



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, DA SAÚDE E TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

**BEATRIZ DA SILVA BATISTA**

**LIGAS À BASE DE COBALTO, CROMO E TÂNTALO PARA POTENCIAL**  
**APLICAÇÃO BIOMÉDICA: da concepção ao estudo *in vivo*.**

Imperatriz – MA

2025

BEATRIZ DA SILVA BATISTA

**LIGAS À BASE DE COBALTO, CROMO E TÂNTALO PARA POTENCIAL  
APLICAÇÃO BIOMÉDICA: da concepção ao estudo *in vivo***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Maranhão como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutora em Ciência dos Materiais.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Magalhães Rebêlo Alencar

Coorientadora: Profa. Dra. Luzeli Moreira da Silva

Imperatriz – MA

2025

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

da Silva Batista, Beatriz.

LIGAS À BASE DE COBALTO, CROMO E TÂNTALO PARA POTENCIAL  
APLICAÇÃO BIOMÉDICA : da concepção ao estudo in vivo /  
Beatriz da Silva Batista. - 2025.

123 p.

Coorientador(a) 1: Luzeli Moreira da Silva.

Orientador(a): Luciana Magalhães Rebelo Alencar.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Ciência  
dos Materiais/ccim, Universidade Federal do Maranhão,  
Online (plataforma Google Meet), 2025.

1. Co-cr-ta. 2. Biomateriais. 3. Nanoestruturação.  
4. Corrosão. 5. Biocompatibilidade. I. Magalhães Rebelo  
Alencar, Luciana. II. Moreira da Silva, Luzeli. III.  
Título.



Membros da comissão julgadora da defesa da tese de doutorado da aluna Beatriz da Silva Batista apresentada e aprovada ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM), em 25 / 11 / 2025.

**COMISSÃO JULGADORA:**

- Profª. Dra. Luciana Magalhães Rebelo Alencar (PPGCM/UFMA) - Presidente e Orientadora.
- Prof. Dr. Samuel Filgueiras Rodrigues (UFMA) - Avaliador externo.
- Prof. Dr. Pierre Basilio de Almeida Fechine (UFC) - Avaliador externo.
- Profª. Dra. Luzeli Moreira da Silva (PPGCM/UFMA) - Avaliadora interna.
- Prof. Dr. Alan Silva de Menezes (PPGCM/UFMA) - Avaliador interno.

OBS.: Ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se na coordenação do programa da unidade.

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, João e Niusete,  
e ao meu irmão, João Lucas:  
por todo amor que me sustenta  
e pelo apoio que transforma  
desafios em conquistas.

*“A dúvida nos leva à investigação,  
e a investigação nos leva à Verdade.”*  
(São Tomás de Aquino)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que me deu a capacidade de sonhar, cujo amor, bênçãos e força me guiaram e sustentaram – muitas vezes por meio de pessoas especiais que Ele colocou em meu caminho. Sem Ele, não haveria eu. Sem Ele, esta conquista não seria possível, pois foi pela Sua graça que superei cada obstáculo que surgiu.

À minha orientadora, Profa. Dra. Luciana Magalhães Rebelo Alencar, cuja amizade e dedicação transformaram esta jornada muito além do acadêmico. Sou muito grata por sua orientação e paciência durante esta jornada do doutorado. Sua capacidade de motivar com entusiasmo e comprometimento possibilitaram o desenvolvimento deste trabalho, bem como me ensinaram lições valiosas para minha vida profissional e pessoal.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Luzeli Moreira da Silva, cuja orientação foi fundamental desde os meus primeiros passos na pós-graduação. Sou grata pelas correções e direcionamentos que me ajudaram a crescer. Obrigada pela paciência e ensinamentos.

Aos meus pilares, meu porto seguro e minha maior torcida: meus pais, João Batista Silva e Niusete da Silva Batista, e ao meu irmão, João Lucas da Silva Batista. O amor de vocês foi o alicerce que me sustentou em cada desafio. Seu incentivo, mais do que palavras, era a luz que me guiava nos momentos de dúvida. Seu apoio incondicional – aquele que não pergunta porquês, apenas acolhe – fez toda a diferença nesta jornada. Esta conquista é nossa, fruto do jardim que cultivamos juntos!

À minha querida amiga, Ana Angélica Mathias Macêdo, que me ajudou a transformar os desafios em crescimento – não apenas intelectual, mas sobretudo humano. Nos momentos em que precisei, você estava lá com sabedoria e sensibilidade para me apoiar e levantar. Levo seus ensinamentos e exemplo no meu coração. Obrigada por ser minha família escolhida.

Aos meus queridos amigos de longa data, Thalyta Gama, Dálet Fernandes e Lincoln Cavalcante, que transformaram o tempo em cumplicidade e a distância em detalhe. Em cada etapa, vocês estiveram lá com palavras de incentivo e encorajamento, com muita alegria e amparo. Obrigada por serem minha família escolhida.

