, 2002)

4.7.2. Mecanismos de falha de aderência

Associado ao sistema de teste de adesão está um microscópio óptico que facilita a observação dos mecanismos que originam as quebras de adesão bem como os locais onde estas ocorreram. Os principais mecanismos responsáveis por falhas de adesão entre o revestimento e o substrato foram classificados da seguinte forma (TAVARES, 2002):

- fissuração por deformação de proa;
- pequenas delaminações;
- delaminação lateral;
- pequenos rebentamentos superficiais;
- levantamento repentino de grande quantidade de material;

- descascamentos laterais e de pequenas porções no trilho onde o substrato torna-se visível;
- remoção do revestimento com exposição do substrato na zona do trilho;
- delaminação contínua e completa.

As falhas dividem-se entre as de natureza coesiva e as de natureza adesiva, do seguinte modo (TAVARES, 2002):

- O levantamento de camadas de revestimento é uma falha tipicamente coesiva dado que as camadas levantam-se pelo fato do material do revestimento ser quebradiço. Estas camadas são depositadas no fundo da pista e/ou colocadas lateralmente à superfície, contudo sem revelar o substrato (TAVARES, 2002).
- A fissura conformal é uma falha caracterizada somente por fraturas no fundo da pista. Estas fissuras formam trajetórias semicirculares paralelas à superfície de contato da ponta de diamante e no sentido desta. São originadas por ação direta da deformação do revestimento e substrato pelo identador, resultando em momentos de deformação tênsil dentro do revestimento à medida que é pressionado pela ponta no sentido do seu avanço. Enquanto não originar uma propagação até ao substrato pode-se dizer que se trata de uma falha coesiva (TAVARES, 2002).
- O levantamento de camadas grandes de revestimento, uma falha adesiva, pode estar relacionado com os diferentes graus de fragilidade deste, as suas propriedades elasto-plásticas e ainda as tensões residuais internas (TAVARES, 2002).

Algumas conclusões relativas de como otimizar (elevar) os valores da carga crítica foram formuladas (TAVARES, 2002):

- utilização de substratos mais duros: conseqüente redução no valor da tensão de corte;
- produzir revestimentos mais duros: o revestimento será mais resistente ao desgaste;
- produzir revestimentos mais espessos: providencia, logicamente, mais tempo de resistência ao desgaste;
- reduzir o atrito entre a ponta e o revestimento.

Quando a falha é do tipo coesiva ela ocorre para valores de carga crítica relativamente inferiores ao usual, dado que as tensões residuais internas aumentam com o aumento da dureza e espessura. Em certos casos, ao aumentar-se a espessura dos filmes contribui ao mesmo tempo para o decréscimo das tensões residuais internas, visto que a estrutura do revestimento torna-se mais aberta à medida que se aproxima da superfície (TAVARES, 2002).

Porém, para valores excessivos de espessura de revestimento (6 - 10 μm), este pode começar a delaminar-se espontaneamente; dado que uma determinada espessura crítica foi ultrapassada sem compensação energética. É frequente observar quando a adesão é fraca e/ou as tensões internas são de tal modo elevadas que a falha no revestimento é dominada pelos níveis de tensão intrínseca do filme (TAVARES, 2002).

Ao observarmos somente desgaste, podem-se formular duas hipóteses: as tensões residuais são desprezáveis e/ou as propriedades elasto-plásticas do revestimento conseguem absorver a energia de indentação, mantendo um limiar de tensão residual interna abaixo do limite da adesão (TAVARES, 2002).

As falhas adesivas surgem quando as fissuras propagam-se através da interface revestimento/substrato, mostrando um sinal de fraca aderência. O fato das fissuras não se propagarem através da interface é sinal de que a adesão é boa. As propriedades do substrato também afetam o valor medido da carga crítica (TAVARES, 2002).

4.8. Interação do laser com a matéria

As biocerâmicas têm sido desenvolvidas para implantes com o intuito de reparar tecidos danificados do corpo humano, como ossos e dentes do sistema músculo-esquelético. O sucesso clínico de um implante biocerâmico depende em grande parte da resposta biológica na interface do implante à suficiência das propriedades mecânicas para sua aplicação (SUCHANEK, et al., 1998; KUNDU, et al., 2004).

Superfícies com estruturas micrométricas e nanométricas têm mostrado um papel importante nos fenômenos biológicos, tais como a adsorção de proteínas e adesão de células ósseas na interface do biomaterial. Portanto, a capacidade de processar o material biocerâmico com a topografia de superfície adaptada pode eliciar respostas celulares específicas, de modo que a resposta biológica ao implante é otimizada e a probabilidade de sucesso do implante aumentado (SUCHANEK, et al., 1998; KUNDU, et al., 2004).

Em ablação com laser de pulsos longos, os elétrons e a rede permanecem em equilíbrio térmico. Durante o pulso do laser, o calor difunde para fora da área irradiada e o material expande. Em pulsos ultracurtos, o processo é de não-equilíbrio. Primeiramente, a radiação a laser é absorvida na camada superficial por elétrons ligados e livres. Esse processo é acompanhado por uma excitação e ionização do material e aquecimento de elétrons livres pelo inverso de Bremsstrahlung, seguido por uma rápida relaxação de energia. Posteriormente, a energia transferida dos elétrons para a rede acaba e a expansão do material ocorre. Para fluências de laser próximas ao limiar da ablação, a energia transferida elétron-íon ocorre em tempo de picosegundos (NOLTE, 2002).

A Figura 11 mostra uma distribuição de temperatura de elétrons e de rede para o cobre irradiado por um pulso de 100fs com intensidade de 10^{13} W/cm^2 . O aquecimento dos elétrons ocorre muito rápido, enquanto que a rede permanece relativamente fria durante o pulso. A energia vai sendo transferida para a rede em um tempo maior (NOLTE, 2002).

Figura 11: Perfis temporais e espaciais de (a) elétrons e (b) temperatura na rede de cobre após irradiação com pulso com duração de 100fs e intensidade de 10^{13} W/cm^2 . Ablação não foi levada em consideração (NOLTE, 2002)

Para fluências levemente acima do limiar de ablação, a difusão térmica para fora da área irradiada é mínima com pulsos de laser ultracurtos. A Figura 12 mostra uma comparação de taxas de ablação para cobre obtido com diferentes durações de pulsos entre 0,5 e 4,8 ps. Verifica-se que as taxas de ablação são levemente dependentes da duração dos

pulsos para pulsos até 5 ps. Quando a duração do pulso é aumentada ainda mais, a taxa de ablação cai devido ao aumento da perda de energia causada pela difusão térmica (NOLTE, 2002).

Figura 12: Profundidade de ablação para diferentes durações de pulsos em cobre ($\lambda=780\text{nm}$) (NOLTE, 2002)

Quando um pulso de laser ultracurto interage com um sólido, o movimento hidrodinâmico do material ablado durante o pulso é desprezível e a absorção ocorre diretamente na superfície. A ausência do movimento hidrodinâmico durante o pulso é uma das vantagens de pulsos ultracurtos que permitem uma deposição de energia controlável e precisa no sólido. Dois diferentes regimes de pulsos ultracurtos são discutidos: ablação de alta fluência e ablação de baixa fluência.

Para altas fluências de laser, a absorção da radiação do laser por um sólido resulta na criação de um plasma denso e de alta temperatura. A energia do laser absorvido é primeiramente depositado como energia cinética (energia térmica) dos elétrons. Isto inicia uma propagação de onda térmica dos elétrons no material (HUGHES, 1975). Movimentos de elétrons coletivos e transferência de energia dos elétrons para os íons iniciam a ablação no material. Durante o processo de ablação, uma onda de choque é criada devido à pressão de recuo do material ablado. A formação da onda de choque é completada e então a separação hidrodinâmica (separação da onda de choque da onda térmica) ocorre (ZELDOVICH, et al., 1966). Entre a onda térmica e a onda de ablação, uma considerável parte do material é fundida. Devido à expansão do plasma e o processo de vaporização,

uma forte pressão de recuo é criada expelindo o material fundido, resultando na formação de gotículas e fragmentos na superfície do material. Além disso, o material líquido expelido se ressolidifica nas bordas dos furos, resultando na formação de rebarbas. Isto pode ser visto na Figura 13, o qual mostra uma imagem de microscopia eletrônica de varredura de um furo perfurado em uma placa de aço inoxidável com 100 pulsos a uma energia de $E=2\text{mJ}$ ($F\cong 200\text{J}/\text{cm}^2$) com duração de pulso de 200fs (NOLTE, 2002).

Figura 13: Imagem de microscopia eletrônica de varredura de um furo perfurado em aço inoxidável ($E=2\text{mJ} \cong F\cong 200\text{J}/\text{cm}^2$, 100 pulsos, 200fs, profundidade do buraco $\cong 140\mu\text{m}$) (NOLTE, 2002)

Em fluências mais elevadas, a pressão de recuo aumenta e a ablação se torna mais explosiva. A rebarba diminui porque as partículas são ejetadas a velocidades maiores e não se ressolidifica nas bordas dos furos. A Figura 14 mostra dois exemplos de furos perfurados em placa de cobre. Ainda que a rebarba diminua com o aumento da fluência, a alta pressão de ablação causa fortes deformações ao redor do material (LUFT, et al., 1996). É importante notar que taxas de ablação relativamente altas (taxas de ablação $>50\mu\text{m}/\text{pulso}$, Fig 14b) pode ser obtida com pulsos ultracurtos de laser.

Figura 14: Imagem de microscopia eletrônica de varredura de um furo perfurado em cobre. a) $E=5\text{mJ}$, $F\approx 250\text{J/cm}^2$, 180 fs, 100 pulsos, profundidade do buraco $\approx 180\mu\text{m}$; b) $E=70\text{mJ}$, $F\approx 3600\text{J/cm}^2$, 180 fs, 10 pulsos, profundidade do buraco $> 500\mu\text{m}$ (NOLTE, 2002)

No caso de ablação com pulsos longos, a taxa de ablação é limitada por um efeito denominado blindagem de plasma (BAUERLE, 1996). Acima de certa intensidade, a luz do laser é fortemente absorvida com a expansão do plasma e não consegue alcançar o alvo. Embora resulte em uma maior absorção de radiação de laser (KOMASHKO, et al., 1999) parte da energia que é transferida para o alvo e que contribui para o processo de ablação permanece pequena. Para pulsos ultracurtos, blindagem de plasma não ocorre devido à existência de uma separação temporal entre a deposição de energia e o processo de ablação (a expansão do plasma ocorre após o pulso).

Pulsos ultracurtos de laser não oferecem vantagens consideráveis em relação à precisão de usinagem em regimes de alta fluência comparados com pulsos longos de laser, devido ao processo de ablação ser acompanhado por fortes efeitos térmicos e mecânicos no material. Entretanto, a precisão pode ser substancialmente aumentada quando o regime é de baixa fluência (NOLTE, 2002).

Processamento de alta precisão pode ser encontrado com pulsos de laser ultracurtos a baixas fluências $F < 10\text{J/cm}^2$. Neste regime, elétrons da banda de valência são excitados para bandas de condução. O excesso de energia do pulso do laser pode provocar a ejeção destes elétrons antes que sejam recombinados e retornem à banda de valência, assim não gerando calor nesse processo. Os elétrons ejetados formam uma nuvem próxima à superfície do material deixando a região abaixo carregada positivamente. Forças Coulombianas de atração e repulsão ablaçionam o material, resultando em uma cavidade sem efeito térmico. Com este regime, é possível obter estruturas delicadas com desprezíveis zonas termicamente afetadas e praticamente sem formação de rebarbas ou

material ressolidificado. Pulsos de laser ultracurtos permitem um processamento preciso e minimamente invasivo de praticamente todos os materiais. Quando se utiliza pulsos longos (nanossegundos, microsegundos), a fusão e subsequente ressolidificação do material leva a formação de rebarbas. Além disso, para materiais com alta condutividade térmica, há uma significativa difusão de energia ao redor das áreas afetadas. Como consequência, a eficiência do processo diminui e grandes zonas termicamente afetadas são geradas, modificando as propriedades dos materiais (LUFT, et al., 1996).

As fases presentes em ablações com pulsos longos de laser são as fases líquido e vapor; já com pulsos ultracurtos há a formação de vapor e plasma. Outro aspecto importante para utilização industrial é a reprodutibilidade no processo de ablação. No caso de pulsos longos, a presença da fase líquida leva a condições de perfurações instáveis, necessitando de técnicas adicionais para obter uma melhora na qualidade do furo (ex: utilização de um jato de gás para soprar o material fundido). Já os pulsos ultracurtos são praticamente livres de material fundido, resultando em um processo intrinsecamente estável e reprodutível (NOLTE, 2002).

Existem muitos exemplos onde a microestrutura com pulsos de laser de femtossegundo podem produzir melhores resultados comparados com as técnicas de usinagem convencionais (laser). Geralmente, esses aperfeiçoamentos são baseados no caráter minimamente invasivo do processo de ablação com pulsos ultracurtos. A Figura 15 mostra alguns materiais que podem ser estruturados com pulsos de laser de femtossegundo sem a formação de uma grande zona afetada termicamente ou mecanicamente, portanto, material livre de microtrincas (NOLTE, 2002).

Figura 15: Exemplos de microestruturas precisas em diferentes materiais com pulsos de laser ultracurtos. a) corte em vidro; b) furo em diamante; c) logo “FEMTO” em uma chapa de tungstênio de 100µm de espessura; d) cavidade em esmalte dentário humano (NOLTE, 2002)

Pulsos longos de laser geralmente são limitados pela formação de zonas afetadas termicamente, o qual pode ser substancialmente maior do que as estruturas desejáveis. Isto é um problema sério para materiais com alta condutividade térmica, como os metais. Entretanto, mesmo para outros materiais, o tamanho da estrutura desejável mínima é geralmente limitado pelos danos térmicos (tensão, microtrincas) ao redor da área afetada. Portanto, a possibilidade de focar o feixe de laser em um ponto é tão pequena quanto à estrutura a ser produzida em escala submicrométrica (NOLTE, 2002).

