

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Míriam Cristina de Almeida Bino

Caracterização estrutural e morfológica da superfície da liga Ti-6Al-4V funcionalizada com filmes finos de Nb₂O₅ para aplicações biomédicas

Uberaba
2021

Míriam Cristina de Almeida Bino

Caracterização estrutural e morfológica da superfície da liga Ti-6Al-4V funcionalizada com filmes finos de Nb₂O₅ para aplicações biomédicas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, área de concentração – Materiais Aplicados em Biociências, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Andressa de Almeida Buranello

Coorientador: Prof. Dr. Jéferson Aparecido Moreto

Uberaba
2021

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

B511c Bino, Míriam Cristina de Almeida
Caracterização estrutural e morfológica da superfície da liga Ti-6Al-4V
funcionalizada com filmes finos de Nb₂O₅ para aplicações biomédicas /
Míriam Cristina de Almeida Bino. -- 2021.
83f. : il., graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais) --
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2021
Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Andressa de Almeida Buranello
Coorientador: Prof. Dr. Jéferson Aparecido Moreto

1. Liga Ti-6Al-4V. 2. Filmes finos. 3. Nb₂O₅. 4. Materiais funcionais.
5. Próteses e implantes. 6. Aplicações biomédicas. I. Buranello, Patrícia
Andressa de Almeida. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro.
III. Título.

CDU 669.29

MÍRIAM CRISTINA DE ALMEIDA BINO

Caracterização estrutural e morfológica da superfície da liga Ti-6Al-4V funcionalizada com filmes finos de Nb₂O₅ para aplicações biomédicas.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, área de concentração - Materiais Aplicados em Biociências, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Uberaba-MG, 14 de dezembro de 2021

Banca Examinadora:

Prof.ª Dr.ª Patrícia Andressa de Almeida Buranello – Orientadora
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof.ª Dr.ª Natália Bueno Leite Slade
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof. Dr. Marcelo Rodrigues Pinto
Universidade de Uberaba



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Rodrigues Pinto, Usuário Externo**, em 14/12/2021, às 16:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 87, de 17 de agosto de 2021](#).



Documento assinado eletronicamente por **NATALIA BUENO LEITE SLADE, Professor do Magistério Superior**, em 14/12/2021, às 16:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 87, de 17 de agosto de 2021](#).



Documento assinado eletronicamente por **PATRICIA ANDRESSA DE ALMEIDA BURANELLO, Professor do Magistério Superior**, em 16/12/2021, às 14:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 87, de 17 de agosto de 2021](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.uftr.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0654137** e o código CRC **7F2CF49C**.

Dedico esta dissertação aos meus pais, José e Irani, com imenso amor e gratidão por esse sonho realizado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora Aparecida por todas as bênçãos e proteção em minha vida.

Agradeço a toda minha família pela paciência nos momentos de ausência e pelo incentivo nessa conquista.

Agradeço a professora Dra. Patrícia Andressa de Almeida Buranello pelo apoio, aprendizado e orientação na realização desse trabalho.

Agradeço ao professor Dr. Jéferson Aparecido Moreto pela paciência, ensinamentos na orientação e toda compreensão nos momentos de dificuldade.

Agradeço aos professores Dr. Rogério Valentim Gelamo, Dra. Natália Bueno Leite, Dr. Marcos Vinicius da Silva, Dr. Abner de Siervo e Dr. Marcelo Rodrigues Pinto pelas contribuições na pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“A vida é construída nos sonhos e concretizada no amor.”

Chico Xavier

RESUMO

Este trabalho propõe uma pesquisa aplicada e inovadora para o desenvolvimento de filmes finos de Nb_2O_5 sobre a superfície da liga Ti-6Al-4V com grandes perspectivas de utilização na área biomédica. Filmes finos de Nb_2O_5 foram depositados na superfície da liga Ti-6Al-4V usando a técnica de pulverização catódica reativa. O sistema foi caracterizado morfológicamente e estruturalmente via MEV/EDX, AFM, FTIR, espectroscopia Raman e XPS. A teoria da tensão interfacial foi utilizada para a determinação da energia livre superficial e mostrou que a superfície tratada tornou-se mais hidrofílica quando comparada ao material base. Os espectros de fotoelétrons de raios-X de alta resolução dos níveis de núcleo de Nb 3d e O 1s demonstram inequivocamente a presença de um Nb_2O_5 monofásico. Testes de citotoxicidade e biocompatibilidade (linhagem celular VERO-CCL-81), bem como análises de respostas inflamatórias com células de leucócitos de sangue humano também foram realizados, mostrando que o revestimento de Nb_2O_5 reduziu a toxicidade da liga Ti-6Al-4V e sua indução de inflamação, além de aumentar os níveis de citocinas antiinflamatórias. Como a funcionalização da superfície resultou em maior biocompatibilidade e tolerância pelas células do sistema imunológico, além de baixos níveis inflamatórios em relação ao material de base, apresentamos um material superior com amplo espectro de utilização na área biomédica.

Palavras-chave: Liga Ti-6Al-4V. Revestimento Nb_2O_5 . Materiais funcionais. Implantes. Aplicação biomédica.

ABSTRACT

This paper proposes an applied and innovative research for the development of Nb₂O₅ thin films on the Ti-6Al-4V alloy surface with great prospects of being used in the biomedical area. Thin films of Nb₂O₅ have been deposited on the Ti-6Al-4V alloy surface by using the reactive sputtering technique. The system was characterized morphologically and structurally via SEM/EDX, AFM, FTIR, Raman spectroscopy and XPS. Interfacial tension theory was used for the determination of the surface free energy and showed that the treated surface became more hydrophilic when compared to the bare material. The high-resolution X-ray photoelectron spectra from Nb 3d and O 1s core-levels demonstrate unequivocally the presence of a single-phase Nb₂O₅. Cytotoxicity and biocompatibility (VERO-CCL-81 cell line) tests as well as analyzes of inflammatory responses with Human blood leukocyte cells were also performed by showing that Nb₂O₅ coating reduced both Ti-6Al-4V alloy toxicity and its inflammation induction besides increasing the anti-inflammatory cytokine levels. Since the surface functionalization resulted in both higher biocompatibility and tolerance by immune cells besides low inflammatory levels concerning the base material, we present a superior material with wide spectra of usage in the biomedical area.

Keywords: Ti-6Al-4V alloy. Nb₂O₅ coating. Functional materials. Implants. Biomedical application.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Principais fontes minerais de Ti. Figura (a) Ilmenita, (b) Rutilo e (c) Perovskita	18
Figura 2 -	Representação das estruturas cristalinas do titânio, (a) hexagonal compacta, fase α e (b) cúbica de corpo centrado, fase β	19
Figura 3 -	Diagrama tridimensional esquematizando os tipos de ligas de Ti	21
Figura 4 -	Desenho esquemático mostrando as etapas do processo de deposição de vapor químico (CVD)	34
Figura 5 -	Representação esquemática do processo de pulverização catódica para a deposição de filmes finos na superfície da liga Ti-6Al-4V	35
Figura 6 -	Aparelho do modelo Polipan-u utilizado no polimento das ligas de Ti-6Al-4V	38
Figura 7 -	Aparelho utilizado na lavagem das amostras de Ti-6Al-4V em água destilada e álcool isopropílico	39
Figura 8 -	Representação esquemática do processo de pulverização catódica reativa utilizado para deposição de filmes finos de Nb ₂ O ₅ na superfície da liga Ti-6Al-4V	40
Figura 9 -	Microscópio Eletrônico de Varredura utilizado na obtenção da topografia da superfície da liga revestida e não revestida com filmes finos de Nb ₂ O ₅	42
Figura 10 -	Espectrômetro Raman utilizado na caracterização estrutural.....	42
Figura 11 -	Esquema representativo do ensaio de rezazurina baseado na conversão por oxidação para resofurina por células viáveis	43
Figura 12 -	Representação esquemática do ensaio de citometria de fluxo utilizando Anexina V que se liga a fosfatidilserina que é translocada para o meio extracelular da membrana plasmática de células apoptóticas e 7AAD que atua como marcador de apoptose	44
Figura 13 -	Imagens MEV de superfície da liga Ti-6Al-4V, (a) imagem SE com ampliação de 1,0 kx, (b) imagem BSE com ampliação de 1,0 kx e (c) imagem BSE com ampliação de 10,0 kx.....	45
Figura 14 -	(a) Imagem MEV usada para análise EDX de Ti-6Al-4V do topo mostrando a variação (b-f) na composição química (% em peso) junto com a microestrutura	46
Figura 15 -	Imagens MEV de superfície da liga Ti-6Al-4V revestida com filme fino	

	de Nb ₂ O ₅ , (a) imagem SE da liga Ti-6Al-4V e (b) imagem BSE. Ampliação de 10,0 kx.....	47
Figura 16 -	(a) Imagem MEV usada para análise de EDX da liga Ti-6Al-4V contendo filme fino de Nb ₂ O ₅ de cima, (b-f) a variação na composição química (% em peso) junto com a microestrutura	47
Figura 17 -	Imagens de AFM de vista superior em uma área digitalizada de 2,0 x 2,0 μm, (a) liga Ti-6Al-4V não revestida, (b) liga Ti-6Al-4V não revestida usando o modo de fase, (c) liga Ti-6Al-4V contendo filme de Nb ₂ O ₅ e (d) liga Ti-6Al-4V revestida com filme Nb ₂ O ₅ usando o modo de fase	48
Figura 18 -	(a) Espectros de FTIR-IRRAS obtidos em 30° para filme fino de Nb ₂ O ₅ mostrando a região destacada com bandas centradas em 849 e 935 cm ⁻¹ e (b) a faixa completa	49
Figura 19 -	(a) Espectro Raman da liga Ti-6Al-4V (b) Espectro Raman da Ti-6Al-4V revestida com filme fino de Nb ₂ O ₅ , (c) e (d) mostram duas regiões diferentes (verde e rosa) onde as medições Raman foram feitas. A região de medição exata não foi mostrada nas imagens.....	50
Figura 20 -	Espectro de pesquisa XPS da superfície da liga Ti-6Al-4V contendo película fina de Nb ₂ O ₅ (a) composição química, (b) O 1s e (c) níveis de Nb 3d	51
Figura 21 -	Resultados das medições de molhabilidade (a) Material de base em água, (b) Nb ₂ O ₅ em água, (c) Nb ₂ O ₅ em α -bromonaftaleno e (d) Nb ₂ O ₅ em Formamida.....	53
Figura 22 -	Efeito do biomaterial revestido e não revestido na viabilidade das células VERO e na apoptose do sangue de leucócitos humanos. (a) linha de células VERO-CCL-81, (b) linfócitos, (c) células T auxiliares, (d) células T citolíticas, (e) monócitos e (f) células PMN. As barras representam a média ± erro padrão de amostras em triplicado. * P ≤ 0,05 em comparação com a liga Ti-6Al-4V não revestida	56
Figura 23 -	Efeito de biomaterial revestido e não revestido na produção de citocinas de células de leucócitos de sangue humano. (a) IL-10, (b) TNF- α e (c) IL-6. As barras representam o nível de produção médio ± erro padrão das citocinas de amostras quintuplicada P ≤ 0,05 em comparação com a liga Ti-6Al-4V não revestida.....	57

Figura 24 - Desenho esquemático para ensaios biológicos. (a) liga Ti-6Al-4V e (b) liga Ti-6Al-4V contendo filme fino de Nb_2O_5 58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química do Ti (CP)	20
Tabela 2 - Valores de compostos polares (ΔG_{sWS}^{AB}) e não polares (ΔG_{sWS}^{LW}) da energia livre total de interação da liga Ti-6Al-4V não revestida e revestida	55

LISTA DE SIGLAS

- 7AAD – Aminoactinomicina D
- a-C:H – Carbono Amorfo Hidrogenado
- AFM – Microscopia de Força Atômica
- CaTiO₃ – Perovskita
- CBA – Cytometric Bead Array
- CBMM – Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração
- CCC – Cúbica de Corpo Centrado
- Co – Cobalto
- CVD – Deposição Química à Vapor (do inglês, Chemical Vapor Deposition)
- DLC – Carbono Tipo Diamante
- DLC – Diamante tipo Carbono (do inglês *Diamond Like Carbon*)
- DRX – Difração de raios-X
- DRX – Difração de Raios-X
- EDX – Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X
- EIS – Impedância Eletroquímica
- ELD – Eletrodeposição Eletrolítica
- EPD – Deposição Eletroforética
- Fe₂O₃ – Óxido férrico
- FeTiO₃ – Ilmenita
- FTIR – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
- FTIR – Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
- HC – Hexagonal Compacta
- MAO – Oxidação por Micro-Arco (MAO),
- MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
- Nb₂O₅ – Pentóxido de Níbio
- NbO – Óxido de Níbio
- NbO₂ – Dióxido de niobio
- Nb-O-Nb – Ligações entre átomos de Níbio e Oxigênio
- PECVD – Deposição Química a Vapor Assistido por Plasma
- PECVD – Vapor Químico com Plasma Aprimorado (do inglês *Chemical enhanced by Plasma Vapor Deposition*)
- PMN – Células Polimorfonucleares

PMNs – Células polimorfonucleares

PVD – Deposição Física a Vapor (do inglês Physical Vapor Deposition)

SiC – Carbetto de Silício

Ti CP – Titânio Metal Comercialmente Puro

TiO₂ – Rutilo

UV-Vis – Ultravioleta-Visível

XPS – Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	TITÂNIO	18
2.1.1	Ligas de Titânio	23
2.1.2	Ligas (α)	23
2.1.3	Ligas Near- α	24
2.1.4	Ligas de Titânio (β)	24
2.1.5	Ligas Titânio ($\alpha+\beta$)	25
2.2	TÉCNICAS DE DEPOSIÇÃO DE FILMES FINOS	32
3	OBJETIVOS	37
3.1	OBJETIVO GERAL	37
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
4	MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1	Preparação das amostras	38
4.2	Produção de filmes finos de Nb ₂ O ₅ na superfície da liga Ti-6Al-4V via técnica PVD	39
4.3	Caracterização morfológica dos filmes finos de Nb ₂ O ₅ na superfície da liga Ti-6Al-4V via MEV/EDX e AFM	40
4.4	Caracterização estrutural dos filmes finos de Nb ₂ O ₅ depositados na superfície da liga Ti-6Al-4V via FTIR, Espectroscopia Raman e XPS	41
4.5	Viabilidade celular da linhagem celular VERO-CCL-81, leucócitos de sangue humano e produção de citocinas	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DA LIGA TI-6AL-4V REVESTIDA E NÃO REVESTIDA COM FILME DE NB ₂ O ₅	45
5.2	CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DA LIGA REVESTIDA COM FILME DE NB ₂ O ₅	48
5.3	ENSAIO DE MOLHABILIDADE	52
5.4	VIABILIDADE CELULAR E RESPOSTA IMUNOLÓGICA	55
6	CONCLUSÃO	59
	REFERÊNCIAS	60
	ANEXO A – Artigo Científico	72

1 INTRODUÇÃO

A busca por novas tecnologias com aplicações biomédicas tem sido intensa nos últimos anos. À medida que a ciência avança, novas estratégias e novos materiais são desenvolvidos em um nicho no qual a ciência dos materiais tem assumido um papel relevante no desenvolvimento de dispositivos capazes de atender demandas que vão desde medicamentos oculares, ortopédicos, cardiovasculares até a área ortodôntica. Considerando que esses materiais devem ter uma vida útil longa enquanto imersos em um ambiente corrosivo, como o ambiente fisiológico, precisamos nos concentrar em três pontos cruciais para selecionar bons candidatos para materiais funcionais: a resposta do hospedeiro induzida pelo material, à degradação do material em ambiente corporal e a resistência aos esforços biomecânicos aos quais estará sujeito (ELIAZ, 2007; BOMMALA; KRISHNA; RAO, 2019; NARITA; NIINOMI; NAKAI, 2014; DE ALMEIDA *et al.*; 2014; BALTATU *et al.*; 2019; ZHAN; CHEN, 2019; KAUR; GHADIRINEJAD; OSKOUEI, 2019).

Entre os materiais potencialmente funcionais estão metais e ligas, cerâmicas, polímeros e compósitos (ELIAZ, 2007; NARITA; NIINOMI; NAKAI, 2014; DE ALMEIDA *et al.*; 2014; BALTATU *et al.*; 2019). Uma maior ênfase vem sendo dada aos compostos metálicos, como por exemplo, ligas de cobalto (Co), aços inoxidáveis e ligas de titânio (Ti). Porém, as ligas de Ti têm se destacado por ser um material de maior biocompatibilidade em relação aos demais, uma vez que ligas à base de aço inoxidável e CoCr são mais propensas à corrosão por liberarem íons metálicos no ambiente fisiológico levando mais facilmente aos efeitos colaterais como inflamação e rejeição do dispositivo (BALTATU *et al.*; 2019).

As ligas de Ti foram inicialmente utilizadas para fins ortodônticos. Nesse campo, foi possível observar que este material é o único biomaterial metálico para integração óssea que possui comportamento bioativo. O pequeno aumento de óxido de titânio hidratado nas superfícies dos implantes de Ti resulta na incorporação de cálcio e fósforo por aumentar a qualidade e durabilidade desses dispositivos em condições fisiológicas (NEMATİ *et al.*, 2018; SONG *et al.*; 2018; SUN *et al.*, 2018; SHUKLA *et al.*; 2017; ÇELİK *et al.*; 2020).

A liga Ti-6Al-4V vem sendo usada em aplicações biomédicas (ZHANG *et al.*; 2020; WANG *et al.*; 2020; YAN *et al.*; 2020; LARIO *et al.*; 2019; ABE; POPOOLA, A. POPOOLA, P. I, 2020; PITYANA *et al.*; 2019). Essa liga apresenta vantagens em relação a outros materiais e baixa resistência ao desgaste, porém não é isenta ao processo de corrosão e possui baixa dureza (ELIAZ, 2007; BALTATU *et al.*; 2019; ZHAN; CHEN, 2019; KAUR; GHADIRINEJAD; OSKOUEI, 2019; ZHANG *et al.*; 2020; WANG *et al.*; 2020; YAN *et al.*; 2020; LARIO *et al.*; 2019; ABE; POPOOLA, A. POPOOLA, P. I, 2020; PITYANA *et al.*;

2019). Para contornar esses problemas e ampliar ainda mais o uso dessa liga, o tratamento dessas superfícies tem sido uma estratégia eficaz (NEMATI *et al*, 2018; WANG *et al*; 2020; BOENTORO; SZYSZKA, 2013; KAO; HSIEH, 2017; EURIDICE *et al*; 2020). Wang *et al*; 2020, preparam revestimentos cerâmicos bioativos na liga Ti-6Al-4V por oxidação de micro-arco como uma estratégia para aumentar a bioatividade da liga e sua incapacidade de formação óssea com ossos circundantes em vivo. Os resultados mostraram que a superfície funcionalizada apresenta excelente resistência ao processo de corrosão em solução contendo fosfato e cálcio. Eurídicie *et al*; 2020, mostraram que a deposição de filme de carbono tipo diamante (DLC) para recobrir a liga Ti-6Al-4V pela técnica de deposição química a vapor assistido por plasma (PECVD) promoveu a proteção da liga no ambiente fisiológico e melhorou a biocompatibilidade. Nemati *et al*; 2018, depositaram filmes finos de Ti_xNy em substratos de Ti-6Al-4V em uma atmosfera mista de Ar e N₂ via sputtering. Os autores obtiveram uma resistência à corrosão e biocompatibilidade superiores que podem abrir caminho para bio-revestimentos avançados com características multifacetadas. Inúmeros estudos seguem essa linha e apresentam diversos tratamentos de superfície por diferentes metodologias que mostram resultados interessantes quanto à biocompatibilidade. Porém, é ainda mais interessante encontrar alternativas que, além de eficientes, sejam ecologicamente corretas e que possibilitem o enriquecimento das economias locais. Neste cenário, destacamos o Nióbio (Nb) que é um composto metálico muito abundante no Brasil. O Brasil detém cerca de 90% da produção mundial desta matéria, possuindo as maiores reservas mundiais de Nb (98,53%), seguido do Canadá (1,01%) e da Austrália (0,46%) (ALVES; COUTINHO, 2015; SCHULZ *et al*; 2018). A região do Triângulo Mineiro possui a maior reserva de Nb localizada na microrregião de Araxá, no estado de Minas Gerais, compreendendo 75,08% das reservas brasileiras (SCHULZ *et al*; 2018). Curiosamente, as ligas de Nb apresentam módulo de elasticidade notavelmente baixo, excelente resistência à corrosão e presença de uma fase β metaestável quando dissolvida na estrutura de Ti que pode criar uma camada passiva quando exposta a um meio corrosivo (PITYANA *et al*; 2019; OLDANI; DOMINGUEZ, 2012; KUPHASUK *et al*; 2001; LEE; JU; CHERN LIN, 2002). Por ser um metal de transição, o Nb pode formar óxidos que compõem uma categoria de materiais amplamente explorada por apresentarem alto índice de refração e grandes constantes dielétricas. Possui ampla aplicação tecnológica como em janelas óticas inteligentes, monitores e dispositivos eletrocromicos (USHA *et al*; 2015). Apesar disso, as propriedades elétricas dos óxidos à base de nióbio (Nb_xO_y) diferem de acordo com sua estequiometria. Em relação à sua estrutura de bandas, o NbO apresenta um comportamento condutor, enquanto o NbO₂ é um semicondutor e o Nb₂O₅

um isolante. Dentre eles, o Nb_2O_5 se destaca por ser o mais estável termodinamicamente e, além disso, apresentar excelente estabilidade química e resistência a condições ácidas e alcalinas (USHA *et al*; 2015; LEE *et al*; 2017).

Filmes finos de Nb_2O_5 foram caracterizados via DRX, FTIR e espectroscopia Raman (Orel *et al*; 1998). As propriedades eletrocromicas de filmes amorfos e filmes com a fase TT foram determinadas a partir da técnica de ultravioleta-visível (UV-Vis) in situ e correlacionadas com espectros de transmissão IR ex-situ. Foi demonstrado que a carga do filme amorfo foi acompanhada por variações da intensidade do modo de estiramento Nb-O, enquanto a divisão dos modos de estiramento Nb₃-O e o aparecimento de absorção de polaron foram observados com a inserção de íons Li^+ para as fases TT e T filmes que são propriedades relevantes para o desenvolvimento de materiais inteligentes. Filmes finos de Nb_2O_5 também foram obtidos por pulverização catódica, tornando-se uma estratégia que melhorou a resistência à corrosão e a resposta biológica dos substratos (MAZUR *et al*; 2015; RAMÍREZ *et al*; 2011). A literatura também mostra que existem tendências gerais entre as condições de deposição do filme fino de Nb_2O_5 e as propriedades físico-químicas, o que incentiva estudos sobre a biocompatibilidade resultante com o uso de óxidos de nióbio (MAZUR *et al*; 2015; RAMÍREZ *et al*; 2011; VENKATARAJ *et al*; 2001; CHAI *et al*; 2010; SCOTCHFORD *et al*; 2003; DINU *et al*; 2020; PAULINE; RAJENDRAN, 2014; PRADHAN *et al*; 2016).

Neste trabalho, filmes finos de Nb_2O_5 foram depositados na superfície da liga Ti-6Al-4V, utilizando a técnica de pulverização catódica reativa, para obtenção de material funcional. A escolha do método de deposição foi devido ser um método ambientalmente amigável para produzir revestimentos com excelente adesão, camadas homogêneas, estruturas projetadas, propriedades graduadas e morfologia controlada (FOTOVVATI; NAMDARI; DEGHANGHADIKOLAEI, 2019; BAPTISTA *et al*; 2018). Além disso, o equipamento requer baixa manutenção e possui flexibilidade no uso de qualquer material orgânico e inorgânico como camada de deposição, enquanto a camada de revestimento oferece alta dureza e resistência à corrosão (FOTOVVATI; NAMDARI; DEGHANGHADIKOLAEI, 2019; BAPTISTA *et al*; 2018; MATTOX, 2010). Os filmes produzidos foram caracterizados morfológica e estruturalmente por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia de força atômica (AFM), espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDX), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia Raman, espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS), difração de raios-X (DRX) e medições de ângulo de contato. Após a caracterização detalhada da liga revestida e não revestida, foram realizados também testes de citotoxicidade e biocompatibilidade (linhagem

celular VERO-CCL-81), bem como análises de respostas inflamatórias com leucócitos de sangue humano. Nesse sentido, foi possível explorar os abundantes recursos naturais de nossa região por meio de uma metodologia limpa para o desenvolvimento de um novo material que poderá ser utilizado no futuro para fins biomédicos. Este estudo permitirá o desenvolvimento de trabalhos futuros, considerando a influência da película fina de Nb_2O_5 nos processos de corrosão global e localizada, mecanismos de desgaste e uma promissora biocompatibilidade do hospedeiro.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TITÂNIO

O Titânio é um metal representado pelo símbolo Ti, possui número atômico 22 e massa atômica 47,9 u. Tem como principais características a cor branca-metalizada, leveza e resistência ao processo de corrosão (BAPTISTA; MORILA, 2013). É encontrado em diversas fontes minerais, como a ilmenita, o rutilo e a perovskita (MORAES; SEE, 2018). A Figura 1 (a) representa o mineral Ilmenita, a figura 1 (b) o Rutilo e a (c) a Perovskita.

Figura 1 - Principais fontes minerais de Ti. Figura (a) Ilmenita, (b) Rutilo e (c) Perovskita.



(a)



(b)



(c)

Fonte: Figura (a) Baum, 2018. Figura (b) Géry, 2008, apud Moraes; Seer, 2018. Figura (c) Nesh, 2010.

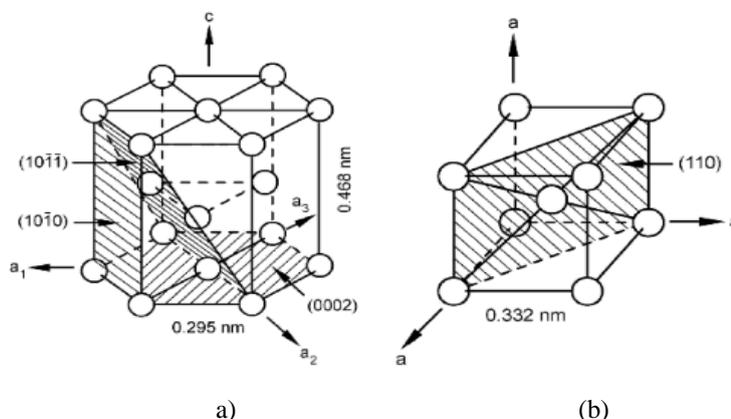
As minas de Ti estão localizadas mundialmente, em países como Rússia, Kazaquistão e Japão, que correspondem cerca de 75% da produção global (LNEC, 2007). Na crosta terrestre o Ti ocupa a nona posição como elemento em grande proporção, ocorrendo na sua forma natural combinado com oxigênio e ferro (BALTAR; SAMPAIO; ANDRADE, 2005).

Dentre os minerais de Ti a ilmenita (FeTiO_3) é o mais abundantemente. Na sua composição possui cerca 53% de TiO_2 e 47% de Fe, podendo conter pequenas quantidades de magnésio, manganês e até 6% em peso de Fe_2O_3 . Em relação à dureza, a ilmenita possui entre 5,0 e 6,0 e massa específica entre 4,10 e 4,80 g/cm^3 (NETO; ALMEIDA, 2012). Em torno de 91% da produção global de Ti é vinda da ilmenita, enquanto o restante vem do mineral rutilo (TiO_2) (NETO, 2011).

O rutilo (TiO_2) tem um elevado teor de Ti e encontra-se em escassez (NETO, 2011). Esse mineral tem dureza entre 6,00 a 6,50 e possui massa específica 4,18 a 4,25 g/cm^3 . A sua composição é basicamente de TiO_2 e pode conter até 10% de impurezas. (NETO; ALMEIDA, 2012). O mineral perovskita (CaTiO_3) é encontrado em rochas metamórficas. É um mineral considerado isométrico, contém cerca 38 a 58% de TiO_2 e massa específica 4,01 g/cm^3 (NETO; ALMEIDA, 2012). A sua densidade específica esta entre 3,98 a 4,84 g/cm^3 e dureza 5,5 (MORAES; SEER, 2018).

O Ti é um elemento considerado alotrópico, ou seja, apresenta mais de uma estrutura cristalográfica. Têm duas estruturas cristalinas, uma que na temperatura ambiente é hexagonal compacta (HC) e superior a 883 °C a cúbica de corpo centrado (CCC) (RIBEIRO, 2014; DONACHIE, 2000). A Figura 2 (a) apresenta a estrutura HC e a Figura 2 (b) a estrutura CCC.

Figura 2 - Representação das estruturas cristalinas do titânio, (a) hexagonal compacta, fase α e (b) cúbica de corpo centrado, fase β .



Fonte: Lütjering; Williams, 2003.

O Ti possui baixa densidade ($4,5 \text{ g/cm}^3$), elevado ponto de fusão ($1668 \text{ }^\circ\text{C}$) e módulo de elasticidade de 107 GPa ($15,5 \times 10^6 \text{ Psi}$) (CALLISTER Jr; 2000), quase metade do cromo-cobalto ou aço inoxidável (PRUITT; CHAKRAVARTULA, 2011). O módulo de Young de monocristais de Ti varia entre 145 GPa para uma carga vertical ao plano basal e 100 GPa paralelo a este plano (LEYENS; PETERS, 2003).

Em relação à valência eletrônica, o Ti pode ser bi, tri ou tetravalente, ou seja, podem ser expressos da seguinte maneira, Ti^{+2} , Ti^{+3} e Ti^{+4} . Mesmo sendo encontrado na forma de dióxido de titânio (TiO_2), o Ti tem alta afinidade com o oxigênio (O_2), com o qual reage em condições normais de temperatura e pressão formando vários óxidos com diferentes composições estequiométricas desde TiO até Ti_7O_{12} (MACÊDO, 2008).

O Ti apresenta excelente biocompatibilidade, alta relação de resistência/peso e ótimas propriedades em aplicações em elevadas temperaturas (FERREIRA, 2015). Quanto ao grau de pureza é caracterizado pela presença de elementos intersticiais, estes modificam as propriedades físicas do Ti. Os elementos intersticiais de adição ao Ti são: C, H, O e N. Ele pode ser classificado em grau 1, 2, 3 e 4, de acordo com o teor dos elementos presentes (PINTO, 2005). A Tabela 1 apresenta a composição química do Ti (CP).

Tabela 1 - Composição química do Ti (CP).

Elemento (%)	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
N	0.03	0.03	0.05	0.03
H	0.10	0.10	0.10	0.10
C	0.015	0.015	0.015	0.015
Fe	0.20	0.30	0.30	0.50
O	0.18	0.25	0.35	0.40
Ti	99.475	99.355	99.185	98.935

Fonte: ASTM, 2000.