Aos amigos que fiz durante a jornada acadêmica, Alefe França, Rosa Sousa, Jéssica França, Érick Rates, Mateus Filho, Socorro Amorim e Joel Felix. Pelas contribuições na pesquisa, aprendizados de vida e momentos de descontração.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo;

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho. Muito obrigada!

## RESUMO

As ligas à base de cobalto cromo (Co-Cr) são conhecidas e amplamente utilizadas em aplicações médicas devido a sua bioinércia, resistência à corrosão e excelentes propriedades mecânicas. No entanto, a demanda por materiais com propriedades superiores tem impulsionado a investigação de novas composições, como a adição de tântalo (Ta), conhecido por sua bioatividade e proliferação celular. Pensando nisto, este trabalho desenvolveu e caracterizou uma nova série de ligas  $\text{Co}_{(72-x)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(x)}$  ( $x = 0, 3, 6$  e  $9 \text{ \% m/m}$ ) para aplicações biomédicas. As ligas foram sintetizadas por fusão em forno a arco voltaico e analisadas por técnicas de Difração de Raios X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de Raios X por Dispersão em Energia (EDS), Microdureza Vickers, Microscopia de Força Atômica (AFM), Polarização Potenciodinâmica (PDP) e Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS). As amostras foram submetidas a modificação de superfície via anodização, além de medidas de molhabilidade, imersão em fluido corporal simulado, viabilidade celular e teste *in vivo*. Os resultados revelaram que a adição de Ta promoveu: formação dos alótropos do Co ( $\epsilon\text{Co}$  e  $\alpha\text{Co}$ ) e de uma fase extra  $\text{TaCo}_2$  (a partir de  $3 \text{ \% m/m}$ ); microestrutura do tipo dendrítica; aumento da Microdureza em  $\sim 77\%$  na amostra com  $9 \text{ \% m/m}$  (466 HV0,5); aumento na diferença de potencial local entre a matriz Co-Cr ( $\epsilon\text{Co}$  e  $\alpha\text{Co}$ ) e a fase extra ( $\text{TaCo}_2$ ) em  $\sim 1500\%$  na amostra com  $9 \text{ \% m/m}$  (687 mV); e, aumento da hidrofiliabilidade em  $\sim 7\%$  na amostra com  $9 \text{ \% m/m}$  ( $71^\circ$ ). A combinação das técnicas de AFM, PDP e EIS revelou a matriz com natureza anódica e a fase extra com natureza catódica (maior nobreza). A anodização gerou nanoestruturas ( $\sim 40\text{-}50 \text{ nm}$ ), poros ( $\sim 0,8 \text{ }\mu\text{m}$ ) e viabilidade celular ( $> 100\%$ ). A liga com  $6 \text{ \% m/m}$  se destacou para aplicações em contato com tecido ósseo, apresentando a maior nucleação espontânea de fosfato de cálcio ( $\sim 1,3 \text{ }\mu\text{m}$ ), enquanto a com  $9 \text{ \% m/m}$  anodizada exibiu hidrofobicidade ( $\theta \sim 94^\circ$ ), ideal para superfícies antiaderentes. A nível macroscópico, a liga com  $9 \text{ \% m/m}$  exibiu um perfil de resistência à corrosão semelhante às amostras comumente utilizadas na área biomédica (taxa de corrosão  $\sim 10^{-4} \text{ mm/ano}$ ), além de apresentar biocompatibilidade *in vivo* sem efeitos adversos. Concluiu-se que o Ta modula as propriedades das ligas Co-Cr, sendo as composições 6 e  $9 \text{ \% m/m}$  as mais promissoras para aplicações específicas, combinando bioatividade, resistência mecânica e biocompatibilidade.