Estruturas resultantes de pulsos ultracurtos não são acompanhadas por danos térmicos ou mecânicos. Portanto, o tamanho de estruturas é limitado somente pelo sistema óptico de difração, isto é, o ponto focal mínimo realizável. Isto permite a produção de estruturas com resolução na faixa submicrométrica (NOLTE, 2002).

5. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O procedimento experimental, adotado para síntese, processamento e caracterização de cerâmicas de alumina e compósitos de alumina-zircônia estabilizada com 3mol% de ítria, é apresentado no fluxograma da Figura 16, detalhado nos itens a seguir:

Figura 16: Fluxograma esquemático da metodologia adotada para síntese, processamento e caracterização de cerâmicas de alumina e zircônia estabilizada

Matérias-primas: Os pós de alumina e compósitos de alumina-zircônia estabilizada foram preparados pela rota de co-precipitação de hidróxidos em meio amoniacal, partindo de oxicloreto de zircônio de pureza 99,5% em ZrO_2 e HfO_2 (IPEN, Brasil), cloreto de alumínio 99,9% em massa (Synth, Brasil) e cloreto de ítrio, preparado pela dissolução do óxido de ítrio 99,9% em massa (Aldrich, USA).

5.1. Síntese dos pós

A co-precipitação de hidróxidos de alumínio, zircônio e ítrio foi realizada com hidróxido de amônio, fixando-se a concentração de óxidos, na solução de partida, em $35gL^{-1}$.

Os precipitados obtidos são submetidos a duas etapas de lavagem: com água para eliminação de íons cloreto (teste realizado com $AgNO_3$) e com etanol para eliminação de aglomerados fortes. Para esta última finalidade também foi realizado um tratamento por destilação azeotrópica, utilizando-se butanol como solvente orgânico. Após secagem a $80^\circ C$ por 24 horas e calcinação a $800^\circ C$ por 1 hora, os pós foram submetidos à moagem em etanol por 17 horas, em moinho de bolas, e submetidos ao roto-evaporador, com o intuito de obter a homogeneidade do material. A secagem dos pós moídos foi realizada em estufa a $80^\circ C$, por 24 horas e finalmente foi feita a desagregação dos pós em almofariz de ágata.

5.2. Processamento cerâmico

Os pós cerâmicos foram conformados por prensagem uniaxial, utilizando-se pressões de compactação de 76,4 MPa para matrizes cilíndricas de diâmetro de 10mm. A sinterização foi realizada ao ar, em forno elétrico tipo caixa (Lindberg), a temperaturas de $1620^\circ C$ por 3 horas para a amostra de alumina (100A) e $1650^\circ C$ por 2 horas para o compósito de alumina e zircônia (85A15TZP). A taxa de aquecimento empregada foi de $10^\circ C.min^{-1}$ até $800^\circ C$ e $5^\circ C.min^{-1}$ até a temperatura de sinterização.

As composições dos compósitos cerâmicos de alumina e zircônia estudados estão apresentadas na Tabela 7. Foram utilizados 15% em massa de zircônia em matriz de alumina, pois essa proporção maximiza o ganho em tenacidade, minimizando a fragilidade por envelhecimento a baixas temperaturas (PIERRI, et al., 2006). As amostras têm acabamento final com polimento nas pastas de diamante de 15 μm , 6 μm e 1 μm .

Tabela 7: Composição dos compósitos à base de alumina e zircônia estudados

Código da amostra	Composição (% em massa)	
	Alumina	Y-TZP
100A	100	—
85A15TZP	85	15

5.3. Texturização com laser de femtossegundo

Todos os trabalhos de aplicação do laser de femtossegundo foram realizados no Centro de Laser e Aplicações do IPEN-CNEN/SP. Foram efetuados estudos das condições de operação (intensidade, taxa de repetição e energia do pulso) do feixe a laser para ablação adequada das amostras de alumina-zircônia, com o intuito de obter diferentes texturizações da superfície do substrato, visando à melhoria da aderência da hidroxiapatita e provocando a menor quantidade de danos superficiais na estrutura cristalina da zircônia. As avaliações dos danos superficiais foram realizadas com microscopia eletrônica de varredura (MEV), rugosímetro e difratometria de raios x.

O sistema utilizado de aplicação de laser de femtossegundo é mostrado na Figura 17. O laser é pulsado com taxa de repetição controlada de 1 a 4.000 Hz, energia por pulso de até 1 mJ, largura temporal controlada a partir de 30 fs e comprimento de onda centrado em 790 nm. O sistema utilizado também conta com a possibilidade de controle computadorizado (CNC) da varredura do feixe laser e de obtenção de ponto focal com diâmetro de até 1µm. Isto possibilita a criação de topografias com estrutura controlada de acordo com projeto previamente desenhado. O feixe foi focalizado sobre a superfície da amostra com uma lente de comprimento focal de $f=38$ mm. Foram utilizadas malhas em forma de trilhas com energia variando de 5 a 32µJ, duração do pulso de 100fs e número de pulsos sobrepostos variando entre 1 e 1024.

Figura 17: Diagrama esquemático do funcionamento do laser de femtossegundo

5.4. Recobrimento biomimético

O recobrimento biomimético é realizado imergindo as amostras sinterizadas em uma solução sintética de composição iônica semelhante a do plasma sanguíneo humano, “*simulated body fluid*” (SBF), porém com concentração de 1,5M. O SBF foi preparado de acordo com a norma ISO23317-2007.

As concentrações iônicas da solução de 1,5SBF estão relacionadas na Tabela 8.

Tabela 8: Concentrações iônicas da solução empregada (mmol.dm^{-3})

	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	HCO_3^{2-}	Cl^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}
1,5 SBF	213,0	7,5	3,8	2,3	6,3	223,0	1,5	0,75
Plasma Humano	142,0	5,0	2,5	1,5	27,0	103,0	1,0	0,5

A solução é preparada dissolvendo NaCl, KCl, K_2HPO_4 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 e Na_2SO_4 de grau analítico em água destilada e deionizada. O pH de todas as soluções são ajustados a 7,25 a 37 °C com HCl 0,1M e tris (hidroximetil) aminometano ($(\text{CH}_2\text{OH})_3\text{CNH}_2$ 0,05M. É importante considerar que o SBF apresenta prazo de validade de 30 dias, devendo ser armazenado em frascos de polietileno e mantido em geladeira.

Na Tabela 9 são apresentadas as quantidades necessárias de cada reagente para o preparo de 1litro de 1,5SBF.

Tabela 9: Quantidade de reagentes para o preparo de 1litro de 1,5 SBF

Reagentes	1,5SBF (g)
NaCl	11,9919
KCl	0,3354
K ₂ HPO ₄	0,2613
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,5514
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,4575
NaHCO ₃	0,5292
Na ₂ SO ₄	0,1065
HCl 0,1M	15 mL
Tris 0,05M	até pH=7,25

Os ensaios de nucleação de hidroxiapatita são realizados pela imersão de amostras cerâmicas cilíndricas (com área mínima de 10 mm²), preparadas nas composições relacionadas na Tabela 7, em solução de 1,5 SBF. Alguns cuidados devem ser considerados: (a) limpeza ultrassônica prévia das cerâmicas com acetona e secagem em estufa; (b) volume da solução de SBF 10 vezes superior à área da amostra; (c) renovação das soluções de SBF a cada 3 dias e (d) realização do ensaio em estufa de cultura/bacteriológica a 36,5 – 37°C.

A nucleação de hidroxiapatita e a estabilidade microestrutural do substrato à base de alumina e zircônia são avaliadas em função das variáveis de processo abaixo relacionadas:

- Tratamento prévio da superfície com laser de femtossegundo para criação de rugosidade;
- Tempo de imersão (3, 6 e 15 dias) em 1,5 SBF do substrato com superfície lisa (sem tratamento) e tratada previamente com laser de femtossegundo.

Após imersão, as amostras são lavadas com água destilada e submetidas à secagem em estufa a 37 °C por 24 horas para posterior caracterização.

5.5. Técnicas de caracterização

A caracterização das amostras cerâmicas foi realizada em três etapas do processamento: em forma de pó, após sinterização e após o recobrimento biomimético. Neste trabalho de doutorado foi focado o efeito da rugosidade e molhabilidade a fim de promover uma adesão efetiva, sendo investigada pela utilização do rugosímetro, difração de raios x, microscopia eletrônica de varredura e “micro-scratch”.

O teste de “micro-scratch” é um dos métodos experimentais frequentemente utilizados para determinar a resistência mecânica de camadas. É um modo relativamente rápido e eficiente por adquirir informação sobre os mecanismos de dano de uma camada depositada. Nestes testes pode-se aumentar a carga aplicada e verificar como a tensão está variando com a profundidade de entalhe e avaliar as propriedades mecânicas do material analisado. Pode-se ter alguma dificuldade para extrair informações das propriedades intrínsecas de filmes. Neste estudo, há o interesse em obter valores qualitativos comparando a resposta mecânica nas zonas depositadas nas amostras não tratadas e tratadas superficialmente com laser de femtossegundo. São utilizados parâmetros macroscópicos para avaliar as propriedades de adesão da hidroxiapatita em substratos de alumina-zircônia. Com o aparato de micro-indentação em modo de arranhão é reproduzida a degradação mecânica gerada por uma partícula abrasiva.

Algumas técnicas utilizadas para caracterização dos pós cerâmicos à base de alumina e zircônia incluem:

- Microscopia eletrônica de Varredura, para observação da forma das partículas e aglomerados.
- Adsorção gasosa (BET), para medidas de área de superfície específica.
- Difração a laser (Cilas), para a determinação da distribuição granulométrica das partículas ou aglomerados.
- Difração de raios x para determinação das fases presentes.

Outras técnicas utilizadas para caracterização dos substratos cerâmicos à base de alumina e zircônia após a sinterização incluem:

- Medidas de densidade aparente baseadas no princípio de Arquimedes.

- Análise microestrutural por microscopia eletrônica de varredura, para a observação das superfícies texturizadas com laser de femtossegundo.
- Utilização do método de Rietveld para a análise dos espectros de difração de raios x para quantificação das fases presentes, assim como a determinação dos parâmetros de rede e densidade das células unitárias.
- Determinação da rugosidade do substrato mensurando o parâmetro Ra (rugosidade média).
- Espectroscopia de infravermelho por reflectância difusa (DRIFT) para avaliação dos grupos funcionais antes e após o tratamento de superfície com laser de femtossegundo.
- Molhabilidade medida através do ângulo de contato da gota sobre a superfície das amostras antes e após o tratamento superficial com laser de femtossegundo.

Por sua vez, após os testes de recobrimento biomimético, as seguintes técnicas adicionais foram empregadas:

- Análise microestrutural por microscopia eletrônica de varredura para observação da interface substrato/superfície bioativa.
- Espectroscopia de fluorescência de raios x para determinação da espessura do filme formado.
- Espectroscopia de infravermelho por reflectância difusa (DRIFT) para avaliação dos grupos funcionais após o recobrimento biomimético.
- Teste “micro-scratch” para avaliação da adesão do filme formado após o recobrimento.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Caracterização dos pós sintetizados

As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das amostras 100A e 85A15TZP apresentadas na Figura 18, indicam que os pós apresentam-se na forma de aglomerados, sendo que as partículas que compõe esses aglomerados apresentam dimensões nanométricas. Este fato é evidenciado pelos elevados valores de área superficial específica relacionado na Tabela 10.

Tabela 10: Valores de área superficial específica dos pós sintetizados: 100A e 85A15TZP

Amostras	Sw (m ² /g)
100A	175
85A15TZP	183

Figura 18: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura dos pós cerâmicos sintetizados. a)100A e b) 85A15TZP

Os resultados de distribuição granulométrica apresentados nas Figuras 19 e 20 mostram que a alumina pura (100A) apresenta uma distribuição bimodal, sendo que aproximadamente 75% dos aglomerados apresentam tamanho médio de 4µm e 25% dos aglomerados apresentam tamanho médio de 23µm.

A amostra 85A15TZP apresenta distribuição granulométrica semelhante ao pó 100A, onde aproximadamente 65% dos aglomerados apresentam tamanho médio de 3,4 µm e 35% apresentam tamanho médio de 22 µm.

Figura 19: Distribuição granulométrica do pó sintetizado (100A)

Figura 20: Distribuição granulométrica do pó sintetizado (85A15TZP)

Os difratogramas dos pós calcinados a 800°C por 1 hora, são apresentados nas Figuras 21 e 22.

Considerando que o alargamento do perfil de DRX indica o grau de cristalinidade, pode-se afirmar que as amostras 100A e 85A15TZP apresentam-se com baixo grau de cristalinidade. Para a amostra 100A foi identificada a fase gama da alumina; e para o compósito, além da fase gama, foi identificada a fase tetragonal da zircônia.

Figura 21: Difratograma do pó sintetizado (100A)

Figura 22: Difratograma do pó sintetizado (85A15TZP)

6.2. Caracterização das cerâmicas após sinterização

As densidades das cerâmicas sinterizadas foram calculadas a partir da razão entre as densidades hidrostáticas e as densidades teóricas e, para a alumina pura (100A), a densidade encontrada foi 93,72% da densidade teórica e, para o compósito (85A15TZP), a densidade encontrada foi 94,71% da densidade teórica.

As pastilhas sinterizadas foram analisadas por DRX. De acordo com os difratogramas das Figuras 23 e 24, obtidos para as amostras sinterizadas, foram observadas as fases alfa da alumina, as fases tetragonal, monoclinica e cúbica da zircônia. Para a amostra 85A15TZP as fases foram quantificadas pelo método de Rietveld (YOUNG, 1995; YOUNG et al., 1982), conforme apresentado na Tabela 11.

Figura 23: Difratograma da amostra 100A

Figura 24: Difratoograma da amostra 85A15TZP

Tabela 11: Quantificação de fases da cerâmica à base de alumina e zircônia

Amostras	Composição das fases (%em massa)			
	α-alumina	Tetragonal da Zircônia	Monoclínica da Zircônia	Cúbica da Zircônia
85A15TZP	85,4	10,8	< 1	3,6

O resultado de refinamento para a amostra 85A15TZP é $S=2,06$ e $R_{wp}=9,75\%$. Segundo Young, 1995, valores típicos de S (raiz quadrada do índice de qualidade do refinamento) menores que 2 e valores de resíduos (R_{wp}) em torno de 10%, são aceitos como bons resultados.