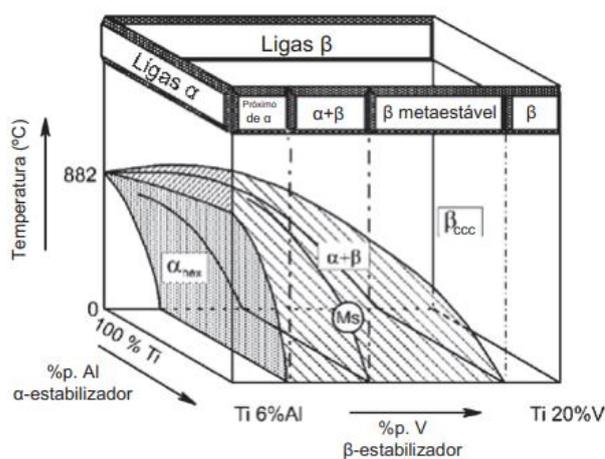
Dentre os diferentes graus apresentados na Tabela 1, o grau 1 tem o nível de resistência baixo e excelente formabilidade a frio, sendo usado em aplicações de repuxo profundo, como em ligas de revestimentos para reatores de aço, revestimentos de explosivos e materiais que necessitem de maior resistência à corrosão. O grau 2 tem níveis menores de resistência à tração entre 390 e 540 MPa . O grau 3, é moderadamente formável a frio, muito usado em vasos de pressão em grau superior de resistência. O grau 4 possui resistência da ordem de 740 MPa e é utilizado em montagens, acessórios e indústria aeroespacial (LEYENS; PETERS, 2003). Assim, as classes de alta pureza tem baixa resistência mecânica,

pois têm menor teor de elementos intersticiais (PINTO, 2005).

Quando os elementos de liga são inseridos no Ti ocorrem modificações mecânicas, químicas e físicas nas suas propriedades. Isso altera a temperatura β -transus e também a(s) fase(s) presentes à temperatura ambiente (LIMA; MELLO; CARAM, 2002). O seu coeficiente de expansão térmica quando comparado com o aço é menor e corresponde a cerca de 64 % da condutividade térmica e com o alumínio é menos da metade, cerca de 39 % (DONACHIE, 2000; VALE, 2017). O ponto de fusão do Ti (CP) e suas ligas é maior quando comparado aos aços, porém as temperaturas máximas úteis em aplicações estruturais dependem da composição e ficam em torno de 427 °C (800 °F) e próximas de 538 °C a 595 °C (1000 °F a 1100 °F) (DONACHIE, 2000). Ele é facilmente combinado com outros elementos, como, nitrogênio e oxigênio, que dissolvem no metal líquido ou sólido acima de cerca 400 °C, ocasionando a perda da sua ductilidade. Possui limitada solubilidade, contudo tem uma forte tendência a se combinar e formar compostos intermetálicos frágeis (BRAGA; FERREIRA; CAIRO, 2007).

As ligas de Ti podem ser divididas quanto à microestrutura em: α , near- α , β e $\alpha+\beta$ (DONACHIE, 2000) e ainda em duas subdivisões as próximas de α e β -metaestável. (SILVA, 2014). Essas classes de ligas têm características distintas de propriedades físicas, mecânicas, químicas e etc (LIMA; MELLO; CARAM, 2002). A Figura 3 apresenta um diagrama tradicional da classificação das ligas de Ti.

Figura 3 - Diagrama tridimensional esquematizando os tipos de ligas de Ti.



Fonte: Leyens; Peters, 2003 apud Silva, 2014.

As ligas de Ti são muito resistentes e facilmente forjadas e usinadas. É possível obter limites de resistência à tração em temperatura ambiente tão elevados quanto 1400 MPa (200.000 Psi), produzindo excelente resistência específica. Também, as ligas de Ti têm uma capacidade de adesão porque são quimicamente ativas e dúcteis (DONG; BELL, 2000).

A classificação dos elementos da liga de Ti é baseada na sua influência da temperatura de transição. Quando a temperatura *transus* se eleva, devido à adição de determinados elementos, esses são denominados de estabilizadores α como alumínio, oxigênio e nitrogênio. Já quando a temperatura *transus* diminui por alguns elementos esses são chamados estabilizadores β como vanádio, molibdênio e nióbio. Outros elementos como estanho e zinco tem pouco ou nenhum efeito na temperatura *transus*, são chamados elementos neutros (SOUNDARARAJAN *et al*; 2018).

Devido às propriedades como leveza e elevada resistência mecânica, o Ti é usado na indústria em vários materiais de consumo, na arquitetura, acessórios domésticos como pratos, facas, bicicletas, produtos esportivos, computadores, área médica e entre outros fins (BRAGA; FERREIRA, CAIRO, 2007). Também, apresenta uma alta relação de resistência e peso que seus concorrentes e oferece alta biocompatibilidade. Uma série de propriedades mecânicas, desde a liga de Ti comercial pura de elevada ductilidade até as ligas com tratamento termicos com limite de resistência maior que 900 Mpa (AZEVEDO, 2003).

A indústria aeroespacial é um dos principais setores que utiliza o Ti e suas ligas, sendo que 36% são usados em motores e 7% como material de fuselagem. A utilização do Ti na indústria automobilística teve início na década de 80 em carros de corrida de F-1 em peças de motores. O Ti e suas ligas são utilizados em válvulas, bielas, retentores e em diversos materias, por apresentarem como principal vantagem a economia de peso (VEIGA; DAVIM; LOUREIRO, 2012). É usado em hastes de quadril ortopédicas devido ao sua excelente resistência à fadiga e sua capacidade de minimizar a proteção contra estresse e perda óssea ao redor do implante (PRUITT; CHAKRAVARTULA, 2011). Também, aplicado em válvulas cardíacas, estojos de proteção em marcapassos e implantes dentários, por ser inerte e não magnético (LIU; CHU; DING, 2004).

Entretanto, uma das principais limitações do Ti é a sua alta reatividade química com outros materiais em temperaturas elevadas. (CALLISTER Jr, 2002). Essa alta reatividade causa uma rápida mudança na camada superficial de óxido na superfície, podendo provocar uma remoção durante o deslizamento da superfície de contato (FELLAH, *et al*; 2014). Em virtude dessa propriedade, houve a necessidade do desenvolvimento de técnicas não convencionais de beneficiamento, fusão e fundição, o que acaba tornando o custo

relativamente alto (CALLISTER Jr, 2002). Além disso, as concentrações de oxigênio prejudicam o rendimento e a sua resistência à fadiga, por exemplo, 0,18% de oxigênio (grau 1) possui um limite de escoamento de aproximadamente 170 MPa, enquanto que 0,40% (grau 4) apresenta um valor de aproximadamente 485 MPa (RATTIER *et al*; 1997).

Em relação ao limite de fadiga, quando 0,085% em peso de oxigênio (ligeiramente mais puro do que o grau 1), o limite de fadiga (107 ciclos) é de cerca de 88,2 MPa, enquanto que 0,27% em peso de oxigênio (ligeiramente mais puro do que o grau 2, o limite de fadiga (107 ciclos) é de cerca de 216 MPa (RATTIER *et al*; 1997). Outra preocupação, é a degradação dos implantes no organismo, em razão da integridade estrutural do dispositivo e a resposta sistêmica *in vivo*. Assim, a perda do material na forma de resíduos de corrosão pode ocasionar uma resposta inflamatória crônica e falha prematura do dispositivo implantado (PRUITT; CHAKRAVARTULA, 2011).

2.1.1 Ligas de Titânio

2.1.2 Ligas (α)

As ligas α tem uma estrutura cristalina hexagonal compacta (HC), com dois átomos nas posições (0, 0, 0) e (1/3, 1/3, -2/3, 1/3) (ZHENG, 2013). São formadas pelo Ti (CP) e ligas, que contém elementos estabilizadores- α , apresentando apenas a fase α à temperatura ambiente (MORCELLI, 2009). Possuem grandes concentrações de estabilizadores α e baixas concentrações de estabilizadores β (DONACHIE Jr, 2000). Desse modo, a presença de elementos estabilizadores da fase α , causam a elevação das linhas de transformação $\alpha/\alpha+\beta$ e $\alpha+\beta/\beta$ (MELLO, 2004).

Essas ligas têm propriedades interessantes como razoável nível de resistência mecânica, boa tenacidade à fratura, elevado módulo de elasticidade (MORCELLI, 2009), excelente resistência ao processo de corrosão, elevada fluência, boa soldabilidade (OLIVEIRA, 2007; ZHANG; CHEN, 2019).

Contudo, as ligas α geralmente tem baixa forjabilidade (BALAZIC *et al.*, 2007). Esta baixa forjabilidade é manifestada por uma maior tendência para o centro de quebras ou rachaduras superficiais (DONACHIE Jr, 2000). Desse modo, as propriedades mecânicas dessas ligas faz com que elas tenham o uso em implantes restrito a aplicações que envolvam estresse mecânico moderado, como em implantes dentários. (OLIVEIRA *et al*; 1998). Em temperaturas criogênicas a ductilidade e tenacidade dessas ligas são comprometidas. Além disso, não podem ser tratadas termicamente para desenvolver propriedades mecânicas superiores, pois são ligas consideradas monofásicas. (DONACHIE Jr, 2000).

2.1.3 Ligas Near- α

As ligas near- α possuem bom desempenho em elevadas temperaturas. Tem propriedades que combinam resistência à fluência das ligas α com a resistência mecânica das ligas $\alpha+\beta$ (PETERS; LEYENS, 2003) e apresentam de 5% a 10% de fase β na temperatura ambiente (CREMASCO, 2012).

Além disso, contém elementos estabilizadores da fase α , porém, possuem baixos teores de elementos estabilizadores da fase β . A presença de elementos estabilizadores da fase β , mesmo em pequenas concentrações, faz com que o campo $\alpha+\beta$ aumente o suficiente para permitir que uma pequena quantidade de fase β , em equilíbrio metaestável, possa ficar retida em temperatura ambiente. Assim, ocorre a transformação martensítica da fase β em α' (martensita de estrutura hc) dentro de uma faixa muito limitada, obtida através das altas taxas de resfriamento, a partir do campo $\alpha+\beta$ (MELLO, 2004).

Uma das ligas near- α mais conhecidas é a $Ti_8Al_{11}Mo_1V$. Essa liga tem um módulo elevado e baixa densidade comparada com Ti (CP). Outra liga é a $Ti_6Al_2Sn_4Zr_2Mo_{0.08}Si$, considerada uma das mais resistentes ao processo de fluência e possui uma excelente combinação de tração, dureza e estabilidade para aplicações de longo prazo em altas temperaturas (425 °C) (800 °F) (DONACHIE Jr, 2000). Essas ligas são usadas em aplicações de motores de turbina a gás (LEYENS; PETERS, 2003).

2.1.4 Ligas de Titânio (β)

As ligas β possuem estrutura cúbica de corpo centrado (CCC), acima da temperatura de 882,3 °C (LI *et al*; 2014) com dois átomos nas posições (0, 0, 0) e (1/2, 1/2, 1/2) na célula unitária (ZHENG, 2013). Essas ligas possuem concentrações suficientes de β -estabilizadores para manter a fase β em temperatura ambiente, quando realizados os tratamentos térmicos apropriados (LIMA; MELLO; CARAM, 2002). O teor de estabilizador é suficiente para suprimir a transformação martensítica, ou seja, 100% da fase β é retida (LEYENS; PETERS, 2003).

Essas ligas são metaestáveis (DONACHIE Jr, 2000), são tratáveis termicamente, podendo ser aquecidas em temperaturas entre 450 e 650 °C, com intuito de aumentar sua resistência mecânica (ZHANG; CHEN, 2019). O seu módulo elástico é menor em comparação com outras ligas de Ti. O módulo de elasticidade da fase β do (CCC) é menor do que o da fase α do (HC) (LI *et al*; 2004), o que favorece a redução do efeito de proteção contra estresse (ZHANG; CHEN, 2019).

Dentre as vantagens, as ligas β possuem uma maior resistência à corrosão quando

comparadas ao metal puro, são mais densas que o Ti (LNEC, 2007) e apresenta melhor conformabilidade e ductilidade entre as ligas à base de Ti (LI *et al*; 2004). As ligas β possuem boa resistência à fadiga em baixas temperaturas, boa maleabilidade, (JESUINO *et al*; 2001), alta ductilidade, formabilidade e baixo módulo quando comparadas as ligas de Ti α ou $\alpha + \beta$ (LI *et al*; 2014; LEYENS; PETERS, 2003; DONACHIE Jr, 2000).

Diante das propriedades apresentadas anteriormente, as aplicações das ligas β são diversificadas, tais como: indústria aeroespacial, motores, materiais esportivos, implantes ortopédicos, dentários entre outras (LIMA; MELLO; CARAM, 2002; DONACHIE Jr, 2000). São consideradas muito promissoras em implantes, por conterem elementos como Nb, Zr e Ta. Esses elementos em composições corretas originam ligas com baixo módulo de elasticidade, boa resistência mecânica, alta biocompatibilidade e boa resistência ao processo de corrosão (LIMA; MELLO; CARAM, 2002). Dentre as desvantagens pode-se citar: instabilidades microestruturais, alto custo de formulação (LEYENS; PETERS, 2003), grande vulnerabilidade à contaminação da atmosfera e crescimento dos limites de fratura (JESUINO *et al*; 2001), alta densidade comparada com as outras classes de ligas de Ti (KOLLI; DEVARAJ, 2018) e baixa resistência a fluência. Sendo assim, são bastante frágeis, não são indicadas para aplicações em temperaturas elevadas e temperaturas criogênicas. (CALLISTER, 2002). As principais ligas deste grupo são: Ti-15Mo-3Cr-3Al-3Sn, Ti-3Al-8V-6Cr-4Mo-4Zr, Ti-5Al-5Mo-5V-3Cr, Ti-35V-15C, utilizadas em aplicações de aeronaves e as ligas Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr, Ti-13Nb-13Zr em implantes ortopédicos (DONACHIE Jr, 2000).

2.1.5 Ligas Titânio ($\alpha+\beta$)

As ligas do tipo $\alpha+\beta$ possuem estabilizador β que retém cerca de 10 a 30% de fase β (PETERS; LEYENS, 2003). São termicamente tratáveis (SCHAEFFER, 2006) e quando realizado de maneira correta, apresentam uma excelente combinação de tração e ductilidade (DONACHIE Jr, 2000, GEETHA, *et al*; 2009), elevada resistência à fadiga, módulo de elasticidade e resistência à corrosão (RIBEIRO, 2014). O principal estabilizador α é o alumínio e os estabilizadores β são o vanádio e molibdênio (DONACHIE Jr, 2000). A adição desses elementos proporciona a obtenção de uma faixa de temperatura nas quais as duas fases (α e β) coexistem em equilíbrio termodinâmico (OLIVEIRA, 2007). Através da inserção de baixas concentrações do alumínio e vanádio, ocorre o aumento da performance mecânica e por isso é uma das ligas mais utilizadas em implantes odontológicos (MISHNAEVSKY *et al.*, 2014). Além da composição, os tratamentos térmicos das ligas do tipo $\alpha+\beta$ permitem obter uma ampla variação microestrutural, que pode repercutir em suas propriedades (OLIVEIRA,

2007).

A liga Ti-6Al-4V é a mais conhecida desta classe, apresentando uma estrutura cristalina HC e CCC. É utilizada principalmente em indústrias aeroespaciais e implantes médicos. A liga Ti-6Al-4V possui na sua composição uma porcentagem em peso de aproximadamente 6% de Al e 4% de V (DONACHIE Jr, 2000) e dentre às propriedades destaca-se a ótima resistência mecânica e corrosiva (DONACHIE Jr, 2000), tenacidade, conformabilidade e usinabilidade (JESUINO *et al*; 2001; DONACHIE Jr, 2000). Todavia, a liga Ti-6Al-4V é composta de elementos citotóxicos como Al e V, que podem causar graves problemas ao organismo quando liberados no formato de íons (LI *et al*; 2014), causando reações alérgicas, (SOUZA *et al*, 2015; HOSOKI, *et al.*, 2016; KIM, *et al*; 2019), Alzheimer e Parkinson (TONG *et al*; 2011).

Nos últimos anos, inúmeras pesquisas foram realizadas para superar esses problemas (DANIŞMAN, ODABAS, TEBER, 2018; LIMA *et al*; 2018; LONGHITANO *et al*; 2019; GHOSH *et al*; 2019; WANG *et al*; 2020; COMINOTE, 2020). Uma das maneiras é através da deposição de filmes finos, utilizada para modificar a superfície de materiais, com intuito de melhorar as propriedades físicas, químicas e biológicas para diferentes aplicações.

Mazur *et al*; 2015, avaliaram as propriedades estruturais, mecânicas e corrosivas de filmes finos de Nb₂O₅ e Nb₂O₅: Cu depositados na superfície da liga Ti-6Al-4V usando o processo de pulverização catódica. Os resultados demonstraram que os filmes finos de Nb₂O₅ e Nb₂O₅:Cu melhoraram as propriedades mecânicas e de corrosão da superfície da liga Ti-6Al-4V.

Danisman *et al*; 2018, depositaram três revestimentos diferentes de TiN, TiAlN e TiCN sobre a liga Ti-6Al-4V, usando o método de pulverização catódica de magnetron. Os resultados demonstraram taxas de desgaste menores entre 0.610 mm/ 1.508 mm para a liga revestida com TiN e 3.360 mm/4.525 mm para a liga Ti-6Al-4V sem o filmes.

Datta *et al*; 2018, estudaram revestimentos de TiN depositados por arco catódico na liga Ti-6Al-4V e avaliaram as propriedades tribológicas e biológicas dos revestimentos. Os resultados mostraram que os revestimentos exibiram alta dureza de $33,4 \pm 10$ GPa e módulo de Young de $458,4 \pm 79$ GPa. A resistência à corrosão *in vitro* aumentou devido à natureza hidrofílica dos revestimentos que permitiram a adsorção de proteínas levando à passivação da superfície. Os estudos de biocompatibilidade *in vitro* realizados usando linha celular de fibroblastos embrionários de camundongo (NIH3T3) demonstraram que os revestimentos TiN não são tóxicos e exibem excelentes interações células-materiais.

Marzban *et al*; 2019, avaliaram a arquermanita nanoestruturada (Ca₂MgSi₂O₇)

depositada pelo método sol-gel, como revestimento da liga Ti-6Al-4V. Foram utilizados métodos (MEV), (TEM) (AFM) , (DRX) e (EDX). Os testes *in vitro* foram realizados para avaliar a morfologia celular aderida e a proliferação nas amostras revestidas. Os resultados de (MEV) indicaram uma estrutura de revestimento uniforme, sem rachaduras, boa adesão e ancoragem das células aos revestimentos de superfície. A análise de (AFM) das superfícies revestidas e não revestidas, mostraram uma rugosidade de superfície significativamente maior para as amostras revestidas em comparação com o material bruto (r_ádio = 1,5 μm vs 0,1 μm). Nos testes de citocompatibilidade *in vitro* as amostras revestidas e não revestidas foram incubadas em meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) e suplementadas com 10% de soro fetal bovino antes da semeadura das células. A cultura foi mantida a 37 °C em atmosfera umidificada de 95% de ar e 5% de CO₂, um total de 5 × 10⁴ células. Os autores concluíram que a topografia desordenada afetou a morfologia das células osteoblásticas e a superfície hierárquica teve efeitos positivos na atividade celular como relatado em outros estudos. Os testes de caracterização confirmaram a eficiência do método de síntese e a biocompatibilidade *in vitro* do revestimento sintetizado, indicando sua adequação para uso em implantes ósseos.

Lario *et al*; 2019, investigaram o efeito de diferentes superfícies de TiO₂ e nanotubos na liga Ti-6Al-4V ELI e a resistência ao processo de corrosão por diferentes técnicas eletroquímicas. O comportamento eletroquímico das ligas de titânio não tratadas (camada de óxido nativo) e modificadas na superfície (nanotubular e anodizada) foi investigado usando uma célula de três eletrodos padrão: as amostras de titânio como eletrodo de trabalho (0,78 cm²), uma folha de Pt como contra-eletrodo e um Ag /AgCl (3M KCl) como eletrodo de referência. As amostras de titânio foram imersas em solução de NaCl 1 M por 1 h para estabilizar o OCP a um potencial de estado estacionário (E_{OCP}). A Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS) foi realizada no OCP estabilizado. A amplitude do potencial senoidal alternado aplicado foi de ± 10 mV no E_{OCP} dentro da faixa de frequência entre 5 mHz a 100 kHz. Os resultados relataram que o tratamento de oxidação anódica criou uma topografia nanotubular que aumentou a área e alterou a composição química da superfície. A resistência à corrosão eletroquímica diminuiu nos tubos de TiO₂ como formados em comparação com a camada de óxido nativo, devido à maior área de superfície e estrutura de cristal amorfo do filme passivo.

Yang *et al*; 2019, depositaram nanofilmes de tântalo de diferentes espessuras sobre substrato de Ti via técnica magnetron sputtering. Foi analisado o potencial dos nanofilmes para translação clínicas como materiais antimicrobianos usando modelos *in vivo* e *ex vivo*. As

células utilizadas foram macrófagos (RAW 264.7) e preosteoblastos (MC3T3-E1) e as bactérias foram a *Staphylococcus aureus* Gram-positivo (*S.aureus*, ST1792) e *Escherichia coli* Gram-negativa (*E. coli*, ST1). Os resultados mostraram que os nanofilmes de Ta possuem excelente biocompatibilidade e atividade antibacteriana *in vivo* mediada pelo aumento imunidade inata local.

Em outro estudo, Pityana *et al*; 2019, investigou Nb e uma mistura de Nb e Ti como revestimentos de superfície sobre substrato da liga Ti-6Al-4V, depositados pela técnica de deposição a laser. Foram analisadas a polarização e impedância eletroquímica qualitativa, medições de espectroscopia nas superfícies revestidas em 50 ml de solução de Hanks à temperatura ambiente 25 ° C, consistindo em uma célula de três eletrodos: um eletrodo de calomelano saturado (Hg / Hg 2 Cl 2) em KCl saturado como o eletrodo de referência e platina como contra-eletrodo. As amostras foram colocadas em uma célula de vidro e uma área de amostra de aproximadamente 1,1 cm² foi exposto ao eletrólito. As curvas de polarização indicaram que os revestimentos Nb foram mais resistentes ao processo de corrosão na solução quando comparados com o substrato Ti-6Al-4V ou o revestimento Ti-Nb. O potencial de corrosão (E_{corr}) do revestimento Ti-Nb foi ligeiramente inferior ao do substrato, enquanto o revestimento Nb teve maior (E_{corr}) 0,709 V que o Ti-Nb.

Ankha *et al*; 2019, avaliaram o efeito de filmes de DLC e DLC-Ag depositados pela técnica (PECVD) na superfície da liga Ti-6Al-4V. Os resultados mostraram que os filmes de DLC e DLC-Ag tiveram vantagem do isolamento elétrico e poderiam controlar a atividade bacteriana, corrosão e melhorar a osseointegração *in vivo*.

Çelik *et al*; 2020, produziram revestimentos de TiO₂ dopados com B em diferentes razões molares B: Ti sobre a liga Ti-6Al-4V, utilizando o método de imersão de sol-gel. Os filmes dopados de TiO₂ foram avaliados por difração de raios-X (DRX), microscopia eletrônica varredura (MEV), testador de microdureza, tensão superficialmedidor e perfilômetro 3D. Posteriormente, o atrito/desgaste, propriedades químicas e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) dos filmes foram investigadas. Os resultados mostraram uma maior rugosidade, obtida a partir da razão molar B:Ti de 2:1 filme fino de TiO₂. As amostras não tratadas mostraram comportamento hidrofílico, enquanto as amostras revestidas com TiO₂ não dopadas com B exibiram comportamento hidrofóbico. Já todas as amostras de TiO₂ dopadas com B, mostraram comportamento hidrofílico. Em relação à dureza, os revestimentos de TiO₂ e TiO₂ dopado com B exibiram maiores valores de dureza do que a liga Ti-6Al-4V não revestida. O valor mais alto foi encontrado na amostra dopada com B com uma razão molar de 2: 1. Além disso, uma nova estrutura cerâmica B₂O₃ se constitui em amostras

dopadas e isso também contribuiu para o aumento de dureza.

Eurídice *et al*; 2020, depositaram filmes de a-C: H produzidos pela técnica (PECVD) sobre substrato da liga Ti-6Al-4V. Os filmes de aC: H foram caracterizados por (MO), MEV, AFM, EDX, espectroscopia de infravermelho (FTIR), Raman e XPS. Em seguida, foram realizados testes de biocompatibilidade e citotoxicidade em células osteoblásticas e em células mononucleares do sangue periférico humano (PBMCs) na liga Ti-6Al-4V sem o filme e com o filme a-C: H. revestido. Também, foram realizados testes de polarização potenciodinâmica e espectroscopia de impedância eletroquímica. Os resultados de viabilidade celular indicaram que em nenhuma das amostras tiveram citotoxicidade às células osteoblásticas. A apoptose total de células osteoblásticas ou PBMCs mostraram que somente as células cultivadas na liga sem o filme de aC: H mostraram indução significativa do processo apoptótico. Os resultados da análise individual de linfócitos T auxiliar (TCD4+) e citotóxico T (TCD8+) indicaram que a liga Ti-6Al-4V sem a-C: H induziu apoptose total e apoptose inicial em Linfócitos T CD8 +. Também, a liga Ti-6Al-4V sem o filme a-C: H induziu apoptose tardia para os linfócitos CD8 + e CD4 +. Quanto a resposta imunológica, a produção de citocinas IL-2 e IL5 não foi alterada em nenhuma das condições testadas. As citocinas IL-4 e IL-6 não foram detectadas no sobrenadante da cultura de nenhum dos grupos estudados. As amostras contendo o filmes a-C: H demonstraram um potencial de corrosão ($E_i=0$) deslocado para valores menos negativos, evidenciando melhor resistência ao processo de corrosão. Os resultados de impedância eletroquímica revelaram módulos de impedância mais elevados para a amostra contendo o filme. Esses resultados confirmaram que os revestimentos de a-C: H na superfície da liga Ti-6Al-4V serviram como proteção contra o processo de corrosão na liga.

Milan *et al*; 2020, investigaram filmes finos multifuncionais de Cu/aC:H depositados na liga Ti-6Al-4V via técnica magnetron *sputtering* para aplicações em implantes ósseos. Foram analisados o efeito do teor de cobre e da razão sp^2/sp^3 nos comportamentos tribológicos, microestruturais, mecânicos, anticorrosivos e biocompatibilidade. Os resultados indicaram que à medida que o conteúdo de cobre aumentou, menor tensão interna permaneceu nos revestimentos bem como a razão sp^2 / sp^3 . Os resultados do teste de espectroscopia de impedância eletroquímica demonstraram uma melhora significativa da resistência à corrosão da liga Ti-6Al-4V por deposição do filme finos de Cu/aC: H. As amostras revestidas inibiram o crescimento de bactérias em comparação com a amostra não revestida ($p<0,05$). Os autores relataram que a composição do revestimento pode estimular a angiogênese, a osteogênese e controlar a resposta do hospedeiro, aumentando assim a taxa de sucesso dos implantes.

Liao *et al*; 2020, analisaram a biocompatibilidade *in vitro* e *in vivo* de revestimentos

de TiN depositado pela técnica de magnetron *sputtering* sobre a liga Ti-6Al-4V. A investigação *in vitro* mostrou que a viabilidade celular é significativamente melhorada para TiN com BMP2 na superfície. Quando BMP2 foi revestido com TiN sem filmes depositado, a proliferação de células MG63 diminuiu com o tempo. No entanto, com o pré-tratamento de superfície de TiN usando plasma de O₂ e enxerto de AAm, TiN revestido com BMP2 exibiu um aumento da proliferação de células MG63 com o tempo. Da mesma forma, *in vivo* a investigação mostrou que essa amostra aumentou a capacidade de cicatrização de feridas, aumentou significativo dos pesos corporais, diminuiu citocinas pró-inflamatórias e melhorou a estrutura da seção da pele, em comparação com a liga Ti-6Al-4V não revestida.

Dinu *et al*; 2020, depositaram filmes finos de Nb₂O₅ em substratos da liga Ti-6Al-4V por deposição de feixe de elétrons. Foi realizada uma análise das propriedades físico-químicas, morfologia, rugosidade da superfície, propriedades mecânicas, molhabilidade e resistência à corrosão em uma solução simulada de fluido corporal (pH = 7,4) á temperatura ambiente. A biocompatibilidade da liga Ti-6Al-4V revestida e não revestida com o filme de Nb₂O₅ foi avaliada por testes de adesão celular e viabilidade/proliferação de células de osteossarcoma humano (MG-63). Os resultados mostraram que os revestimentos reduziram significativamente a densidade de corrente de corrosão (i_{corr}) da liga de 1022 a 246 nA /cm² e também melhorou a resistência de polarização (R_p) sob condições *in vitro* na solução. Os revestimentos recozidos a 800 °C demonstraram superfícies Nb₂O₅ nanocristalinas mais puras de fase, maior molhabilidade, apresentaram uma superfície mais hidrofílica, com porosidade reduzida, melhores propriedades mecânicas, tribológicas, alta biocompatibilidade e propriedades de resistência à corrosão entre as amostras produzidas. As células osteoblasticas cultivadas em todas as amostras exibiram uma proliferação padrão que aumentou da liga Ti-6Al-4V não revestida.

Zhang *et al*; 2020, avaliaram os efeitos do uso de titânio Ti-6Al-4V poroso com revestimento de quitosana/ hidroxiapatita na osseointegração. Os resultados indicaram que o Ti poroso com revestimento de quitosana/ hidroxiapatita promoveu a proliferação e diferenciação das células MC3T3-E1 e também melhorou a osseointegração *in vitro*.

Harb *et al*; 2020, sintetizaram um nanocompósito, composto de PMMA covalentemente ligado à fase sílica através de 3- (trimetoxissilil) propil metacrilato (MPTS), pelo processo sol-gel com a polimerização radical do metacrilato de metila e depositaram na liga Ti-6Al-4V. Foram analisadas as respostas biológicas do revestimento por meio de células osteoblásticas, eficiência anticorrosiva usando espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) e curvas de polarização. O resultado da espectroscopia de impedância eletroquímica

indicou um excelente desempenho anticorrosivo do revestimento, com um módulo de impedância de $26 \text{ G}\Omega \text{ cm}^2$ e durabilidade de longo prazo em solução de fluido corporal simulado (SBF). Além disso, após 21 dias de imersão em SBF, o recobrimento de PMMA-sílica apresentou depósitos de cristais de apatita, o que sugeriu bioatividade óssea *in vivo*. Isso foi confirmado pela caracterização biológica mostrando aumento da proliferação de osteoblastos, explicada pelo aumento da energia livre de superfície e adsorção de proteínas.

Grabarczyk *et al*; 2021 depositaram filmes finos de DLC na liga Ti-6Al-4V, submetidos a tratamento termoquímico (oxidação/cementação) antes da deposição do revestimento. Foi realizada a caracterização por difração de raios X, espectroscopia Raman e testes de tribocorrosão. Os resultados mais significativos foram obtidos nas amostras oxidadas revestidas com os filmes finos de DLC. A aplicação do processo de dois estágios melhorou as propriedades de tribocorrosão, superfícies apresentaram o menor coeficiente de atrito, alta dureza, taxa de desgaste não mensurável, maiores valores de OCP e a durabilidade do revestimento, ao mesmo tempo em que manteve alta resistência ao processo de corrosão.