**Palavras-chave:** Co-Cr-Ta, Biomateriais, Nanoestruturação, Corrosão, Biocompatibilidade.



## ABSTRACT

Cobalt-chromium (Co-Cr) alloys are widely recognized in the medical field for their bioinertness, corrosion resistance, and excellent mechanical properties. However, the continuous demand for materials with superior properties has driven investigations into novel compositions. One promising way involves the addition of tantalum (Ta), a material known for its bioactivity and ability to promote cell proliferation. This work developed and characterized a new series of  $\text{Co}_{(72-x)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(x)}$  ( $x = 0, 3, 6, \text{ and } 9 \text{ \% w/w}$ ) for biomedical applications. The alloys were synthesized by arc-melting and analyzed by X-ray Diffraction (XRD), Scanning Electron Microscopy (SEM), Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS), Vickers Microhardness, Atomic Force Microscopy (AFM), Potentiodynamic Polarization (PDP) and Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS). Furthermore, the samples underwent surface modification via anodization, followed by wettability measurements, immersion in simulated body fluid, and *in vivo* testing to assess their biological response. The results revealed that the addition of Ta promoted: formation of Co allotropes ( $\epsilon\text{Co}$  and  $\alpha\text{Co}$ ) and an extra  $\text{TaCo}_2$  phase (from 3 % w/w); dendritic microstructure; increase in microhardness by  $\sim 77\%$  in the sample with 9 % w/w (466 HV0.5); increase in the local potential difference between the Co-Cr matrix ( $\epsilon\text{Co}$  and  $\alpha\text{Co}$ ) and the extra phase ( $\text{TaCo}_2$ ) by  $\sim 1500\%$  in the sample with 9 % w/w (687 mV); and, increase in hydrophilicity by  $\sim 7\%$  in the sample with 9 % w/w ( $71^\circ$ ). The combination of AFM, PDP and EIS techniques revealed the matrix with an anodic nature and the extra phase with a cathodic nature (higher nobility). Anodization generated nanostructures ( $\sim 40\text{-}50 \text{ nm}$ ), pores ( $\sim 0.8 \text{ }\mu\text{m}$ ), and cellular viability ( $> 100\%$ ). The 6 % w/w alloy excelled in spontaneous calcium phosphate nucleation ( $\sim 1.3 \text{ }\mu\text{m}$ ), indicating high bone-contact potential, while the anodized 9 % w/w exhibited hydrophobicity ( $\theta \sim 94^\circ$ ), ideal for non-adherent applications. At the macroscopic level, the 9% w/w alloy exhibited a corrosion resistance profile similar to samples commonly used in the biomedical field (corrosion rate  $\sim 10^{-4} \text{ mm/year}$ ), in addition to presenting *in vivo* biocompatibility without adverse effects. Our findings indicate that Ta modulates the properties of Co-Cr alloys, with the 6 and 9% w/w compositions being the most promising for specific applications, combining bioactivity, mechanical strength, and biocompatibility.

**Keywords:** Co-Cr-Ta, Biomaterials, Nanostructuring, Corrosion, Biocompatibility.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1. Aplicações de biomateriais metálicos no corpo humano: odontológico, cardiovascular e ortopédico.</b> .....	4
<b>Figura 2. Rugosidades média (<math>R_a</math>) e média quadrática (<math>R_q</math>) obtidas a partir da técnica de Microscopia de Força Atômica para uma amostra de Co-Cr com modificação de superfície: (a) <math>R_a</math> e <math>R_q</math> do perfil de linha (L) retirado do (b) mapa de altura.</b> .....	10
<b>Figura 3. Topografias de grades de calibração utilizadas na Microscopia de Força Atômica caracterizadas por assimetria (<math>R_{sk}</math>) e curtose (<math>R_{ku}</math>): presença principal de (a) vales, (b) picos e (c) picos e vales simetricamente. Distribuição de alturas das topografias (d, e) pontiagudas e (f) achatada.</b> .....	11
<b>Figura 4. Ligações balanceadas no interior (bulk) e desbalanceadas na superfície de um cristal de cloreto de sódio (NaCl).</b> .....	12
<b>Figura 5. Molhamento de diferentes superfícies sólidas imersas em um gás: os ângulos de contato das gotas depositadas descrevem as superfícies como (a) hidrofóbica (<math>\theta &gt; 90^\circ</math>), (b) hidrofílica (<math>\theta &lt; 90^\circ</math>) e (c) completamente molhada (<math>\theta \approx 0^\circ</math>).</b> .....	14
<b>Figura 6. Tipos de corrosão baseados em suas formas de manifestação: (a) uniforme, (b) intergranular, (c) por pites, (d) sob tensão, (e) em frestas, (f) galvânica, (g) seletiva e (h) por erosão.</b> .....	17
<b>Figura 7. Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura de substratos metálicos com estruturas típicas (a - f) e atípicas (g - i) formadas por anodização: (a) Ferro, (b) Gálio, (c) Háfio, (d) Nióbio, (e) Tântalo, (f) Zircônio, (g) Hidróxido de cobre (II), (h) Trióxido de molibdênio e (i) Pentóxido de nióbio.</b> .....	19
<b>Figura 8. Curva de força versus distância sonda-amostra (A) comparado às posições relativas da sonda e da amostra. As linhas verde e azul representam as curvas de aproximação e retração, respectivamente.</b> .....	22
<b>Figura 9. Aparato experimental da Microscopia de Força com Sonda Kelvin (KPFM) e das bandas de energia de dois metais distintos (ponta e amostra): interação entra a ponta e a amostra (a) ao serem colocados em contato elétrico, (b) quando os níveis de Fermi (<math>E_F</math>) se igualam e (c) o momento em que o KPFM aplica uma tensão (<math>V_{aplicada}</math>) de mesma magnitude da diferença de potencial de contato (<math>V_{CPD}</math>) entre amostra e a ponta. A função trabalho é dada pela diferença entre as energias do nível de vácuo (<math>E_{vac}</math>) e do <math>E_F</math>.</b> .....	23
<b>Figura 10. Microscopia de Força com sonda Kelvin: Representação da varredura: (a) detecção da topografia, (b) elevação da sonda e (c) detecção do potencial. Dados de uma amostra de Co-Cr-Ta (tratados com o software Gwyddion): (d) topografia em 2D, (e) potencial em 2D, (f) posições dos perfis de altura (linha preta) e de potencial (linha verde) e (g) potencial mesclado à topografia em 3D.</b> .....	24
<b>Figura 11. Ligas metálicas obtidas por fusão em forno a arco voltaico.</b> .....	25
<b>Figura 12. Aparato experimental para processo eletroquímico das amostras: célula eletroquímica constituída por dois eletrodos, o ânodo (amostra) e o cátodo (folha de platina), imersos em um eletrólito sob agitação magnética e conectados a uma fonte de alimentação de corrente contínua.</b> .....	26