6.3. Caracterização das cerâmicas sinterizadas texturizadas superficialmente com laser de femtossegundo

Foram realizadas diversas texturizações com laser de femtossegundo nas superfícies das amostras, com o intuito de assegurar as melhores condições para obter uma superfície rugosa, sem que haja modificações nas estruturas cristalinas desses materiais.

Na Figura 25 são apresentadas algumas micrografias da amostra 85A15TZP que foram obtidas variando a energia (E) e o número de pulsos (N_p).

Figura 25: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da amostra 85A15TZP tratada superficialmente com laser de femtossegundo. a) $E= 5\mu\text{J}$; $N_p=1$ b) $E= 7\mu\text{J}$; $N_p=1024$ c) $E= 40\mu\text{J}$; $N_p=1024$

Conforme aumenta a energia e o número de pulsos aumentam as profundidades das cavidades. As cavidades de alumina-zircônia aparecem como materiais que foram removidos camada por camada, através de rachaduras ou esfoliação; as camadas revelam as características estruturais associadas com o processo de obtenção da cerâmica em particular. As bordas não circulares dessas cavidades ocorrem devido à ruptura, sugerindo que o material foi ablado sob intensa pressão. Embora sinais de fusão possam ser observados no centro da cavidade, há pouca fusão nas bordas, implicando que este não é o mecanismo principal na formação dessas cavidades. A baixa condutividade térmica da alumina-zircônia resulta em uma maior localização de aquecimento do laser e uma maior temperatura, sendo acompanhada por uma maior pressão local. O alto coeficiente de expansão térmica da cerâmica induz uma maior tensão térmica, levando a esfoliação da cratera. Esses resultados estão de acordo com aqueles observados por Kim, Sohn e Jeong (2008) em alumina.

Na Figura 26 são observadas micrografias das amostras 85A15TZP e 100A, que foram obtidas fixando a energia (E) e variando a velocidade (V).

Figura 26: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das amostras 85A15TZP e 100A tratadas superficialmente com laser de femtossegundo. a) 85A15TZP E= 30µJ ; V=20mm/min b) 85A15TZP E=30µJ ;V=50mm/min c) 85A15TZP E=30µJ ; V= 3000mm/min d) 100A E= 20µJ; V=20mm/min e) 100A E= 20µJ; V=50mm/min f) 100A E= 20µJ; V=3000mm/min

Nota-se que tanto para a alumina como para o compósito, conforme diminui a velocidade do feixe do laser, maior é a profundidade da trilha. Na Figura 26 a) e d) há uma redeposição de materiais ejetados. O processo de remoção de materiais em trilhas, realizadas com velocidade contínua mostram mecanismos similares às cavidades puntiformes variando o número de pulsos.

Superfícies de alumina (100A) e compósitos de alumina-zircônia (85A15TZP) foram irradiadas por pulsos simples de laser em várias posições e diferentes energias, e para cada uma, seis réplicas de energias diferentes foram ablatadas. O diâmetro de cada área danificada foi medido e a média dos valores dos diâmetros de cada fluência foi utilizada na Equação 39 para plotar o gráfico da Figura 27.

$$F_0 = F_{th}^{Np} \exp\left(\frac{D^2}{2\omega_0^2}\right) \quad (\text{Eq 39})$$

ω_0 = Raio do feixe na superfície da amostra; F_{th} = Limiar do dano; Np = Número de pulsos sobrepostos. O pico de fluência incidente na superfície F_0 é a densidade de energia multiplicada por 2.

$$F_0 = 2 \frac{E_{pulse}}{\pi\omega_0^2} \quad (\text{Eq 40})$$

E_{pulse} = Energia do pulso individual.

Figura 27 – Quadrado do diâmetro como função da fluência do pulso para alumina pura e compósito alumina-zircônia. A fluência limiar encontrada foi 6,2J/cm² para alumina e 2,2 J/cm² para alumina-zircônia

Nesse gráfico, o valor de $F_{th} = 6,2 \text{ J/cm}^2$ encontrado para alumina, é próximo de $5,6 \text{ J/cm}^2$, encontrado no trabalho de Kim, et al., 2008. Para o compósito, o valor obtido $F_{th} = 2,2 \text{ J/cm}^2$ foi consideravelmente menor, porém, pelo que se sabe, é o primeiro relato na literatura. A zircônia contribuiu consideravelmente para a diminuição nos valores de fluência.

Para a alumina-zircônia na Figura 27, há um aumento abrupto da eficiência para fluências acima de 14 J/cm^2 . Isso significa que há efeito térmico em torno desse ponto; abaixo desse ponto ocorre ablação não-térmica. Essas duas partes do gráfico são ditas ser regiões de ablação de alta fluência e baixa fluência respectivamente. O mesmo comportamento não é observado na alumina, indicando que o começo do fenômeno térmico deve ocorrer em valores de fluências maiores.

Com o intuito de encontrar o regime de baixa e alta fluência para texturização, uma série de experimentos foi realizada com diferentes energias e sobreposições de pulsos. Algumas trilhas foram realizadas em Al e Al/Zr com diferentes energias e velocidades de

varredura variadas correspondendo a 2, 4, 16, 32, 128, 512 e 1024 pulsos sobrepostos. Uma análise criteriosa por MEV foi realizada na topografia do material. Foram observadas duas morfologias diferentes: uma, sem evidência de efeito térmico e outra, mais rugosa, porém, aparentemente houve fusão. A Figura 28 abaixo mostra duas micrografias; é claramente observado uma ablação mais severa na Figura 28a), com evidência de fusão e grãos muito menores do que os grãos encontrados na microestrutura original. A Figura 28b) retrata uma clara e perfeita remoção de grãos com nenhum sinal de efeito térmico.

Figura 28: Micrografias da amostra 85A15TZP irradiadas por laser de femtossegundo. a) Trilha individual na superfície com $F=4,3\text{J}/\text{cm}^2$; $N_p=1024$. b) Furo simples na superfície com $F=2,3\text{J}/\text{cm}^2$; $N_p=1$

Dois de alguns casos, isto é, com e sem efeitos térmicos, foram escolhidos para texturização na alumina e alumina-zircônia. Essas condições foram:

Tabela 12: Energia, fluência e número de pulsos utilizados para engenharia de superfície

	E (μJ)	F ($\text{J}.\text{cm}^{-2}$)	N_p	Condição
100A	20	2,5	1	Sem efeito térmico
	32	4	32	Efeito térmico
85A15TZP	7	2,3	1	Sem efeito térmico
	13	4,3	1024	Efeito térmico

Na Figura 29 são apresentadas as micrografias das amostras após tratamento a laser, indicando a formação de trilhas equidistantes para amostras tratadas com alta energia (com efeito térmico, Figura 29a). Além disto, as partículas formadas na superfície são de tamanho sub-micrométrico, o qual aumenta a área superficial (Figura 29b). As amostras tratadas com energias mais baixas (sem efeito térmico) apresentaram danos superficiais sem formação de trilhas e os tamanhos das partículas se apresentam na escala micrométrica

(Figuras 29 c) e d)). A Figura 29c) ilustra duas regiões: uma região tratada superficialmente com laser de femtossegundo apresentando danos superficiais e outra região sem tratamento superficial com laser de femtossegundo.

Figura 29: Micrografias das amostras tratadas superficialmente com laser de femtossegundo. a) 100A E = 32 μ J; Np = 32; b) 85A15TZP E = 13 μ J; Np=1024; c) 100A E = 20 μ J; Np = 1; d) 85A15TZP E = 7 μ J; Np = 1

Análises dos padrões de difração de raios x apresentaram as seguintes fases: α - Al_2O_3 e γ - Al_2O_3 nas amostras 100A E=20 μ J; Np=1; 100A E=32 μ J; Np=32 e 100A E=109 μ J; Np=512 correspondente as Figuras 32, 33 e 34. Houve também a formação das fases α - Al_2O_3 , tetragonal, cúbica e monoclínica da zircônia para as amostras 85A1TZP E=7 μ J; Np=1 e 85A1TZP E=13 μ J; Np=1024 que correspondem as Figuras 30 e 31, com concentrações praticamente iguais às amostras após sinterização, conforme Tabela 13.

Os padrões de difração de raios x mostram que para a amostra de alumina com E = 20 μ J; Np = 1; E = 32 μ J; Np = 32 e E= 109 μ J; Np = 512 ocorre à transição de parte da alumina alfa para alumina gama cristalina. A Figura 34 mostra claramente os picos da alumina gama formada nos ângulos 37,64°; 39,49°; 45,88°; 60,86° e 67,05° após a irradiação com laser de femtossegundo. Percebe-se que quanto maior a energia e o número de pulsos, maior é a quantidade de fase gama da alumina. Este fato é interessante, uma vez

que a transição de alumina gama para alumina alfa em condições normais não é reversível, mostrando que o processo de texturização com laser provoca mudanças no equilíbrio de carga na superfície da alumina alfa. Por outro lado, não foi verificada mudança de fase da zircônia, o que é um fato positivo, uma vez que mudança de fase significa diminuição da tenacidade à fratura da zircônia. Para o compósito (85A15TZP) não foi verificada a formação de fase gama da alumina por difração de raios x. Este fato não exclui a possibilidade de que finas camadas de alumina gama estejam presentes na superfície do material, uma vez que o limite de detecção da difração para filmes finos é muito baixo.

Figura 30: Difratoograma da amostra 85A15TZP E= 7μJ; Np = 1 texturizada com laser de femtossegundo

Figura 31: Difratoograma da amostra 85A15TZP E = 13 μJ ; Np = 1024 texturizada com laser de femtossegundo

Figura 32: Difratoograma da amostra 100A E = 20 μJ ; Np = 1 texturizada com laser de femtossegundo

Figura 33: Difratoograma da amostra 100A E = 32 μJ ; Np = 32 texturizada com laser de femtossegundo

Figura 34: Difratoograma da amostra 100A E = 109 μJ ; Np = 512 texturizada com laser de femtossegundo

A Tabela 13 apresenta as quantificações das fases pelo método de Rietveld (YOUNG, 1995) (YOUNG; WILES, 1982), para o compósito e para a alumina, mostrando pequenas variações em composições obtidas.

Tabela 13: Quantificação de fases do compósito e da alumina tratados com laser de femtossegundo

Amostras	Composição das fases (% em massa)				
	α -alumina	γ -alumina	Tetragonal da Zircônia	Monoclínica da Zircônia	Cúbica da Zircônia
85A15TZP (E=7 μ J; Np=1)	85,2	—	12,1	1,2	1,5
85A15TZP (E=13 μ J; Np=1024)	86,4	—	11,6	1,0	1,0
100A (E=20 μ J; Np=1)	> 99	< 1	—	—	—
100A (E=32 μ J; Np=32)	> 99	< 1	—	—	—
100A (E=109 μ J; Np=512)	77,1	22,9	—	—	—

Os resultados de refinamento para a amostra 85A15TZP com E = 7 μ J; Np=1 e E = 13 μ J; Np=1024 são respectivamente: S= 1,88; R_{wp}= 13,61% e S= 1,85; R_{wp}= 13%. Já para a amostra 100A E=109 μ J; Np=512 o S=2,79 e R_{wp}=16%.

Não foi possível quantificar com precisão a γ -alumina nas amostras 100A E=20 μ J; Np=1 e 100A E=32 μ J; Np=32, pois o limite de detecção do método de Rietveld é 1%.

Avaliando os resultados de molhabilidade apresentados nas Tabelas 14 e 15, percebe-se que o ângulo de contato depende diretamente da energia utilizada no laser para o tratamento da superfície. Este fenômeno ocorre tanto para as amostras com alumina pura como para os compósitos. Vale ressaltar que as amostras deixam de ter caráter hidrofóbico uma vez que o valor do ângulo de contato com a água para as amostras de alumina sem tratamento a laser varia de 93,47° (hidrofóbico) para 32,25° (hidrofílico) quando utilizamos a maior energia. Também ocorre grande variação do ângulo de contato para os compósitos, que variam de 81,8° para 37,34°. Nestes casos o tratamento a laser aumentou o caráter hidrofílico dos materiais. Estes fatos são corroborados com Hao, et al., 2005. Em relação aos materiais sem o tratamento a laser, a alumina apresenta valor de ângulo de contato superior ao do compósito, corroborando com alguns autores (KOKUBO; TAKADAMA,

2006) que afirmam que o radical Zr-OH é um grupo funcional mais efetivo na superfície para captação de cálcio e fósforo presente no SBF. Os valores de ângulo de contato obtidos para a alumina e o compósito, são muito parecidos quando tratados com laser de alta energia, apesar da energia utilizada para o tratamento com laser ser menor para o compósito. Uma vez que o valor inicial do ângulo de contato para o compósito é menor ($81,8^\circ$ para o compósito sem tratamento e $93,47^\circ$ para a alumina sem tratamento), pode-se considerar, uma maior modificação na superfície da alumina para obter os mesmos valores de molhabilidade obtidos para o compósito, e por consequência utilizar maior energia de laser. Esta modificação da superfície na alumina pode estar relacionada com a formação da fase gama, que é de conhecimento, ser menos estável que a fase alfa da alumina, e, por conseguinte possuir radicais mais ativos, aumentando a reatividade dos grupos Al-OH (LIU, 2008).