Estudos de Singh *et al*; 2021, analisaram revestimentos de hidroxiapatita reforçados com silicato de cálcio depositados no substrato da liga Ti-6Al-4V usando o processo de spray de plasma atmosférico. A superfície dos revestimentos de HA-CS demonstrou morfologia de superfície livre de rachaduras, enquanto micro-rachaduras foram observadas sobre a superfície do revestimento de HA não revestido. Os revestimentos HA-10CS ($224,78 \pm 36,74$) e HA-20CS ($238,75 \pm 40,78$) exibiram microdureza significativamente maior do que o revestimento HA ($194,64 \pm 41,89$). A rugosidade da superfície dos revestimentos HA-CS10 ($8,48 \pm 1,97$) e HA-CS20 ($9,46 \pm 1,24$) são maiores do que os revestimentos HA não revestido ($7,08 \pm 1,09$). As curvas de polarização potenciodinâmica indicaram valores de E_{corr} do revestimento HA ($-331,0 \text{ mv}$) menor do que HA-10CS ($-280,0 \text{ mv}$) e HA-20CS ($-211,0 \text{ mv}$). Os resultados mostraram uma mudança significativa de E_{corr} em direção ao potencial Nobel nos revestimentos HA reforçados com CS. Isso também pode ser demonstrado por uma diminuição no valor de I_{corr} que em HA ($899,0 \text{ nA}$), HA-10CS ($636,0 \text{ nA}$) e HA-20CS ($299,0 \text{ nA}$). O deslocamento positivo de E_{corr} reduz a área eletroativa. Segundo os autores é uma indicação de que a superfície atua como uma barreira isolante levando a uma melhor resistência à corrosão. Esses resultados revelaram que os revestimentos HA-CS apresentaram melhor resistência à corrosão do que HA não revestido.

Ding *et al*; 2021, avaliaram revestimentos de monocamada, bicamada e multicamada à base de Ta_2O_5 na liga Ti-6Al-4V depositados por pulverização catódica de magnetron. Os revestimentos depositados foram caracterizados por (MEV), (AFM), (DRX), (XPS) e

(EDS). A tensão térmica residual, a força de adesão, as propriedades mecânicas e a resistência ao desgaste dos revestimentos foram analisadas utilizando a simulação de elementos finitos, o testador de riscos, nanoindentador e o testador de fricção. Além disso, as propriedades anticorrosivas das amostras revestidas em fluido corporal simulado (SBF) foram avaliadas por uma estação eletroquímica em temperatura ambiente. Os resultados da rugosidade da superfície indicaram que o revestimento $\text{Ta}_2\text{O}_5/\text{Ta}_2\text{O}_5\text{O}-\text{Ti}/\text{Ti}$ apresentou a menor rugosidade superficial (5,15 nm) comparado com Ta_2O_5 (6,41 nm) e $\text{Ta}_2\text{O}_5/\text{Ti}$ (6,23 nm). As amostras revestidas exibiram uma taxa de desgaste menor que a liga Ti-6Al-4V pura ($30,25 \times 10^{-5} \text{ mm}^3/\text{Nm}$), indicando que esses revestimentos depositados melhoraram significativamente a resistência ao desgaste da liga Ti-6Al-4V. Entre as amostras revestidas, o $\text{Ta}_2\text{O}_5/\text{Ta}_2\text{O}_5\text{-Ti/Ti}$ mostrou a menor taxa de desgaste de $3,42 \times 10^{-5} \text{ mm}^3/\text{Nm}$, cerca de duas a cinco vezes menor que a de $\text{Ta}_2\text{O}_5/\text{Ti}$ e Ta_2O_5 respectivamente, e uma ordem de magnitude menor do que Ti-6Al-4V. Os resultados das curvas de polarização potenciodinâmica demonstraram que as amostras revestidas têm mais E_{corr} positivo e I_{corr} mais baixo do que a liga Ti-6Al-4V não revestida. Entre essas amostras revestidas, a amostra revestida com Ta_2O_5 monocamada possuía o valor E_{corr} mais positivo de (-0,21 mV), o valor de I_{corr} mais baixo de ($4,68 \times 10^{-4} \text{ mA}$) e o valor de R_p mais alto de ($135,29 \Omega \text{ cm}^2$). Conforme os autores, quanto maior o potencial de corrosão, menor a densidade de corrente e quanto maior a resistência de polarização, melhor vai ser a resistência à corrosão do biomaterial.

2.2 TÉCNICAS DE DEPOSIÇÃO DE FILMES FINOS

As técnicas de deposição de filmes são utilizadas para modificar a superfície do material, fornecendo características específicas em diferentes aplicações, como em dispositivos biomédicos ou implantes (KAUR; GHADIRINEJAD; OSKOU EI, 2019). A preparação de filmes consiste em quatro componentes básicos, são eles: Alvo: que consiste no material a ser depositado. Substrato: corresponde a superfície que vai receber os átomos do alvo. Fonte de energia: reveste diversas formas, de acordo com os diferentes processos de fornecimento de energia aos átomos do alvo, liberando-os e comunicando-os com a energia cinética para que estes possam fixar no substrato e ocorra o crescimento do filme. Câmara de vácuo: usada para garantir que todas as fases de preparação aconteçam em condições ideais e com um baixo risco de contaminação (SOUSA, SOARES, 1990).

Existem várias técnicas de deposição de filmes finos e todas elas baseam-se em princípios físicos e químicos. Dentre os processos, destacam-se a deposição de vapor

físico/químico (PVD/CVD), oxidação por micro-arco (MAO), eletrodeposição (deposição eletrolítica (ELD) e deposição eletroforética (EPD), sol-gel, e diferentes tipos de processos de pulverização térmica (plasma, frio, quente e pulverização com fio de arco). Todas essas técnicas mencionadas utilizam diferentes mecanismos para depositar tipos específicos de materiais sobre substratos (FOTOVVATI; NAMDARI; DEGHANGHADIKOLAEI, 2019).

O processo de oxidação por micro-arco (MAO) é baseado em uma reação eletroquímica de anodização, que ocorre em uma superfície metálica e é acompanhada por descarga de microarc, formando uma camada superficial de óxido cerâmico com morfologia e composição de fases particulares (SOBOLEV *et al*; 2018). Em geral, utiliza uma diferença de alta voltagem entre o ânodo e o cátodo para gerar microarcos como canais de plasma. Esses arcos ao atingirem o substrato derretem uma porção da superfície, dependendo da intensidade dos microarcos. Assim, os canais de plasma liberam uma pressão, que auxilia na deposição do revestimento na superfície do substrato (FOTOVVATI; NAMDARI; DEGHANGHADIKOLAEI, 2019).

A eletrodeposição é utilizada uma célula eletrolítica com um eletrólito, composto de sais iônicos do metal a ser depositado. (LISBOA; BARIN, 2009). É considerada um tipo de proteção que utiliza a deposição de íons metálicos em um substrato. Nesse processo, uma diferença de potencial entre os pólos ânodo e cátodo causa uma transferência de íons na célula unitária. Depois de um tempo, uma camada de revestimento se forma na amostra submersa, recebendo íons do outro eletrodo (FOTOVVATI; NAMDARI; DEGHANGHADIKOLAEI, 2019).

A deposição eletrolítica (ELD) é um processo eletroquímico, onde por meio de uma reação química induzida por corrente, ocorre a deposição de um revestimento (KAWASHITA *et al*; 2009). Essa técnica é empregada para formar revestimentos metálicos densos com uma distribuição de espessura uniforme em substratos condutores. O substrato e os materiais de deposição são selecionados como cátodo e ânodo enquanto são colocados dentro de uma célula de unidade eletroquímica (FOTOVVATI; NAMDARI; DEGHANGHADIKOLAEI, 2019).

Outro processo utilizado para deposição de revestimentos é o Sol-Gel. É amplamente usado para depositar revestimentos cerâmicos finos. Ele permite um melhor controle da composição química e microestrutura do revestimento, preparação de filmes homogêneos e de baixo custo (LIU *et al*; 2004). O processo de revestimento sol-gel é um dos processos de maior sucesso em dispositivos biomédicos. (FOTOVVATI; NAMDARI; DEGHANGHADIKOLAEI, 2019). Na pulverização térmica os materiais são termicamente

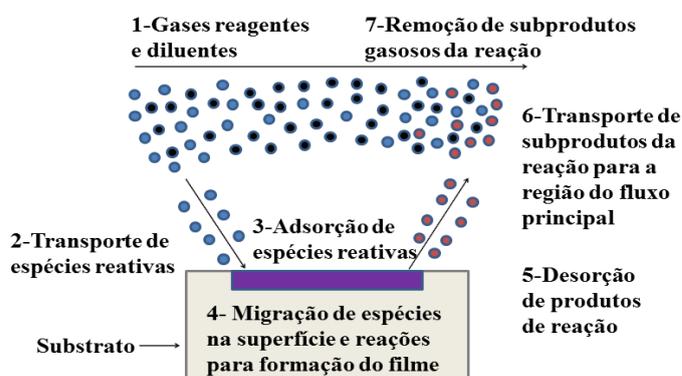
derretidos em gotas líquidas e introduzidos energeticamente na superfície em que as partículas individuais se aderem e se condensam. O revestimento é formado por um acúmulo contínuo de camadas sucessivas de gotículas de líquido, material amolecido domínios e partículas duras. A pulverização térmica requer um dispositivo que crie uma chama de alta temperatura ou um jato de plasma (LIU *et al*, 2004). Nesse processo, uma fonte de calor, que é fornecida principalmente por combustão química ou descarga de plasma, aquece os materiais até uma fase fundida ou semissólida e os pulveriza sobre o substrato com um jato de alta velocidade (FOTOVVATI; NAMDARI; DEGHANGHADIKOLAEI, 2019).

O spray de plasma é um processo onde uma pistola de plasma fornece um plasma de indução/DC de alta temperatura, que pode derreter facilmente metais refratários, cerâmicas e polímeros. Os materiais usados na estabilização do plasma podem ser gás, água ou uma mistura de ambos, conhecida como plasma híbrido. Os materiais a serem depositados são alimentados nesta corrente de plasma quente e a elevada temperatura derrete a matéria-prima (FOTOVVATI; NAMDARI; DEGHANGHADIKOLAEI, 2019).

Na produção de filmes finos, são usadas duas técnicas: a deposição química na fase de vapor do inglês *Chemical Vapor Deposition* (CVD) e deposição física de vapor do inglês *Physical Vapor Deposition* (PVD) (PARTICHELI, 2015).

Na técnica de deposição de vapor químico (do inglês, *Chemical Vapour Deposition* - CVD) o filme é formado devido a uma reação química sobre a superfície do substrato. O processo tem início em uma câmara, onde são inseridos gases reativos, que decompõem e formam calor e plasma. Em seguida, o substrato faz a absorção do gás da superfície e ocorre uma reação formando um filme fino (BARROS; VIGNOLI; PEREIRA, 2011). A Figura 4 apresenta as etapas do processo de deposição de vapor químico (CVD).

Figura 4 - Desenho esquemático mostrando as etapas do processo de deposição de vapor químico (CVD).

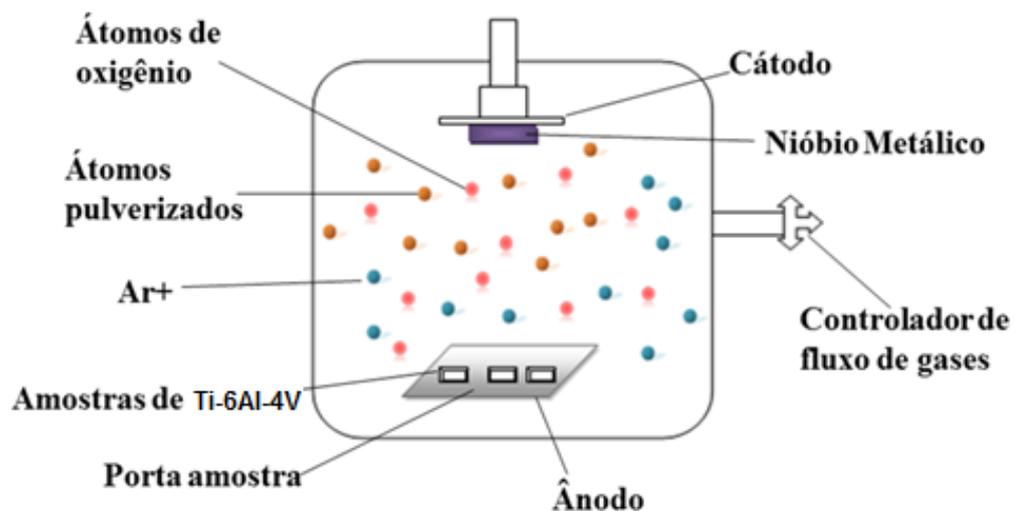


Fonte: Adaptado de Campbell, 1996 apud Biasotto, 2005.

A técnica de deposição física à vapor (do inglês, *Physical Vapour Deposition* -PVD) é um processo físico de deposição de filmes finos, no qual o revestimento cresce átomo por átomo em um determinado substrato (BAPTISTA *et al*; 2018; BARROS; VIGNOLI; PEREIRA, 2011). O PVD envolve a atomização ou vaporização do material de uma fonte sólida, denominada de alvo. Este processo provoca uma mudança nas propriedades da superfície e na zona de transição entre o substrato e o material depositado. Por outro lado, as propriedades dos filmes também podem ser afetadas pelas propriedades do substrato (BAPTISTA *et al*; 2018). O processo pode ser dividido em duas etapas: processos térmicos e pulverização catódica (BARROS; VIGNOLI; PEREIRA, 2011).

Uma dos processos mais utilizados na deposição de filmes finos é a pulverização catódica. Têm como principal vantagem ser uma técnica limpa, que produz baixas quantidades de resíduos para serem gerenciados (MARTINS, 2010). Também, é um processo simples, versátil, flexível (PEIXOTO; RAMOS, 2010) que aparece como uma alternativa em aplicações que requerem maior qualidade morfológica de superfícies, rugosidade, tamanho de grão, estequiometria e outros requisitos mais significativos do que a taxa de deposição (BAPTISTA *et al*; 2018). A Figura 5 mostra um esquema representativo do processo de pulverização catódica.

Figura 5 - Representação esquemática do processo de pulverização catódica para a deposição de filmes finos na superfície da liga Ti-6Al-4V.



Fonte: Adaptado de Santos, 2011.

No processo de pulverização catódica íons de argônio são acelerados pelo campo elétrico em direção ao alvo, descarga luminescente (plasma), e elétrons são gerados. Os átomos do material alvo são ejetados com energia cinética e chegam ao porta amostra (substrato) e nas paredes da câmara de vácuo (MACHUNO *et al*; 2016). Assim, o filme é formado sobre o substrato sólido.

A técnica é realizada em uma câmara a vácuo, com uma pressão de base em torno de 10^{-6} e 10^{-10} mbar (10^{-4} a 10^{-8} Pa). O borbardeamento do alvo é promovido pela entrada de um gás, como exemplo argônio, em um fluxo contínuo de pressão de trabalho 10^{-3} a 10^{-1} mbar (10^{-2} a 10 Pa). Em seguida, liga-se a uma fonte e ocorre a formação do plasma junto ao alvo (MARTINS, 2010). Os átomos ejetados do alvo deslocam-se em um espaço até a condensação pelo choque com o substrato, dando origem a um filme fino (LIMA; GUARANY; ARAÚJO, 2008). Esse processo gera um filme uniforme, com baixo grau de impureza, boa densidade e pode ser utilizado em todos os tipos de materiais desde dielétricos a condutores (BARROS; VIGNOLI; PEREIRA, 2011). Assim, a escolha de um método de deposição de revestimento é importante. Para que se possa criar uma superfície de alta qualidade, homogênea, com excelente adesão ao substrato (KAUR; GHADIRINEJAD; OSKOU EI, 2019).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Funcionalizar a superfície da liga Ti-6Al-4V com filmes finos de Nb₂O₅ depositados via técnica de pulverização catódica reativa visando aplicações biomédicas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir filmes finos de Nb₂O₅ na superfície da liga Ti-6Al-4V via técnica de pulverização catódica reativa;
- Caracterizar morfologicamente os filmes de Nb₂O₅ na superfície da liga Ti-6Al-4V via microscopia eletrônica de varredura/ espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (MEV/EDX) e microscopia de força atômica (AFM);
- Caracterizar estruturalmente os filmes de Nb₂O₅ depositados na superfície da liga Ti-6Al-4V via as técnicas de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia Raman e espectroscopia fotoelétrons excitados por raios-X (XPS);
- Verificar a citotoxicidade e biocompatibilidade da liga de Ti-6Al-4V com e sem filme fino de Nb₂O₅ utilizando a linhagem celular VERO-CCL-81;
- Avaliar a liberação de citocinas TNF- α , IL-6 e IL-10 envolvidas nos processos inflamatórios e imunológicos por meio de células humanas leucocitárias;
- Relacionar a influência da hidrofobicidade da superfície com e sem filme de Nb₂O₅ com os testes biológicos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Preparação das amostras

O biomaterial utilizado no presente trabalho foi a liga de titânio α - β com a designação Ti-6Al-4V. Antes do tratamento com plasma, as amostras foram cortadas por eletroerosão nas dimensões de 1 cm x 1 cm e preparadas por polimento mecânico convencional utilizando lixas de carbeto de silício (SiC) na sequência de 600, 800, 1200, 2400 e 4000 *mesh*, usando o aparelho do modelo Polipan-u do laboratório de física da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), localizado na Unidade I do Campus Univerdecidade. Posteriormente, as amostras foram polidas com pasta de diamante na sequência de 3, 2 e 1 μm . Em seguida, as amostras foram lavadas em água destilada e álcool isopropílico, utilizando um ultrassom por um período de 15 min cada. Todas as amostras foram mantidas em suportes apropriados para posterior deposição dos filmes finos de Nb_2O_5 via técnica de pulverização catódica reativa. A Figura 6 apresenta o equipamento utilizado para o polimento das amostras de Ti-6Al-4V.

Figura 6 - Aparelho do modelo Polipan-u utilizado no polimento das ligas de Ti-6Al-4V.



Fonte: Da autora, 2021.

A Figura 7 apresenta o aparelho utilizado na lavagem das amostras.

Figura 7 - Aparelho utilizado na lavagem das amostras de Ti-6Al-4V em água destilada e álcool isopropílico.



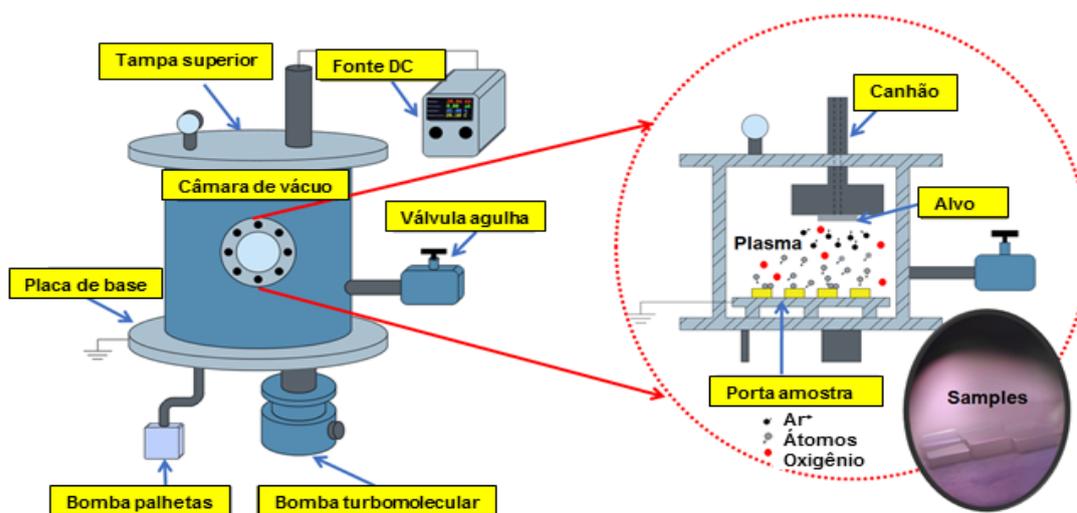
Fonte: Da autora, 2021.

4.2 Produção de filmes finos de Nb_2O_5 na superfície da liga Ti-6Al-4V via técnica PVD

Os filmes de Nb_2O_5 foram depositados na superfície da liga Ti-6Al-4V via técnica de pulverização catódica reativa de acordo com Machuno *et al.*; 2016, no Laboratório de Plasmas e Filmes Finos da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, UFTM. O sistema de deposição foi composto por um *magnetron sputtering* adquirido da Kurt Lesker Co para alvos de 2,0 pol de diâmetro. O vácuo é suportado por bombas rotativas e turbomoleculares permitindo a pressão de 0,001 mTorr. Os gases foram admitidos e controlados por válvulas agulhas da Edwards Co. As deposições dos filmes foram conduzidas a 5,0 mTorr usando Argônio (99,999%) e um alvo de Níbio (99,9%) doado pela CBMM (Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração). Para obter filmes Nb_2O_5 , O_2 (99,999%) a 0,5 mTorr foram usados. A tensão DC e a corrente utilizada foram de 450 V e 145 mA, respectivamente. Nessas condições, a espessura dos filmes finos de Nb_2O_5 atingiu 300 - 450 nm após 40 min. O filme fino de Nb_2O_5 também foi depositado sobre pedaços da liga Ti-6Al-4V (1,0 cm x 1,0 cm) com uma marca previamente feita com caneta de ponta porosa. Após o processo de deposição, a tinta e o filme fino foram removidos com solvente orgânico. A técnica de AFM foi utilizada para determinar a espessura do filme em diferentes pontos da amostra. Os filmes finos de Nb_2O_5 mostraram ter boa homogeneidade ao longo de toda a extensão da liga Ti-6Al-4V, apresentando excelente aderência, sem sinais de ruptura ou descolamento após testes de adesão. A Figura 8 apresenta um desenho esquemático do sistema de pulverização catódica

reativa utilizado no presente trabalho. Este sistema foi adaptado de Machuno *et al*; 2016. É possível verificar a disposição das amostras dentro da câmara de vácuo, bem como detalhes do processo de deposição.

Figura 8 - Representação esquemática do processo de pulverização catódica reativa utilizado para deposição de filmes finos de Nb_2O_5 na superfície da liga Ti-6Al-4V.



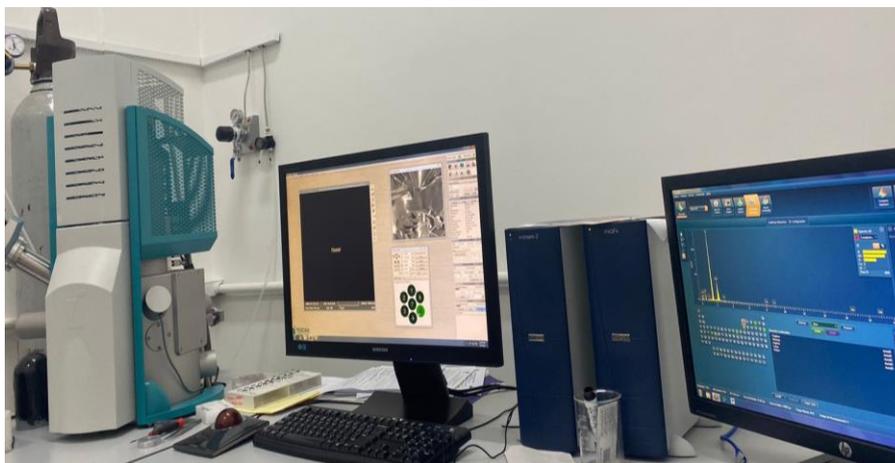
Fonte: Adaptado de MACHUNO *et al*; 2016.

4.3 Caracterização morfológica dos filmes finos de Nb_2O_5 na superfície da liga Ti-6Al-4V via MEV/EDX e AFM

Para a caracterização morfológica da superfície da liga Ti-6Al-4V revestida e não revestida com o filme fino de Nb_2O_5 foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura (FEG-SEM JEOL-JSM7001F) do Departamento de Química da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. A técnica de EDX foi usada para a análise elementar e estimar a abundância relativa dos elementos nas amostras aqui estudadas. As análises de AFM foram obtidas utilizando um microscópio Shimadzu SPM 9700 em modo dinâmico e cantilêveres adquiridos da NT-MDT Co da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

A Figura 9 representa o Microscópio Eletrônico de Varredura e EDX utilizados na caracterização morfológica.

Figura 9 - Microscópio Eletrônico de Varredura utilizado na obtenção da topografia da superfície da liga revestida e não revestida com filmes finos de Nb₂O₅.



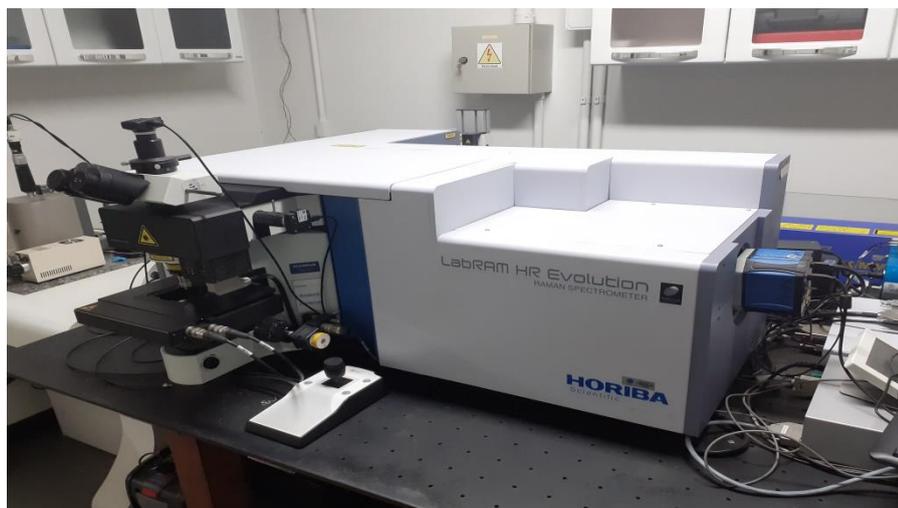
Fonte: Da autora, 2021.

4.4 Caracterização estrutural dos filmes finos de Nb₂O₅ depositados na superfície da liga Ti-6Al-4V via FTIR, Espectroscopia Raman e XPS

Os espectros de FTIR foram coletados de um espectrômetro Agilent Care 600 usando aparelho de espectroscopia de absorção de reflexão de infravermelho (IRRAS) adquirido da PIKE Instrumentos com um ângulo de incidência de 30 °. Os espectros foram coletados após 64 varreduras e uma resolução de 2 cm⁻¹. As análises de FTIR foram realizadas na Universidade Federal de Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, Estado de Minas Gerais, Brasil. Também, caracterizamos o filme de Nb₂O₅ usando um espectrômetro Raman (microscópio LabRAM HR Evolution Raman) de 80 a 2500 cm⁻¹. Para este propósito, foi utilizado um laser de Ar⁺ de 532 nm = 50 mW (medido com medidor de potência: 78 mW) no Instituto de Física (INFIS) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. As caracterizações de XPS foram realizadas com um analisador hemisférico SPECS Phoibos 150 com detecção multicanaltron, usando fonte de raios-X Al-K_a X-ray de um ânodo duplo Al/ Mg e em emissão normal sob uma câmara de ultra-alto vácuo operando a 10⁻⁹ mbar no grupo de Ciências de Superfície da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brasil. As funções Lorentzianas foram usadas para ajustar a forma da linha do espectro (DONIACH; SUNJIC, 1970). Todos os picos foram convolutos para uma distribuição gaussiana que descreve o alargamento instrumental, as contribuições dos fônons e a inhomogeneidades da amostra. A contribuição do fundo inelástico foi removida usando tipo de fundo – Shirley (SHIRLEY, 1972).

A Figura 10 representa o espectrômetro Raman utilizado na caracterização estrutural.

Figura 10 - Espectrômetro Raman utilizado na caracterização estrutural.

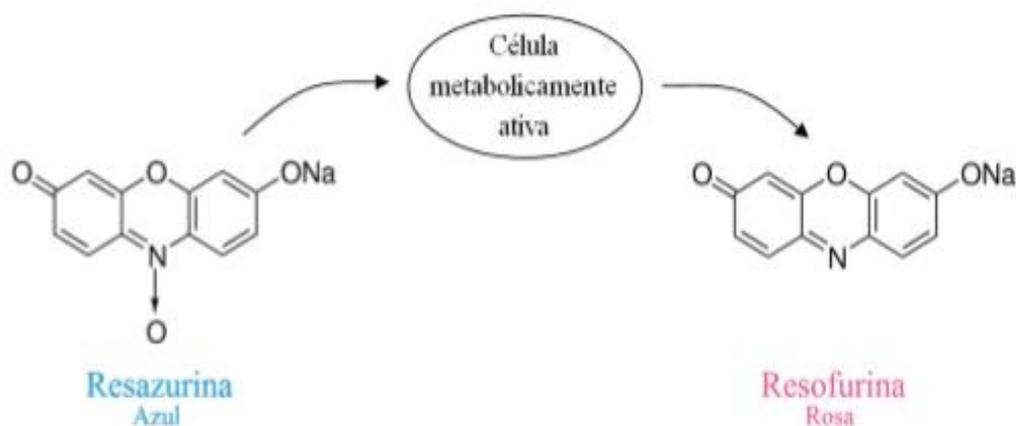


Fonte: Da autora, 2021.

4.5 Viabilidade celular da linhagem celular VERO-CCL-81, leucócitos de sangue humano e produção de citocinas

Para a avaliação da biocompatibilidade foi usado no presente estudo a linhagem celular VERO-CCL-81 de acordo com ISO 10993-5: 2009. A viabilidade da celular em diferentes superfícies (material base e superfície funcionalizada com Nb_2O_5) também foi avaliada. Para este fim, células VERO-CCL-81 foram cultivadas em recipientes de cultura T-25 (Nunc) a temperatura de 37 °C, em uma atmosfera de 5% de CO_2 e meio RPMI enriquecido com 10% de FBS (Sigma-Aldrich, EUA). O meio RPMI foi renovado 2 a 3 vezes por semana até que as células VERO-CCL-81 atingissem uma confluência de 80-90%. Em seguida, as células foram removidas usando 0,25% de tripsina, solução 0,53 mM de EDTA e cultivado (1×10^5 células / mL) nas superfícies do Ti-6Al-4V revestida com filme fino de Nb_2O_5 e na Ti-6Al-4V. Após 24 h de incubação, as células foram removidas mecanicamente e avaliadas usando ensaio de resazurina com base na fluorescência emitida pelo indicador redox (resazurina), pois é reduzido por células viáveis. Como pode ser observado na Figura 11.

Figura 11 - Esquema representativo do ensaio de rezazurina baseado na conversão por oxiredução para resofurina por células viáveis.