<b>Figura 13. Projeto de impressão 3D de um eletrodo de suporte para amostra:</b> (a) interface gráfica do software Autodesk Fusion, (b) interface gráfica do software Ultimaker Cura 5.4.0, (c) eletrodo sendo impresso e (d) eletrodo impresso em PLA com a impressora 3D. ....	27
<b>Figura 14. Aparato experimental para medição de molhabilidade:</b> medição do ângulo de contato do líquido sobre a amostra com auxílio de um microscópio digital USB e do software Image J.....	29
<b>Figura 15. Padrões de difração de raios X das amostras sem modificação de superfície:</b> os gráficos com barras representam as fases cristalográficas $\epsilon$ Co, $\alpha$ Co e TaCo <sub>2</sub> presentes nas amostras Co <sub>(72)</sub> Cr <sub>(28)</sub> , Co <sub>(69)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(3)</sub> , Co <sub>(66)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(6)</sub> e Co <sub>(63)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(9)</sub> . O símbolo de triângulo representa os picos da fase TaCo <sub>2</sub> .....	37
<b>Figura 16. Micrografia eletrônica de varredura:</b> (a) Co <sub>(72)</sub> Cr <sub>(28)</sub> , (b) Co <sub>(69)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(3)</sub> , (c) Co <sub>(66)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(6)</sub> e (d) Co <sub>(63)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(9)</sub> (magnificação de 2 kx, detector de elétrons secundários). ....	38
<b>Figura 17. Informações morfológica e elementar da superfície:</b> micrografia obtida por MEV, mapas composicionais e pontos 1-8 descritos pelo EDS de (a) Co <sub>(72)</sub> Cr <sub>(28)</sub> , (b) Co <sub>(69)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(3)</sub> , (c) Co <sub>(66)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(6)</sub> e (d) Co <sub>(63)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(9)</sub> (magnificação de 12 kx, detector de elétrons secundários). ....	39
<b>Figura 18. Resistência à deformação plástica localizada por Microdureza Vickers:</b> As esferas informam o valor médio, a linha vermelha indica o ajuste polinomial, enquanto as barras são os desvios padrões para as amostras Co <sub>(72)</sub> Cr <sub>(28)</sub> , Co <sub>(69)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(3)</sub> , Co <sub>(66)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(6)</sub> e Co <sub>(63)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(9)</sub> . As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ....	41
<b>Figura 19. Topografia, potencial e posição do perfil:</b> (a) Co <sub>(72)</sub> Cr <sub>(28)</sub> , (b) Co <sub>(69)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(3)</sub> , (c) Co <sub>(66)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(6)</sub> e (d) Co <sub>(63)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(9)</sub> . ....	42
<b>Figura 20. Comparação entre morfologia e o potencial da superfície das amostras Co<sub>(72)</sub>Cr<sub>(28)</sub> e Co<sub>(63)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(9)</sub>:</b> (a-c) Imagens de MEV no modo SE e (b-d) mapas de potencial por KPFM, com varreduras de 50 x 50 $\mu$ m. Estas imagens não correspondem às mesmas regiões, mas sim às mesmas amostras. ....	43
<b>Figura 21. Diferença de potencial entre a fase TaCo<sub>2</sub> e matriz Co-Cr.</b> As esferas informam o valor médio, a linha vermelha indica o ajuste polinomial, enquanto as barras são os desvios padrões para as amostras Co <sub>(72)</sub> Cr <sub>(28)</sub> , Co <sub>(69)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(3)</sub> , Co <sub>(66)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(6)</sub> e Co <sub>(63)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(9)</sub> . As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ....	44
<b>Figura 22. Distribuição da função trabalho ajustada com funções Gaussianas:</b> (a) Co <sub>(72)</sub> Cr <sub>(28)</sub> ( $R^2 = 0,99$ ), (b) Co <sub>(69)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(3)</sub> ( $R^2 = 0,99$ ), (c) Co <sub>(66)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(6)</sub> ( $R^2 = 0,97$ ) e (d) Co <sub>(63)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(9)</sub> ( $R^2 = 0,99$ ). Os mapas de potenciais à direita são representativos de um grupo de 30 mapas para cada amostra. ....	45
<b>Figura 23. Efeito da metalografia com ácido por 1 min na superfície:</b> topografia em três dimensões de (a) Co <sub>(72)</sub> Cr <sub>(28)</sub> , (b) Co <sub>(69)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(3)</sub> , (c) Co <sub>(66)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(6)</sub> , (d) Co <sub>(63)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(9)</sub> e (e) respectivas posições dos perfis de linhas azuis. As setas indicam a posição de buracos na matriz Co-Cr. ....	46