Outro fator que influencia diretamente o ângulo de contato é a rugosidade de modo que, quanto maior a rugosidade, menor é o ângulo de contato e mais molhável se torna a superfície. O efeito da redução do ângulo de contato acontece em função do aumento da área superficial da superfície mais rugosa. Isto facilita a permanência de água nas irregularidades, podendo contribuir para uma hidratação muito mais eficiente, proporcionando um filme de água mais estável, acentuando a natureza hidrofílica da superfície (ZHU, et al., 2004; ADVINCULA, et al., 2006). Tanto para a amostra de alumina quanto para a amostra de alumina-zircônia, as rugosidades aumentam com a energia e o número de pulsos. Comparando os valores de rugosidade em conjunto com o ângulo de contato verifica-se que a melhora na molhabilidade não foi um fenômeno exclusivamente dependente da rugosidade. No caso da amostra 85A15TZP com rugosidade $0,06\text{ }\mu\text{m}$, o ângulo de contato é $81,8^\circ$, enquanto que para a amostra 100A com rugosidade $0,33\text{ }\mu\text{m}$, o ângulo de contato é $93,47^\circ$. Pensando somente na rugosidade, era de se esperar que o ângulo de contato fosse menor para a amostra 100A sem tratamento a laser. Além disto, na situação na qual os diferentes materiais possuem a mesma rugosidade ($0,33\text{ }\mu\text{m}$), a diferença entre os ângulos de contato é muito significativa, isto é, $93,47^\circ$ para a amostra 100A sem tratamento e $52,65^\circ$ para a amostra 85A15TZP $E=7\text{ }\mu\text{J}$; $N_p=1$. O fato do grupo funcional Zr-OH ser mais efetivo do que o grupo Al-OH poderia ser a explicação para tal fato, mas isto não se sustenta se comparar os seguintes dados: a rugosidade da amostra 100A tratada com $E=32\text{ }\mu\text{J}$; $N_p=32$ é $1,43\text{ }\mu\text{m}$ com ângulo de contato de $32,25^\circ$ deveria apresentar ângulo de contato maior do que a amostra 85A15TZP tratada com $E=13\text{ }\mu\text{J}$;

$N_p=1024$ com rugosidade de $1,92\mu\text{m}$ e ângulo de contato $37,34^\circ$, uma vez que o compósito possui grupo funcional Zr-OH e ambas as amostras apresentam rugosidades semelhantes.

Isto mostra que o tratamento a laser aumenta muito a molhabilidade da amostra 100A cuja dependência não é somente devida ao aumento da rugosidade. Conforme falado anteriormente, o tratamento a laser induz γ -alumina que é formada por octaedros de AlO_6 e tetraedros de AlO_4 , e as superfícies expostas mais estáveis de γ -alumina são os planos (100), (110) e (111). Cálculos teóricos têm mostrado que na superfície (100), existem apenas cinco coordenadas de Al e que o relaxamento na superfície não muda drasticamente a geometria local. Na superfície (110), existem coordenadas de Al, que se originam a partir de Al octaédrico e tetraédrico, onde o relaxamento superficial introduz fortes modificações geométricas, conduzindo à formação de tetraedro pseudo-regular e configurações planares de AlO_3 . Diferente das superfícies (100) e (110), a superfície (111) é construída da alternância de empilhamento dos átomos de oxigênio e Al e não é estável quando totalmente desidratada, mas estável quando totalmente hidratada. Dependendo da temperatura e pressão do vapor de água, as superfícies podem ter uma variedade de grupos superficiais OH, mas quando completamente hidratado, todas as superfícies coordenadas são ocupadas, isto é, as seis coordenadas são preenchidas por átomos de Al. Isto significa que sítios de ácidos de Lewis não devem existir na superfície de uma alumina completamente hidratada (LIU, 2008).

Pode-se observar ainda nas Tabelas 14 e 15, que conforme aumenta a energia e o número de pulsos, tanto para a alumina quanto para a alumina-zircônia, a energia de superfície total aumenta. Isto significa que, o tratamento a laser acarretou em uma maior energia superficial nos materiais. Este fato é corroborado com Hao, et al., 2005. Essa energia quantifica a ruptura de ligações intermoleculares que ocorrem quando a superfície é criada. Quanto maior a energia de superfície, maior a tendência de adsorção química de átomos e moléculas na superfície do material. Isto ocorre devido ao fato de que quanto maior a energia por unidade de superfície da cerâmica, maior é a possibilidade de surgirem reações superficiais (COUTINHO, 2007).

Observa-se também que há um significativo aumento dos valores para os componentes polares dos materiais, tanto para alumina pura quanto para o compósito, conforme aumenta a energia e o número de pulsos do laser de femtossegundo. Considerando que a componente polar possui ligações dipolo-dipolo, pode-se dizer que a interação do laser com a superfície do material promove maior quantidade de moléculas

polares, provavelmente Al-OH e Zr-OH (COUTINHO, 2007). Ao contrário dos valores das componentes polares dos materiais, os valores para as componentes dispersivas das cerâmicas diminuem significativamente com o aumento da energia e o número de pulsos do laser de femtossegundo. A componente dispersiva apresenta somente ligações dipolo momentânea, isto é, ligações entre moléculas apolares (eletronegatividades semelhantes) (COUTINHO, 2007). Uma vez que há maior quantidade de moléculas polares quando os materiais são submetidos ao laser, é de se esperar que haja diminuição de moléculas apolares. Isto significa que a interação do laser com a matéria promove ligações mais fortes entre as moléculas, tornando as superfícies mais reativas.

Vale ressaltar que as componentes polares e dispersivas do SBF ($\gamma_{\text{SBF}}^p; \gamma_{\text{SBF}}^d$) foram calculadas a partir das componentes polares e dispersivas de cada cerâmica, e são, valores inéditos. Os valores obtidos das componentes polares e dispersivas do SBF foram respectivamente: 38,45mN/m e 28,7mN/m.

As componentes polares e dispersivas da água e do etileno-glicol utilizadas para obter as componentes polares e dispersivas das cerâmicas foram respectivamente: ($\gamma_{\text{H}_2\text{O}}^p=51\text{mN/m}$ e $\gamma_{\text{H}_2\text{O}}^d=21,8\text{mN/m}$) e ($\gamma_{\text{e-glicol}}^p=19\text{mN/m}$ e $\gamma_{\text{e-glicol}}^d=29\text{mN/m}$) (GOOD, et al., 1992).

Tabela 14: Ângulo de contato dos líquidos, componente polar, componente dispersiva, energia de superfície total e rugosidade da amostra 85A15TZP não tratada e tratada com laser de femtossegundo

Amostras	Ângulo de contato (θ)			Componente Polar γ_s^p (mN/m)	Componente Dispersiva γ_s^d (mN/m)	Energia superfície total γ^t (mN/m)	Ra (μm)
	Água	Etileno glicol	SBF				
85A15TZP	81,8 $\pm$ 3,82	53,96 $\pm$ 2,30	71,37 $\pm$ 3,70	4,5	32	36,5	0,06
85A15TZPE7Np1	52,65 $\pm$ 5,86	39,35 $\pm$ 5,13	51,66 $\pm$ 2,38	39,48	7,57	47,05	0,33
85A15TZPE13Np1024	37,34 $\pm$ 3,94	37,47 $\pm$ 3,09	41,9 $\pm$ 2,5	67,09	1,75	68,85	1,92

Tabela 15: Ângulo de contato dos líquidos, componente polar, componente dispersiva, energia de superfície total e rugosidade da amostra 100A não tratada e tratada com laser de femtossegundo

Amostras	Ângulo de contato (θ)						
	Água	Etilen o glicol	SBF	Componente Polar γ_s^P (mN/m)	Componente Dispersiva γ_s^D (mN/m)	Energia superfície total γ^T (mN/m)	Ra (μm)
100A	93,47± 3,80	63,85± 1,70	81,95± 12,00	5,41	20,13	25,54	0,33
100AE20Np1	60,28 ± 1,47	57,10 ± 4,21	61,96 ± 8,86	43,18	2,54	45,72	0,53
100AE32Np32	32,25 ± 2,08	30,64 ± 9,97	39,63 ± 9,50	70,22	2,33	72,55	1,43

De acordo com a Figura 35, comparando o DRIFT das amostras que foram tratadas com laser com os resultados obtidos por Xinsheng, 2008, verifica-se que nenhuma delas apresenta a banda larga em 3510 cm^{-1} , que é característica de grupos OH na superfície de γ -alumina hidratada e sem a presença de sítios de ácido de Lewis. Desta forma, as amostras tratadas com laser de femtossegundo se apresentam desidratadas e portanto, com maior energia de superfície, conforme resultados das medidas de ângulo de contato.

As bandas largas em torno de 800 cm^{-1} são características da fase γ -alumina, as bandas situadas em 450, 500 e 630 cm^{-1} são características da alumina alfa e as bandas em 500 cm^{-1} são características da zircônia tetragonal (PIERRI, et al., 2006). A Tabela 16 apresenta as fases da alumina e zircônia com seus respectivos números de onda, para mais fácil visualização. Pode-se observar no detalhe da Figura 36 que em torno de 500 cm^{-1} , as bandas sem dubletos são referentes à zircônia tetragonal e as bandas com dubletos são referentes à alumina alfa. Verifica-se na Figura 35 que após o tratamento com laser, apareceu a banda da fase γ -alumina; não induzindo a banda OH, conforme discutido anteriormente.

Figura 35: DRIFT das amostras de alumina e alumina-zircônia antes e após o tratamento com laser de femtossegundo

Figura 36: Detalhamento do DRIFT na região de 400 a 800 cm^{-1} das amostras de alumina e alumina-zircônia antes e após o tratamento com laser de femtossegundo

Tabela 16: Fases da alumina e zircônia com seus respectivos números de onda (PIERRI, et al., 2006)

Número de Onda (cm^{-1})	Fases Características
450	α - Alumina
500	α - Alumina ; Zircônia tetragonal
630	α - Alumina
800	γ - Alumina

6.4. Caracterização das cerâmicas sinterizadas texturizadas superficialmente com laser de femtossegundo imersas em 1,5 sbf

Camada de apatita foi formada dentro de um curto período de tempo nas amostras cerâmicas para os diferentes tipos de texturização seguidos por imersão em 1,5 SBF por até 15 dias. Esse fato foi confirmado por espectroscopia de infravermelho por reflectância difusa (DRIFT) combinado com microscopia eletrônica de varredura (MEV) com um detector de energia dispersiva de raios x (EDS), fluorescência de raios x e difração de raios x.

A apatita foi depositada também nas amostras que não sofreram tratamento a laser, sendo estes resultados confirmados pelas mesmas técnicas que as utilizadas para as amostras tratadas.

Para ocorrer o crescimento da apatita é necessária a deposição de íons cálcio e fosfato na superfície do material em um meio fluído (KOKUBO; TAKADAMA, 2006). Assim, é necessário que sítios de superfície [reativação química a partir de grupos funcionais (por exemplo, OH⁻) que atuam como núcleos potenciais] atuem nos materiais cerâmicos para a nucleação e crescimento de apatita, a partir da imersão em SBF, como previamente relatado em diferentes artigos (KOKUBO, et al., 1990) (KOKUBO, et al., 1991). De fato, resultados de vários autores demonstraram a necessidade de pré-tratamento na superfície com NaOH, para formar uma camada de apatita quando imerso em SBF. Janasova, et al., 2002, por exemplo, utilizaram SBF para formar uma camada de apatita na superfície de titânio tratada com NaOH. De acordo com estes estudos (KOKUBO, et al., 1990) (KOKUBO, et al., 1991) (MULLER & MULLER F, 2006), verificaram que o pré-tratamento com NaOH fornece sítios favoráveis para a nucleação e crescimento de apatita.

6.4.1. Influência do tempo de imersão em 1,5 sbf das cerâmicas sinterizadas texturizadas e não texturizadas superficialmente com laser de femtossegundo

O tempo de imersão em SBF afeta a formação de apatita. Foi observado que com o tempo de imersão ocorre à nucleação e o crescimento de apatita, resultando em camadas de apatita mais espessas e mais compactas. As células osteoblásticas primeiramente se fixam, aderem e se espalham pelas superfícies (WAUGH, 2009). Camadas de apatita foram depositadas, a partir da imersão em 1,5 SBF, dentro de um curto período de tempo sobre as superfícies das amostras pré-tratadas com laser e nas amostras sem tratamento.

Este resultado foi comprovado por fluorescência de raios x em conjunto com a microscopia eletrônica de varredura.

As imagens apresentadas nas Figuras 37 e 38 mostram pequenos glóbulos de apatita, menores que 3 μm de diâmetro, que estão dispersos sobre uma camada de Ca e P nas superfícies das amostras de alumina e do compósito. Vale ressaltar que a camada de apatita formada está relacionada com a topografia das amostras. A densidade de glóbulos de apatita aumenta com o tempo de imersão em SBF, corroborando com os resultados de FRX.

Figura 37: Micrografias das amostras de alumina (100A) tratadas e não tratadas superficialmente com laser de femtossegundo imersas em 1,5 SBF por 3, 6 e 15 dias. a) 100A (3 dias); b) 100A E=20 μJ ; Np=1 (3 dias); c) 100A E = 32 μJ ; Np = 32 (3 dias); d) 100A (6 dias); e) 100A E=20 μJ ; Np=1 (6 dias); f) 100A E = 32 μJ ; Np = 32 (6 dias); g) 100A (15 dias); h) 100A E=20 μJ ; Np=1 (15 dias) e i) 100A E = 32 μJ ; Np = 32 (15 dias)

Figura 38: Micrografias das amostras de alumina-zircônia (85A15TZP) tratadas e não tratadas superficialmente com laser de femtossegundo imersas em 1,5 SBF por 3, 6 e 15 dias. a) 85A15TZP (3 dias); b) 85A15TZP E = 7 μ J; Np = 1 (3 dias); c) 85A15TZP E = 13 μ J; Np = 1024 (3 dias); d) 85A15TZP (6 dias); e) 85A15TZP E = 7 μ J; Np = 1 (6 dias); f) 85A15TZP E = 13 μ J; Np = 1024 (6 dias); g) 85A15TZP (15 dias); h) 85A15TZP E = 7 μ J; Np = 1 (15 dias) e i) 85A15TZP E = 13 μ J; Np = 1024 (15 dias)

Com 15 dias de imersão em 1,5 SBF, as superfícies das amostras tratadas e não tratadas com laser, tanto para alumina quanto para o compósito, apresentam alta densidade de apatita. A morfologia dos glóbulos de apatita é diferente das amostras tratadas em relação às amostras não tratadas com laser; os glóbulos de apatita nas amostras não tratadas superficialmente apresentam-se maiores e mais arredondados, enquanto que, nas amostras tratadas com laser, os glóbulos são menores e não há predominância de coalescimento.