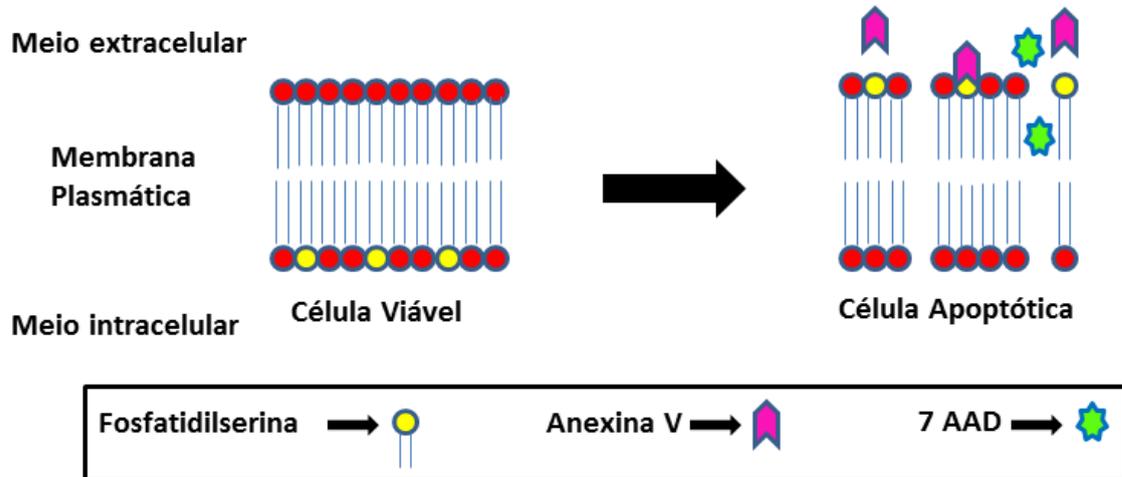


Fonte: Canabarro, 2017.

Por meio dos resultados obtidos com a linhagem de células VERO-CCL-81, que serão discutidos na seção resultados e discussões, avaliamos a compatibilidade da liga Ti-6Al-4V contendo o filme fino de Nb_2O_5 por meio de células do sistema imunológico. Esses estudos nos permitirão entender melhor o importante mecanismo de tolerância ou rejeição de biomateriais após implantação *in vivo*. Leucócitos do sangue humano foram obtidos de um doador saudável por punção venosa em um tubo com EDTA. O sangue total foi misturado com meio RPMI enriquecido com FBS a 10% (1: 1) (Sigma-Aldrich, EUA). As células foram contadas e cultivadas (1×10^6 células / mL) nas superfícies com e sem revestimento.

Após 24 h de incubação a uma temperatura de 37°C , 5% de CO_2 , as células foram removidas mecanicamente e avaliadas por citometria de fluxo para apoptose, utilizando a marcadores Anexina-V mais 7-ADD, realizada de acordo com as instruções do fabricante (BD Biosciences, EUA). A Figura 12 representa o ensaio de citometria de fluxo para detecção de células apoptóticas.

Figura 12 - Representação esquemática do ensaio de citometria de fluxo utilizando Anexina V que se liga a fosfatidilserina que é translocada para o meio extracelular da membrana plasmática de células apoptóticas e 7AAD que atua como marcador de apoptose.



Fonte: Adaptado de Engeland *et al.*, 1998 apud Dantas, 2016.

Também, foram avaliadas as principais populações de leucócitos. Os linfócitos, monócitos e células polimorfonucleares- PMN foram identificados pelos padrões de tamanho e granularidade. Além disso, devido à heterogeneidade funcional, os linfócitos T foram marcados com anticorpos monoclonais fluorescentes para a expressão de marcadores de membrana clássicos de células T Helper (CD4 +) e células T citolíticas (CD8 +). Os sobrenadantes celulares foram utilizados para a quantificação de TNF- α , IL-6 e IL-10 pelo Cytometric Bead Array - CBA, conforme instruções do fabricante (BD Biosciences, EUA).

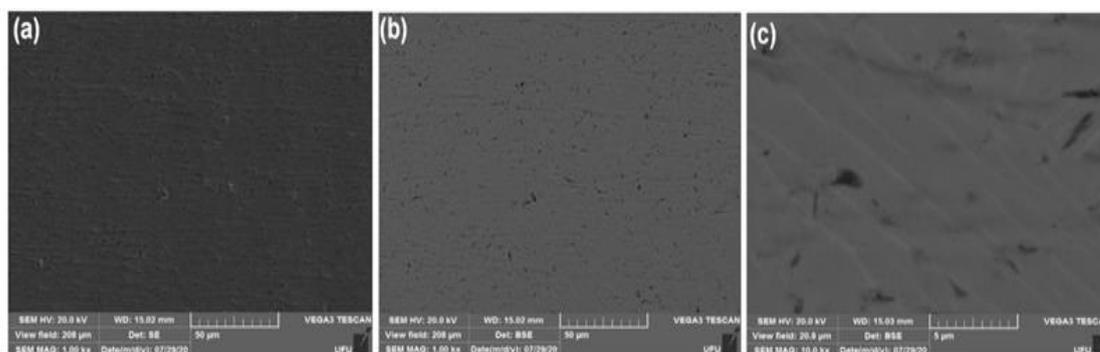
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DA LIGA Ti-6Al-4V REVESTIDA E NÃO REVESTIDA COM FILME DE Nb₂O₅

A Ti-6Al-4V é uma liga de titânio alfa-beta ($\alpha+\beta$) amplamente utilizada como material biomédico devido a sua boa resistência ao processo de corrosão, alta relação resistência-peso, boa resistência mecânica, atóxica e biocompatibilidade (EURÍDICE *et al*; 2020). Como se sabe, todas essas propriedades estão diretamente relacionadas à microestrutura da liga. Embora, vários trabalhos na literatura descrevam em detalhes a morfologia da liga Ti-6Al-4V, decidimos apresentar alguns resultados para elucidar as discussões a seguir.

A Figura 13 exibe as imagens de MEV do substrato da liga Ti-6Al-4V antes do tratamento de pulverização catódica reativa. A técnica MEV usa um feixe de elétrons focalizado para produzir imagens ampliadas da amostra. Como resultado, os elétrons interagem com os átomos da amostra, gerando sinais que contêm informações sobre a composição e topografia do material estudado. É importante ressaltar que os elétrons secundários (do inglês, *secondary electrons* -SE) fornecem uma imagem topográfica da amostra e são responsáveis pela obtenção de imagens de alta resolução, enquanto os elétrons retroespalhados (do inglês, *Backscattering* -BSE) fornecem uma imagem característica da variação da composição. As Figuras 13 (a) e 13 (b) mostram imagens adquiridas por SE e BSE da liga Ti-6Al-4V com 1,0 kx de ampliação. Conforme mostrado na Figura 13 (c), a imagem MEV exibe duas regiões distintas (cinza claro e cinza escuro) que estão relacionadas à existência de fases α e β . Esses resultados estão de acordo com trabalhos publicados anteriormente (EURÍDICE *et al*; 2020), sugerindo que há uma maior concentração de alumínio (Al) nas regiões escuras e vanádio (V) na região clara.

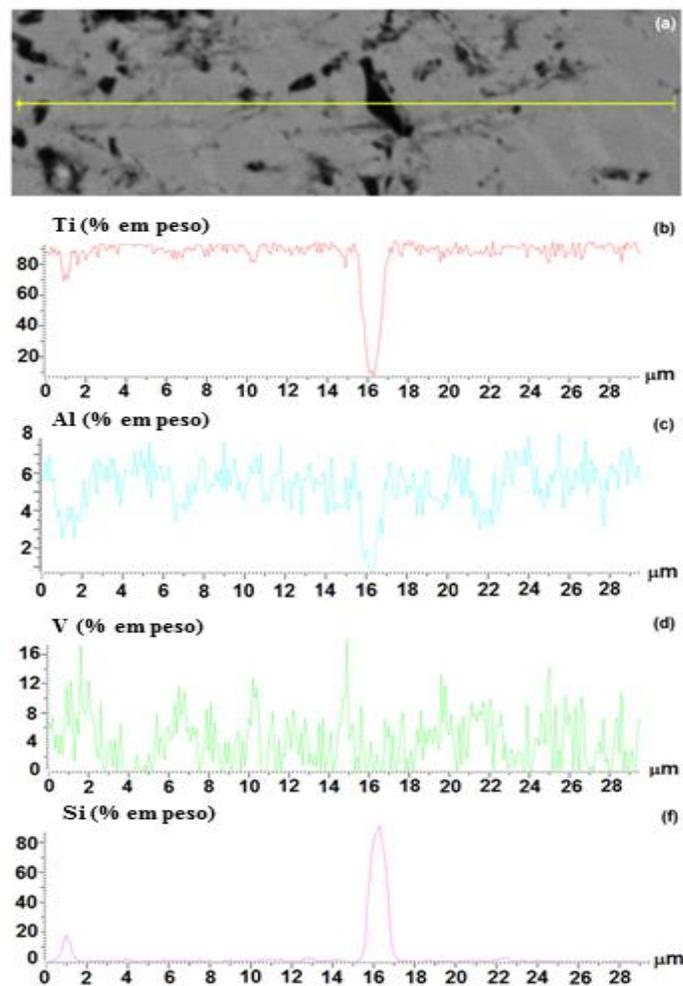
Figura 13 - Imagens MEV de superfície da liga Ti-6Al-4V, (a) imagem SE com ampliação de 1,0 kx, (b) imagem BSE com ampliação de 1,0 kx e (c) imagem BSE com ampliação de 10,0 kx.



Fonte: Da autora, 2021.

A Figura 14 apresenta a análise EDX da liga superfície da liga Ti-6Al-4V, mostrando a variação na composição química (% em peso) junto com a microestrutura (curva verde: V, curva azul: Al, curva vermelha: Ti e curva roxa: Si). O elemento de Si está provavelmente relacionado às lixas de SiC usadas durante o processo de polimento.

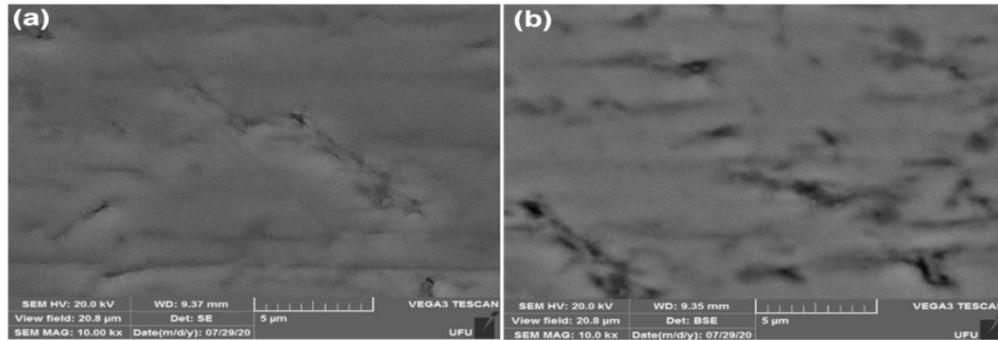
Figura 14 - (a) Imagem MEV usada para análise EDX de Ti-6Al-4V do topo mostrando a variação (b-f) na composição química (% em peso) junto com a microestrutura.



Fonte: Da autora, 2021.

A Figura 15 apresenta as imagens de MEV da superfície da liga Ti-6Al-4V revestida com filme fino de Nb_2O_5 obtidos via a técnica de pulverização catódica reativa nas ampliações de 10 kx, respectivamente.

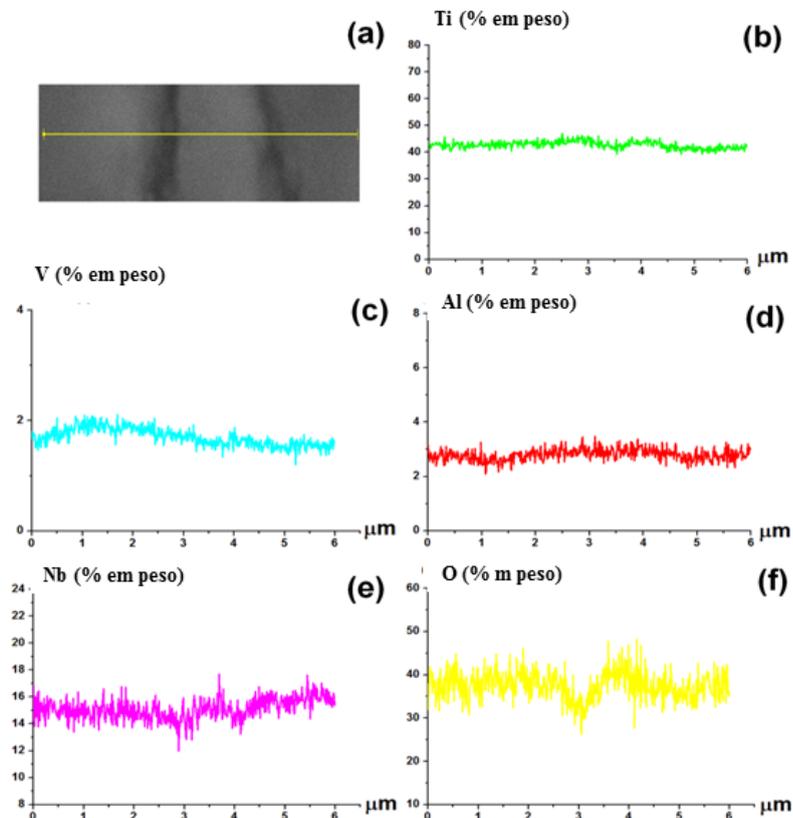
Figura 15 - Imagens MEV de superfície da liga Ti-6Al-4V revestida com filme fino de Nb_2O_5 , (a) imagem SE da liga Ti-6Al-4V e (b) imagem BSE. Ampliação de 10,0 kx.



Fonte: Da autora, 2021.

A Figura 16 (a) mostra detalhe de uma região da liga Ti-6Al-4V revestida com Nb_2O_5 utilizada para determinação da composição química (% w.t) via técnica de EDX (vide Figura 16 (b-f)). As análises de EDX foram realizadas em linha, como pode ser verificado na Figura 16 (a). Os resultados mostram a presença dos elementos Ti, Al e V (elementos base do material estudado). Os elementos Nb e O são devidos à presença do filme fino de Nb_2O_5 .

Figura 16 - (a) Imagem MEV usada para análise de EDX da liga Ti-6Al-4V contendo filme fino de Nb_2O_5 de cima, (b-f) a variação na composição química (% em peso) junto com a microestrutura.

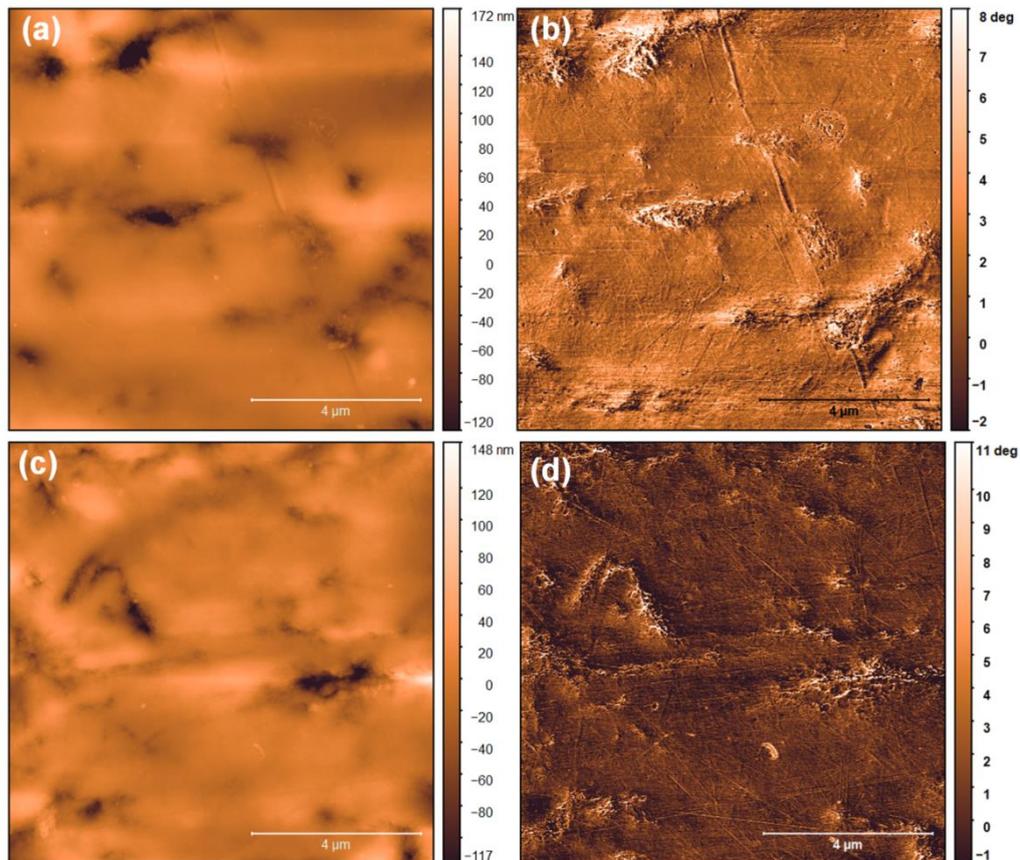


Fonte: Da autora, 2021.

5.2 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DA LIGA REVESTIDA COM FILME DE Nb_2O_5

Para investigar a topografia do filme fino de Nb_2O_5 na superfície da liga Ti-6Al-4V, a técnica de microscopia de força atômica (AFM) foi realizada sobre uma área varredura de $2,0 \times 2,0 \mu\text{m}$ como mostrado na Figura 17. Os resultados mostraram a formação de grânulos na superfície da liga. Esses grânulos são devidos à nucleação do filme nos estágios iniciais de deposição. Conforme demonstrado pela as análises de AFM em modo de fase, a liga Ti-6Al-4V contendo o filme Nb_2O_5 possui uma superfície mais homogênea, apresentando uma rugosidade média de cerca de 1,57 nm quando comparado a 2,28 (material base). Além disso, o substrato possui partículas de segunda fase com densidades diferentes, interferindo mais proeminentemente no ângulo de fase.

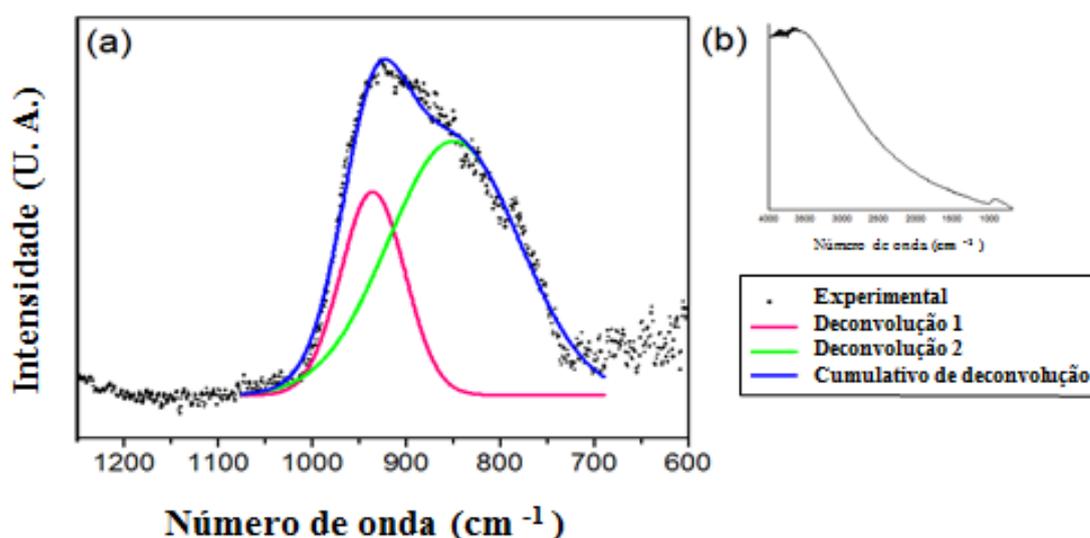
Figura 17 - Imagens de AFM de vista superior em uma área digitalizada de $2,0 \times 2,0 \mu\text{m}$, (a) liga Ti-6Al-4V não revestida, (b) liga Ti-6Al-4V não revestida usando o modo de fase, (c) liga Ti-6Al-4V contendo filme de Nb_2O_5 e (d) liga Ti-6Al-4V revestida com filme Nb_2O_5 usando o modo de fase.



Fonte: Da autora, 2021.

Como pode ser visto na Figura 18 (a), os espectros de FTIR apresentaram uma banda intensa entre 1100 e 700 cm^{-1} . A deconvolução desta banda usando a função Gaussiana resultou em duas outras bandas centradas em ~ 935 e ~ 850 cm^{-1} atribuídas ao estiramento Nb=O e Nb-O-Nb, respectivamente (OREL *et al.*; 1998; BURCHAM; DATKA; WACHS, 1999). A Figura 18 (b) exibe todos os espectros de FTIR do filme fino de Nb₂O₅ aqui estudado, indicando que não há bandas adicionais relacionadas ao filme de NbO.

Figura 18 - (a) Espectros de FTIR-IRRAS obtidos em 30o para filme fino de Nb₂O₅ mostrando a região destacada com bandas centradas em 849 e 935 cm^{-1} e (b) a faixa completa.

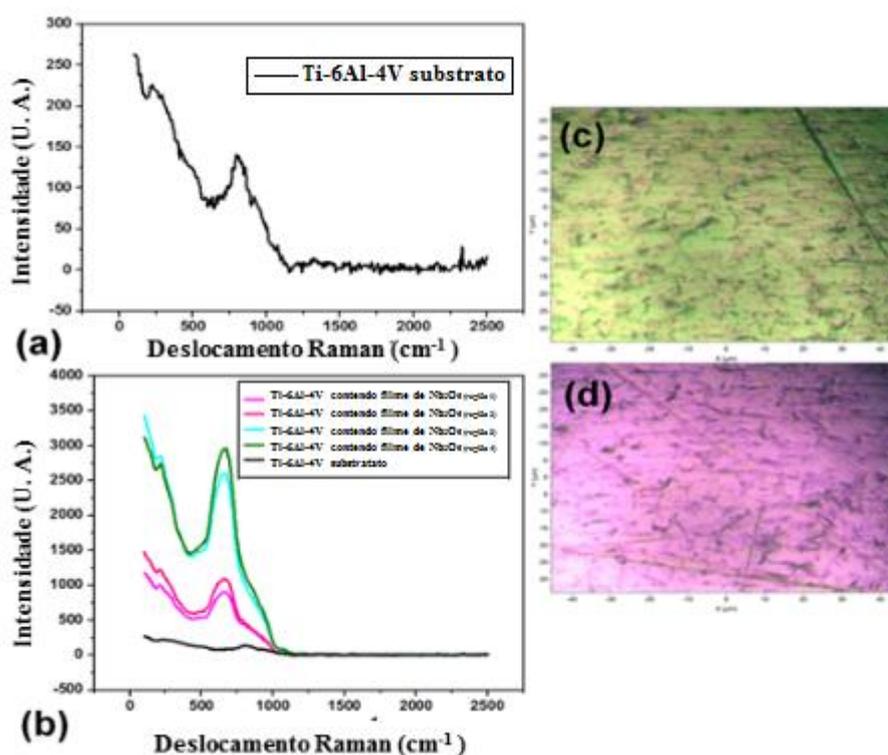


Fonte: Da autora, 2021.

O espectro Raman é mostrado na Figura 19. Os resultados obtidos no presente trabalho para o substrato (ver Figura 19 (a)) estão de acordo com Nouicera *et al.*; 2017, que verificou o filme formado na superfície da liga consiste principalmente de TiO₂ na fase rutilo (ZHANG *et al.*; 2019). Por outro lado, após os processos de polimento e químicos, o óxido formado na superfície da liga de Ti-6Al-4V é substancialmente TiO₂. Conforme relatado por Mazza *et al.*; 2007, o TiO₂ aparece na natureza em três estruturas cristalinas principais: anatase, rutilo e brookita. Segundo Horn; Schwebdtfefer e Meagher, 1972, o rutilo é a fase estável, enquanto o anatásio e a brookita são metaestáveis. A Figura 19 (b) exibe o espectro Raman para a liga Ti-6Al-4V contendo o filme fino de Nb₂O₅. Conforme reportado pela literatura, uma grande banda foi observada em 700 cm^{-1} e pode ser atribuída ao modo de estiramento simétrico e anti-simétrico da ligação Nb-O-Nb (MICKOVA, 2010). A película fina de pentóxido de nióbio (Nb₂O₅) tem propriedades únicas: termodinamicamente estável (USHA *et al.*; 2015),

boa estabilidade térmica, biocompatibilidade (AMARAVATHY *et al*; 2014), material dielétrico transparente (USHA *et al*; 2015) e atua como uma barreira impedindo o avanço do processo de corrosão (PILLIS *et al*; 2016). Como mencionado anteriormente, o filme fino de Nb_2O_5 é transparente e as regiões rosa e esverdeadas observadas (ver Figuras 19 (c) e 19 (d)) são devidas ao fenômeno de reflexão da luz. Estudos Raman revelaram a formação de filme de Nb_2O_5 na superfície da liga de titânio.

Figura 19 - (a) Espectro Raman da liga Ti-6Al-4V (b) Espectro Raman da Ti-6Al-4V revestida com filme fino de Nb_2O_5 , (c) e (d) mostram duas regiões diferentes (verde e rosa) onde as medições Raman foram feitas. A região de medição exata não foi mostrada nas imagens.

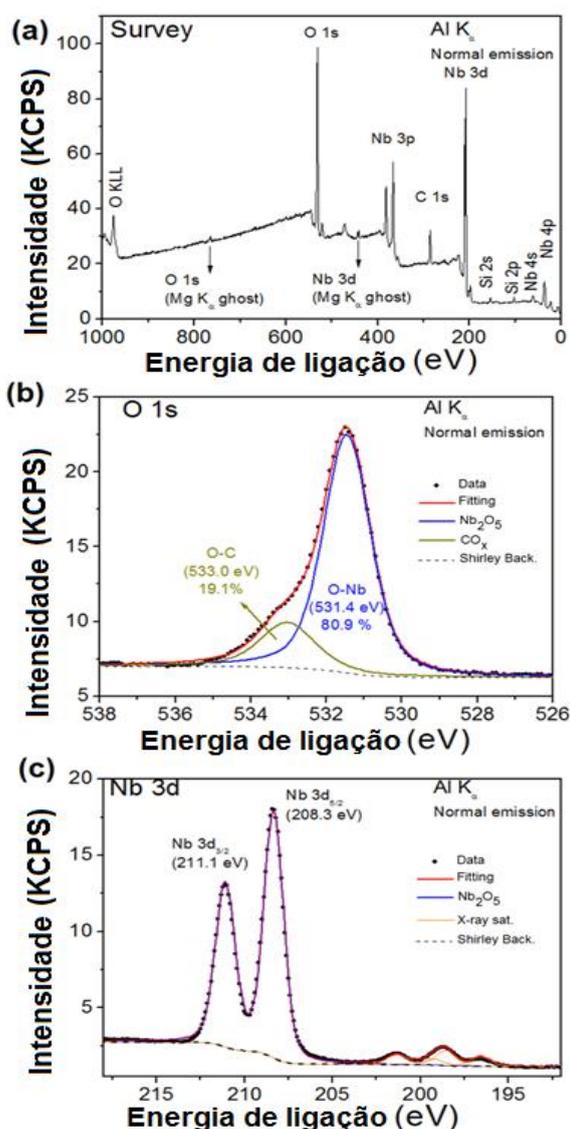


Fonte: Da autora, 2021.

As análises de XPS foram obtidas utilizando uma fonte de radiação Al-K_α . A Figura 20 (a) mostra um espectro de pesquisa revelando a composição química, o qual revelou a de O, C, Nb e uma pequena quantidade de Si. Os espectros de alta resolução de O 1s (Figura 20 (b)) e Nb 3d (Figura 20 (c)) demonstraram a presença de Nb_2O_5 monofásico. É importante salientar que os espectros de XPS foram ajustados com uma função Lorentziana. Todos os picos também foram numericamente convolutos para uma distribuição gaussiana (largura fixa de 1,1 eV) que descreve o alargamento instrumental, contribuições de fônons e

inomogeneidades da amostra. A contribuição do fundo inelástico foi incluída usando o fundo do tipo Shirley (BURCHAM; DATKA; WACHS, 1999). O procedimento de ajuste de O 1s e Nb 3d revelou a presença de uma única fase de óxido de nióbio, correspondendo ao Nb_2O_5 com energia de ligação para o Nb $3d_{5/2}$ de 208,3 eV e divisão spin-órbita de 2,8 eV. O componente O 1s correspondente é medido com 531,4 eV e a estequiometria do filme Nb: O foi determinada em 2,0: 5,02, o que está em perfeita concordância com os resultados relatados na literatura (COŞKUN; DEMIRELA, 2013). Durante o armazenamento e transporte da amostra para a câmara XPS, os adsorbatos são normalmente incorporados à superfície do filme. Uma vez que C também é apresentado no espectro da pesquisa, o pequeno ressalto de pico em O 1s foi atribuído à limitação de C-O.

Figura 20 - Espectro de pesquisa XPS da superfície da liga Ti-6Al-4V contendo película fina de Nb_2O_5 (a) composição química, (b) O 1s e (c) níveis de Nb 3d.



Fonte: Da autora, 2021.

5.3 ENSAIO DE MOLHABILIDADE

A molhabilidade foi avaliada no presente trabalho pelo valor do ângulo de contato (θ) formado entre a linha tangente à superfície do líquido e a superfície horizontal do substrato. Conforme relatado na literatura (LUZ; RIBEIR; PANDOLFELLI, 2008), $\theta > 90^\circ$, não há umedecimento do sólido pelo líquido, ou seja, não há espalhamento do líquido (superfície hidrofóbica). Quando $\theta < 90^\circ$, ocorre o umedecimento e o líquido se espalha espontaneamente no sólido (superfície hidrofílica). Se o ângulo for maior que 165° ou igual a 180° , a superfície é chamada de superhidrofóbica (BEYSENS, 1995), e quando $\theta \approx 0^\circ$, o líquido se espalha indefinidamente no sólido. Existem vários métodos para obter valores de energia livre de superfície, como o modelo de Owens-Wendt (OWENS; WENDT; 1969), Wu (WU, 1971; WU, 1973) e Van Oss (VAN OSS, 2006). No presente trabalho utilizamos a abordagem descrita por Van Oss (VAN OSS, 2006) para a determinação da energia de superfície da liga Ti-6Al-4V com e sem revestimento de Nb₂O₅. Como é bem conhecido, este método é baseado no fato de que a energia livre de superfície de qualquer líquido e sólido pode ser expressa como a soma de seus componentes de energia de superfície livre (RUDAWSKA; JACNIACKA, 2018). A abordagem de Van Oss (VAN OSS, 2006) relaciona o componente apolar Lifshitz-van der Waals γ_i^{LW} e um ácido-base de Lewis γ_i^{AB} . Essas interações podem ser representadas usando a Equação 1.

$$\gamma_i = \gamma_i^{LW} + \gamma^{AB} = \gamma_i^{LW} + (\gamma_i^+ \gamma_i^-)^{1/2} \quad (1)$$

onde o γ_i^{LW} representa o componente Lifshitz-van der Waals (LW) de energia livre de superfície, γ^{AB} . o componente ácido polar da energia livre de superfície, γ_i^- . o componente de γ^{AB} . descrevendo a base de Lewis e γ_i^+ . o componente de γ -AB. representando o ácido de Lewis. Conforme relatado por Fialho *et al*, 2018, considerando uma gota de líquido em uma determinada superfície sólida e calculando os componentes em função do ângulo de contato é possível obter a Equação 2.