- Figura 24. Características topográfica e de potencial da amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  antes e após metalografia com ácido por 1 min:** (a,d) Imagem óptica, (b,e,f,h) mapa topográfico e (c,g,i) mapa de potencial.....47
- Figura 25. Comportamento eletroquímico da amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  em NaCl (9 g/L) e SBF.** Micrografia ótica após testes eletroquímicos em (d) NaCl (9 g/L) e (e) SBF. (a, b) Curvas de polarização potenciodinâmica e (c) diagrama de Nyquist, descrito pela impedância imaginária ( $Z_{im}$ ) versus real ( $Z_R$ ). .....49
- Figura 26. Padrões de difração de raios X das amostras após imersão em SBF:** os gráficos com barras representam as fases  $\epsilon\text{Co}$ ,  $\alpha\text{Co}$  e  $\text{TaCo}_2$ , enquanto os símbolos representam as estruturas de NaCl,  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  e  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  presentes nas amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  -,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  -,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  - e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  - SBF. ....51
- Figura 27. Micrografia eletrônica de varredura (magnificação de 1 kx) das amostras após imersão em SBF:** (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  - , (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  - , (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  - e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  - SBF.....52
- Figura 28. Informações morfológicas e elementares da superfície (magnificação de 12 kx) das amostras após imersão em SBF:** imagem da microestrutura de superfície, mapas composicionais e pontos 1-8 descritos pelo EDS de (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  - , (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  - , (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  - e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  - SBF. ....53
- Figura 29. Informações morfológicas e elementares da superfície (magnificação de 12 kx) da amostra de  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  após imersão em SBF:** imagem da microestrutura de superfície, mapas composicionais e ponto 1 descritos pelo EDS.....54
- Figura 30. Espessuras dos filmes nucleados sobre as amostras após imersão em SBF por 28 dias:** As esferas informam o valor médio e as barras são os desvios padrões para as amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ . As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). .....55
- Figura 31. Efeito de intra-articular administração da amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  na formação de edema e migração de leucócitos.** (a) A espessura da articulação do joelho. As células sinoviais do joelho foram recuperadas e analisadas em (b) leucócitos totais, (c) neutrófilos e (d) migração de células mononucleares. CTL são os animais do grupo controle. Os dados foram apresentados como média  $\pm$  SE ( $n=6$ ). Estatisticamente significativos ( $p \leq 0,05$ ) são indicados entre os grupos estimulado e não estimulado (\*). .....56
- Figura 32. Comparação da quantificação de interleucina de lavagens da articulação do joelho de animais 48 h após a injeção de Zymosan ou administrado com a amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ .** (a) Quantificação de IL-1 $\beta$  e (b) a quantificação de IL-6. ....57
- Figura 33. Padrões de difração de raios X das amostras de  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  polidas e anodizadas por 20s e 60s (Rotas 1 e 2):** os padrões estão identificados pelas fases cristalográficas  $\epsilon\text{Co}$  e  $\alpha\text{Co}$ . ....58
- Figura 34. Morfologia das amostras de  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  antes (polida) e após anodização:** (a-f) imagens óticas das superfícies com varreduras de 180  $\mu\text{m}$ , topografia por AFM das superfícies com varreduras de (g-l) 30  $\mu\text{m}$  e (m-r) 5  $\mu\text{m}$ , identificadas conforme procedimento metodológico (Rotas 1 e 2).....60
- Figura 35. Propriedades de superfície da amostra de  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  polidas e anodizadas:** rugosidades médias quadráticas em varreduras de (a) 30  $\mu\text{m}$  e (b) 5  $\mu\text{m}$ , e assimetria em

varreduras de (c) 30  $\mu\text{m}$  e (d) 5  $\mu\text{m}$ . As linhas tracejadas em vermelho e azul indicam as rugosidades de 100 e 50 nm, respectivamente. As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ..... 62