A Figura 39 mostra que após 3 dias de imersão em 1,5 SBF na amostra 100A não tratada superficialmente com laser de femtossegundo, há a formação dispersa de cristais de hidroxiapatita. O EDS revelou a presença de Ca e P juntamente com Na e Cl nos pontos (spots) 1 e 4. Essa composição é análoga ao osso natural (KANNAN, et al., 2008).

Figura 39: Micrografia e EDS da amostra 100A não tratada superficialmente com laser de femtossegundo imersa em 1,5 SBF por 3 dias

A Figura 40 apresenta a micrografia da amostra 85A15TZP não tratada superficialmente com laser de femtossegundo imersa em 1,5 SBF por 3 dias. A Tabela 17 mostra os resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl e Ca. Verifica-se que a superfície da cerâmica apresenta uma fina camada de cálcio e fósforo (aproximadamente 8% e 14% respectivamente), representada pelos spots 1, 2 e 3; para posteriormente ocorrer à formação dos glóbulos de apatita rica em cálcio e fósforo (aproximadamente 31% e 24% respectivamente), representada pelos spots 4, 5 e 6.

Figura 40: Micrografia da amostra 85A15TZP não tratada superficialmente com laser de femtossegundo imersa em 1,5 SBF por 3 dias

Tabela 17: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl e Ca da amostra 85A15TZP não tratada superficialmente com laser de femtossegundo imersa em 1,5SBF por 3 dias

elemento	Spot 1	Spot 2	Spot 3	Spot 4	Spot 5	Spot 6
	(% mássica)	(% mássica)	(% mássica)	(% mássica)	(% mássica)	(% mássica)
Na	3,73	3,03	3,99	10,25	7,34	7,80
Al	61,32	59,96	62,78	21,75	26,13	33,06
P	14,76	15,78	12,78	25,28	24,81	22,4
Cl	1,45	1,55	1,69	5,9	5,09	3,2
Ca	7,92	9,10	7,68	32,98	32,02	27,7
Zr	10,82	10,58	11,08	3,84	4,61	5,84

A Figura 41 apresenta a micrografia da amostra 85A15TZP E = 13 µJ; Np = 1024 imersa em 1,5SBF por 3 dias. A Tabela 18 mostra os resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl e Ca. O comportamento é similar ao compósito sem tratamento superficial com laser de femtossegundo, isto é, na superfície da cerâmica há uma fina camada de Ca e P (aproximadamente 7% e 14% respectivamente), representada pelos spots 1, 2 e 3. Nos glóbulos de apatita os valores encontrados foram 42% de Ca e 30% de P, representado pelos spots 4, 5 e 6. Estes resultados estão de acordo com os valores obtidos para a espessura da camada de apatita medida por FRX.

Para todas as condições estudadas, com 3 dias de imersão em 1,5 SBF, a formação da apatita ocorre em forma de glóbulos dispersos na matriz sobre uma camada muito fina de cálcio e fósforo, e portanto, não foi realizado análise de adesão por *micro-scratch*.

Figura 41: Micrografia da amostra 85A15TZP E=13μJ; Np=1024 imersa em 1,5 SBF por 3 dias

Tabela 18: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl e Ca da amostra 85A15TZP E = 13 μJ; Np = 1024 imersa em 1,5SBF por 3 dias

elemento	Spot 1 (% mássica)	Spot 2 (% mássica)	Spot 3 (% mássica)	Spot 4 (% mássica)	Spot 5 (% mássica)	Spot 6 (% mássica)
Na	4,4	4,6	5,5	7,3	5,5	4,9
Al	60,94	60,78	60,95	13,35	14,62	13
P	14,5	14,3	13,9	30,3	30,7	31,4
Cl	2,0	2,1	2,3	4,9	4,6	4,8
Ca	7,4	7,5	6,6	41,8	42,0	43,6
Zr	10,76	10,72	10,75	2,35	2,58	2,3

Nas regiões das bandas entre 450 a 900 cm^{-1} estão concentrados os sítios vibracionais da alumina e zircônia. Analisando o gráfico da Figura 42, verificamos que o perfil típico da presença de alumina e zircônia, conforme mostrado na Figura 35, vai desaparecendo, dando lugar ao aparecimento da banda em torno de 3000-3600 cm^{-1} referente à OH⁻. Surge um novo perfil na região entre 550 e 1700 cm^{-1} , indicando a presença de H₂O, CO₃²⁻ e PO₄³⁻. Comparando esta região do espectro vibracional com o osso bovino, verifica-se a semelhança com os espectros obtidos. Assim, pode-se inferir que há a deposição de uma apatita carbonatada com baixo grau de cristalinidade nas amostras não tratadas e tratadas com laser de femtossegundo, com as mesmas propriedades do osso bovino (ABE, et al., 1990; STOCH, et al., 2000; BARRÈRE, et al., 2003).

A Tabela 19 apresenta as bandas da hidroxila, carbonatos, fosfatos e água com seus respectivos números de onda, para mais fácil visualização.

Figura 42: DRIFT das amostras de alumina e alumina-zircônia sem tratamento e após tratamento com laser de femtossegundo imersas em 1,5 SBF durante 15 dias

Tabela 19: Grupos da hidroxiapatita carbonatada com baixo grau de cristalinidade com seus respectivos números de onda (PIERRI, et al., 2006)

Número de Onda (cm^{-1})	Grupos Característicos
550-600 cm^{-1}	PO_3^{4-} (fosfatos)
1000-1150 cm^{-1}	
870 cm^{-1}	CO_2^{3-} (carbonatos)
1410-1490 cm^{-1}	
1650 cm^{-1}	água
2350 cm^{-1}	CO_2
3000-3600 cm^{-1}	OH^- (hidroxila)

Estes resultados também são corroborados pela medida da espessura da camada de apatita feita por FRX. As Figuras 43 e 44 mostram que as espessuras de camada de apatita são maiores para amostras que sofreram texturização na superfície com laser de femtossegundo.

Figura 43: Espessura da camada de apatita formada na amostra 85A15TZP não tratada e tratada com laser de femtossegundo imersa em 1,5 SBF por 3, 6 e 15 dias

Figura 44: Espessura da camada de apatita formada na amostra 100A não tratada e tratada com laser de femtossegundo imersa em 1,5 SBF por 3, 6 e 15 dias

Em ambos os casos, para a alumina pura e para o compósito alumina-zircônia, a condição de efeito não térmico (100A $E=20\mu\text{J}$; $N_p=1$ e 85A15TZP $E=7\mu\text{J}$; $N_p=1$), mostra que a camada de apatita é mais espessa em relação às amostras que sofreram efeitos térmicos (100A $E=32\mu\text{J}$; $N_p=32$ e 85A15TZP $E=13\mu\text{J}$; $N_p=1024$). Além disso, amostras de alumina-zircônia apresentam-se mais espessas do que amostras de alumina pura; para o compósito, a maior espessura da camada de apatita medida por FRX está em torno de 10.000nm, enquanto que, para a alumina pura, a maior espessura da camada de apatita medida, atingiu valor em torno de 6.000nm. Todas as amostras texturizadas com laser de femtossegundo mostraram melhores resultados de espessura de camada de apatita em comparação com as amostras não tratadas.

Quanto maior a fluência do laser e o número de pulsos, maiores são as rugosidades obtidas. Esse fato é importante porque a deposição da apatita aumenta com o aumento da rugosidade no período inicial. As superfícies que não sofreram efeito térmico, apesar de mais baixa rugosidade comparada com as amostras que sofreram efeito térmico, parecem ativar mais grupos funcionais do que as superfícies que sofreram efeito térmico. Pôde-se perceber que características moderadas de molhabilidade em ambos os materiais, tanto

para a alumina quanto para o compósito, foram mais efetivas para a deposição de apatita. Esses resultados corroboram com Hao, et al., 2004. Além disso, a ativação dos grupos funcionais Zr-OH parecem ser mais efetivas do que os grupos funcionais Al-OH.

6.4.2. Influência da adesão da camada de apatita

A avaliação do teste de adesão mostra que as amostras que não sofreram tratamento superficial com laser possuem camadas de apatita fracamente ligadas ao substrato, enquanto que, as camadas de apatita nas amostras previamente texturizadas superficialmente com laser apresentam-se fortemente ligadas ao substrato, uma vez que o tratamento a laser induz Υ -alumina, sendo uma fase da alumina menos estável em relação à α -alumina, promovendo sítios de ácido de Lewis, ou seja, as superfícies texturizadas estão mais reativas.

Na Figura 45 é apresentada a micrografia do ensaio de *micro-scratch* para a amostra de alumina (100A) sem tratamento superficial com laser de femtossegundo imersa por 6 dias em 1,5SBF. Cada linha é sujeita a uma pré-carga de 0,5N e a carga foi aumentada com taxa constante em um percurso de 2 mm, até atingir os seguintes valores : 1N, 3N, 5N, 10N, 15N, 20N e 30 N.

Figura 45: Micrografia da amostra 100A sem tratamento superficial com laser de femtossegundo imersa em 1,5 SBF por 6 dias, mostrando o comportamento da adesão da camada de apatita. Detalhe do mapa da concentração de alumínio e cálcio na linha base de análise

A linha base de análise intercepta as linhas de indentação da amostra 100A sem tratamento superficial com laser de femtossegundo imersa por 6 dias em 1,5SBF. A linha vermelha indica a presença de alumínio e a linha azul à presença do cálcio. Foram escolhidos estes dois elementos para a análise porque não há superposição de outras raias e pode-se mapear perfeitamente a presença de apatita ou da matriz. Pode-se perceber que nos pontos onde a linha de análise não intercepta a indentação, ocorre baixa concentração de alumínio e maior de cálcio; nos pontos onde ocorre a interceptação com a indentação, há um aumento no teor de alumínio, indicando claramente que nestas regiões o indentador removeu a apatita depositada na matriz de alumina. Este efeito já é visível na linha de indentação de 3N, mostrando a fraca adesão da apatita na amostra quando a mesma não sofre tratamento superficial com laser.

As Figuras 46 e 47 mostram o final da indentação com carga de 30 N nas amostras 100A E=20 μ J; Np=1 e 100A E=32 μ J; Np=32 respectivamente imersas por 6 dias em 1,5SBF. As Tabelas 20 e 21 mostram a concentração dos elementos obtidos por EDS na região dentro (área1) e fora da indentação (área 2). Essa técnica é semi-quantitativa com erros de medidas em torno de 5%. Na situação onde ocorre a indentação com a carga mais severa (30N), verifica-se que ocorre pouca variação no teor de cálcio e fósforo nas duas regiões, evidenciando não haver arrancamento da apatita na matriz, mostrando a forte adesão entre estes componentes quando a superfície é tratada superficialmente com laser de femtossegundo e imersa em SBF por um período de 6 dias.

Figura 46: Micrografia da amostra 100A E=20 μ J; Np=1 imersa por 6 dias em 1,5SBF, mostrando o final da indentação com carga de 30N

Tabela 20: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl e Ca para a amostra 100A E=20 μ J; Np=1 imersa por 6 dias em 1,5SBF

elemento	Concentração Área 1 (% mássica)	Concentração Área 2 (% mássica)
Ca	31	28
Al	33	44
Na	7	5
P	24	20
Cl	5	3

Figura 47: Micrografia da amostra 100A E=32 μ J; Np=32 imersa por 6 dias em 1,5SBF, mostrando o final da indentação com carga de 30N

Tabela 21: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl e Ca para a amostra 100A E=32 μ J; Np=32 imersa por 6 dias em 1,5SBF

elemento	Concentração Área 1 (% mássica)	Concentração Área 2 (% mássica)
Ca	28,6	33,72
Al	50,1	42,09
Na	1,9	2,44
P	19,2	21,74
Cl	0,12	0

As amostras de alumina (100A) que não sofreram tratamento superficial com laser de femtossegundo imersas por 15 dias em 1,5SBF possuem fraca adesão da apatita com a matriz. Este fato pode ser evidenciado na Figura 48.

Figura 48: Micrografia das identações mostrando o deslocamento da apatita na amostra 100A sem tratamento superficial com laser de femtossegundo imersa por 15 dias em 1,5SBF

A Figura 49 apresenta a micrografia do final da indentação com carga de 30N na amostra 100A E=20µJ; Np=1 imersa por 15 dias em 1,5SBF.

A análise elementar da região que sofreu *micro-scratch* mostrou-se similar às amostras imersas em 1,5SBF por 6 dias. A Tabela 22 mostra a concentração dos elementos na região dentro (área1) e fora da indentação (área 2). Na situação onde ocorre a indentação com a carga mais severa, verifica-se a ocorrência de pequena variação no teor de cálcio e fósforo nas duas regiões, evidenciando a inexistência de arrancamento da apatita na matriz, mostrando novamente a forte adesão entre estes componentes quando a superfície é tratada com laser de femtossegundo.

Figura 49: Micrografia do final da indentação com carga de 30N na amostra 100A E=20µJ; Np=1 imersa por 15 dias em 1,5SBF

Tabela 22: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl e Ca para a amostra 100A E=20 μ J; Np=1 imersa por 15 dias em 1,5SBF

elemento	Concentração Área 1 (% mássica)	Concentração Área 2 (% mássica)
Ca	23,2	29,41
Al	55,8	41,7
Na	3,24	4,92
P	15,6	19,35
Cl	2,2	4,57

Por outro lado, a amostra 100A E=32 μ J; Np=32 imersa em 1,5SBF por 15 dias apresentada na Figura 50, apresenta regiões com descolamento da apatita. Este fato pode ser devido à alta rugosidade superficial que foi induzida pelo tratamento a laser comprometendo a adesão, visto que a espessura da camada de apatita observada por FRX nesse material é menor quando comparada com a alumina tratada com laser de femtossegundo sem efeito térmico. Portanto, as amostras de alumina que mostraram melhores comportamentos de adesão foram às amostras tratadas superficialmente com laser de femtossegundo sem efeito térmico.

Figura 50: Micrografia das identações mostrando o deslocamento da apatita na amostra 100A E=32 μ J; Np=32 imersa por 15 dias em 1,5SBF

Para o compósito, serão analisadas apenas as amostras imersas por 15 dias em 1,5 SBF, uma vez que o comportamento para as amostras imersas por 3 e 6 dias em 1,5SBF são similares às amostras de alumina.