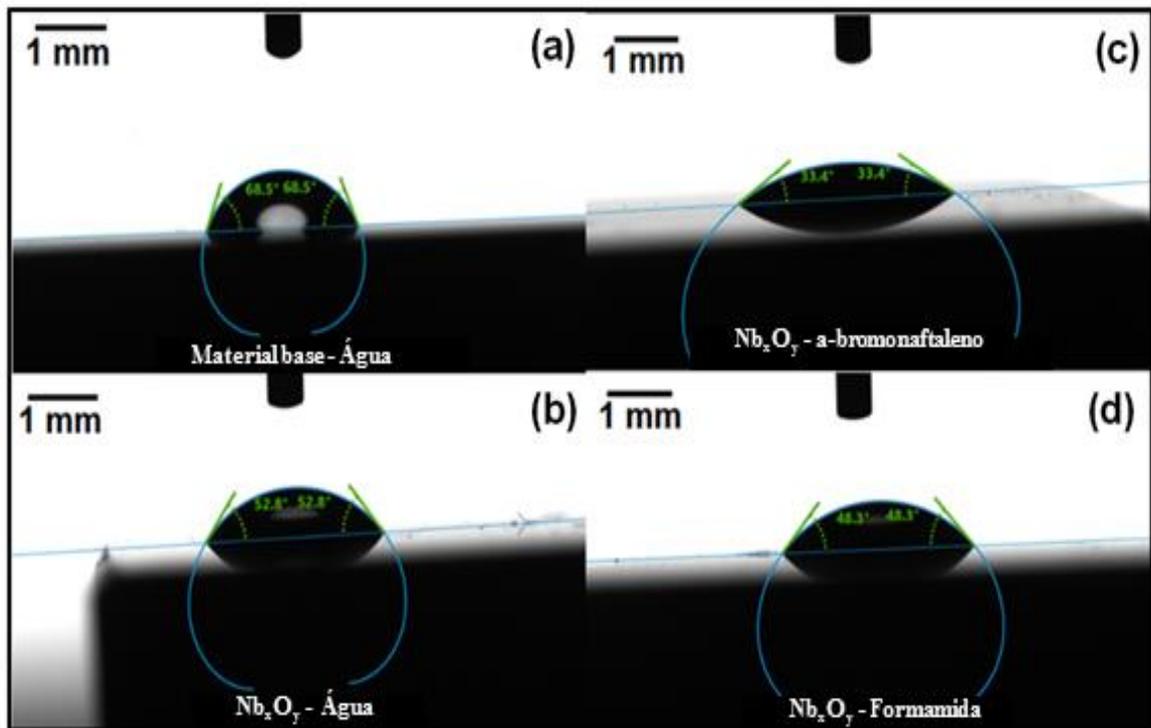
$$\gamma_L^{Total}(1 + \cos\theta) = 2\sqrt{\gamma_s^{LW}\gamma_l^{LW}} + 2\sqrt{\gamma_s^- \gamma_l^+} + 2\sqrt{\gamma_s^+ \gamma_l^-} \quad (2)$$

Na Equação 2, o parâmetro θ descreve o ângulo de molhabilidade do líquido ao sólido,

o γ_L^{Total} representa a tensão superficial do líquido medido. As superfícies sólidas e líquidas são representadas pelas notas s e l, respectivamente. A determinação da energia superficial livre é feita medindo o ângulo de contato através de três líquidos de teste de tensão superficial conhecida e polaridade diferente. Buscando resolver a Equação 2, o ângulo de molhabilidade para os 3 diferentes líquidos: água destilada, α -bromonaftaleno e formamida, é possível determinar a energia livre de superfície da liga Ti-6Al-4V com e sem revestimento (Vide Figura 21).

Os valores θ da liga Ti₆Al₄V na ausência e na presença de película fina de Nb₂O₅ com os líquidos padrões usados para o cálculo da energia livre total de interação, $\Delta G_{\text{SWS}}^{\text{Total}}$ são mostrados na Figura 21. Pode-se observar que o ângulo de contato da superfície da água para a liga Ti-6Al-4V é de aproximadamente 68,5°, enquanto para o material revestido é de cerca de 52,8°. A técnica do plasma reativo leva à diminuição do ângulo de contato do material revestido (33,4° α -bromonaftaleno e 48,3° para a formamida, respectivamente). Aqui, todas as superfícies apresentaram um ângulo de contato inferior a 90°, indicando um comportamento hidrofílico. Superfícies que apresentam ângulos de contato menores, como é o caso do material revestido, tornam-se atraentes para aplicações biológicas.

Figura 21 - Resultados das medições de molhabilidade (a) Material de base em água, (b) Nb₂O₅ em água, (c) Nb₂O₅ em α -bromonaftaleno e (d) Nb₂O₅ em Formamida.



Fonte: Da autora, 2021.

LIM *et al*; 2008, estudaram os efeitos da energia de superfície no crescimento espacial e na mineralização dos osteoblastos durante a cultura de médio prazo. Conforme relatado pelos autores, a superfície hidrofílica facilitou o crescimento, aumentou a área e a qualidade da mineralização das células hFOB. Estudos desenvolvidos por Wennerberg; Albrektsson, 2010, demonstraram que biomateriais com alta energia superficial apresentam um processo de osseointegração facilitado devido à melhor absorção de proteínas. Além disso, estudos desenvolvidos por Olivares-Navarrete *et al*; 2010, demonstraram que o fenótipo osteoblástico (responsável pela produção de osteocalcina e osteoprotegerina) é estimulado quando essas células estão crescendo em um substrato hidrofílico. Aqui, demonstramos que o método de pulverização catódica reativa foi capaz de modificar a superfície da liga Ti-6Al-4V, tornando-a mais hidrofílica quando comparada ao material não revestido. O aumento da molhabilidade está associado ao acúmulo de elétrons na superfície da liga quando o tratamento com plasma foi realizado (SHIBATA *et al*; 2002). Sendo assim, essas modificações de superfície permitirão o desenvolvimento de pesquisas inovadoras e aplicadas na área biomédica.

Conforme descrito por Araujo *et al*; 2013, a energia livre total de interação, ΔG_{SWS}^{Total} , entre as moléculas da superfície imersa em água pode ser determinada pela soma das ΔG_{SWS}^{AB} e não polar ΔG_{SWS}^{LW} energia livre de interação de acordo com a Equação 3:

$$\Delta G_{SWS}^{Total} = \Delta G_{SWS}^{AB} + \Delta G_{SWS}^{LW} \quad (3)$$

A Tabela 2 mostra a energia livre total de interação, ΔG_{SWS}^{Total} obtidos no presente trabalho. Nossos resultados indicaram $\Delta G_{SWS}^{Total} < 0$ para o material base e $\Delta G_{SWS}^{Total} > 0$ para o material revestido com Nb₂O₅. Conforme mencionado por Araujo *et al*; 2013, e de acordo com o princípio da termodinâmica, um valor negativo da energia livre total de interação sugere uma atração coesiva da superfície das moléculas imersas em água. Por outro lado, um valor positivo da energia livre total de interação indica a repulsão das moléculas. Desde a, $\Delta G_{SWS}^{Total} < 0$, a liga Ti-6Al-4V mostra uma tendência de ser hidrofóbica, ou seja, quando imersa em água, as moléculas da superfície interagem umas com as outras em vez de formar uma interface com a água (ARAUJO *et al*; 2013). Em relação à liga contendo a película fina de Nb₂O₅, os resultados indicam uma tendência de superfície hidrofílica, $\Delta G_{SWS}^{Total} > 0$. Nesse ritmo, as moléculas de interface interagem preferencialmente com a água (ARAUJO *et al*; 2013). Outra observação que merece comentários está relacionada aos componentes da tensão superficial interfacial.

Tabela 2 - Valores de compostos polares ($\Delta G_{\text{sws}}^{\text{AB}}$) e não polares ($\Delta G_{\text{sws}}^{\text{LW}}$) da energia livre total de interação da liga Ti-6Al-4V não revestida e revestida.

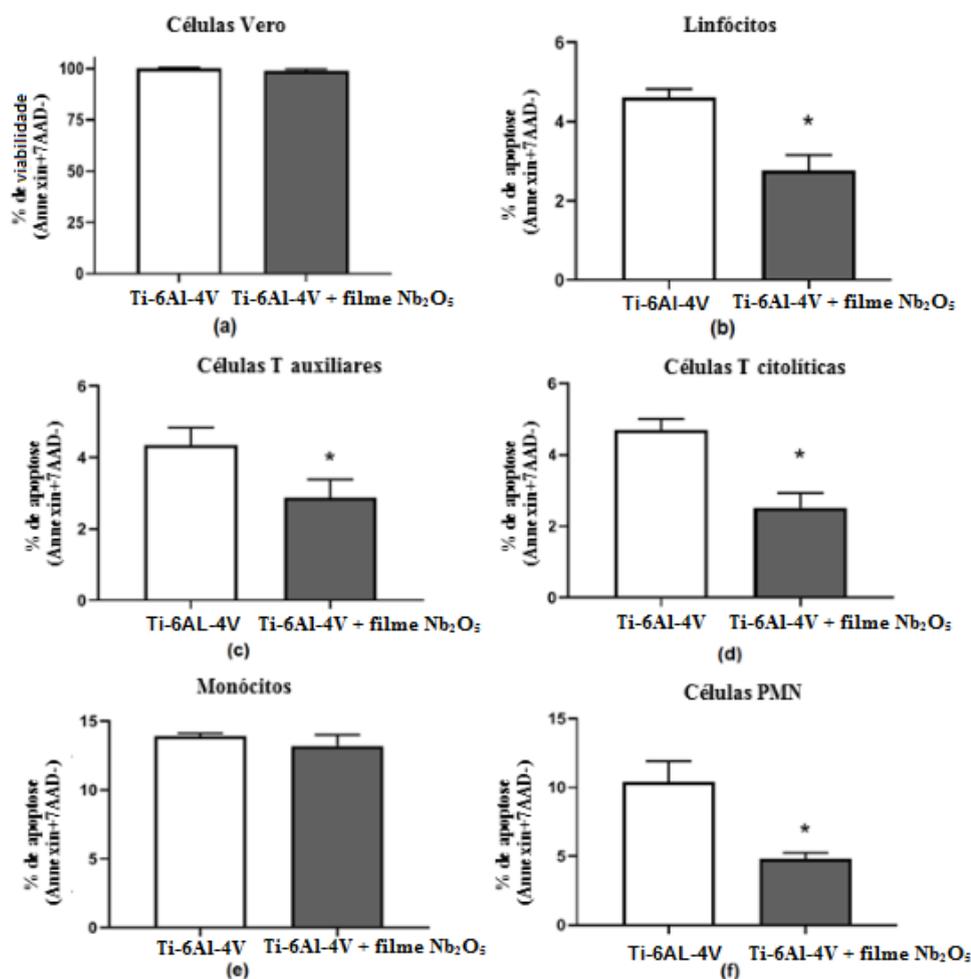
Superfície	$\Delta G_{\text{sws}}^{\text{LW}}$ (mJ m ⁻²)	$\Delta G_{\text{sws}}^{\text{AB}}$ (mJ m ⁻²)	$\Delta G_{\text{sws}}^{\text{Total}}$ (mJ m ⁻²)
Ti-6Al-4V	-3.127	-56.919	-60.046
Ti-6Al-4V + Nb ₂ O ₅	-3.627	6.478	2.851

Fonte: Da autora, 2021.

5.4 VIABILIDADE CELULAR E RESPOSTA IMUNOLÓGICA

A biocompatibilidade é uma das propriedades fundamentais dos metais implantáveis e estabelece a interação entre o metal e o corpo humano. Nossos resultados usando células VERO-CCL-81 mostraram que a Ti-6Al-4V e Ti-6Al-4V contendo filme fino de Nb₂O₅ eram biocompatíveis em um nível semelhante, superior a 97% para todas as condições avaliadas, conforme exibido na Figura 22 (a). Esses dados apontaram que o revestimento de Nb₂O₅ forneceu uma boa superfície para as células. Além disso, a liga Ti₆Al₄V revestida induziu significativamente menos apoptose, conforme demonstrado para linfócitos totais. (p = 0,004, Figura 22 (b)), células T auxiliares (p = 0,02, Figura 22 (c)), células T citolíticas (p = 0,003, Figura 22 (d)), monócitos (Figura 22 (e)) e células PMN (p = 0,02, Figura 22 (f)). Esses resultados mostraram que o filme de Nb₂O₅ aumentou a biocompatibilidade da Ti-6Al-4V para a maioria dos leucócitos sanguíneos.

Figura 22 - Efeito do biomaterial revestido e não revestido na viabilidade das células VERO e na apoptose do sangue de leucócitos humanos. (a) linha de células VERO-CCL-81, (b) linfócitos, (c) células T auxiliares, (d) células T citolíticas, (e) monócitos e (f) células PMN. As barras representam a média \pm erro padrão de amostras em triplicado. * $P \leq 0,05$ em comparação com a liga Ti-6Al-4V não revestida.



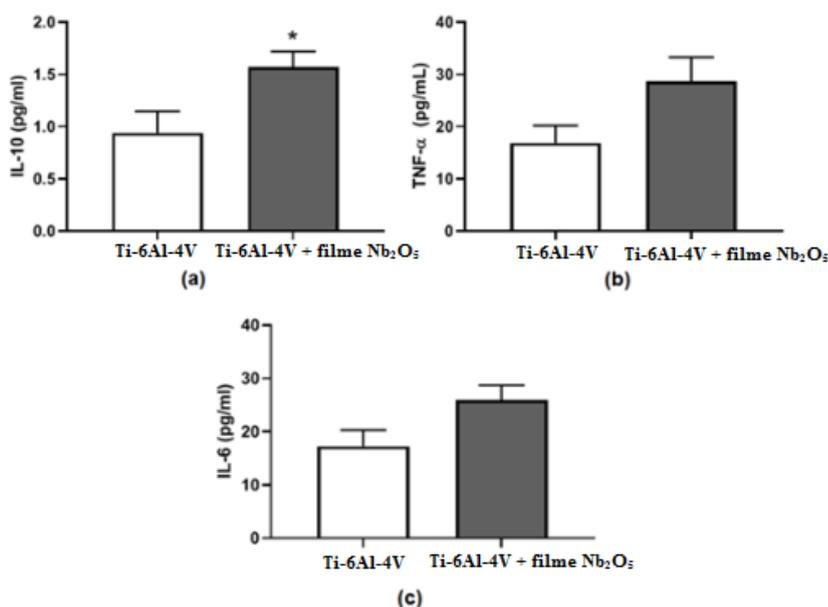
Fonte: Da autora, 2021.

Estratégias químicas e físicas têm sido empregadas para gerar revestimentos de materiais que comumente não são usados diretamente na implantologia. Revestimentos de óxido de nióbio (EISENBARTH *et al*; 2006) e carbono semelhante ao diamante (EURÍDICE *et al*, 2020), quando depositados por sol-gel ou Deposição Química de Vapor (CVD) em titânio e outros substratos, demonstraram bioatividade relevante. Neste estudo, sugerimos que o revestimento Nb₂O₅, além de garantir adesão celular superior, atua como uma barreira protetora contra efeitos potencialmente prejudiciais causados pela eventual liberação de íons resultantes do processo de corrosão, conforme relatado por outros estudos (ALBREKTSSON

et al; 2018, SHAH *et al*; 2016; HOSOKI *et al*; 2016; KIM *et al*; 2019).

Além de melhorar a compatibilidade celular ao reduzir a toxicidade celular das superfícies testadas, os biomateriais não devem induzir inflamação prejudicial após o contato celular. Em implantes dentários de titânio, as falhas de implantação podem ser causadas por reações inflamatórias nos tecidos circundantes devido à abrasão e corrosão da liga de titânio ou mesmo reações alérgicas às ligas de titânio (SOUZA *et al*; 2010; SOUZA *et al*; 2015; RAMEL *et al*; SCHWARZ *et al*; 2011; 2016; FAGE *et al*; 2016). A IL-10 é uma citocina antiinflamatória envolvida na prevenção de patologias inflamatórias e autoimunes (HAWRYLOWICZ; O’GARRA, 2005; O’GARRA *et al*; 2008). Aqui, demonstramos que o filme fino de Nb₂O₅ induziu uma produção de IL-10 significativamente maior em comparação com a liga Ti-6Al-4V não revestida (ver Figura 23 (a)). Observamos também uma produção semelhante de TNF- α e IL-6, citocinas pró-inflamatórias, além de tendência a níveis mais elevados em uma superfície funcionalizada com nióbio (Figura 23 (b)). As diferenças não significativas nos níveis de IL-6 e TNF- α entre a liga Ti-6Al-4V e Ti-6Al-4V contendo liga de filme fino de Nb₂O₅ sugerem a influência imunossupressora e antiinflamatória da IL-10 (MOSSER; EDWARDS, 2008).

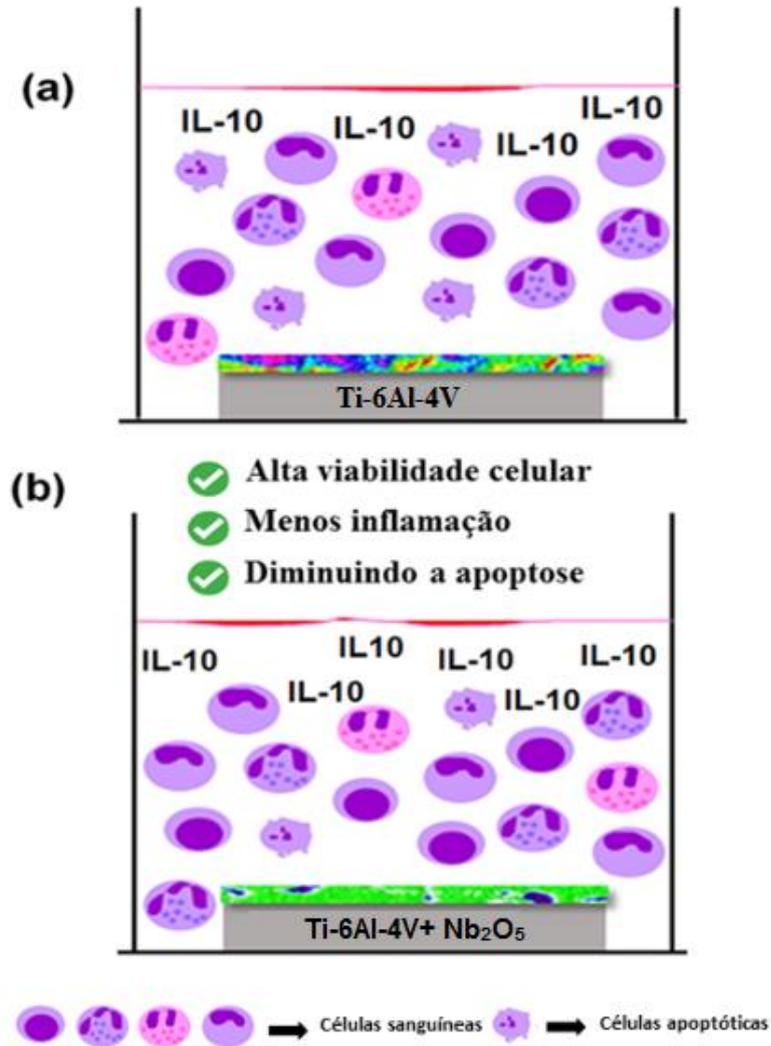
Figura 23 - Efeito de biomaterial revestido e não revestido na produção de citocinas de células de leucócitos de sangue humano. (a) IL-10, (b) TNF- α e (c) IL-6. As barras representam o nível de produção médio \pm erro padrão das citocinas de amostras quintuplicada $P \leq 0,05$ em comparação com a liga Ti-6Al-4V não revestida.



Fonte: Da autora, 2021.

A Figura 24 (a) mostra um desenho esquemático dos ensaios de viabilidade/toxicidade e liberação de citocinas usados no presente trabalho. A Figura 24 (b) mostra a liga Ti-6Al-4V revestida promovendo uma diminuição na apoptose com um possível efeito antiinflamatório devido ao aumento da liberação de IL-10.

Figura 24 - Desenho esquemático para ensaios biológicos. (a) liga Ti-6Al-4V e (b) liga Ti-6Al-4V contendo filme fino de Nb₂O₅.



Fonte: Da autora, 2021.

6 CONCLUSÃO

O comportamento morfológico e estrutural de importantes ligas de Ti-6Al-4V revestidas por filme fino de Nb₂O₅ foram investigados no presente trabalho. A técnica de sputtering reativo mostrou-se vantajosa para a produção de filme fino de Nb₂O₅ na liga Ti-6Al-4V, tornando-a mais hidrofílica ($\Delta G^{\text{total}} > 0$), o que é extremamente interessante para áreas relacionadas à biologia. Os resultados Raman indicaram uma grande banda em 700 cm⁻¹ e podem ser atribuídos ao modo de alongamento simétrico e anti-simétrico da ligação Nb-O-Nb. Estudos de XPS revelaram a formação de uma fase única na superfície do material com energia de ligação para o Nb 3d_{5/2} de 208,3 eV e uma divisão spin-órbita de 2,8 eV. Em relação aos ensaios biológicos, a liga Ti-6Al-4V contendo o revestimento Nb₂O₅ foi menos tóxica e induziu menos inflamação, demonstrando o poder da superfície funcionalizada na produção de citocinas antiinflamatórias quando comparada ao material base. A influência do filme fino de Nb₂O₅ nos processos de corrosão global e localizada em meios agressivos, mecanismos de desgaste, bem como estudos detalhados da relação de adesão superficial *in vitro* e *in vivo* serão considerados em trabalhos futuros.

REFERÊNCIAS

- ABE, J. O.; POPOOLA, A. P. I.; POPOOLA, O. M. Consolidation of Ti6Al4V alloy and refractory nitride nanoparticles by spark plasma sintering method: Microstructure, mechanical, corrosion and oxidation characteristics. **Materials Science and Engineering: A**, v. 774, p. 138920, 2020.
- ALBREKTSSON, Tomas *et al.* Foreign body reactions, marginal bone loss and allergies in relation to titanium implants. **European journal of oral implantology**, v. 11, 2018.
- ALVES, Adilson Rangel; COUTINHO, Aparecido dos Reis. The evolution of the niobium production in Brazil. **Materials Research**, v. 18, p. 106-112, 2015.
- AMARAVATHY, P. *et al.* Novel sol gel coating of Nb₂O₅ on magnesium alloy for biomedical applications. **Surface and Coatings Technology**, v. 244, p. 131-141, 2014.
- American Society for Testing and Materials. ASTM F67-00: Standard Specification for Unalloyed Titanium for Surgical Implant Applications. 2000.
- ANKHA, Milagros del Valle El Abras *et al.* Effect of DLC films with and without silver nanoparticles deposited on titanium alloy. **Brazilian dental journal**, v. 30, p. 607-616, 2019.
- ARAÚJO, Emiliane Andrade *et al.* Modification of stainless steel surface hydrophobicity by silver nanoparticles: strategies to prevent bacterial adhesion in the food processing. **Journal of adhesion science and technology**, v. 27, n. 24, p. 2686-2695, 2013.
- AZEVEDO, Cesar RF. Microestrutura do titânio e suas ligas para implantes cirúrgicos. **Revista Metalurgia e Materiais**, v. 1, n. 1, p. 445-7, 2003.
- BALAZIC, Matej *et al.* Titanium and titanium alloy applications in medicine. **International Journal of Nano and Biomaterials**, v. 1, n. 1, p. 3-34, 2007.
- BALTAR, C. A. M; SAMPAIO, J. A; ANDRADE, M. C. **Minerais de Titânio. Rochas e Minerais Industriais**. CETEM/MCT. p. 655- 676, 2005.
- BALTATU, Madalina Simona *et al.* Biocompatible titanium alloys used in medical applications. **Rev. Chim**, v. 70, n. 4, 2019.
- BAPTISTA, Andresa *et al.* Sputtering physical vapour deposition (PVD) coatings: A critical review on process improvement and market trend demands. **Coatings**, v. 8, n. 11, p. 402, 2018.
- BAPTISTA, Andresa *et al.* Revestimentos por deposição física de vapor pulverizado (PVD): uma revisão crítica sobre a melhoria do processo e as tendências do mercado. **Revestimentos** , v. 8, n. 11, pág. 402, 2018.
- BAPTISTA, Rolden; MORILLA, José Carlos. Utilização das Ligas de Titânio para Implantes de Substituição total de Quadril. **Unisanta Sci. Technol**, p. 36-39, 2013.
- BEYSENS, D. The formation of dew. **Atmospheric research**, v. 39, n. 1-3, p. 215-237, 1995.

BIASOTTO, Cleber *et al.* **Obtenção e caracterização de filmes finos de óxido, nitreto e oxinitreto de silício por deposição ECR-CVD.** 2005.

BOENTORO, T. W.; SZYSZKA, B. Protective coatings for optical surfaces. In: **Optical Thin Films and Coatings.** Woodhead Publishing, p. 540-563, 2013.

BOMMALA, Vijay Kumar; KRISHNA, Mallarapu Gopi; RAO, Ch Tirumala. Magnesium matrix composites for biomedical applications: A review. **Journal of Magnesium and Alloys**, v. 7, n. 1, p. 72-79, 2019.

BRAGA, Neila de Almeida; FERREIRA, Neidenêi Gomes; CAIRO, Carlos Alberto Alves. Obtenção de titânio metálico com porosidade controlada por metalurgia do pó. **Química Nova**, v. 30, p. 450-457, 2007.

BURCHAM, Loyd J.; DATKA, Jerzy; WACHS, Israel E. In situ vibrational spectroscopy studies of supported niobium oxide catalysts. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 103, n. 29, p. 6015-6024, 1999.

CALLISTER JR, William D.. **Ciência e engenharia dos materiais: uma introdução.** 5. ed. Rio de Janeiro: Ltc, p. 589, 2002.

CANABARRO, Micaela do Canto. **Análise da formação e da susceptibilidade a antimicrobianos de biofilmes de bactérias isoladas de peles humanas para uso em enxertos alógenos.** 2017.

ÇELIK, Ayhan *et al.* Improving structural, tribological and electrochemical properties of Ti6Al4V alloy with B-doped TiO₂ thin films. **Tribology International**, v. 146, p. 106210, 2020.

ÇELIK, Ayhan *et al.* Improving structural, tribological and electrochemical properties of Ti6Al4V alloy with B-doped TiO₂ thin films. **Tribology International**, v. 146, p. 106210, 2020.

CHAI, Feng *et al.* Improving endothelial cell adhesion and proliferation on titanium by sol-gel derived oxide coating. **Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials**, v. 92, n. 2, p. 754-765, 2010.

COMINOTTE, Mariana Aline. **Avaliação de diferentes tratamentos de superfícies de Ti6Al4V-ELI: análises físicas, químicas e biológicas in vitro,** 2020.

COŞKUN, Özlem Duyar; DEMIRELA, Selen. The optical and structural properties of amorphous Nb₂O₅ thin films prepared by RF magnetron sputtering. **Applied surface science**, v. 277, p. 35-39, 2013.

CREMASCO, Alessandra. Deformação Plástica a Frio, Transformação de Fases e Propriedades Mecânicas de Ligas Ti-Nb-Sn para Uso Biomédico. 243 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Mecânica, Unicamp, Campinas, 2012.

DANIŞMAN, Ş.; ODABAS, D.; TEBER, M. The effect of coatings on the wear behavior of Ti6Al4V alloy used in biomedical applications. In: **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**. IOP Publishing, p. 012044. 2018.

DANTAS, Rodrigo Tavares. **Injúria renal induzida pelo veneno de Bothrops insularis e o papel da molécula KIM-1 como biomarcador precoce**. 2016.

DATTA, Susmit *et al.* Mechanical, wear, corrosion and biological properties of arc deposited titanium nitride coatings. **Surface and Coatings Technology**, v. 344, p. 214-222, 2018.

DE ALMEIDA, L. H. *et al.* Corrosion resistance of aged Ti–Mo–Nb alloys for biomedical applications. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 615, p. S666-S669, 2014.

DE ALMEIDA BINO, Míriam Cristina *et al.* Structural and morphological characterization of Ti6Al4V alloy surface functionalization based on Nb2O5 thin film for biomedical applications. **Applied Surface Science**, v. 557, p. 149739, 2021.

DE BARROS, Ana Lucia Ferreira; VIGNOLI, Lucas Lisbôa; PEREIRA, Igor Fita. Nanotecnologia Relacionada aos Processos de Deposição a Vácuo. **Tecnologia & Cultura**, v. 13, n. 18, p. 78/84-78/84, 2011.

DING, Zeliang *et al.* Microstructure and properties of monolayer, bilayer and multilayer Ta2O5-based coatings on biomedical Ti-6Al-4V alloy by magnetron sputtering. **Ceramics International**, v. 47, n. 1, p. 1133-1144, 2021.

DINU, Mihaela *et al.* Characterization of electron beam deposited Nb2O5 coatings for biomedical applications. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 103, p. 103582, 2020.

DONACHIE Jr., Matthew J.. **Titanium: A Technical guide**. 2. ed. Ohio: Asm., p. 367, 2000.

DONG, H.; BELL, T. Enhanced wear resistance of titanium surfaces by a new thermal oxidation treatment. **Wear**, v. 238, n. 2, p. 131-137, 2000.

DONIACH, Sebastian; SUNJIC, M. Many-electron singularity in X-ray photoemission and X-ray line spectra from metals. **Journal of Physics C: Solid State Physics**, v. 3, n. 2, p. 285, 1970.

EISENBARTH, E. *et al.* Nanostructured niobium oxide coatings influence osteoblast adhesion. **Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials**, v. 79, n. 1, p. 166-175, 2006.

ELIAZ, N. Corrosion of metallic biomaterials: a review. **Materials**, v. 12, n. 3, p. 407, 2019.

EURIDICE, Washington Alves *et al.* aC: H films produced by PECVD technique onto substrate of Ti6Al4V alloy: Chemical and biological responses. **Applied Surface Science**, v. 503, p. 144084, 2020.

FAGE, Simon W. *et al.* Titanium: a review on exposure, release, penetration, allergy, epidemiology, and clinical reactivity. **Contact Dermatitis**, v. 74, n. 6, p. 323-345, 2016.

FELLAH, Mamoun *et al.* Tribological behavior of Ti-6Al-4V and Ti-6Al-7Nb alloys for total hip prosthesis. **Advances in Tribology**, v. 2014, 2014.

FERREIRA, Pedro Miguel Soares. **Estudo da maquinabilidade das ligas Ti-6Al-4V e Co-28Cr-6Mo na fresagem de dispositivos biomédicos**. Tese de Doutorado. Universidade de Aveiro (Portugal), 2015.

FIALHO, José FQ *et al.* Stainless steel and polyethylene surfaces functionalized with silver nanoparticles. **Food Science and Technology International**, v. 24, n. 1, p. 87-94, 2018.

FOTOVVATI, Behzad; NAMDARI, Navid; DEHGHANGHADIKOLAEI, Amir. On coating techniques for surface protection: A review. **Journal of Manufacturing and Materials Processing**, v. 3, n. 1, p. 28, 2019.