**Figura 36. Padrões de difração de raios X das amostras anodizadas:** gráficos com barras representam as fases cristalográficas  $\epsilon\text{Co}$ ,  $\alpha\text{Co}$  e  $\text{TaCo}_2$  presentes nas amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ . ..... 64

**Figura 37. Espectros Raman das amostras:** (a)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  anodizadas; (b)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  anodizada; (c)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  polidas. .... 65

**Figura 38. Morfologia das amostras anodizadas obtida por Microscopia ótica:** (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  anodizada, (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  anodizada, (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  anodizada e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  anodizada. .... 67

**Figura 39. Micrografia eletrônica de varredura das amostras após anodização:** (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ , (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  (magnificação de 1 kx e 30 kx, detector de elétrons retroespalhados). ..... 68

**Figura 40. Informações morfológica e elementar da superfície das amostras após anodização:** micrografia obtida por MEV, mapas composicionais e pontos 1-8 descritos pelo EDS de (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ , (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  (magnificação de 12 kx, detector de elétrons secundários). ..... 69

**Figura 41. Informação de morfologia das amostras anodizadas:** topografia e perfil de linha das amostras (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ , (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  em varreduras de 1  $\mu\text{m}$ . .... 70

**Figura 42. Propriedades de superfície das amostras polidas e anodizadas:** (a) diâmetro de partícula, (b) área de superfície, (c) rugosidade média quadrática e (d) assimetria das amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  em varreduras de 1  $\mu\text{m}$ . As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ..... 71

**Figura 43. Ângulo de contato da gota sobre as amostras polidas e anodizadas:** as esferas informam o valor médio e as barras são os desvios padrões para as amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ . As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ..... 73

**Figura 44. Testes de sobrevivência celular após 24 e 48 h de cultura celular nas amostras:** As colunas indicam o valor médio e as barras são os desvios padrão para as amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ . As linhas tracejadas em azul e vermelho indicam a viabilidade celular de 100 e 70 %, respectivamente. As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ..... 75

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composições químicas de ligas à base de Co-Cr mais utilizadas no setor biomédico. ....	7
<b>Tabela 2.</b> Parâmetros utilizados para a anodização da amostra $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ . ....	28
<b>Tabela 3.</b> Porcentagem de fase $\text{TaCo}_2$ em relação a matriz Co-Cr ( $\epsilon\text{Co}$ e $\alpha\text{Co}$ ). ....	40
<b>Tabela 4.</b> Potencial de corrosão ( $E_{\text{corr}}$ ), corrente de corrosão ( $I_{\text{corr}}$ ), potencial de ruptura ( $E_b$ ) e taxa de corrosão para $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ em NaCl e SBF. ....	49
<b>Tabela 5.</b> Razão Ca/P calculada a partir dos espectros de EDS das amostras após imersão em SBF. ....	54
<b>Tabela 6.</b> Diâmetro dos poros obtidos para a amostra de $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ anodizada a 2V, a partir da análise de varreduras de 30 $\mu\text{m}$ . ....	61
<b>Tabela 7.</b> Dados quantitativos das propriedades de superfície: rugosidade média quadrática e assimetria para as amostras polidas e anodizadas de $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ . ....	62
<b>Tabela 8.</b> Óxidos de cromo, cobalto e tântalo identificados por Espectroscopia Raman para as amostras $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ , $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$ e $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ anodizadas. ....	66
<b>Tabela 9.</b> Dados quantitativos das propriedades de superfície para as amostras polidas e anodizadas. ....	72
<b>Tabela 10.</b> Dados quantitativos do ângulo de contato da gota sobre as amostras polidas e anodizadas. ....	73