Os compósitos não tratados superficialmente com laser de femtossegundo imersos por 15 dias em 1,5SBF apresentam fraca adesão da apatita na matriz, conforme é apresentado na Figura 51.

Figura 51: Micrografia das identações mostrando o deslocamento da apatita na amostra 85A15TZP sem tratamento superficial com laser de femtossegundo imersa por 15 dias em 1,5SBF

Nos compósitos tratados superficialmente com laser de femtossegundo imersos por 15 dias em 1,5SBF apresentados nas Figuras 52 e 53, verifica-se boa adesão da apatita, além de, maior espessura da camada em relação as amostras de alumina, conforme observado por FRX. Os resultados obtidos por EDS apresentados nas tabelas 23 e 24 mostram pequenas variações de cálcio, fósforo, alumínio e zircônio dentro e fora da região de indentação, evidenciando a inexistência de arrancamento da apatita na matriz, mostrando a forte adesão entre estes componentes quando a superfície é tratada com laser de femtossegundo.

Figura 52: Micrografia do final da indentação com carga de 30N na amostra 85A15TZP
E=7μJ; Np=1 imersa por 15 dias em 1,5SBF

Tabela 23: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl, Ca e Zr para a amostra 85A 15TZP E=7μJ; Np=1 imersa por 15 dias em 1,5SBF

elemento	Concentração Área 2 (% mássica)	Concentração Área 3 (% mássica)
Ca	15,6	13,14
Al	47,6	44,9
Na	6,5	10,02
P	15,4	8,5
Cl	7,6	15,24
Zr	7,21	8,13

Figura 53: Micrografia do final da indentação com carga de 30N na amostra 85A15TZP
E=13μJ; Np=1024 imersa por 15 dias em 1,5SBF

Tabela 24: Resultados obtidos por EDS em % mássica dos elementos químicos Na, Al, P, Cl, Ca e Zr para a amostra 85A 15TZP E=13 μ J; Np=1024 imersa por 15 dias em 1,5SBF

elemento	Concentração Área 3 (% mássica)	Concentração Área 4 (% mássica)
Ca	33,7	32,8
Al	24,2	30,2
Na	6,4	4,6
P	20,2	20,7
Cl	12,4	7,0
Zr	3,0	4,6

Nas Figuras 54 e 55 foi analisada a uniformidade da camada de apatita depositada. A linha verde representa a linha de base de análise.

Pode-se verificar que para a amostra 85A15TZP E=13 μ J; Np=1024 imersa por 15 dias em 1,5SBF, as linhas rosa e azul que representam a concentração de alumínio e cálcio respectivamente apresentam grande variação periódica de concentração, acompanhando a topografia do substrato. O tratamento a laser com efeito térmico, provoca sulcos na superfície do compósito e a deposição da apatita não ocorre de forma uniforme.

Figura 54: Perfil de concentração de alumínio e cálcio na amostra 85A15TZP E=13 μ J; Np=1024 imersa por 15 dias em 1,5SBF

O compósito tratado superficialmente com laser de femtossegundo sem efeito térmico (85A15TZP E=7 μ J; Np=1) imerso por 15 dias em 1,5SBF, não apresenta irregularidades periódicas na superfície e o perfil de concentração de alumínio e cálcio apresenta-se mais uniforme.

Figura 55: Perfil de concentração de alumínio e cálcio na amostra 85A15TZP E=7 μ J; Np=1 imersa por 15 dias em 1,5SBF

As amostras sem tratamento superficial com laser de femtossegundo não induz condições adequadas para boa adesão da apatita, por outro lado, o tratamento com laser de femtossegundo com efeito térmico produz topografia não adequada resultando em uma não uniformidade na camada de apatita depositada.

7. CONCLUSÕES

- O método de co-precipitação fornece pós com granulometria fina e distribuição bimodal, tanto para a alumina quanto para o compósito.
- A calcinação fornece pós com baixa cristalinidade.
- A aplicação de laser de femtossegundo no material provoca transformação de fase de parte da alumina alfa para alumina gama na amostra 100A.
- Quando ocorre efeito térmico nos materiais em decorrência do laser de femtossegundo, os grãos apresentam-se com tamanhos nanométricos. Quando não ocorre efeito térmico, os grãos se apresentam com tamanhos micrométricos.
- A utilização de laser de femtossegundo permite controlar a rugosidade das amostras de alumina e alumina-zircônia. Conforme aumenta a energia e o número de pulsos, aumenta a rugosidade da superfície do material.
- A aplicação de laser de femtossegundo é uma alternativa extremamente interessante pelo fato de aumentar a rugosidade de forma controlada com possibilidade de não alterar a estrutura cristalina tetragonal da zircônia, além de induzir os grupos funcionais Al-OH e Zr-OH na superfície que podem facilitar o crescimento e a adesão da hidroxiapatita no processo biomimético.
- A Fluência encontrada para o compósito tratado superficialmente com laser de femtossegundo com pulso simples ($N_p=1$) foi $2,2 \text{ J/cm}^2$. Esse valor é inédito na literatura.
- Os materiais tratados com laser de femtossegundo apresentam-se desidratados, ou seja, sem a presença de bandas OH⁻ em suas superfícies. Quando imersos em 1,5 SBF apresentam-se hidratados, com a presença de bandas OH⁻ em suas superfícies.
- Quanto maior a energia do laser de femtossegundo maior é a molhabilidade das amostras e maior é a energia de superfície total.
- Os valores das componentes polares e dispersivas do SBF (γ_{SBF}^p ; γ_{SBF}^d) foram calculados em 38,45 mN/m e 28,7 mN/m respectivamente; e são valores inéditos na literatura.
- As espessuras de camada de apatita são maiores para amostras que sofreram texturização na superfície com laser de femtossegundo.

- As amostras imersas em 1,5SBF por 6 e 15 dias que não sofreram tratamento superficial com laser possuem camadas de apatita fracamente ligadas ao substrato, evidenciando um deslocamento dessas camadas.
- As amostras imersas em 1,5SBF por 6 e 15 dias previamente texturizadas superficialmente com laser possuem camadas de apatita fortemente ligadas ao substrato, não promovendo o deslocamento das camadas de apatita.
- A amostra de alumina tratada superficialmente com laser de femtossegundo com efeito térmico (100A E=32μJ; Np=32) imersa em 1,5SBF por 15 dias, apresentou descolamento da apatita. Este fato pode ser devido à alta rugosidade superficial induzida pelo tratamento a laser comprometendo a adesão.
- As amostras sem tratamento superficial com laser de femtossegundo não induz condições adequadas para boa adesão da apatita.
- O tratamento superficial com laser de femtossegundo com efeito térmico produz topografia não adequada resultando em uma não uniformidade na camada de apatita depositada.
- O tratamento com laser de femtossegundo é um procedimento promissor como modificador de superfícies de implantes, por ser considerado limpo, reprodutível, possível economicamente e satisfatório para deposição de recobrimentos bioativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, Y.; KOKUBO, T.; YAMAMURO, T. Apatite coating on ceramics, metals and polymers utilizing a biological process. *Journal of materials science: Materials in medicine*, v.1, p. 233-238, 1990.
- ADVINCULA, M.C.; RAHEMTULL, F.G.; ADVINCULA, R.C.; ADA, E.T.; LEMONS, J.E.; BELLIS, S.L. Osteoblast adhesion and matrix mineralization on sol-gel derived titanium oxide. *Biomaterials*, v. 27, p. 2201-2212, 2006.
- AGARWAL, A.; DAHOTRE, N.B. Mechanical Properties of Laser Engineered Composite Boride Coating on Steel: A Nanoindentation Approach, *Metall. Mater. Trans. A*, 31A, p. 401–407, 2000.
- AGUIAR, A.A. *Avaliação dos tratamentos químicos e recobrimento biomimético em cerâmicas de alumina-zircônia*. 2007. Dissertação (Mestrado) - Instituto de pesquisas energéticas e nucleares, São Paulo.
- ANEZIRIS, C. G.; HOMOLA, F. High temperature wettability of refractories in contact with melts. *Handbook, German Ceram. Soc., Technical Ceramic Materials, Kriegesmann*. Cap. 5.4.2.1, p.1-32, 2005.
- ANSELME, K.; NOEL, B.; HARDOUIN, P. Human Osteoblast Adhesion on Titanium Alloy, Stainless Steel, Glass and Plastic Substrates with same Surface Topography, *Journal of materials Science: Materials in medicine*, v.10, p. 815-819, 1999.
- ANSELME, K.; BIGERELLE, M.; NOEL, B.; DUFRESNE, E.; JUDAS, D.; IOST, A.; HARDOUIN, P. Qualitative and quantitative study of human osteoblast adhesion on materials with various surface roughnesses, *journal of biomedical materials research*, v.49, p. 155-166, 2000.
- ANSELME, K.; BIGERELLE, M. Topography effects of pure titanium substrates on human osteoblast long-term adhesion. *Acta Biomaterialia*, p. 211-222, 2005.
- ARIASA J.L.; MAYORA M.B.; POU J.; LENG Y.; LEONA B.; PEREZ- AMOR M. Micro- and nano-testing of calcium phosphate coatings produced by pulsed laser deposition. *Biomaterials*, v. 24, p. 3403–3408, 2003.
- ASSENDER, H.; BLIZNYUK, V.; PORFYRAKIS, K. How surface topography relates to material's properties. *Science*, v. 297, p. 973-976, 2002.
- ASTM D907-70. American Society for testing and Materials. **Definition of terms relating to adhesion**. Philadelphia: ASTM, 1970 (D907-70).
- BARRÈRE, F.; LEBUGLE, A.; BLITTERSWIJK, C.A.V.; GROOT, K.D.; LAYROLLE, P.; REY, C.J. Calcium phosphate interactions with titanium oxide and alumina substrates: an XPS study. *J. Mat. Sci.: Mater. Med.*, v. 14, p.419, 2003.

BARTH, E.; ERMINGEN. R.; SOLHEIM, L.F. Tissue reactions to ceramics and glass ceramics. *Acta Orthop Scand.*, v.59, p. 219-220, 1988.

BAUERLE, D. *Laser Processing and Chemistry*. Berlin: Springer-Verlag, 1996.

BEAKE, B.D.; VISHNYAKOV, V.M.; HARRIS, A.J. Relationship between mechanical properties of thin nitride-based films and their behavior in nano-scratch tests. *Tribology International*, v.44, p. 468-475, 2011.

BHUSHAN, B.; GUPTA, B.K. Metals and Ceramics, In: BHUSHAN, B.AND GUPTA, B.K. (eds), *Handbook of Tribology: Materials, Coatings and Surface Treatments*, p. 4-57, McGraw-Hill, Inc., New York, 1991.

BLACK, J. *Biological Performance of Materials. Fundamentals of Biocompatibility*. New York, N.Y.: Marcel Dekker, Inc., 1999.

BOHNER, M. Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements, *Int.J.Care Injured*, v.31, 2000.

BRUNETTE, D.M. The effects of implant surface topography on the behaviour of cells. *Int. J. Oralmaxillofacial Impl.*, v.3, p. 231-246, 1988.

BRUNETTE, D.M.; CHEROUDI, B.; GOULD, T.R.L. Electron microscopic observations on the effects of surface topography on the behaviour of cells attached to percutaneous and subcutaneous implants, *in tissue integration in oral, orthopaedic and maxillofacial reconstruction*. (W.R. Laney and D.E.Tolman (eds.)) Quintessence Publishing, Chicago, p. 21-31, 1992.

BRUNETTE, D.M.; CHEROUDI, B. The effects of the surface topography of micromachined titanium substrata on cell behavior in vitro and in vivo. *J. Biomech. Eng.*, v.121, p. 49-57, 1999.

BURR, D. B.; MORI, S.; BOYD, R. D.; SUN, T. C.; BLAHA, J. D.; LANE, L.; PARR, J. J. *Biomed Mater Res*, v. 27, p. 645-653, 1993.

BUSER, D.; SCHENK, R. K.; STEINEMANN, S.; FIORELLINI, J. P.; FOX, C. H.; STICH, H. J. *Biomed Mater Res*, v. 25, p. 889-902, 1991.

CALLEWAERT, K.; MARTELE', Y.; BREBAN, L.; NAESSENS, K.; VANDAELE, P.;BAETS, R.; GEUSKENS, G.; SCHACHT, E. Excimer Laser Induced Patterning of Polymeric Surfaces, *Appl. Surf. Sci.*, v. 208–209, p. 218–225, 2003.

CAREY, V.P. *Liquid-Vapor Phase-Change Phenomena Series in Chemical and Mechanical Engineering*, Chapters I, II and III, Hemisphere Publishing Corp, 1992.

CHAKRABORTY, J.; SARKAR, S.D.; CHATTERJEE, S.; SINHA, M.K.; BASU, D. Self- Assembled structures of hydroxyapatite in the biomimetic coating on a bioinert ceramic substrate. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v.66, p. 295-298, 2008.

CHEROUDI, B.; GOULD, T.R.L.; BRUNETTE, D.M. Effects of a grooved titanium-coated implant surface on epithelial cells behaviour in vitro and in vivo. **J. Biom. Mater. Res.**, v.23, p.1067-1086, 1989.

CHESMEL, K. D.; CLARK, C.C.; BRIGHTON, C.T.; BLACK, J. Cellular responses to chemical and morphologic aspects of biomaterial surfaces. II. The biosynthetic and migratory response of bone cell populations. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.29, p. 1101-1110, 1995.

CHEVALIER, J.J.; DEVILLE, S.; MÜNNICH, E.; JULIAN, R.; LAIR, F. Critical Effect of Cubic Phase on Aging in 3mol% Yttria-stabilized Zirconia Ceramics for Hip Replacement Prosthesis, **Biomaterials**, v. 25, p. 5539–5545, 2004.

CHIDAMBARAM, P. R.; EDWARDS, G. R.; OLSON, D. L. Thermodynamic criterion to predict wettability at metal-alumina interfaces. **Metal. Tran.**, v. 23B, p. 215-22, 1992.