GEETHA, Manivasagam *et al.* Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants—a review. **Progress in materials science**, v. 54, n. 3, p. 397-425, 2009.

GHOSH, Subir *et al.* Performance analysis of grafted poly (2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) on additively manufactured titanium substrate for hip implant applications. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 100, p. 103412, 2019.

GRABARCZYK, Jacek *et al.* Tribocorrosion behavior of Ti6Al4V alloy after thermochemical treatment and DLC deposition for biomedical applications. **Tribology International**, v. 153, p. 106560, 2021.

HAWRYLOWICZ, C. M.; O'GARRA, A. Potential role of interleukin-10-secreting regulatory T cells in allergy and asthma. **Nature Reviews Immunology**, v. 5, n. 4, p. 271-283, 2005.

HORN, MSCF; SCHWEBDTFEGER, CF; MEAGHER, EP Refinamento da estrutura da anatase em diversas temperaturas. **Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials**, v. 136, n. 1-6, pág. 273-281, 1972.

HOSOKI, Maki *et al.* Allergic contact dermatitis caused by titanium screws and dental implants. **Journal of prosthodontic research**, v. 60, n. 3, p. 213-219, 2016.

ISO 10993-5:2009. Biological evaluation of medical devices - Part 5: tests for in vitro cytotoxicity. **Ed. Geneva**. 3, 2009.

JESUÍNO, GA *et al.* Propriedades mecânicas e resistência à corrosão da liga Ti-4Al-4V obtida da reciclagem da liga Ti-6Al-4V. **Pesquisa de Materiais**, v. 4, p. 63-69, 2001.

KAO, W. H.; SU, Y. L.; HSIEH, Y. T. Effects of duplex nitriding and TiN coating treatment on wear resistance, corrosion resistance and biocompatibility of Ti6Al4V alloy. **Journal of Materials Engineering and Performance**, v. 26, n. 8, p. 3686-3697, 2017.

KAUR, Sukhpreet; GHADIRINEJAD, Khashayar; H OSKOUEI, Reza. An overview on the

tribological performance of titanium alloys with surface modifications for biomedical applications. **Lubricants**, v. 7, n. 8, p. 65, 2019.

KAWASHITA, Masakazu *et al.* Electrodeposition of apatite onto titanium substrates under pulse current. In: **Interface Oral Health Science 2009**. Springer, Tokyo, p. 305-307, 2010.

KIM, Kyeong Tae *et al.* General review of titanium toxicity. **International journal of implant dentistry**, v. 5, n. 1, p. 1-12, 2019.

KOLLI, R. Prakash; DEVARAJ, Arun. A review of metastable beta titanium alloys. **Metals**, v. 8, n. 7, p. 506, 2018.

KUPHASUK, Chotiros *et al.* Electrochemical corrosion of titanium and titanium-based alloys. **The Journal of prosthetic dentistry**, v. 85, n. 2, p. 195-202, 2001.

LARIO, Joan *et al.* Corrosion behaviour of Ti6Al4V ELI nanotubes for biomedical applications. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 8, n. 6, p. 5548-5556, 2019.

LARIO, Joan *et al.* Comportamento de corrosão de nanotubos Ti6Al4V ELI para aplicações biomédicas. **Jornal de Pesquisa e Tecnologia de Materiais**, v. 8, n. 6, p. 5548-5556, 2019.

LEE, C. M.; JU, Chien-Ping; CHERN LIN, J. H. Structure–property relationship of cast Ti–Nb alloys. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 29, n. 4, p. 314-322, 2002.

LEE, Seung-Hwan *et al.* Compositional and electrical modulation of niobium oxide thin films deposited by plasma-enhanced atomic layer deposition. **Ceramics International**, v. 43, n. 8, p. 6580-6584, 2017.

LEYENS, C. PETERS, M. Titanium and Titanium Alloys. Germany. Wiley-VCH GmbH & Co. KGaA. p. 513, 2003.

LI, S. J. *et al.* Wear characteristics of Ti–Nb–Ta–Zr and Ti–6Al–4V alloys for biomedical applications. **Wear**, v. 257, n. 9-10, p. 869-876, 2004.

LI, Yong *et al.* Lili. New developments of Ti-based alloys for biomedical applications. **Materials**, p. 1709-1800, 2004.

LI, Yuhua *et al.* New developments of Ti-based alloys for biomedical applications. **Materials**, v. 7, n. 3, p. 1709-1800, 2014.

LIAO, Shu-Chuan *et al.* In vitro and in vivo biocompatibility study of surface modified TiN deposited on Ti6Al4V using high-power impulse magnetron sputtering technique. **Surface and Coatings Technology**, v. 394, p. 125814, 2020.

LIM, Jung Yul *et al.* Surface energy effects on osteoblast spatial growth and mineralization. **Biomaterials**, v. 29, n. 12, p. 1776-1784, 2008.

LIMA, C. R. P. ROCHA MELLO, G. M. CARAM, R. Caracterização microestrutural das ligas ti -13nb-13zr e ti35,3nb-5,1ta-7,1zr processadas através de forjamento rotativo

(swaging). **Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências dos Materiais**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, Novembro, 2002.

LIMA, E. C.; GUARANY, C. A.; ARAÚJO, E. B. Construção de um sistema de pulverização catódica DC de baixo custo para deposição de filmes metálicos, 2008.

LIMA, Morgana Siqueira *et al.* Avaliação in vitro da biocompatibilidade de discos de titânio enriquecidos e modificados por ionização (edm) em cultura de osteoblastos, 2018.

LISBOA, A.; BARIN, C. S. / UNOPAR **Cient. Exatas Tecnol.** Londrina, v. 8, n. 1, p. 27-33, Nov. 2009

LIU, Xuanyong; CHU, Paul K.; DING, Chuanxian. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. **Materials Science and Engineering: R: Reports**, v. 47, n. 3-4, p. 49-121, 2004.

LNEC. Laboratório Nacional de Engenharia Civil. Aplicação de titânio e suas ligas na construção: Estudo da Corrosão Galvânica do Par Aço Inoxidável/Titânio em Meio Alcalino. **Relatório 274/2007 – NMM**. Lisboa, 2007.

LONGHITANO, Guilherme Arthur. Funcionalização por anodização de estruturas celulares (scaffolds) de Ti-6Al-4V ELI produzidas por manufatura aditiva para utilização em implantes ortopédicos. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica, Campinas, p. 174, 2019.

LÜTJERING, Gerd; WILLIAMS, James C. Commercially Pure (CP) Titanium and Alpha Alloys. In: **Titanium**. Springer, Berlin, Heidelberg. p. 149-175, 2003.

LUZ, A. P.; RIBEIRO, S.; PANDOLFELLI, V. C. Use of the wettability in the investigation of the corrosion behaviour of the refractory materials. **Cerâmica**, v. 54, n. 330, p. 174-183, 2008.

MACEDO, Haroldo Reis Alves de. Efeito do tratamento térmico do titânio sobre a proliferação de células pré-osteoblásticas. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2008.

MACHUNO, Luís Gustavo Baptista *et al.* Desenvolvimento e avaliação de uma fonte DC de alta tensão para utilização em sistema de deposição de filmes finos por pulverização catódica. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 21, p. 492-500, 2016.

MARTINS, Moema. Produção de superfícies seletivas por magnetron sputtering para aplicação em coletores solares. Dissertação (Mestrado), UFRJ/COPPE, Rio de Janeiro, Março, 2010.

MARZBAN, Kazem *et al.* Nanostructured akermanite glass-ceramic coating on Ti6Al4V for orthopedic applications. **Journal of applied biomaterials & functional materials**, v. 17, n. 2, p. 2280800018793819, 2019.

MATTOX, Donald M. Handbook of physical vapor deposition (PVD) processing. William Andrew, 2010.

MAZUR, M. *et al.* Determination of structural, mechanical and corrosion properties of Nb₂O₅ and (Nb_yCu_{1-y}) O_x thin films deposited on Ti6Al4V alloy substrates for dental implant applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 47, p. 211-221, 2015.

MAZZA, T. *et al.* Raman spectroscopy characterization of Ti O₂ rutile nanocrystals. **Physical Review B**, v. 75, n. 4, p. 045416, 2007.

MELLO, G. M. R. “Efeito de Elementos Betagênicos na Estabilidade de Fases e Propriedades de Ligas de Titânio para Implantes Ortopédicos.” Tese de Doutorado, Unicamp, 2004.

MELLO, Gisela Martinelli Rocha *et al.* Efeito de elementos betagênicos na estabilidade de fases e propriedades de ligas de titânio para implantes ortopédicos. 2004.

MICKOVA, Irena. Photoelectro chemical study of anodically formed oxide films on niobium surfaces. **Croatia Chemica Acta**, v. 83, n. 2, p. 113-120, 2010.

MILAN, Peiman Brouki *et al.* Copper-enriched diamond-like carbon coatings promote regeneration at the bone-implant interface. **Heliyon**, v. 6, n. 4, p. e03798, 2020.

MISHNAEVSKY JR, Leon *et al.* Nanostructured titanium-based materials for medical implants: Modeling and development. **Materials Science and Engineering: R: Reports**, v. 81, p. 1-19, 2014.

MORAIS, Liliane Siqueira de; GUIMARÃES, Glaucio Serra; ELIAS, Carlos Nelson. Liberação de íons por biomateriais metálicos. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, v. 12, n. 6, p. 48-53, 2007.

MORCELLI, Aparecido Edilson. Estudo dos micromecanismos de deformação e fratura da liga de Titânio Ti-6Al-4V utilizando-se técnicas de microscopia eletrônica e difração de Raios-X. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2009.

MOSSER, David M.; EDWARDS, Justin P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. **Nature reviews immunology**, v. 8, n. 12, p. 958-969, 2008.

NARITA, Kengo; NIINOMI, Mitsuo; NAKAI, Masaaki. Effects of micro-and nano-scale wave-like structures on fatigue strength of a beta-type titanium alloy developed as a biomaterial. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 29, p. 393-402, 2014.

NEMATI, Ali *et al.* Magnetron-sputtered Ti_xNy thin films applied on titanium-based alloys for biomedical applications: Composition-microstructure-property relationships. **Surface and Coatings Technology**, v. 349, p. 251-259, 2018.

NESH, KELLY. Disponível em: <http://www.mindat.org/photo-170299.html>

NETO, Antonio Alves Amorim. Titânio. **Sumário Mineral Brasileiro**, 2011.

NETO, Antonio Alves Amorim; DE ALMEIDA, Arnaldo Bezerra Lopes. Titânio. **Sumário Mineral Brasileiro**, 2012.

NOUICER, E.; BENLAHRECHE, F.; NOUICER, A. Spectroscopic Characterization of Titanium Alloy Surface in a Biological Medium. **Acta Physica Polonica A**, v. 131, n. 1, p. 28-31, 2017.

O'GARRA, Anne *et al.* Strategies for use of IL-10 or its antagonists in human disease. **Immunological reviews**, v. 223, n. 1, p. 114-131, 2008.

OLDANI, Carlos; DOMINGUEZ, Alejandro. Titanium as a Biomaterial for Implants. **Recent advances in arthroplasty**, v. 218, p. 149-162, 2012.

OLIVARES-NAVARRETE, Rene *et al.* Direct and indirect effects of microstructured titanium substrates on the induction of mesenchymal stem cell differentiation towards the osteoblast lineage. **Biomaterials**, v. 31, n. 10, p. 2728-2735, 2010.

OLIVEIRA, H. C. P. "Análise da estrutura das ligas de ti – nb – 3% Al temperadas e sua alteração à temperatura". Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 2007.

OLIVEIRA, Helton Salles de *et al.* Efeito do teor de niobio e da taxa de resfriamento sobre a microestrutura e resistencia a corrosão de ligas Ti-Nb. 2007.

OLIVEIRA, V. *et al.* Preparação e caracterização de ligas de ti-al-nb para implantes ortopédicos. **Braz. J. Chem. Eng.**, São Paulo, v. 15, n. 4, p. 326-333, dezembro de 1998.

OREL, Boris *et al.* In situ UV-Vis and ex situ IR spectroelectrochemical investigations of amorphous and crystalline electrochromic Nb₂O₅ films in charged/discharged states. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 2, n. 4, p. 221-236, 1998.

OWENS, Daniel K.; WENDT, R. C. Estimation of the surface free energy of polymers. **Journal of applied polymer science**, v. 13, n. 8, p. 1741-1747, 1969.

PARTICHELI, Marcio José. Estrutura e molhabilidade de filmes finos de carbono amorfo hidrogenado expostos a radiação. Dissertação (Mestrado) - Curso de Física, Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville, 2015.

PAULINE, S. Anne; RAJENDRAN, N. Biomimetic novel nanoporous niobium oxide coating for orthopaedic applications. **Applied Surface Science**, v. 290, p. 448-457, 2014.

PEIXOTO, A. S.; RAMOS, A. S. Filmes Finos & Revelação de Impressões Digitais Latentes. **C.Tecn. Mat.**, Lisboa, v. 22, n. 1-2, p. 29-47, jun. 2010.

PILLIS, Marina Fuser *et al.* Corrosion of thin, magnetron sputtered Nb₂O₅ films. **Corrosion Science**, v. 102, p. 317-325, 2016.

PINTO, Gilberto Ribeiro Rigueti. Caracterização de ligas a base de titânio com adição de Nb, Zr e Pd, para finalidades biomédicas. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado, COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 2005.

PITYANA, Sisa L. *et al.* Laser surface deposition of niobium and titanium-niobium on Ti6Al4V substrates for biomedical applications. **Journal of the Southern African Institute**

of **Mining and Metallurgy**, v. 119, n. 4, p. 385-389, 2019.

PRADHAN, D. *et al.* Investigating the structure and biocompatibility of niobium and titanium oxides as coatings for orthopedic metallic implants. **Materials Science and Engineering: C**, v. 58, p. 918-926, 2016.

PRUITT, Lisa A.; CHAKRAVARTULA, Ayyana M. Mechanics of biomaterials: fundamental principles for implant design. **MRS Bulletin**, v. 37, n. 7, p. 698-698, 2012.

RAMEL, Christian F. *et al.* Surface roughness of dental implants and treatment time using six different implantoplasty procedures. **Clinical oral implants research**, v. 27, n. 7, p. 776-781, 2016.

RAMÍREZ, G. *et al.* Niobium based coatings for dental implants. **Applied Surface Science**, v. 257, n. 7, p. 2555-2559, 2011.

RATTIER, Buddy D. *et al.* Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. **Journal of Clinical Engineering**, v. 22, n. 1, p. 26, 1997.

RIBEIRO, L. M. Titânio e suas ligas como biomateriais em substituições de tecidos duros. Trabalho de conclusão de curso. Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas. Belo Horizonte, 2014.

RUDAWSKA, Anna; JACNIACKA, Elżbieta. Evaluating uncertainty of surface free energy measurement by the van Oss-Chaudhury-Good method. **International Journal of Adhesion and Adhesives**, v. 82, p. 139-145, 2018.

SANTOS, Heberton Wender Luiz dos. Síntese de nanopartículas metálicas por deposição física de vapor em líquidos iônicos e óleos vegetais. 2011.

SCHAEFFER, Lirio. Fundamentos do projeto de ferramentas para o processo de estampagem. **Revista Ferramental–Revista Brasileira da Indústria de Ferramentas**. Ano I, n. 6, p. 39-44, 2006.

SCHULZ, Klaus J. *et al.* (Ed.). **Critical mineral resources of the United States: economic and environmental geology and prospects for future supply**. Geological Survey, 2018.

SCHWARZ, Frank *et al.* Impact of the method of surface debridement and decontamination on the clinical outcome following combined surgical therapy of peri-implantitis: a randomized controlled clinical study. **Journal of clinical periodontology**, v. 38, n. 3, p. 276-284, 2011.

SCOTCHFORD, Colin A. *et al.* Chemically patterned, metal-oxide-based surfaces produced by photolithographic techniques for studying protein-and cell-interactions. II: Protein adsorption and early cell interactions. **Biomaterials**, v. 24, n. 7, p. 1147-1158, 2003.

SHAH, Rucha *et al.* Titanium Corrosion: Implications For Dental Implants. **The European journal of prosthodontics and restorative dentistry**, v. 24, n. 4, p. 171-180, 2016.

SHIBATA, Yo *et al.* Glow discharge plasma treatment of titanium plates enhances adhesion of osteoblast-like cells to the plates through the integrin-mediated mechanism. **International**

Journal of Oral & Maxillofacial Implants, v. 17, n. 6, 2002.

SHIRLEY, Dave A. High-resolution X-ray photoemission spectrum of the valence bands of gold. **Physical Review B**, v. 5, n. 12, p. 4709, 1972.

SHUKLA, K. *et al.* Structural, mechanical and corrosion resistance properties of Ti/TiN bilayers deposited by magnetron sputtering on AISI 316L. **Surface and Coatings Technology**, v. 324, p. 167-174, 2017.

SILVA, Márcia Almeida. Estrutura, propriedades e comportamento mecânico de ligas Ti-(6-15%p) Mo temperadas e ciclicamente deformadas. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciência e Tecnologia. Laboratório de Materiais Avançados. Campos dos Goytacazes, 2014.

SINGH, Jarnail; CHATHA, Sukhpal Singh; SINGH, Hazoor. Characterization and corrosion behavior of plasma sprayed calcium silicate reinforced hydroxyapatite composite coatings for medical implant applications. **Ceramics International**, v. 47, n. 1, p. 782-792, 2021.

SOBOLEV, Alexander *et al.* Coating formation on Ti-6Al-4V alloy by micro arc oxidation in molten salt. **Materials**, v. 11, n. 9, p. 1611, 2018.

SONG, Chen *et al.* A novel method for in-situ synthesized TiN coatings by plasma spray-physical vapor deposition. **Materials Letters**, v. 217, p. 127-130, 2018.

SOUNDARARAJAN, Sudhagara Rajan *et al.* Processing of beta titanium alloys for aerospace and biomedical applications. In: **Titanium Alloys-Novel Aspects of Their Manufacturing and Processing**. IntechOpen, 2018.

SOUSA, Marina. SOARES, Olivério. Pulverização catódica — Notas introdutórias. **Gaz. Fís.**, v. 13, Fase. 3, Universidade do Porto, 1990.

SOUZA, J. C. M. *et al.* Do oral biofilms influence the wear and corrosion behavior of titanium?. **Biofouling**, v. 26, n. 4, p. 471-478, 2010.

SOUZA, Júlio CM *et al.* Como o titânio e o Ti6Al4V se corroem em meio fluoretado, encontrado na cavidade oral? Um estudo in vitro. **Ciência e Engenharia de Materiais: C**, v. 47, p. 384-393, 2015.

SUN, Yi *et al.* Phase transition, microstructure and mechanical properties of TC4 titanium alloy prepared by plasma activated sintering. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 741, p. 918-926, 2018.

TONG, Y. X. *et al.* Effects of Sn and Zr on the microstructure and mechanical properties of Ti-Ta-based shape memory alloys. **Journal of materials engineering and performance**, v. 20, n. 4, p. 762-766, 2011.

USHA, N. *et al.* Niobium pentoxide (Nb₂O₅) thin films: rf Power and substrate temperature induced changes in physical properties. **Optik-International Journal for Light and Electron Optics**, v. 126, n. 19, p. 1945-1950, 2015.

VALE, Natália Lopes do. Caracterização de revestimentos depositados por atrito da liga de Ti-6Al-4V e do titânio grau 1 sobre substrato de Ti-6Al-4V. (Dissertação) de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

VAN OSS, Carel J. **Interfacial forces in aqueous media**. CRC press, 2006.

VEIGA, Celestino; DAVIM, J. P.; LOUREIRO, A. J. R. Properties and applications of titanium alloys: a brief review. **Rev. Adv. Mater. Sci**, v. 32, n. 2, p. 133-148, 2012.

VENKATARAJ, S. *et al.* Characterization of niobium oxide films prepared by reactive DC magnetron sputtering. **physica status solidi (a)**, v. 188, n. 3, p. 1047-1058, 2001.

WANG, Jingtao *et al.* Effect of electrolyte composition on the microstructure and bio-corrosion behavior of micro-arc oxidized coatings on biomedical Ti6Al4V alloy. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 9, n. 2, p. 1477-1490, 2020.

WENNERBERG, Ann; ALBREKTSSON, Tomas. On implant surfaces: a review of current knowledge and opinions. **International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 25, n. 1, 2010.

WU, Souheng. Calculation of interfacial tension in polymer systems. In: **Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia**. New York: Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, p. 19-30, 1971.

WU, Souheng. Polar and nonpolar interactions in adhesion. **The Journal of Adhesion**, v. 5, n. 1, p. 39-55, 1973.

XAVIER, Francisco Candido, Que eu não perca.

YAN, Xingchen *et al.* Effect of heat treatment on the corrosion resistance behavior of selective laser melted Ti6Al4V ELI. **Surface and Coatings Technology**, v. 396, p. 125955, 2020.

YANG, Chuang *et al.* Advanced antibacterial activity of biocompatible tantalum nanofilm via enhanced local innate immunity. **Acta biomaterialia**, v. 89, p. 403-418, 2019.

ZHANG, Hongwei *et al.* Different corrosion behaviors between α and β phases of Ti6Al4V in fluoride-containing solutions: Influence of alloying element Al. **Corrosion Science**, v. 169, p. 108605, 2020.

ZHANG, Lai-Chang; CHEN, Liang-Yu. A review on biomedical titanium alloys: recent progress and prospect. **Advanced engineering materials**, v. 21, n. 4, p. 1801215, 2019.

ZHANG, Ting *et al.* Chitosan/hydroxyapatite composite coatings on porous Ti6Al4V titanium implants: in vitro and in vivo studies. **Journal of Periodontal & Implant Science**, v. 50, n. 6, p. 392, 2020.

ZHANG, Yifei *et al.* Chemical leveling mechanism and oxide film properties of additively manufactured Ti-6Al-4V alloy. **Journal of Materials Science**, v. 54, n. 21, p. 13753-13766, 2019.

ZHENG, Yufeng. **Nucleation mechanisms of refined alpha microstructure in beta titanium alloys**. The Ohio State University, 2013.

ANEXO A – Artigo Científico

Applied Surface Science xxx (xxxx) 149739



Contents lists available at ScienceDirect

Applied Surface Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/apsusc

Full Length Article

Structural and morphological characterization of Ti₆Al₄V alloy surface functionalization based on Nb₂O₅ thin film for biomedical applications

Míriam Cristina de Almeida Bino^a, Washington Alves Euridice^a, Rogério Valentim Gelamo^b, Natália Bueno Leite^a, Marcos Vinicius da Silva^c, Abner de Siervo^d, Marcelo Rodrigues Pinto^e, Patricia Andressa de Almeida Buranello^a, Jéfeison Aparecido Moreto^{a,*}

^a Institute of Exact and Natural Sciences and Education, Federal University of Triângulo Mineiro (UFTRM), Avenida Doutor Raulo Borges Júnior, Univercidade, 38064200 Uberaba, Minas Gerais, Brazil

^b Institute of Technological and Exact Sciences, Federal University of Triângulo Mineiro (UFTRM), Avenida Doutor Raulo Borges Júnior, Univercidade, Uberaba, Minas Gerais, Brazil

^c Laboratory of Immunology and Bioinformatics, Institute of Natural and Biological Sciences, Federal University of Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brazil

^d Surface Science Group, Physics Department, University of Campinas – UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil

^e Department of Dentistry, University of Uberaba, Uberaba, MG, Minas Gerais, Brazil

ARTICLE INFO

Keyword:
Ti₆Al₄V alloy
Nb₂O₅ coating
Functional materials
Implants
Biomedical application

ABSTRACT

This paper proposes an applied and innovative research for the development of Nb₂O₅ thin film on the Ti₆Al₄V alloy surface with great prospects of being used in the biomedical area. Thin films of Nb₂O₅ have been deposited on the Ti₆Al₄V alloy surface by using the reactive sputtering technique. The system was characterized morphologically and structurally via SEM/EDX, AFM, FTIR, Raman spectroscopy and XPS. Interfacial tension theory was used for the determination of the surface free energy and showed that the treated surface became more hydrophilic when compared to the bare material. The high-resolution X-ray photoelectron spectra from Nb 3d and O 1s core-levels demonstrate unequivocally the presence of a single-phase Nb₂O₅. Cytotoxicity and biocompatibility (VERO-CCL-81 cell line) tests as well as analyzes of inflammatory responses with Human blood leukocyte cells were also performed by showing that Nb₂O₅ coating reduced both Ti₆Al₄V alloy toxicity and its inflammation induction besides increasing the anti-inflammatory cytokine levels. Since the surface functionalization resulted in both higher biocompatibility and tolerance by immune cells besides low inflammatory levels concerning the base material, we present a superior material with wide spectra of usage in the biomedical area.

1. Introduction

The search for new technologies with biomedical applications has been intense over the past few years. As science evolves new strategies and new materials are developed in a niche in which the material science has assumed a relevant role in the development of devices capable of meeting demands ranging from ocular, orthopedic, cardiovascular medicines to the orthodontic area. Considering the long lifespan that these materials must have while immersed in a corrosive environment such as the physiological environment, we need to focus on three crucial points to select good candidates for functional materials: the host reactions induced by the material, the degradation of the material in

the body environment and the resistance to the biomechanical efforts to which it will be subject [1–7].

Among the materials considered for use as functional materials are metals and alloys, ceramics, polymers, and composites [1,3–5]. Great emphasis has been given to metallic compounds citing Co, stainless steel, and Ti alloys. However, titanium alloys have stood out for being a material of greater biocompatibility compared to the others, since alloys based on stainless steel and CoCr are more prone to corrosion to release metal ions in the physiological environment leading more easily to the side effects such as inflammation and device rejection [5]. Titanium alloys were initially used for orthodontic purposes. In this field, it was possible to observe that this material is the only metallic biomaterial for bone integration that has a bioactive behavior once that the low in-

* Corresponding author.

E-mail address: jeferson.moreto.uftrm@gmail.com (J.A. Moreto).

<https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2021.149739>

Received 24 November 2020; Received in revised form 24 March 2021; Accepted 1 April 2021
0169-4332/© 2021

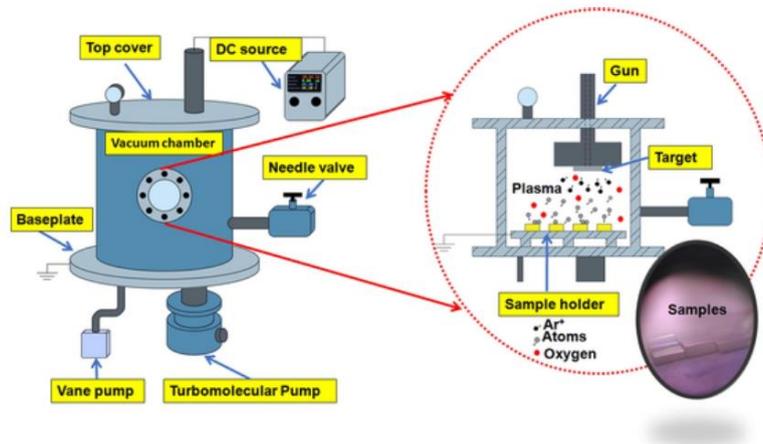


Fig. 1. Schematic drawing of the sputtering system used in the present work. Illustration adapted from Machuno et al [41].

crease of hydrated titanium oxide on the Ti implants surfaces result in the calcium and phosphorus incorporation by increasing the quality and durability of these devices under physiological conditions [8–12].

Ti₆Al₄V has been frequently used in biomedical applications [13–18]. Despite having advantages over other materials, this alloy is not free from corrosion and has low hardness, despite its low wear resistance [1,5–7,13–18]. In order to circumvent these problems and further expand the use of this alloy, the treatment of these surfaces has been an effective strategy [8,14,19–21]. Wang et al [14] acquired excellent surface and corrosion resistance in calcium phosphate electrolyte after preparing bioactive ceramic coatings in Ti₆Al₄V alloys by micro-arc oxidation as a strategy to increase the bioactivity of the alloy and its inability to form bone fusion with surrounding bones *in vivo*. Eurídice et al [21] showed that the deposition of diamond-like carbon (DLC) film to cover the Ti₆Al₄V alloy by plasma-enhanced chemical vapour deposition (PECVD) technique promoted the alloy protection on the physiological environment and improved the biocompatibility. Nemati et al [8] deposited Ti_xN_y thin films on Ti₆Al₄V substrates in a mixed atmosphere of Ar and N₂ via the magnetron sputtering system. They obtained superior corrosion resistance and biocompatibility that can pave the way towards advanced bio-coatings with multifaceted features [8]. Countless studies follow this line and present several surface treatments by different methodologies that achieve interesting results regarding biocompatibility. However, it is even more interesting to find alternatives that, besides being efficient, are environmentally friendly and that enable the enrichment of local economies.

In this scenario, we highlight Niobium which is a very abundant metallic compound in Brazil. Brazil holds about 90% of the world's production of this matter since there are the world's largest reserves of Nb (98.53%), followed by Canada (1.01%) and Australia (0.46%) [22,23]. The Triângulo Mineiro region has the largest reserve of Niobium located in the Araxá microrregion in the state of Minas Gerais comprising 75.08% of the Brazilian reserves [23]. Interestingly, Nb alloys show remarkably low elastic modulus, excellent corrosion resistance, and the presence of a metastable β phase when dissolved in the Ti structure which can create a passive layer when exposed to a corrosive medium [18,24–26]. As it is a transition metal, Nb can form oxides that make up a category of materials widely explored since they have a high refractive index and large dielectric constants. Its applications are broad

for technological applications in intelligent optical windows, displays, and electrochromic devices [27]. Despite this, the electrical properties of niobium oxides differ according to their stoichiometry. Concerning its band structure NbO presents a conductive behavior while NbO₂ is a semiconductor and Nb₂O₅ insulator. Among them, Nb₂O₅ stands out for being the most thermodynamically stable and presenting excellent chemical stability and resistance to acid and alkaline conditions [27, 28].

Nb₂O₅ films were characterized through XRD, FTIR e Raman spectroscopies [29]. The electrochromic properties of amorphous films and films with the TT-phase were stated from *in situ* ultraviolet–visible and correlated with *ex-situ* IR transmission spectra of charged films. It was shown that the amorphous film charging was accompanied by variations of the Nb-O stretching mode intensity, while, splitting of the Nb₂O stretching modes and the appearance of polaron absorption were noted with Li⁺ ion insertion for TT- and T-phase films which are relevant properties to smart materials development. Nb₂O₅ thin films were also obtained by magnetron sputtering becoming a strategy that improved the corrosion resistance and biological response of the substrates [30,31]. The literature also shows that there are general trends between the Nb₂O₅ thin film deposition conditions and physicochemical properties which encourages studies on the resulting biocompatibility with the use of niobium oxides [30–37].