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

<b>Co-Cr</b>	Liga metálica à base de cobalto-cromo
<b>Co<sub>(72-x)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(x)</sub></b>	Ligas metálicas investigadas na presente tese (x = 0, 3, 6 e 9 %m/m)
<b>ASTM</b>	Sociedade Americana de Testes e Materiais, do inglês <i>American Society for Testing and Materials</i>
<b>ASTM F75</b>	Especificação padrão para a liga metálica de CoCr <sub>(28)</sub> Mo <sub>(6)</sub>
<b>ASTM F90</b>	Especificação padrão para a liga metálica de CoCr <sub>(20)</sub> W <sub>(15)</sub> Ni <sub>(10)</sub>
<b>ASTM F1537</b>	Especificação padrão para a liga metálica de CoCr <sub>(28)</sub> Mo <sub>(6)</sub> (Com alto teor de C, N e sem Ni)
<b>ASTM F562</b>	Especificação padrão para a liga metálica de CoNi <sub>(35)</sub> Cr <sub>(20)</sub> Mo <sub>(10)</sub>
<b>HA</b>	Hidroxiapatita
<b>SBF</b>	Fluido Corporal Simulado, do inglês <i>Simulated Body Fluid</i>
<b>KPFM</b>	Microscopia de Força com Sonda Kelvin, do inglês <i>Kelvin Probe Force Microscopy</i>
<b>PDP</b>	Polarização Potenciodinâmica, do inglês <i>Potentiodynamic polarization</i>
<b>EIS</b>	Espectroscopia de Impedância Eletroquímica, do inglês <i>Electrochemical Impedance Spectroscopy</i>
<b>AFM</b>	Microscopia de Força Atômica, do inglês <i>Atomic Force Microscopy</i>
<b>QNM</b>	Propriedades Nanomecânicas Quantitativas, do inglês <i>PeakForce Tapping Quantitative Nanomechanics</i>
<b>MFM</b>	Microscopia de Força Magnética, do inglês <i>Magnetic Force Microscopy</i>
<b>LFM</b>	Microscopia de Força Lateral, do inglês <i>Lateral Force Microscopy</i>
<b>PLA</b>	Poliácido láctico
<b>i.a.</b>	Intra-articular
<b>PBS</b>	Solução tampão de fosfato, do inglês <i>Phosphate-Buffered Saline</i>
<b>EDTA</b>	Ácido etileno diamino Tetra-Acético, do inglês <i>Ethylenediaminetetraacetic</i>
<b>ELISA</b>	Ensaio imunoenzimático sanduíche, do inglês <i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
<b>SE</b>	Erro padrão amostral
<b>SD</b>	Desvio padrão amostral
<b>ANOVA</b>	Análise de variância, do inglês <i>Analysis of variance</i>

<b>ICSD</b>	Banco de Dados de Estruturas Cristalinas Inorgânicas, do inglês <i>Inorganic Crystal Structure Database</i>
<b>OCP</b>	Potencial de circuito aberto, do inglês <i>Open Circuit Potential</i>
<b>MEV</b>	Microscopia eletrônica de varredura, do inglês <i>Scanning Electron Microscopy</i>
<b>EDS</b>	Espectroscopia de raios X por dispersão em energia, do inglês <i>Energy-dispersive X-ray Spectroscopy</i>
<b>LSH</b>	Altura de elevação de varredura, do inglês <i>Lift Scan Height</i>



## LISTA DE SÍMBOLOS

$\epsilon_{\text{Co}}$	Estrutura cristalina hexagonal compacta do elemento cobalto
$\alpha_{\text{Co}}$	Estrutura cristalina cúbica de face centrada do elemento cobalto
$R_a$	Rugosidade média
$R_q$	Rugosidade média quadrática
$L$	Número de pontos de altura
$y$	Valor da altura acima da linha média
$x$	Distância da origem
$R_{sk}$	Assimetria
$R_{ku}$	Curtose
$\gamma$	Energia de superfície/Tensão superficial
$\Delta W$	Trabalho adicional
$\Delta S$	Aumento da área de superfície
$\theta_\gamma$	Ângulo de contato de equilíbrio do sistema sólido, líquido e gás
$\gamma_{sg}$	Tensão de interface entre sólido e gás
$\gamma_{sl}$	Tensão de interface entre sólido e líquido
$\gamma_{lg}$	Tensão de interface entre líquido e gás
$F$	Força
$k$	Constante de mola
$\Delta x$	Deflexão do cantiléver
$V$	Potencial intermolecular
$r$	Distância entre os dois átomos ou moléculas
$\epsilon$	Profundidade do poço de potencial
$\sigma$	Posição do ponto de equilíbrio ( $V = 0$ )
$E_F$	Energia do nível de Fermi
$E_{\text{vac}}$	Energia do nível de vácuo
$V_{\text{CPD}}$	Diferença de potencial de contato entre os dois metais
$\Phi$	Função trabalho
$V_{\text{aplicada}}$	Tensão de compensação
$e$	Carga elementar
<b>.stl</b>	Arquivo para transmissão de dados geométricos usados em impressão 3D
<b>.step</b>	Arquivo para compartilhar modelos 3D entre <i>softwares</i> de modelagem digital

## PRODUÇÃO CIENTÍFICA, PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS E MÉRITOS PROFISSIONAIS

### Artigos referentes a tese publicados

- Batista *et al.*, Tantalum's Role in the Microstructure and its Influence on Corrosive Behavior. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 1010, p. 177216, 2025.  
doi: 10.1016/j.jallcom.2024.177216.
- Batista *et al.*, Physical, morphological, and bioactive properties of Co-Cr-W-Ta alloys: influence of insertion of tantalum and surface thermochemical treatment on bioactivity. *Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials*, v. 111, p. 1, 2023.  
doi: 10.1002/jbm.b.35229.