CHRISTEL, P.; MEUNIER, A.; HELLER, M; TORRRE, J.P.; PEILLE, C. Mechanical properties and short-term in vivo evaluation of yttrium-oxide-partially-stabilized zirconia. **J. Biomed. Mat. Res.**, v. 23, p. 45-61, 1989.

CINI, L. Bioceramics: The objects achieved and future prospects, **Ceramic informazione**, v.102, p.159-163, 1975.

COHEN, I. Metal implants: historical background and biological response to implantation, In: RUBIN, L.R. (ed). **Biomaterials in reconstructive surgery**, St. Louis, CV Mosby, p. 46-61, 1983.

CORTES, D.A.; NOGIWA, A.A.; ALMANZA, J.M.; ORTEGA, S. Biomimetic apatite coating on Mg-PSZ/Al₂O₃ composites: Effect of immersion method. **Mater. Letters**, v. 59, p. 1352– 1355, 2005.

COUTINHO, M.P. **Influência da morfologia da superfície na molhabilidade do titânio comercialmente puro**. 2007. Dissertação (Mestrado) - Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro.

CRISS, J. W.; BIRKS, L.S. Calculation Methods for Fluorescent X-ray Spectrometry. **Anal. Chem.**, v.40, p. 1080-1086, 1968.

CULLITY, B.D.; STOCK, S.R. **Elements of X-Ray diffraction**. 3ed. Upeer Saddle River, NJ, Prentice Hall. p.402-433, 2001.

DEN BRABER, E. T.; RUIJTER, J. E.; GINSEL, L. A.; VON RECUM, A. F.; JANSEN, J. A. Orientation of ECM protein deposition, fibroblast cytoskeleton, and attachment complex components on silicone microgrooved surfaces. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.40, p. 291-300, 1998.

DRUMMOND, I.L.; SIMON, M.R.; BROWN, S.D. Degradation of ceramic materials in physiological media, In: SYRETT, B.C. & ACHARYA, A. (eds.): **Corrosion and degradation of implant materials**, ASTM STP 684, Philadelphia, American Society for Testing and Materials, p. 89-104, 1979.

DRUMMOND, J.L. Aging study of magnesia stabilized zirconia. *Bioceramics*. Eds Hulbert, J.E.; Hulbert, S.F. v. 4, 1992.

DUCHEINE, P. Bioglass coating and bioglass composites as implant materials. *J Biomed Mater Res*, v.19, p. 273-291, 1985.

ELIAS, C.N.; LIMA, J.H.C. Importância da qualidade da superfície dos implantes osseointegráveis na biofixação. *Revista Brasileira de Implantodontia*, v. 7, p. 21-25, 2001.

FILHO, E.A.; FRAGA, A.F.; BINI, R.A.; GUASTALDI, A.C. Bioactive coating on titanium implants modified by Nd:YVO₄ laser. *Applied Surface Science*, v. 257, p. 4575-4580, 2011.

FISCHER, H.; NIEDHART, C.; KALTENBORN, N.; PRANGE, A.; MARX, R.; NIETHARD, F.E.; TELLE, R. Bioactivation of inert alumina ceramics by hydroxylation. *Biomaterials*, v.26, p. 6151, 2005.

FLEMMING, R.G.; MURPHY, C.J.; ABRAMS, G.A.; GOODMAN, S.L.; NEALY, P.F. Effects of synthetic micro- and nano- structured surfaces on cell behaviour. *Biomaterials*, v. 20, p. 573-588, 1999.

FORSQREN, J.; SVAHN, F.; JARMAR, T.; ENGQVIST, H. Formation and adhesion of Biomimetic hydroxyapatite deposited on titanium substrates. *Acta Biomaterialia*, v.3, p. 980-984, 2007.

GARVIE, R.C.; URBAN, D.; KENNEDY, D.R.; MCMEUER, J. C. Biocompatibility of magnesium partially stabilized zirconia (Mg-PSZ ceramics). *J. Mat. Sci.*, v. 19, p. 3224, 1984.

GHAITH, E.S.; HAYAKAWA, T.; KASUGA, T.; NOGAMI, M. Apatite formation on CO₂ laser irradiated titanium oxide films. *Materials Letters*, v. 60, p. 194-197, 2006.

GINDL, M. A comparison of different methods to calculate the surface free energy of wood using contact angle measurements. *Colloids and Surfaces*, v. 181, p. 279-287, 2001.

GOMI, K; DAVIES, J. E. *J. Biomed. Mat. Res*, v.27, p. 429-431, 1993.

GOOD, R.J.; VAN OSS, C.J. "The Modern Theory of Contact Angles and the Hydrogen Bond Components of Surface Energies" in *"Modern Approaches to Wettability"* (M.E. Schrader and G.I. Loeb, Eds.), Plenum, p.1, New York, 1992.

GROSS, U.; STRUNZ, V. The interface of various glasses and glass ceramics with a bony implantation bed. *Journal of biomedical Materials Research*, v. 19, p. 251-271, 1985.

GROSS, U.M.; MÜLLER-MAI, C.M.; VOIGT, C. The interface of calcium-phosphate and glass-ceramic in bone. *Biomaterials*, v. 11, p. 83-85, 1990.

HADIAN, A. M.; DREW, A. L. Thermodynamic modelling of wetting at silicon nitride/Ni-Cr-Si alloy interfaces. *Mater. Sci. Eng.*, v. A189, p. 209-217, 1994.

HAO, L.; LAWENCE, J. *Mater.Sci. Eng.* , v.364, p.171-181, 2003.

HAO, L.; LAWRENCE, J.; CHIAN, K.S.; LOW, D.K.Y.; LIM, G.C.; ZHENG, H.Y. The formation of a hydroxyl bond and the effects thereof on bone-like apatite formation on a magnesia partially stabilized zirconia (MgO-PSZ) bioceramic following CO₂ laser irradiation. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, v.15, p. 967-975, 2004.

HAO, L.; LAWRENCE, J.; CHIAN, K.S. Effects of CO₂ laser irradiation on the surface properties of magnesia-partially stabilized zirconia (MgO-PSZ) bioceramic and the subsequent improvements in human osteoblast cell adhesion. *J Biomater Appl*, 2004.

HAO, L.; MA, D.R.; LAWRENCE, J.; ZHU, X. Enhancing osteoblast functions on a magnesia partially stabilized zirconia bioceramic by means of laser irradiation. *Materials Science and Engineering*, 2005.

HENCH, L.L.; ETHRIDGE, E.C. *Biomaterials: an interfacial approach*, New York, Academic Press, 386 pp, 1982.

HENCH, L.L.; WILSON, J. *An introduction to bioceramics*. Advanced Series in Bioceramics, v. 1, 1993.

HENCH, L. L. Bioceramics. *J. Am. Ceram. Soc.*, v.81 n.7, p.1705–28, 1998.

HILL, J.R.; MADSEN, C.I.; Data Collection Strategies for Constant Wavelength Rietveld Analysis, *Powder Diffraction*.2, p.146-163,1987.

HOFFMAN, B.D.R.A.; SCHOEN,F.J.; LEMONS,J.E.; *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*; Academic Press, USA, 1996.

HOLMBERG, K.; RONKAINEN, H.; LAUKKANEN, A.; WALLIN, K. Friction and wear of coated surfaces-scales, modeling and tribomechanisms. *Surf. Coat. Technol.*, v.202, p. 1034-1049, 2007.

HOMSY, C.A. Implant stabilization. chemical and biomechanical considerations. *Orthop Clin North Am*, v.4, p. 295-311, 1973.

HUGHES, T.P. *Plasmas and Laser Light*. Bristol, UK: Adam Hilger, 1975.

HULBERT, S.F.; YOUNG, F.A.; MATHEWS, R.S. Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses. *J Biomed Mater Res*, v.4, p.433-456, 1970.

ICHIMURA, H.; ISHII, H. Effects of indenter radius on the critical load in scratch testing. *Surf. Coat. Technol.*,v.165, p.1-7, 2003.

INOUE, T.; COX, J.E.; PILLIAR, R.M.; MELCHER, A.H. Effect on the surface geometry of smooth and porous-coated titanium alloy on the orientation of fibroblasts in vitro. *J. Biom. Mater. Res.*, v.21, p. 107-126, 1987.

(ISO 23317-2007). INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Implants for surgery-In vitro evaluation for apatite- forming ability of implant materials*, 2007.

(ISO 6474-2010). INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Implants for surgery- Ceramic materials based on high purity alumina*, 2010.

ISHIKAWA, K.; DUCHEYNE, P.; RADIN, S. Determination of the Ca/P ratio in calcium-deficient hydroxyapatite using x ray diffraction analysis, *J. Mater. Sci. Mater. In Med*, v.4, p.165-168, 1993.

JANASOVA L.; MULLER F A.; HELEGRANT A.; STRAD J.; GREIL P. Hydroxyapatite formation on alkali-treated titanium with different Na⁺ in the surface layer. *Biomaterials*, v. 23, p.3095-3101, 2002.

JANSSEN, M.I.; VAN LEEUWEN, M.B.; VAN COTEN, T.J.; VRIES, J.; DIJKHUIZEN, L.; WOSTEN, H.A. Promotion of fibroblast activity by coating with hydrophobins in the beta-sheet end state. *Biomaterials*, v. 25, p. 2731-2739, 2004.

KANNAN, S.; GOETZ-NEUNHOEFFER, F.; NEUBAUER, J.; FERREIRA, J.M.F. Ionic substitution in biphasic hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate mixtures: structural analysis by Rietveld refinement. *J. Am. Ceram. Soc.*, v. 91, p. 1–12, 2008.

KATAOKA, Y. Standardless X-ray Fluorescence Spectrometry-Fundamental Parameter Method Using Sensitivity Library, *The Rigaku Journal*, v.6, p. 33-39, 1989.

KELLER, L. X-ray powder diffraction patterns of calcium phosphates analysed by Rietveld method. *J. Biomed.Mater. Res.*, v.29, n.11, p.1403-1413, 1995.

KESHMIRI, M.; TROCZYNSKI, J. *Non-Cryst. Solids*, v. 324, p. 289, 2003.

KIESWETTER, K.; SCHWARTZ, Z.; HUMMERT, T.W.; COCHRAN, D.L.; SIMPSON, J.; DEAN, D.D.; BOYAN, B.D. Surface roughness modulates the local production of growth factors and cytokines by osteoblast-like MG63 cells. *J. Biomed. Mater. Res.*, v. 32, p. 55-63, 1996.

KIM, C.Y.; JEE, S.S. Hydroxyapatite formation via bioactive-glazed alumina. *J. eur. Ceram. Soc.*, v. 23, p. 1803-1811, 2003.

KIM, S.H.; SOHN, I.B.; JEONG, S. Ablation characteristics of aluminum oxide and nitride ceramics during femtosecond laser micromachining. *Applied Surface Science*, 2008.

KIM, S.E.; LIM, J.H.; LEE, S.C.; CHOI, J. Anodically nanostructured titanium oxides for implant applications. *Electrochimica Acta*, v.53, p. 4846–4851, 2008.

KITA, H.; ISHIKI, M.; MAKI,M.; KITAMURA, T.; KURIYAMA,T. Scratch behaviors of moldings. *Antec*, v.3, p. 2992-2996, 2003.

KLOPCIC, S.B.; KOVAC, J.; KOSMAC, T. Apatite-forming ability of alumina and zirconia ceramics in a supersaturated Ca/P solution. *Biomolecular Engineering* 24 467–471, 2007.

KLUG, H.P.; ALEXANDER, L.E.; *X Ray Diffraction Procedures*; JohnWiley&son, Inc.,New York, 1974.

KOKUBO T.; KUSHITANI H.; SAKKA S.; KITSUGI T.; YAMAMURO T. Solutions able to reproduce *in vivo* Surface-Structure changes in Bioactive Glass-Ceramic A-W3. *J. Biomedical Materials Research*, v.24, p.721-734, 1990.

KOKUBO T.; HATA K.; NAKAMURA T.; YAMAMURO T. Apatite formation on ceramics, metals and polymers induced by CaPSiO₂ based glass in a simulated body fluid. *Bioceramics*, v.4, p.113-120, 1991.

KOKUBO, T.; MIYAJI, F.; KIM, H.-M.; NAKAMURA, T. Spontaneous formation of bonelike apatite layer on chemically treated titanium metals. *J. Am. Ceram. Soc.*,v.79, n.4, p. 1127-1129, 1996.

KOKUBO, T. Novel Bioactive Materials. *Anales de Química Int. Ed.*, v.93, p.49-55, 1997.

KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting “*in vivo*” bone bioactivity?, *Biomaterials*, v. 27, p. 2907-2915, 2006.

KOMASHKO, A.M.; FEIT, M.D.; RUBENCHIK, A.M.; PERRY, M.D.; BANKS, P.S. Simulation of material removal efficiency with ultrashort laser pulses. *Appl Phys*, v.69, p.95-98, 1999.

KUNDU, B.; SINHA, M.K.; MITRA, M.K.; BASU, D. Fabrication and characterization of porous hydroxyapatite ocular implant followed by an “*in vivo*” study in dogs. *Bull. Mater. Sci.*, v.27, p. 133-140, 2004.

KURELLA, A.; DAHOTRE, B. Surface Modification for Bioimplants: The Role of Laser Surface Engineering. *Journal of Biomaterials Applications*, v. 20, 2005.

LEGEROS, R.Z. et al., Bioceramics – tissue interfaces: characterization of ultrastructural properties proceedings of the 6th International Symposium on Ceramics in Medicine Philadelphia: Nov., p. 79-84, 1993.

LEGEROS, R.Z. Calcium Phosphate-Based Osteoinductive Materials. *Chem. Rev*, v.108, p.4742-4753, 2008.

LIU, X. Drifts Study of Surface of γ -Alumina and its dehydroxylation. *J. Phys. Chem. C.*, v.112, p.5066-5073, 2008.

LUFT, A.; FRANZ, U.; EMSERMANN, A.; KASPAR, J. A study of thermal and mechanical effects on materials induced by pulsed laser drilling. *Appl Phys*, v.63, p.93-101, 1996.