In this paper, thin films of Nb₂O₅ have been deposited on the Ti₆Al₄V alloy surface by using the reactive sputtering technique to be used as a functional material. The choice for the deposition method was because reactive sputtering is an environmentally friendly method to produce coatings with excellent adhesion, homogeneous layers, designed structures, graduated properties, and controlled morphology [38,39]. Despite this, the equipment requires low maintenance and there is flexibility in using any organic and inorganic material as a deposition layer while the coating layer offers high hardness and corrosion resistance [38–40]. The films produced were characterized morphologically and structurally via scanning electron microscopy (SEM), atomic force microscopy (AFM), energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX), Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), Raman spectroscopy (RS), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), X-ray diffraction (XRD) and contact angle measurements. After the detailed characterization of the coated and uncoated, cytotoxicity and biocompatibility ((VERO-CCL-81 cell line) tests, as well as analyzes of inflammatory responses with

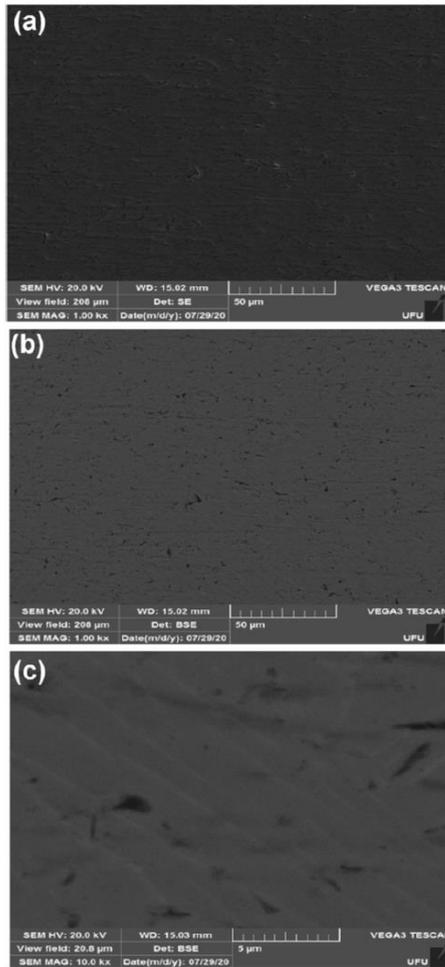


Fig. 2. Surface SEM images of the Ti_6Al_4V alloy, (a) SE image with 1.0 kx magnification, (b) BSE image with 1.0 kx magnification, and (c) BSE image with 10.0 kx magnification.

Human blood leucocyte cells were also performed. In this sense, it was possible to explore the abundant natural resources in our region through a clean methodology for the development of a new material that can be used in the future for biomedical purposes. This study will allow the development of future works, considering the influence of the Nb_2O_5 thin film on the global and localized corrosion processes, wear mechanisms as well as a promising biocompatibility of the host.

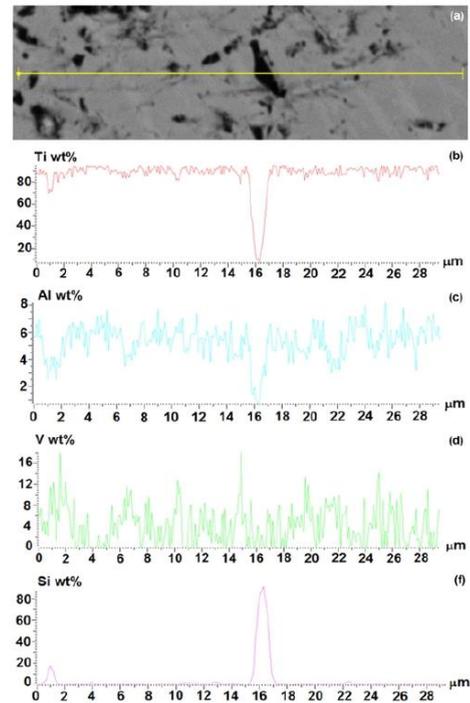


Fig. 3. (a) SEM image used to EDX analysis of Ti_6Al_4V from the top showing the (b-f) variation in the chemical composition (wt %) along with the microstructure.

2. Material & methods

2.1. Preparation of the Ti_6Al_4V alloy

The biomaterial used in the present work was the α - β titanium alloy with the designation Ti_6Al_4V . Before the plasma treatment, the samples were sandblasted using silicon carbide (SiC) in the sequence of 600, 800, 1200, 2400 and 4000 #. Final polishing was performed by using a diamond paste of 3, 2 and 1 μm . Subsequently, the specimens were washed in distilled water and ultrasonically rinsed with isopropyl alcohol for 15 min at room temperature. All samples were kept in appropriate holders for subsequent deposition of niobium film by the reactive sputtering technique.

2.2. Obtaining the Nb_2O_5 thin film

The Nb_2O_5 films were deposited over Ti_6Al_4V alloy by DC magnetron sputtering technique custom design according to Machuno et al [41]. The deposition system is composed of a magnetron sputtering purchase from Kurt Lesker Co. for targets of 2.0 in. diameter. The vacuum is supported by rotative and turbomolecular pumps allowing the pressure of 0.001 mTorr. Gases were admitted and controlled by needle valves from Edwards Co. The film depositions were conducted at 5.0 mTorr using Argon (99.999% White Martins) and a Niobium (99.9%) target donated by CBMM (Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração). To obtain Nb_2O_5 films O_2 (99.999% White Martins) at 0.5

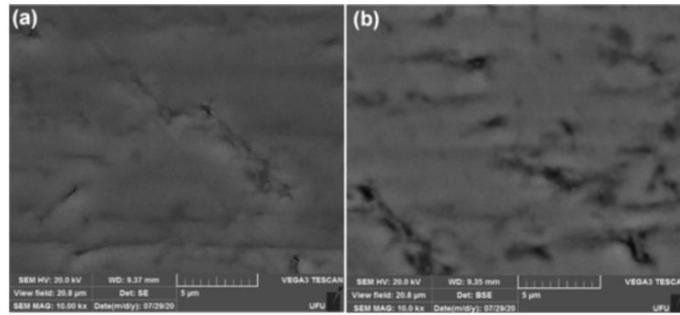


Fig. 4. Surface SEM images of the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy coated with Nb_2O_5 thin film, (a) SE image of the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy, and (b) BSE image. Magnification of 10.0 kx.

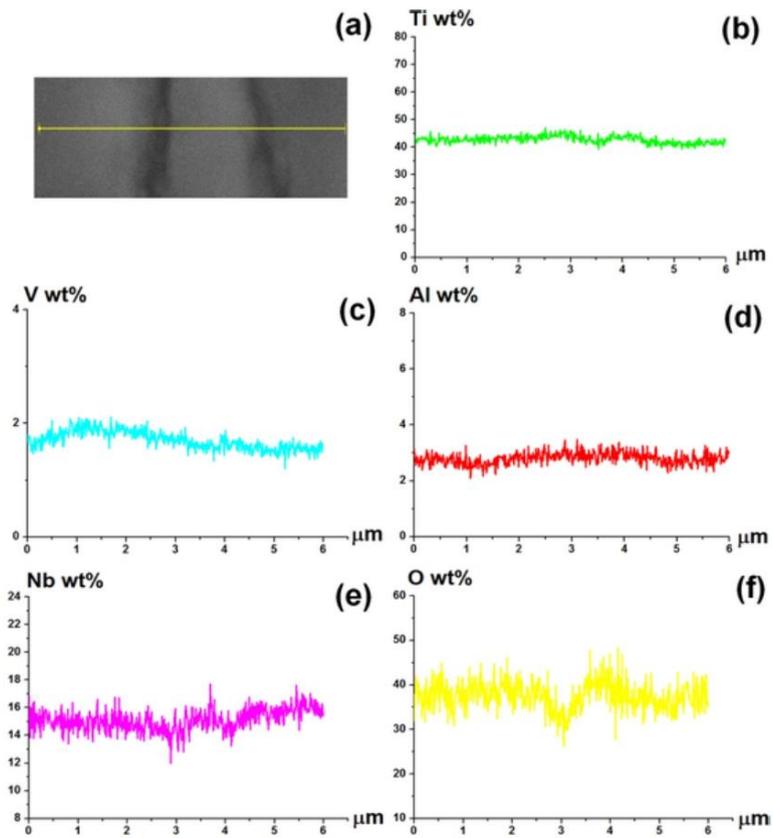


Fig. 5. (a) SEM image used to EDX analysis of $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy containing Nb_2O_5 thin film from the top, (b-f) the variation in the chemical composition (wt%) along with the microstructure.

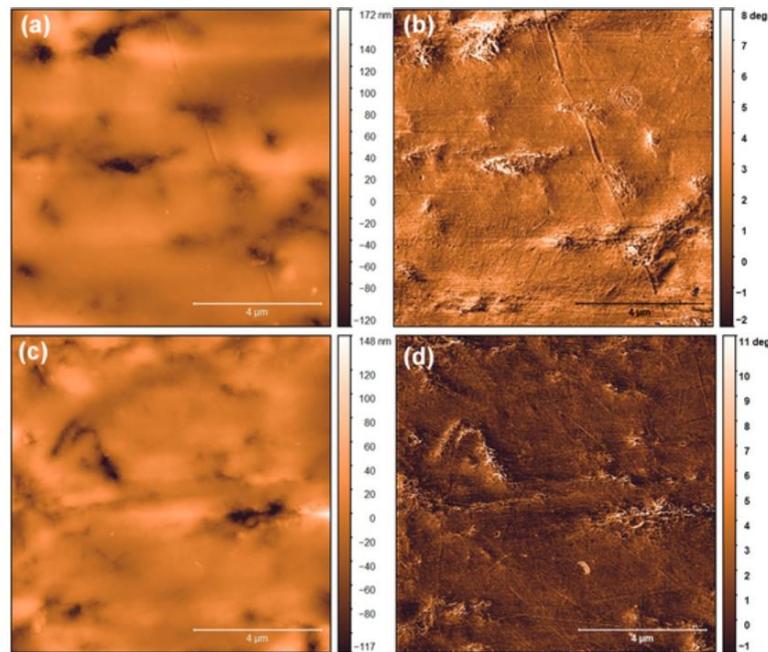


Fig. 6. Top view AFM images at a $2.0 \times 2.0 \mu\text{m}$ scanned area, (a) uncoated $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy, (b) uncoated $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy by using phase mode, (c) $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy containing Nb_2O_5 film, and (d) coated $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ by using phase mode.

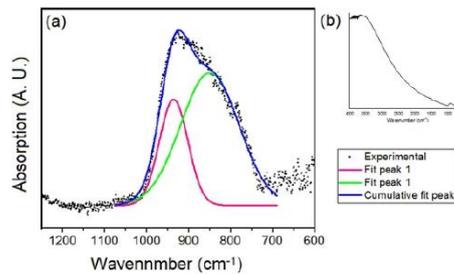


Fig. 7. (a) FTIR-IRRAS spectra obtained at 30° for Nb_2O_5 thin film showing the highlighted region with bands centered at 849 and 935 cm^{-1} and (b) the full range.

mTorr was used. The DC voltage and current used were 450 V and 145 mA , respectively. At these conditions, the thickness of Nb_2O_5 films reached $300\text{--}450 \text{ nm}$ after 40 min . The Nb_2O_5 thin film was also deposited on slices of $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy ($1.0 \text{ cm} \times 1.0 \text{ cm}$) with a mark previously made with a porous tip pen. After the deposition process, the ink and thin-film were removed using an organic solvent. The AFM technique was used to determine the film thickness in different points of the sample. In these previously optimized conditions, the Nb_2O_5 thin films were shown to be good homogeneity over the entire length of the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ substrates, presenting an excellent adherence without signs of cracking or detachment after scotch tape tests. Fig. 1 shows a schematic drawing of the sputtering system used in the present work.

This system was adapted from Machuno et al [41]. It is possible to verify the arrangement of the samples inside the vacuum chamber as well as details of the deposition process.

2.3. Characterization of the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy uncoated and coated with Nb_2O_5 thin film

The surface morphology of the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ coated and uncoated with Nb_2O_5 thin film was assessed by using a scanning electron microscope (FEG-SEM JEOL-JSM7001F) in the Chemistry Department of the Federal University of Uberlândia (UFU), Uberlândia, Minas Gerais state, Brazil. The Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) analytical technique was used for the elemental analysis and estimate the relative abundance of elements on the samples herein studied. The AFM results were obtained in a Shimadzu SPM9700 microscopy using dynamic mode and cantilevers purchase from NT-MDT Co at the Federal University of Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, Minas Gerais State, Brazil.

2.4. Structural characterization of Nb_2O_5 thin film

FTIR spectra were collected from an Agilent Care 600 spectrometer by using infrared reflection-absorption spectroscopy apparatus (IR-RAS) purchased from PIKE Instruments at an incidence angle of 30° . The spectra were collected after 64 scans and a resolution of 2 cm^{-1} . FTIR analysis were carried out at the Federal University of Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, Minas Gerais State, Brazil. Here, we also characterized the Nb_2O_5 film using a Raman spectrometer (LabRAM HR Evolution Raman microscope) from 80 to 2500 cm^{-1} . For this pur-

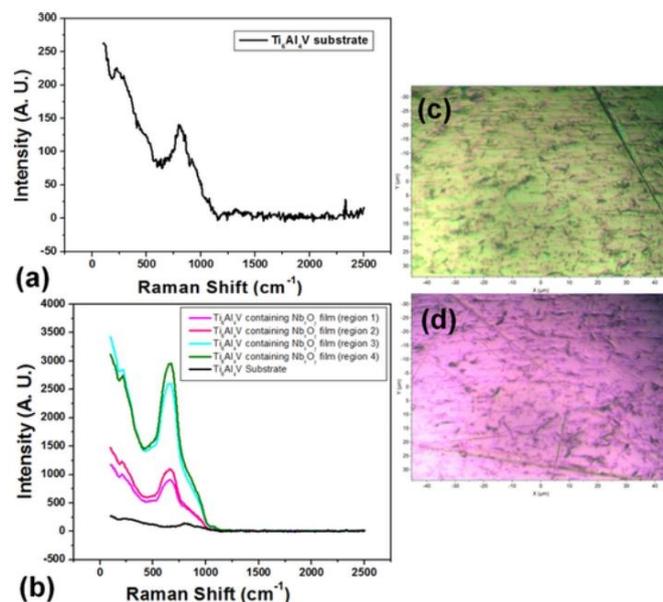


Fig. 8. (a) Raman spectrum of the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy, (b) Raman spectrum of the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ coated with Nb_2O_5 thin film, (c) and (d) show two different regions (green and pink) where Raman measurements were taken. The measured regions were not shown in the figure (c) and (d), respectively.

pose, a 532 nm = 50 mW (measured with powermeter: 78 mW) Ar⁺ laser was used at the Institute of Physics (INFIS), Federal University of Uberlândia (UFU), Uberlândia, Minas Gerais state, Brazil.

The XPS characterizations were performed with a SPECS Phoibos 150 hemispherical analyzer with multi channeltron detection using Al-K_α X-ray source from a dual Al/Mg anode and in normal emission under an ultra-high vacuum chamber operating at 10⁻⁹ mbar at the Surface Science Group, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo state, Brazil. Lorentzian functions were used to fit the spectra line shape [42]. All peaks were convoluted to a Gaussian distribution that describes the instrumental broadening, phonon contributions, and sample inhomogeneities. The inelastic background contribution was removed using the Shirley-type background [43].

2.5. Cell viability of VERO-CCL-81 cell-line, human blood leucocytes, and cytokine production

The VERO-CCL-81 cell line for the biocompatibility evaluation was used in the present study according to ISO 10993-5:2009 [44]. Here, we also evaluated the cell viability of the mentioned culture at different surfaces (parental material and functionalized surface with niobium). For this purpose, VERO-CCL-81 cells were grown in T-25 culture vessels (Nunc) at the temperature of 37 °C, in an atmosphere of 5% CO₂, with RPMI Medium enriched with 10% FBS (Sigma-Aldrich, USA). The RPMI medium was renewed 2 to 3 times per week until VERO-CCL-81 cells reach an 80–90% confluence. Thereafter, cells were removed using 0.25% trypsin, 0.53 mM EDTA solution, and cultured (1 × 10⁵ cells/mL) on the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ and $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ -coated Nb_2O_5 thin film surfaces. After 24 h of incubation, cells were mechanically removed and evaluated by using resazurin assay based on the fluorescence emitted by the redox indicator (resazurin) as it is reduced by viable cells.

Through the results obtained with the VERO-CCL-81 cells line, which will be discussed in the Results & discussions section, we evaluated the compatibility of the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy containing the Nb_2O_5 thin film by using immune cells. These studies will allow us to better understand the important mechanism of tolerance or rejection of biomaterials after *in vivo* implantation. Human blood leucocytes cells were obtained from a healthy donor by venipuncture in a tube with EDTA. Whole blood was mixed with RPMI Medium enriched with 10% FBS (1:1) (Sigma-Aldrich, USA). The cells were counted and cultured (1 × 10⁶ cells/mL) on the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ and $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ -coated Nb_2O_5 thin film surfaces.

After 24 h of incubation at a temperature of 37 °C, 5% CO₂, cells were mechanically removed and evaluated by flow cytometry for apoptosis, using Annexin-V plus 7-ADD staining, performed as manufacturer's instructions (BD Biosciences, USA) of major leucocyte populations: lymphocytes, monocytes, and polymorphonuclear cells – PMN were identified by the size and granularity patterns. Also, due to functional heterogeneity, T lymphocytes were stained with fluorescent monoclonal antibodies for the expression of classical membrane markers of Helper T cells (CD4 +) and Cytolytic T cells (CD8 +). Cell supernatants were used for quantification of TNF-α, IL-6 and IL-10 by Cytometric Bead Array - CBA, performed as manufacturer's instructions (BD Biosciences, USA).

3. Results & discussions

$\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ is an alpha-Beta (α-β) titanium alloy widely used as biomedical material due to its good resistance to corrosion process, high strength-to-weight ratio, good mechanical resistance, non-toxic, and biocompatibility [21]. As is known, all these properties are directly related to the alloy's microstructure. Although several works in the liter-

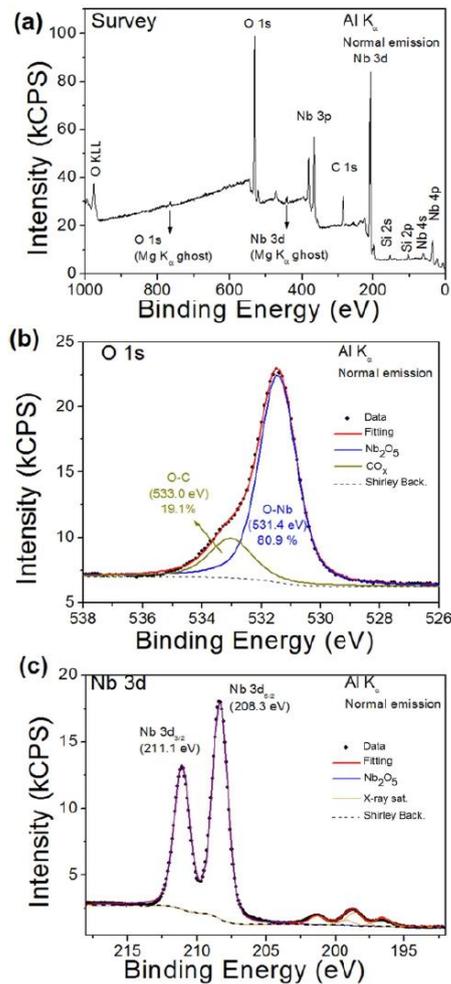


Fig. 9. XPS survey spectrum of the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy surface containing Nb_2O_5 thin film (a) chemical composition, (b) O 1s, and (c) Nb 3d levels.

ature describe in detail the morphology of the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy, we decided to present some results to elucidate the following discussions.

Fig. 2 displays the SEM images of the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ substrate before the reactive sputtering treatment. The SEM technique uses a focused beam of electrons to produce magnified images of the sample. As a result, the electrons interact with the atoms of the sample, generating signals that contain information about the composition and topography of the studied material. It is important to emphasize, the secondary electrons (SE) provide a topography image of the sample and are responsible for obtaining high-resolution images, whilst backscattered electrons (BSE) provide a characteristic image of the composition variation. Fig. 2(a) and (b) show images acquired by SE and BSE of the alloy $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ with 1.0 kx of magnification. As shown in Fig. 2(c), the SEM image exhibits

two distinct regions (light gray and dark gray) that are related to the existence of α and β phases. These results are in agreement with previously published work [21], suggesting there is a higher concentration of aluminum (Al) in the dark regions and vanadium (V) in the light region.

Fig. 3 presents the EDX analysis of $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy from the top, showing the variation in the chemical composition (wt %) along with the microstructure (green curve: V, blue curve: Al, red curve: Ti, and purple curve: Si). Si element is probably related to the SiC sandpapers used during the polishing process. Surface SEM images of the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy coated with Nb_2O_5 thin film with 10.0 kx magnification may be observed in Fig. 4. SEM micrograph used for EDX analysis and the evolution of the elements along the microstructure of the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ containing Nb_2O_5 thin film is shown in Fig. 5. As can be seen, the specific Ti, Al, and V elements of the alloy are present on the studied surface. The Nb and O elements are due to the presence of Nb_2O_5 film coated on the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy.

To investigate the topography of the Nb_2O_5 thin film on the surface of $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy, atomic force microscopy (AFM) over a scan $2.0 \times 2.0 \mu\text{m}$ was performed as shown in Fig. 6. The results exhibit the formation of granules on the alloy surface. These granules are due to the film nucleation in the initial deposition stages. As shown by using the phase mode, the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy containing the Nb_2O_5 film has a more homogeneous surface, presenting an average roughness of about 1.57 nm compared to 2.28 nm obtained for $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy. Moreover, the substrate possesses second phase particles with different densities, interfering more prominently in the phase angle. Another observation is that both samples (coated and uncoated) presented scratches arising from the polishing process.

As can be seen in Fig. 7(a), the FTIR spectra presented an intense band between 1100 and 700 cm^{-1} . The deconvolution of this band by using Gaussian function resulted in two other bands centered at ~ 935 and $\sim 850 \text{ cm}^{-1}$ attributed to Nb = O and Nb-O-Nb stretching, respectively [29,45]. Fig. 7(b) displays the whole FTIR spectra of Nb_2O_5 thin film herein studied indicating no additional bands related to the NbO film.

The Raman spectrum is shown in Fig. 8. The results obtained in the present work for the substrate (see Fig. 8(a)) are in accordance with Nouicera et al [46], which verified the formed film on the alloy surface consists mainly of TiO_2 in the rutile phase [47]. On the other hand, after the polishing and chemical processes, the formed oxide on the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy surface is substantially TiO_2 . As reported by Mazza et al [48], TiO_2 appears in nature in three major crystalline structures: anatase, rutile, and brookite. According to Hanoar & Sorrell [49], the rutile is the stable phase, while anatase and brookite are metastable. Fig. 8(b) displays the Raman spectrum for the $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ alloy containing the Nb_2O_5 thin film. As disclosed, one large band was noticed at 700 cm^{-1} and may be assigned to the symmetric and antisymmetric stretching mode of the Nb-O-Nb linkage [50]. Niobium pentoxide (Nb_2O_5) thin-film has unique properties: thermodynamically stable [27], good thermal stability, and biocompatibility [51], transparent dielectric material [27] and act as a barrier preventing the advance of the corrosion process [52]. As previously mentioned, the Nb_2O_5 thin film is transparent and the pink and greenish regions observed (see Fig. 8(c) and (d)) are due to the light reflection phenomenon. Raman studies revealed the formation of Nb_2O_5 film on the titanium alloy surface.

X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) for the sample as grown was performed using an Al $K\alpha$ radiation source. Fig. 9(a) shows a survey spectrum revealing the presence of O, C, Nb, and a small amount of Si. The high-resolution spectra from O 1s (Fig. 9(b)) and Nb 3d (Fig. 9(c)) core-levels demonstrate unequivocally the presence of a single-phase Nb_2O_5 . These spectra were fitted with a Lorentzian line shape which considers the finite core-hole lifetime. All peaks were also numerically convoluted to a Gaussian distribution (fixed width of 1.1 eV) that describes the instrumental broadening, phonon contributions, and

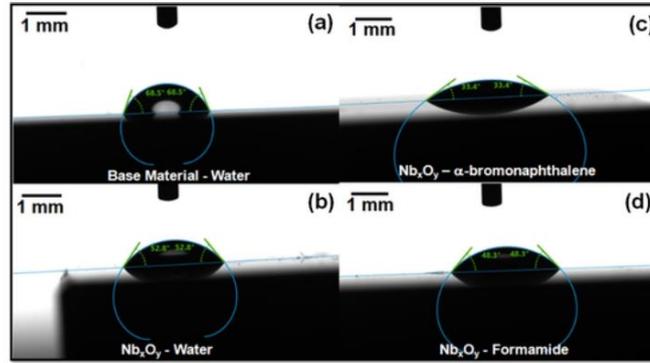


Fig. 10. Results of wettability measurements (a) Base material in water, (b) Nb₂O₅ in water, (c) Nb₂O₅ in α -bromonaphthalene and (d) Nb₂O₅ in Formamide.

Table 1

Values of polar ($\Delta G_{\text{sws}}^{\text{AB}}$) and nonpolar compounds ($\Delta G_{\text{sws}}^{\text{LW}}$) of the total free energy of interaction of uncoated and coated Ti₆Al₄V alloy.

Surfaces	$\Delta G_{\text{sws}}^{\text{LW}}$ (mJ m ⁻²)	$\Delta G_{\text{sws}}^{\text{AB}}$ (mJ m ⁻²)	$\Delta G_{\text{sws}}^{\text{Total}}$ (mJ m ⁻²)
Ti ₆ Al ₄ V	-3.127	-56.919	-60.046
Ti ₆ Al ₄ V + Nb ₂ O ₅	-3.627	6.478	2.851

sample inhomogeneities. The inelastic background contribution was included using the Shirley-type background [45]. The fitting procedure of O 1s and Nb 3d revealed the presence of a single niobium oxide phase, corresponding to Nb₂O₅ with binding energy for the Nb 3d_{5/2} of 208.3 eV and a spin-orbit splitting of 2.8 eV. The correspondent O 1s component is measured with 531.4 eV and the film stoichiometry Nb:O was determined in 2.0:5.02 which is in perfect agreement with reported results in the literature [53]. During the sample storage and transportation to the XPS chamber, adsorbates are typically incorporated into the film surface. Since C is also presented in the survey spectrum, the small peak shoulder on O 1s was attributed to C-O bonding.

The wettability was evaluated in the present work by the value of the contact angle (θ) formed between the tangent line to the liquid surface and the horizontal surface of the substrate. As reported by the literature [54], $\theta > 90^\circ$, there is no wetting of the solid by the liquid, i.e., there is no spreading of liquid (hydrophobic surface). When $\theta < 90^\circ$, the wetting occurs and the liquid spreads spontaneously on the solid (hydrophilic surface). If the angle is $> 165^\circ$ or equal to 180° , the surface is called superhydrophobic [55], and when $\theta \approx 0^\circ$, the liquid spreads indefinitely on the solid. There are various methods for obtaining surface-free energy values, such as Owens-Wendt model [56], Wu [57,58], and Van Oss [59]. The present work describes the application of the Van Oss approach [59] in determining the free surface energy of Ti₆Al₄V uncoated and coated Nb₂O₅ thin films. As is well known, this method is based on the fact that the surface free energy of any liquid and solid may be expressed as the sum of its free surface energy components [60]. The Van Oss approach [59] relates the Lifshitz-van der Waals apolar component γ_i^{LW} and a Lewis acid-base γ_i^{AB} . These interactions may be represented by using the Eq. (1):

$$\gamma_i = \gamma_i^{\text{LW}} + \gamma_i^{\text{AB}} = \gamma_i^{\text{LW}} + (\gamma_i^+ \gamma_i^-)^{1/2} \quad (1)$$

where the γ_i^{LW} represents the Lifshitz-van der Waals (LW) component of surface free energy, γ_i^{AB} the polar acid-base component of surface free energy, γ_i^+ the component of γ_i^{AB} describing the Lewis base and γ_i^- the component of γ_i^{AB} representing the Lewis acid. As reported by Fialho et

al [61], considering a drop of liquid on a given solid surface and calculating the components as a function of the contact angle it is possible to obtain Eq. (2).

$$\gamma_L^{\text{Total}} (1 + \cos \theta) = 2\sqrt{\gamma_s^{\text{LW}} \gamma_l^{\text{LW}}} + 2\sqrt{\gamma_s^+ \gamma_l^-} + 2 \quad (2)$$

In Eq. (2), the parameter θ describes the wetting angle of liquid to solid, the γ_L^{Total} represents the surface tension of the measured liquid. The solid and liquid surfaces are represented by the notes s and l, respectively. The determination of free surface energy is made by measuring the contact angle through three test liquids with of known surface tension and different polarity. Seeking to solve Eq. (2), the wetting angle θ for the 3 different liquids: distilled water, α -bromonaphthalene, and formamide it is possible to determine the surface free energy of the Ti₆Al₄V and Ti₆Al₄V coated Nb₂O₅ thin film.

The θ values of the Ti₆Al₄V alloy in the absence and in the presence of Nb₂O₅ thin film with the standard liquids used for the calculation of the total free energy of interaction, $\Delta G_{\text{sws}}^{\text{Total}}$, are shown in Fig. 10. It can be seen, the water surface contact angle for the Ti₆Al₄V alloy is approximately 68.5° while for the coated material is about 52.8° . The reactive plasma technique leads to a decrease in the contact angle for the coated material (33.4° α -bromonaphthalene and 48.3° for formamide, respectively). Here, all surfaces presented a contact angle lower than 90° , indicating a hydrophilic behavior. Surfaces that display minor contact angles as is the case of coated material becomes attractive for biological applications.

Jung Yul Lim et al [62] studied the surface energy effects on osteoblast spatial growth and mineralization during the medium-term culture. As reported by the authors, the hydrophilic surface facilitated the growth, increased the area, and quality of hFOB cell mineralization. Studies developed by Wennerberg & Albrektsson [63], demonstrated that biomaterials with high surface energy present an osseointegration process facilitated due to the better absorption of proteins. In addition, studies developed by Olivares-Navarrete et al [64] have shown that the osteoblastic phenotype (responsible to produce osteocalcin and osteoprotegerin) is stimulated when these cells are growing on a hydrophilic substrate. Here, we demonstrated that the reactive sputtering method was able to modify the Ti₆Al₄V alloy surface, making it more hydrophilic when compared to bare material. The increase in wettability is associated with the accumulation of electrons on the alloy surface when the plasma treatment was performed [65]. There-

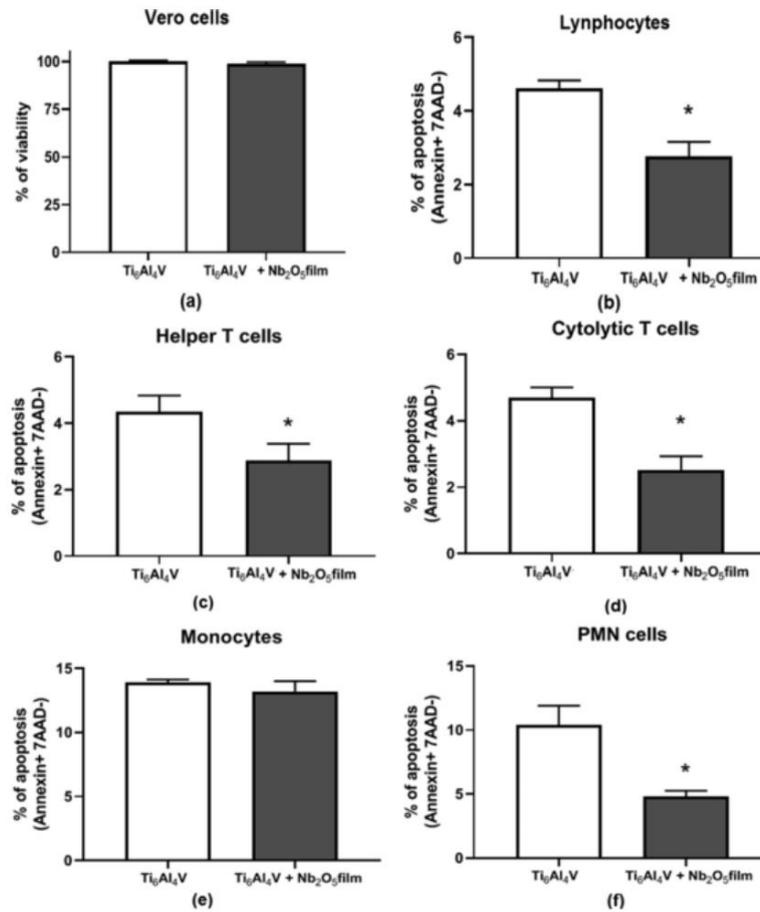


Fig. 11. Effect of coated and uncoated biomaterial in VERO cell viability and Human Leukocytes blood apoptosis. (a) VERO-CCL-81 cell line, (b) lymphocytes, (c) helper T cells, (d) cytolytic T cells, (e) monocytes, and (f) PMN cells. Bars represent the mean \pm standard error from triplicate samples. * $P \leq 0.05$ compared with uncoated Ti₆Al₄V alloy.

withal, these surface modifications will allow the development of innovative and applied research in the biomedical area.