MARTIN, J.Y.; SCHWARTZ, Z.; HUMMERT, T.W.; SCHRAUB, D.M.; SIMPSON, J.; LANKFORD, J.; DEAN, D.D.; COCHRAN, D.L.; BOYAN, B.D. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast like cells (MG63). *J. Biomed. Mater. Res.*, v. 29, p. 389-401, 1995.

MARTINS, R.N. *Influência de recobrimentos de carbono no processo de deposição de parafinas*. 2005. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

MCNAMARA, A.; WILLIAMS, D.F. The response to the intramuscular implantation of pure metals. *Biomaterials*, v.2, p. 33-40, 1981.

MERRY, J.C.; GIBSON, R.I.; BEST, M. S.; BONFIELD, W. Synthesis and characterization of carbonate hydroxyapatite, *J. Mater. Sci. Mater. In Med*, v.9, p.779-783, 1998.

MITUTOYO. *SJ-301 Surface Roughness Tester*. User`s Manual. N°99MBB091A3. Series N°178.

MORAES, M.C.C.S.B.; ELIAS, C.N.; FILHO, J.D.; OLIVEIRA, L.G. Mechanical properties of alumina-zirconia composites for ceramic abutments. *Materials Research*, v.7, n°4, p. 643-649, 2004.

MORRA, M., OCCHIELLO, E. AND GARBASSI, F. Knowledge about Polymer Surfaces from Contact Angle Measurements. *Advances in Colloid and Interface Science* , v. 32, p.79, 1990.

MOTTA, F. V.; BALESTRA, R. M.; RIBEIRO, S.; TAGUCHI, S. P. Wetting behaviour of SiC ceramics. Part I E₂O₃/Al₂O₃ additive system. *Mater. Lett.*, v. 58, p. 2805-2809, 2004.

MULLER L.; MULLER F A. Preparation of SBF with different HCO⁻³ content and its influence on the composition of biomimetic apatites. *Acta Biomaterialia*, v.2, p.181-189, 2006.

NASCIMENTO, R. M.; MARTINELLI, A. E.; BUSCHINELLI, A. J. A. Review article: recent advances in metal-ceramic brazing. *Cerâmica*, v. 49, p. 178-198, 2003.

NOLTE, S. Micromachining. In: FERMANN, M.E.; GALVANAUSKAS, A.; SUCHA, G. *Ultrafast Lasers: Technology and applications*. Marcel Dekker, 2002.

NORTON, J.; MALIK, K.R.; DAN, J.A.; REHMAN, I. Recent developments in processing and surface modification of hydroxyapatite. *Advances in Applied Ceramics*, v.105, p.113-139, 2006.

NOWOK, J. W. Mass transport phenomena at the liquid metal/substrate (metal carbide). *Mater. Sci. Eng.*, v. A 232, 1-2, p. 157-162, 1997.

PADILHA, A.F.; FILHO, F.A.; *Técnicas de Análise Microestrutural*; hemus editora Ltda, São Paulo, 1985.

PARK, J.B.; BRONZINO, J.D.; KIM, Y.K. Metallic Biomaterials Ceramic Biomaterials, In: Park, J.B. and Bronzino, J.D. (eds), ***Biomaterials Principles and Applications***, pp. 1–45, CRC Press, Boca Raton, USA, 2003.

PERIZZOLO, D.; LACEFIELD, W. R.; BRUNETTE, D. M. Interaction between topography and coating in the formation of bone nodules in culture for hydroxyapatite- and titanium-coated micromachined surfaces. ***Journal of Biomedical Materials Research***, v.56, p. 494-503, 2001.

PERRIE, W.; RUSHTON, A.; GILL, M.; FOX, P.; O' NEILL, W. Femtosecond laser micro-structuring of alumina ceramic. ***Applied Surface Science***, 2005.

PICONI, C.; MACCAURO, G. Zirconia as a ceramic biomaterial, ***Biomaterials***, v.20, p.1-25, 1999.

PIERRI, J.; ROSLINDO, E.B.; TOMASI, R.; PALLONE, E.; RIGO, E. Alumina/zirconia composite coated by biomimetic method, ***Journal of Non-Crystalline Solids***, v.352, p.5279-5283, 2006.

PUIPPE, CL.J. Surface treatments of titanium implants. ***Europa cells and materials***, v. 5, p. 32-33, 2003.

RAHAMAN, M. N. ***Ceramic Processing and Sintering***, 1ª Ed., Marcel Dekker, Nova York, EUA, 1995.

RAYNAUD, S.; CHAMPION, E.; BERNACHE-ASSOLANT, D.; LAVAL, J.-P. Determination of calcium/phosphorus atomic ratio of calcium phosphate apatites using X-ray diffractometry. ***J. Am. Ceram. Soc.***, v.84, n.2, p. 359-366, 2001.

REDEY, S.A.; NARDIN, M.; BERNACHE-ASSOLANT, D.; REY, C.; DELANNOY, P.; SEDEL, L.; MARIE, P.J. Behavior of human osteoblastic cells on stoichiometric hydroxyapatite and type A carbonate apatite: Role of surface energy, ***journal of biomedical materials research***, v.50, p.353-364, 2000.

RIBEIRO, M.S.; ZECELL, D.M. Laser de baixa intensidade. In: Gutknecht N, Eduardo CP. ***A odontologia e o laser, a atuação do laser na especialidade odontológica***. 1 ed. São Paulo: Quintessence; p. 217-40, 2004.

RIETVELD, H.M.; A Profile Refinement Method for Nuclear and Magnetic Structures. ***J.Appl.Cryst.***2, p.65-71, 1969.

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

ROHANIZADEH, R.; LEGEROS, R.Z.; HARSONO, M.; BENDAVID, A. Adherent apatite coating on titanium substrate using chemical deposition. ***Wiley InterScience***, p. 428-438, 2005.

ROSALES-LEAL, J.I.; RODRIGUEZ-VALVERDE, M.A.; MAZZAGLIA, G.; RAMON-TORREGROSA, P.J.; DIAZ-RODRIGUEZ, L.; GARCIA-MARTINEZ, O.; VALLECLLO-CAPILLA, M.; RUIZ, C.; CABRERIZO-VILCHEZ, M.A. Effect of roughness, wettability and morphology of engineered titanium surfaces on osteoblast-like cell adhesion. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 365, p. 222-229, 2010.

ROSEN, V.; THIES, R.S. The BMP proteins in bone formation and repair. *Trends Genet.*, v.8, p. 97-102, 1992.

RUPP, F.; SCHEIDELER, L.; REHBEIN, D.; AXMANN, D.; GERSTORFER, G.J. Roughness induced dynamic changes of wettability of acid etched titanium implant modifications. *Biomaterials*, v. 25, p. 1429-1438, 2004.

SANTIAGO, A. S. *Resposta de células osteoblasticas cultivadas sobre titânio com diferentes tratamentos de superfície*. 2004. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SANTOS Jr, E. *Anodização de titânio comercialmente puro para aplicações biomédicas*. 2005. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SANTOS, A.R. *Efeito da oxidação anódica de titânio comercialmente puro revestido ou não com fibronectina na interface osteoblastos humanos-superfície de titânio*. 2008. Tese (Doutorado) - Engenharia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SATO, T.; SHIMADA, M. Transformation of yttria-doped zirconia polycrystals by annealing in water. *J. Am. Ceram. Soc.*, v.68, p.356-359, 1985.

SCAPIN, V.O. *Aplicação da fluorescência de raios x (WDXRF): determinação da espessura e composição química de filmes finos*. 2004. Dissertação (mestrado) -Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

SCHLIE, S.; FADEEVA, E.; KOROLEVA, A.; OVSIANIKOV, A.; KOCH, J.; NGEZAHAYO, A.; CHICHKOV, B. Laser-based nanoengineering of surface topographies for biomedical applications. *Photonics and Nanostructures- Fundamentals and Applications*, 2010.

SCOTCHFORD, C.A.; COOPER, E.; LEGGETT, G.J.; DOWNES, S. Growth of human Osteoblast-like Cells on Alkanethiol on Gold Self-assembled Monolayers: The effect of surface Chemistry, *Journal of Biomedical Materials Research*, v.41, p. 431-442, 1998.

SEMAK, V.V.; DAHOTRE, N.B. Laser Surface Texturing, In: DAHOTRE, N.B. (ed.), *Lasers in Surface Engineering, Surface Engineering Series*, pp. 35–67, ASM International, Materials Park, OH, USA, 1998.

SHAW, D. J. *Introduction to colloid and surface chemistry*. Oxford: Reed Education and Professional Publishing Ltd, 306p, 1992.

SHIRAIWA, T.; FUJINO, N. Theoretical Calculation of Fluorescent X-ray Intensities in Fluorescent X-ray Spectrochemical Analysis. *J. Appl. Phys*, p. 886-899, v. 5, 1966.

SIOSHANSI, P.; TOBIN, E.J. Surface Treatment of Biomaterials by Ion Beam Process, *Surf. Coat. Technol.*, v. 83, p. 175–182, 1996.

STEVIE, F.A. Surface Roughness. In: BRUNDLE, C.R.; EVANS, C.A.; WILSON, S. *Encyclopedia of Materials Characterization*. Butterworth-Heinemann, 1992.

STOCH, A.; JASTRZEBSKI, W.; BROZEK, A.; STOCH, J.; SZARANIEC, J.; TRYBALSKA, B.; KMITA, G. FTIR absorption-reflection study of biomimetic growth of phosphates on titanium implants. *J. Mol. Struct.*, v.555, p. 375, 2000.

STREICHER, R.M.; SEMLITSCH, M.; SCHOM, R. Articulation of ceramic surfaces against polyethylene. In *Bioceramics and the human body*, eds. Ravaglioli, A.; Krajewski, A. p.118-123, 1991.

STREICHER, R.M.; SEMLITSCH, M.; SCHOM, R. Ceramic surfaces as wear partners for polyethylene. *Bioceramics*. Eds. Bonfield, W.; Hastings, G.W.; Tanner, K.E. v. 4, 1991a.

SUCHANEK, W.; YOSHIMURA, M. Processing and Properties of hydroxyapatite-based Biomaterials for use as Hard Tissue Replacement Implants, *J. Mater. Res.*, v.13, p. 94–117, 1998.

TAGUCHI, S. P.; MOTTA, F. V.; BALESTRA, R. M.; RIBEIRO, S. Wetting behaviour of SiC ceramics Part II - Y₂O₃/Al₂O₃ and Sm₂O₃/Al₂O₃. *Mater. Lett.*, v. 58, p. 2810-2814, 2004.

TATEISHI, T.; YUNOKI, H. Research and development of advanced biomaterials and application to the artificial hip joint. *Bull. Mech. Engr. Lab.*, v. 145, p. 1, 1987.

TAVARES, C.J.M. *Produção e caracterização de revestimentos nanoestruturados em multicamadas de TiAlN/Mo*. 2002. Tese (Doutorado) - Universidade do Minho, Portugal.

THAMARAISELVI, T.V.; RAJESWARI, S. Biological evaluation of bioceramic materials. *Biomat. Art. Org.*, v. 18, p. 9-17, 2004.

TRANTAFYLIDIS, D.; LI, L.; STOTT, F.H. Surface properties of laser-treated ceramic materials. *Thin Solid Films*, 2004.

UCHIDA, M.; KIM, H.-M.; KOKUBO, T.; NAWA, M.; ASANO, T.; TANAKA, K.; NAKAMURA, T. Apatite-forming ability of a zirconia/alumina nano-composite induced by chemical treatment. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.60, n.2, p.277-282, 2002.

VÁZQUEZ, C.; LEYT, D.V.; RIVEROS, J.A. Absolute Method for Determination of Metallic Film Thickness by X-Ray Fluorescence. *X-Ray Spectrometry*, v. 17, p. 43-46, 1988.

VOGEL, A.; VENUGOPALAN, V. Mechanisms of Pulsed Laser Ablation of Biological Tissues. *Chem. Rev.*, v.103, p. 577-644, 2003.

XINSHENG, L. DRIFTS Study of Surface of γ -Alumina and Its Dehydroxylation. *J. Phys. Chem. C.*, v. 112, p. 5066-5073, 2008.

WARREN, B.E. ; *X Ray Diffraction*; Reading. Mass., Addison-Wesley, 1959.

WAUGH, D.G.; LAWRENCE, J.; MORGAN, D.J.; THOMAS, C.L. Interaction of CO₂ laser-modified nylon with osteoblast cells in relation to wettability. *Materials Science and Engineering C*, v. 29, p. 2514-2524, 2009.

WEN, H.B.; WIJN, J.R.D.; BLITTERSWIJK, C.A.V.; GROOT, K.D. Incorporation of bovine serum albumin in calcium phosphate coating on titanium. *J. Biomed. Res.*, v.46, p. 245-252, 1999.

WONG, M.H. *The development of scratch test methodology and characterization of surface damage of polypropylene*. 2003. Dissertação (Mestrado) - Universidade A&M Texas.

YANG, B.; UCHIDA, M.; KIM, H.M. *et al.*, Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment. *Biomaterials*, v. 25, p. 1003-1010, 2004.

YOUNG, R. A.; *The Rietveld Method*. Oxford: New York, 1995.

YOUNG, R.A.; SAKTHIVEL, A.; MOSS, T.S.; PAIVA SANTOS, C.O.; *User's Guide to Program DBWS9411 for Rietveld Analysis of x ray and Neutron Powder Diffraction Patterns*; Scholl of Physics, Georgia Institute of Technology, Atlanta, 1995.

YOUNG, R. A.; WILES,B.D. Profile shape functions in Rietveld Refinements. *J. Appl. Cryst.*, v.15, p.430-438,1982.

ZELDOVICH, YaB.; RAIZER, YuP. *Physics of Shock Waves and High-Temperature Hydrodynamic Phenomena*. New York: Academic Press, 1966.

ZENKIEWICZ, M. Methods for the calculation of surface free energy of solids. *Journal of Achievements in materials and Manufacturing Engineering*, v.24, p.137-145, 2007.

ZHU, X.; CHEN, J.; SCHEIDELER, L.; REICHL, R.; GERSTORFER, G.J. Effects of topography and composition of titanium surface oxides on osteoblast responses. *Biomaterials*, v. 25, p. 4087-4103, 2004.