As described by Araujo et al [66], the total free energy of interaction, $\Delta G_{\text{sws}}^{\text{Total}}$, among molecules of the surface immersed in water may be determined by the sum of the polar ($\Delta G_{\text{sws}}^{\text{AB}}$), and nonpolar ($\Delta G_{\text{sws}}^{\text{LW}}$) free energy of interaction according to Eq. (3):

$$\Delta G_{\text{sws}}^{\text{Total}} = \Delta G_{\text{sws}}^{\text{AB}} + \Delta G_{\text{sws}}^{\text{LW}} \quad (3)$$

Table 1 displays the total free energy of interaction, $\Delta G_{\text{sws}}^{\text{Total}}$, obtained in the present work. Our results indicate $\Delta G_{\text{sws}}^{\text{Total}} < 0$ for the bare material and $\Delta G_{\text{sws}}^{\text{Total}} > 0$ for the Nb₂O₅-coated material. As mentioned by Araujo et al [66] and according to the thermodynamic principle, a negative value of the total free energy of interaction suggests a cohesive attraction of the molecules surface immersed in water. On the other

hand, a positive value of total free-energy of interaction indicates the repulsion of molecules. Since $\Delta G_{\text{sws}}^{\text{Total}} < 0$, the Ti₆Al₄V alloy shows a tendency towards to be hydrophobic, i.e., when immersed in water the molecules of the surface interact with each other rather than forming an interface with water [66]. Regarding the alloy containing the Nb₂O₅ thin film, the results indicate a hydrophilic surface tendency, $\Delta G_{\text{sws}}^{\text{Total}} > 0$. At this rate, the interface molecules preferentially interact with water [66]. Another observation that deserves comment is related to the surface interfacial tension components.

Biocompatibility is one of the fundamental properties of implantable metals and establishes the interaction between the metal and the human body. Our results using VERO-CCL-81 cells shows that both Ti₆Al₄V and Ti₆Al₄V containing Nb₂O₅ thin film were biocompatible at a similar level, higher than 97% for all evaluated conditions as displayed in Fig. 11(a). This data point that Nb₂O₅ coating provided a good sur-

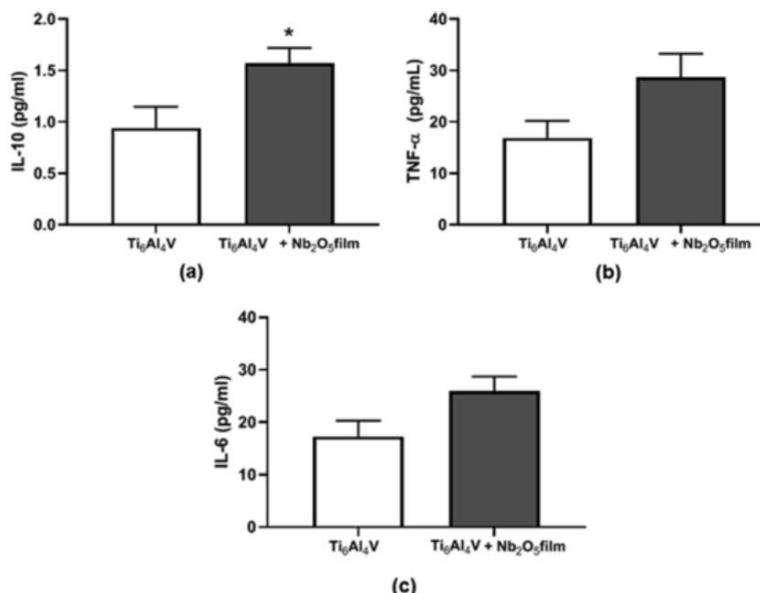


Fig. 12. Effect of coated and uncoated biomaterial in cytokine production of Human blood leucocytes cells. (a) IL-10, (b) TNF- α and (c) IL-6. Bars represent the mean \pm standard error production level of the cytokines from quintuplicate samples. $P \leq 0.05$ compared with uncoated Ti₆Al₄V alloy.

face for the cells. Besides that, the coated Ti₆Al₄V alloy induces significantly less apoptosis, as demonstrated for total lymphocytes ($p = 0.004$, Fig. 11(b)), helper T cells ($p = 0.02$, Fig. 11(c)), cytolytic T cells ($p = 0.003$, Fig. 11(d)), monocytes (Fig. 11(e)) and PMN cells ($p = 0.02$, Fig. 11(f)). These results show that Nb₂O₅ film increases the biocompatibility of Ti₆Al₄V for most blood leucocytes.

Chemical and physical strategies have been employed to generate coatings of materials that commonly are not directly used in implantology. Coatings of niobium oxide [67] and diamond-like carbon [21], when deposited by sol-gel or chemical vapour deposition (CVD) on titanium and other substrates, have demonstrated relevant bioactivity. In this study, we suggest that the Nb₂O₅ coating, in addition to ensuring superior cell adhesion, acts as a protective barrier against potentially harmful effects caused by the eventual release of ions resulting from the corrosion process as reported by other studies [68–71].

In addition to improve cell compatibility by reducing cell toxicity of the tested surfaces, biomaterials should not induce harmful inflammation after cell contact. In dental titanium implants, the implantation failures may be caused by inflammatory reactions in surrounding tissues due to titanium alloy abrasion and corrosion or even allergic reactions to titanium alloys [72–76]. IL-10 is an anti-inflammatory cytokine involved in preventing inflammatory and autoimmune pathologies [77,78]. Here, we demonstrated that Nb₂O₅ thin film induces significantly higher IL-10 production in comparison with uncoated Ti₆Al₄V alloy (see Fig. 12(a)). We also observed a similar production of TNF- α and IL-6, pro-inflammatory cytokines, besides a trend to higher levels in a functionalized surface with niobium (Fig. 12(b)). The non-significant differences in the levels of IL-6 and TNF- α between Ti₆Al₄V and Ti₆Al₄V containing Nb₂O₅ thin film alloy suggest the immunosuppressive and anti-inflammatory influence of IL-10 [79]. Fig. 13(a) shows a schematic drawing of the viability/toxicity and cytokine release assays used in the present work. Fig. 13(b) shows the coated

Ti₆Al₄V alloy promoting a decrease in apoptosis with a possible anti-inflammatory effect due to the increased release of IL-10.

4. Conclusions

The morphological and structural behavior of important Ti₆Al₄V alloy coated by Nb₂O₅ thin film has been investigated in the present work. The reactive sputtering technique was shown to be advantageous for producing Nb₂O₅ thin film on the Ti₆Al₄V alloy, making it more hydrophilic ($\Delta G^{\text{total}} > 0$), which is extremely interesting for biology-related fields. Raman results indicate one large band at 700 cm⁻¹ and may be assigned to the symmetric and antisymmetric stretching mode of the Nb-O-Nb linkage. XPS studies revealed the formation of a single-phase on the material's surface with binding energy for the Nb 3d_{5/2} of 208.3 eV and a spin-orbit splitting of 2.8 eV. Concerning biological assays, the Ti₆Al₄V alloy containing Nb₂O₅ coating was less toxic and induces less inflammation, demonstrating the power of the functionalized surface in the production of anti-inflammatory cytokines when compared to the base material. The influence of the Nb₂O₅ thin film on the global and localized corrosion processes in aggressive media, wear mechanisms as well as detailed studies of the relationship of surface adhesion *in vitro* and *in vivo* will be considered in future works.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

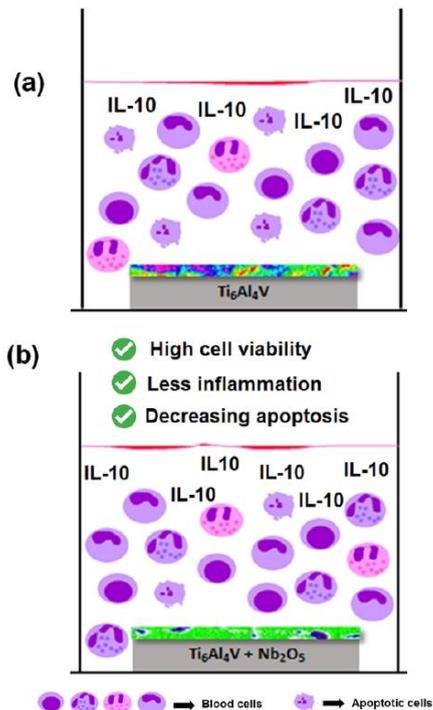


Fig. 13. Schematic drawing for biological assays. (a) Ti_6Al_4V alloy and (b) Ti_6Al_4V alloy containing Nb_2O_5 thin film.

Acknowledgments

J. A. Moreto would like to acknowledge financial support received from the National Council of Technological and Scientific Development (CNPq), for grants 402142/2016-0 and 303659/2019-0; Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), for grant 88881.336769/2019-01-PVEX and FAPEMIG for grant APQ-02276-18. A. Servo would like to thank Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) Project 2007/54829-5, 2007/08244-5, and 2017/18574-4. R. V. R. V. Gelamo would like to thank Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Nanomateriais de Carbono and Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração (CBMM) and CNPq grant 440726/2020-4. All authors would like to thank professor Dr. Carlo José Freire for the laboratory facilities, Horiba LabRAM HR Evolution Raman microscope at the Institute of Physics (INFIS) supported by the grant "Pró-Equipamentos" from the Brazilian Agency CAPES and Chemistry Department (University of Uberlândia) for the SEM analysis.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2021.149739>.

References

- [1] N. Eliaz, Corrosion of metallic biomaterials: a review, *Mater. (Basel)* 12 (3) (2019) <https://www.mdpi.com/1996-1944/12/3/407>.
- [2] V.K. Bommala, M.G. Krishna, C.T. Rao, Magnesium matrix composites for biomedical applications: a review, *J. Magnesium Alloys* 7 (1) (2019), <https://doi.org/10.1016/j.jma.2018.11.001>.
- [3] K. Narita, M. Niinomi, M. Nakai, Effects of micro- and nano-scale wave-like structures on fatigue strength of a beta-type titanium alloy developed as a biomaterial, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 29 (2014), <https://doi.org/10.1016/j.jmbm.2013.09.017>.
- [4] L.H. de Almeida, I.N. Bastos, I.D. Santos, A.J.B. Dutra, C.A. Nunes, S.B. Gabriel, Corrosion resistance of aged Ti-Mo-Nb alloys for biomedical applications, *J. Alloys Compd.* 615 (2014), <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2014.01.173>.
- [5] M.S. Baltatu, C.A. Tugui, M.C. Perju, M. Benchea, M.C. Spataru, A.V. Sandu, P. Vizur eanu, Biocompatible Titanium Alloys used in Medical Applications, *Rev. Chim* 70 (4) (2019), <https://doi.org/10.37358/RC.19.4.7114>.
- [6] L.C. Zhang, L.Y. Chen, A Review on Biomedical Titanium Alloys: Recent Progress and Prospect, *Adv. Eng. Mater.* 21 (2019), <https://doi.org/10.1002/adem.201801215>.
- [7] S. Kaur, K. Ghadirinejad, R.H. Oskoue, An Overview on the Tribological Performance of Titanium Alloys with Surface Modifications for Biomedical Applications, *Lubricants* 7 (8) (2019), <https://doi.org/10.3390/lubricants7080065>.
- [8] A. Nemati, M. Saghafi, S. Khamseh, E. Alibakhshi, P. Zarintaj, O.R. Saeb, Magnetron-sputtered $Ti_{90}Ni_{10}$ thin films applied on titanium-based alloys for biomedical applications: Composition-microstructure-property relationships, *Surf. Coatings Technol.* 349 (2018), <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2018.05.068>.
- [9] C. Song, M. Liu, Z.-Q. Deng, S.-P. Niu, C.-M. Deng, H.-L. Liao, A novel method for in situ synthesized TiN coatings by plasma spray-physical vapor deposition, *Mater. Lett.* 217 (2018), <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2018.01.068>.
- [10] Y. Sun, G. Luo, J. Zhang, C. Wu, J. Li, Q. Shen, L. Zhang, Phase transition, microstructure and mechanical properties of TC4 titanium alloy prepared by plasma activated sintering, *J. Alloys Compd.* 741 (2018), <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.01.197>.
- [11] K. Shukla, R. Rane, J. Alphonsa, P. Maity, S. Mukherjee, Structural, mechanical and corrosion resistance properties of Ti/TiN bilayers deposited by magnetron sputtering on AISI 316L, *Surf. Coatings Technol.* 324 (2017), <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2017.05.075>.
- [12] A. Çelik, M.T. Acar, T. Yetim, H. Kovacı, A.F. Yetim, Improving structural, tribological and electrochemical properties of Ti_6Al_4V alloy with B-doped TiO_2 thin films, *Tribol. Int.* 146 (2020), <https://doi.org/10.1016/j.triboint.2020.106210>.
- [13] H. Zhang, C. Man, L. Wang, C. Dong, L. Wang, D. Kong, X. Wang, Different corrosion behaviors between α and β phases of Ti_6Al_4V in fluoride-containing solutions: Influence of alloying element Al, *Corros. Sci.* 169 (2020), <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2020.108605>.
- [14] J. Wang, Y. Pan, R. Feng, H. Cui, B. Gong, L. Zhang, Z. Gao, X. Cui, H. Zhang, Z. Jia, Effect of electrolyte composition on the microstructure and biocorrosion behavior of micro-arc oxidized coatings on biomedical Ti_6Al_4V alloy, *J. Mater. Res. Technol.* 9 (2) (2020), <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2019.11.073>.
- [15] X. Yan, C. Shi, T. Liu, Y. Ye, C. Chang, W. Ma, C. Deng, S. Yin, H. Liao, M. Liu, Effect of heat treatment on the corrosion resistance behavior of selective laser melted Ti_6Al_4V ELI, *Surf. Coatings Technol.* 396 (2020), <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2020.125955>.
- [16] J. Lario, M. Viera, Á. Vicente, A. Igual, V. Amigó, Corrosion behaviour of Ti_6Al_4V ELI nanotubes for biomedical applications, *J. Mater. Res. Technol.* 8 (6) (2019), <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2019.09.023>.
- [17] J.O. Abe, A.P.I. Popoola, O.M. Popoola, Consolidation of Ti_6Al_4V alloy and refractory nitride nanoparticles by spark plasma sintering method: Microstructure, mechanical, corrosion and oxidation characteristics, *Mater. Sci. Eng. A* 774 (2020), <https://doi.org/10.1016/j.msea.2020.138920>.
- [18] S.L. Pityana, N. Baloyi, M. Tlotleng, P. Popoola, Laser surface deposition of niobium and titanium-niobium on Ti_6Al_4V substrates for biomedical applications. The Southern African Institute of Mining and Metallurgy, 2019, <https://doi.org/10.17159/2411-9717/16/211/2019>.
- [19] T.W. Boentoro, B. Szyszka, 14 - Protective coatings for optical surfaces. In: Woodhead Publishing Series in Electronic and Optical Materials. Optical Thin Films and Coatings. Woodhead Publishing, 2013. <https://doi.org/10.1533/9780857097316.4.540>.
- [20] W. Kao, Y. Su, Y. Hsieh, Effects of Duplex Nitriding and TiN Coating Treatment on Wear Resistance, Corrosion Resistance and Biocompatibility of Ti_6Al_4V Alloy, *J. Mater. Eng. Perform.* 26 (2017), <https://doi.org/10.1007/s11665-017-2815-3>.
- [21] W.A. Eurídice, N.B. Leite, R.V. Gelamo, P.A. de Almeida Buranello, M.V. da Silva, C.J.F. de Oliveira, R.F.V. Lopez, C.N. Lemos, A. de Servo, J.A. Moreto, a-C:H film s produced by PECVD technique onto substrate of Ti_6Al_4V alloy: Chemical and biological responses, *Appl. Surface Sci.* 503 (2020), <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.144084>.
- [22] A.R. Alves, A.R. Coutinho, The Evolution of the Niobium Production in Brazil, *Mater. Res.* 18 (1) (2015), <https://doi.org/10.1590/1516-1439>.

- 276414.
- [23] K. J. Schulz, J.H. DeYoung, R.R. Seal and D.C. Bradley, eds., Critical mineral resources of the United States—Economic and environmental geology and prospects for future supply: U.S. Geological Survey Professional Paper, vol. 1802, 2017. <http://doi.org/10.3133/pp1802>.
- [24] C. Oldani, A. Dominguez, Titanium as a biomaterial for implants. *Recent Advances in Orthoplasty*. InTech., 2012. <https://doi.org/10.5772/27413>.
- [25] C. Kuphasuk, Y. Oshida, C.J. Andres, S.T. Hovijitra, M.T. Barco, D.T. Brown, Electrochemical corrosion of titanium and titanium-based alloys, *J. Prosthetic Dentistry* 85 (2001), <https://doi.org/10.1067/jmpr.2001.113029>.
- [26] C.M. Lee, C.P. Ju, J.H. Chern Lin, Structure-property relationship of cast Ti-Nb alloys, *J. Oral Rehabil.* 29 (2002), <https://doi.org/10.1046/j.1365-2842.2002.00825.x>.
- [27] N. Usha, R. Sivakumar, C. Sanjeevraja, M. Arivanandhan, Niobium pentoxide (Nb₂O₅) thin films: rf Power and substrate temperature induced changes in physical properties, *Optik - Int. J. Light Electron. Optics.* 126 (19) (2015), <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2015.05.036>.
- [28] L. Seung-Hwan, K. Jung-Dae, A. Ji-Hoon, P. Jin-Seon, Compositional and electrical modulation of niobium oxide thin films deposited by plasma-enhanced atomic layer deposition, *Ceramics Int.* 43 (8) (2017), <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.02.089>.
- [29] B. Orel, M. Macček, J. Gradolnik, et al., In situ UV-Vis and ex situ IR photoelectrochemical investigations of amorphous and crystalline electrochromic Nb₂O₅ films in charged/discharged states, *J. Solid State Electrochem.* 2 (1998), <https://doi.org/10.1007/s100030050092>.
- [30] M. Mazur, M. Kalisz, D. Wojcieszak, M. Grobelny, P. Mazur, D. Kacmarek, J. Domańska, Determination of structural, mechanical and corrosion properties of Nb₂O₅ and (Nb,Cu_{1-x})₂O₅ thin films deposited on Ti₆Al₄V alloy substrates for dental implant applications, *Mater. Sci. Eng.: C.* 47 (2015), <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.11.047>.
- [31] G. Ramirez, S.E. Rodil, H. Arzate, S. Muhl, J.J. Olaya, Niobium based coatings for dental implants, *Appl. Surf. Sci.* 257 (2011), <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2010.10.021>.
- [32] S. Venkataraj, R. Drese, O. Kappertz, R. Jayavel, M. Wuttig, Characterization of Niobium Oxide Films Prepared by Reactive DC Magnetron Sputtering, *Phys. Stat. Sol. A.* 188 (2001), [https://doi.org/10.1002/1521-396X\(200112\)188:3<1047::AID-PSSA1047>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/1521-396X(200112)188:3<1047::AID-PSSA1047>3.0.CO;2-J).
- [33] F. Chai, A. Ochsnein, M. Traisnel, R. Busch, J. Breme, H.F. Hildebrand, Improving endothelial cell adhesion and proliferation on titanium by sol-gel derived oxide coating, *J. Biomed. Mater. Res.* A. 92 (2010), <https://doi.org/10.1002/jbm.a.32399>.
- [34] C.A. Scotchford, M. Ball, M. Winkelmann, J. Voros, C. Csucs, D.M. Brunette, G. Danuser, M. Textor, Chemically Patterned, Metal-Oxide-Based Surfaces Produced by Photolithographic Techniques for Studying Protein and Cell Interactions. II: Protein Adsorption and Early Cell Interactions, *Biomaterials* 24 (2003), [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00439-X](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00439-X).
- [35] M. Dima, L. Braice, S.C. Padmanabhan, M.A. Morris, I. Titorencu, V. Pruna, A. Vladescu, Characterization of electron beam deposited Nb₂O₅ coatings for biomedical applications, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 103 (2020) 103582, <https://doi.org/10.1016/j.jmbm.2019.103582>.
- [36] S.A. Pauline, N. Rajendran, Biomimetic novel nanoporous niobium oxide coating for orthopaedic applications, *Appl. Surf. Sci.* 290 (2014) 448–457, <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.11.112>.
- [37] D. Pradhan, A.W. Wren, S.T. Misture, N.P. Mellott, Investigating the structure and biocompatibility of niobium and titanium oxides as coatings for orthopedic metallic implants, *Mater. Sci. Eng. C* 58 (2016) 918–926, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.09.059>.
- [38] B. Fotovvati, N. Namdari, A. Dehghanhadikolaie, On Coating Techniques for Surface Protection: A Review, *J. Manuf. Mater. Process.* 3 (1) (2019), <https://doi.org/10.3390/jmmp3010028>.
- [39] A. Baptista, F. Silva, J. Porteiro, J. Miguez, G. Pinto, Sputtering Physical Vapor Deposition (PVD) Coatings: A Critical Review on Process Improvement and Market Trend Demands, *Coatings* 8 (11) (2018), <https://doi.org/10.3390/coatings8110402>.
- [40] D.M. Mattox, *Handbook of Physical Vapor Deposition (PVD) Processing*, William Andrew, Norwich, NY, 2010.
- [41] L.G.B. Machado, A.B. Lima, R.R. Buso, R.M.F. Abdanur, E.C. Rangel, R.V. Gelamo, Desenvolvimento e avaliação de uma fonte DC de alta tensão para utilização em sistema de deposição de filmes finos por pulverização catódica, *Revista Matéria.* 21 (2) (2016), <https://doi.org/10.1590/s1517-707620160002.0046>.
- [42] S. Doniach, M. Sunjic, Many-electron singularity in X-ray photoemission and X-ray line spectra from metals, *J. Phys. C Solid State Phys.* 3 (1970) 285–291, <https://doi.org/10.1088/0022-3719/3/2/010>.
- [43] D.A. Shirley, High-Resolution X-Ray Photoemission Spectrum of the Valence Bands of Gold, *Phys. Rev. B* 5 (1972), <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.5.4709>.
- [44] ISO 10993-5:2009, Biological evaluation of medical devices - Part 5: tests for in vitro cytotoxicity, Ed. Geneva, 3 (2009).
- [45] L.J. Burcham, J. Darka, I.E. Wachs, In Situ Vibrational Spectroscopy Studies of Supported Niobium Oxide Catalysts, *J. Phys. Chem. B* 103 (29) (1999), <https://doi.org/10.1021/jp990289a>.
- [46] E. Nouicera, F.Z. Benlahreche, A. Nouicer, Spectroscopic Characterization of Titanium Alloy Surface in a Biological Medium, in: Special Issue of the 6th International Congress & Exhibition (APMAS2016), Maslak, Istanbul, Turkey, 2016, pp. 1–3.
- [47] Y. Zhang, J. Li, S. Che, Z. Yang, Y. Tian, Chemical leveling mechanism and oxide film properties of additively manufactured Ti-6Al-4V alloy, *J. Mater. Sci.* 54 (21) (2019), <https://doi.org/10.1007/s10853-019-03855-4>.
- [48] T. Mazza, E. Barbolini, P. Piseri, P. Milani, D. Cattaneo, A. Li Bassi, C. Ducati, Raman spectroscopy characterization of TiO₂ rutile nanocrystals, *Physical Review B* 75 (4) (2007), <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.75.045416>.
- [49] D.A.H. Hanaor, C.C. Sorrell, Review of the anatase to rutile phase transformation, *J. Mater. Sci.* 46 (4) (2010), <https://doi.org/10.1007/s10853-010-5113-0>.
- [50] I. Mickova, Photoelectrochemical Study of Anodically Formed Oxide Films on Niobium Surfaces, *Croatica Chemica Acta.* 83 (2) (2010).
- [51] P. Amaravathy, S. Sowndarya, S. Saithyanarayanan, N. Rajendran, Novel sol gel coating of Nb₂O₅ on magnesium alloy for biomedical applications, *Surface Coat. Technol.* 244 (2014), <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2014.01.050>.
- [52] M.F. Pillis, G.A. Geribola, G. Scheidt, E.G. de Araújo, M.C.L. de Oliveira, R. A. Antunes, Corrosion of thin, magnetron sputtered Nb₂O₅ films, *Corrosion Sci.* 102 (2016), <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2015.10.023>.
- [53] Ö. D. Coşkun, S. Demirela, The optical and structural properties of amorphous Nb₂O₅ thin films prepared by RF magnetron sputtering, *Appl. Surface Sci.* 277 (2013), <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.03.116>.
- [54] A.P. Luz, S. Ribeiro, V.C. Pandolfelli, Artigo revisão: Uma da mobilidade na investigação do comportamento de corrosão de materiais refratários, *Cerâmica* 54 (2008) 174–183, <https://doi.org/10.1590/S0366-69132008000200007>.
- [55] D. Beyens, The Formation of Dew, *Atmos Res.* 39 (1995) 215–237, [https://doi.org/10.1016/0169-8095\(95\)00015-J](https://doi.org/10.1016/0169-8095(95)00015-J).
- [56] D. Owens, R. Wendt, Estimation of the Surface Free Energy of Polymers, *J. Appl. Polym. Sci.* 13 (1969) 1741–1747, <https://doi.org/10.1002/app.1969.070130815>.
- [57] A. Wu, Calculation of Interfacial Tensions in Polymer Systems, *J. Polym. Sci.* 43 (1971) 19–30, <https://doi.org/10.1002/polc.5070340105>.
- [58] S. Wu, Polar and Nonpolar Interaction in Adhesion, *J. Adhesion* 5 (2006) 39–55, <https://doi.org/10.1080/00218467308078437>.
- [59] C.J. Van Oss, *Interfacial Forces in Aqueous Media*, Marcel Dekker Inc., New York, 1994, p. 440.
- [60] A. Rudawska, E. Jacniacka, Evaluating uncertainty of surface free energy measurement by the van Oss-Chaudhury-Good method, *Int. J. Adhesion Adhesives* 82 (2018) 139–145, <https://doi.org/10.1016/j.ijadhadh.2018.01.006>.
- [61] J.F. Fialho, E.A. Naves, P.C. Bernardes, D.C. Ferreira, L.D. dos Anjos, R.V. Gelamo, N.J. de Andrade, Stainless steel and polyethylene surfaces functionalized with silver nanoparticles, *Food Sci. Technol. Int.* 24 (1) (2017), <https://doi.org/10.1177/1082013217731414>.
- [62] J.Y. Lim, M.C. Shaugnessy, Z. Zhou, N. Hyeran, A.V. Erwin, J.D. Henry, Surface energy effects on osteoblast spatial growth and mineralization, *Biomaterials* 29 (2008), <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.12.026>.
- [63] A. Wennerberg, T. Albrektsson, On implant surfaces: a review of current knowledge and opinions, *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 25 (1) (2010) PMID: 20209188.
- [64] R. Olivares-Navarrete, S.L. Hzyz, D.L. Hutton, C.P. Erdman, M. Wieland, B. D. Boyan, Z. Schwartz, Direct and indirect effects of microstructured titanium substrates on the induction of mesenchymal stem cell differentiation towards the osteoblast lineage, *Biomaterials* 31 (10) (2010), <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.12.029>.
- [65] Y. Shibata, M. Hosaka, H. Kawai, T. Miyazaki, Glow discharge plasma treatment of titanium plates enhances adhesion of osteoblast-like cells to the plates through the integrin-mediated mechanism, *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 17 (2002) <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12507235>.
- [66] E.A. Araújo, N.J. Andrade, L.H.M. Silva, P.C. Bernardes, A.V.N.C. Teixeira, J.F.Q. Fialho Júnior, J.P.N. de Sá, P.E. Fernandes, Modification of stainless steel surface hydrophobicity by silver nanoparticles: strategies to prevent bacterial adhesion in the food processing, *J. Adhes. Sci. Technol.* 27 (2013) 2686–2695, <https://doi.org/10.1080/01694243.2013.803188>.
- [67] E. Eisenbarth, D. Velten, M. Müller, R. Thull, J. Breme, Nanostructured niobium oxide coatings influence osteoblast adhesion, *J. Biomed. Mater. Res. A.* (2006) PMID: 16788971, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30823>.
- [68] T. Albrektsson, B. Chrcanovic, J. Mohe, A. Wennerberg, Foreign body reactions, marginal bone loss and allergies in relation to titanium implants, *Eur J Oral Implantol.* (2018) <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30109298/>.
- [69] R. Shah, D.S.L. Pennema, R. Thomas, D.S. Mehta, Titanium corrosion: implications for dental implants, *Eur. J. Prosthodont. Restor. Dent.* (2016) <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28510370/>.
- [70] M. Hosoki, K. Nishigawa, Y. Miyamoto, G. Ohe, Y. Matsuka, Allergic contact dermatitis caused by titanium screws and dental implants, *J. Prosthodont Res.* (2016) <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26774509/>.
- [71] K.T. Kim, M.Y. Eo, T.T.H. Nguyen, General review of titanium toxicity, *Int. J. Implant Dent.* (2019), <https://doi.org/10.1186/s40729-019-0162-x>.
- [72] J. Souza, M. Henriques, R. Oliveira, W. Teughels, J.P. Celis, L. Rocha, Do oral biofilms influence the wear and corrosion behavior of titanium?, *Biofouling* 26 (2010), <https://doi.org/10.1080/08927011003767985>.
- [73] J.C. Souza, S.L. Barbosa, E.A. Ariza, M. Henriques, W. Teughels, P. Pontiaux, L.A. Rocha, How do titanium and Ti6Al4V corrode in fluoridated medium as found in the oral cavity? An in vitro study, *Mater. Sci. Eng. C* 47