### Artigo referente a tese submetido

- Batista *et al.*, Tantalum-Doped Co-Cr Alloys: Multiscale Effects on Mechanics, Surface Potential, and Biological Responses. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. Manuscript ID: ab-2025-018449.

### Artigos em colaboração durante o doutorado

- França *et al.*, Sustainable Graphene Synthesis and Analysis of Graphene-Based PLA Nanocomposites: Impacts of Polymer Functionalization and Potential Applications in Cancer Treatments. *ACS Omega*, v. 1, p. 1, 2025. doi: 10.1021/acsomega.5c01094.
- Carvalho *et al.*, Pharmacokinetic Analysis of Ultrathin g-C3-N4- Nanosheets via Acid Exfoliation. *Surfaces and Interfaces*, v. 1, p. 107223, 2025. doi: 10.1016/j.surfin.2025.107223.
- Souza *et al.*, The Use of Rare Earth Glass Microspheres and Graphene Quantum Dots Glass Microspheres for Biological Applications: Cancer Insight. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, v. 1, p. 1, 2025. doi: 10.34172/apb.025.45113.
- Mesquita *et al.*, Optimization of nanostructured surfaces of the  $\beta$  -alloy Ti-35Nb-5Ta: The effect of electrochemical anodization on the functional performance of titanium dioxide

nanotubes. *Surface & Coatings Technology*, v. 503, p. 131974, 2025. doi: 10.1016/j.surfcoat.2025.131974;

- Gemini-Piperni *et al.*, Nano-hydroxyapatite radiolabeled with radium dichloride [<sup>223</sup>Ra] RaCl<sub>2</sub> for bone cancer targeted alpha therapy: In vitro assay and radiation effect on the nanostructure. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, v. 223, p. 113174, 2023. doi: 10.1016/j.colsurfb.2023.113174;
- Yang *et al.*, [Ra] RaCl nanomicelles showed potent effect against osteosarcoma: targeted alpha therapy in the nanotechnology era. *Drug Delivery*, v. 29, p. 186-191, 2022. doi: 10.1080/10717544.2021.2005719.

### **Patente com outra temática submetida durante o doutorado**

- Rates *et al.*, Membrana Polimérica de PVA, Pluronic F127 e Glicerol Funcionalizado com Grafeno Encapsulado por Micelas de Pluronic F127 para Aplicações Biomédicas. 2025. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202500415.

### **Capa de revista**

- Imagem para a capa em destaque da edição da revista *Journal of Biomedical Materials Research: Part B - Applied Biomaterials*, 2023.

### **Menção honrosa**

- Biophysical properties of cobalt-based metal alloy for biomedical application no Encontro de Outono da Sociedade Brasileira de Física, no período de 18 a 22 de maio de 2025, em Belém – PA;
- Resistência à corrosão em liga Co-Cr-Ta: o papel do tântalo na microestrutura e sua influência no comportamento corrosivo no 1º Workshop do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, no período de 26 a 29 de agosto de 2024, virtualmente;
- Effect of new alloy Co<sub>63</sub>Cr<sub>28</sub>Ta<sub>9</sub> microstructure on its magnetic and corrosive response no XXXVII Encontro de Física do Norte e Nordeste, no período de 27 a 29 de novembro de 2023, em Salvador – BA.

## **Apresentações de trabalho**

- Cobalt-Chromium-Tantalum alloys with tailored surfaces for implantable medical devices, no Encontro de Física do Norte e Nordeste, no período de 26 a 28 de novembro de 2025, em Natal-RN;
- Efeito do Tântalo e da Anodização na Nanoengenharia de Superfície de Ligas Co-Cr para Aplicação Biomédica, no III Simpósio Brasileiro de Engenharia da Nanotecnologia, no período de 15 a 17 de setembro de 2025, virtualmente.
- Biophysical properties of cobalt-based metal alloy for biomedical application no Encontro de Outono da Sociedade Brasileira de Física, no período de 18 a 22 de maio de 2025, em Belém – PA;
- Resistência à corrosão em liga Co-Cr-Ta: o papel do tântalo na microestrutura e sua influência no comportamento corrosivo no 1º Workshop do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, no período de 26 a 29 de agosto de 2024, virtualmente;
- Effect of new alloy  $\text{Co}_{63}\text{Cr}_{28}\text{Ta}_9$  microstructure on its magnetic and corrosive response no XXXVII Encontro de Física do Norte e Nordeste, no período de 27 a 29 de novembro de 2023, em Salvador – BA;
- Effect of Tantalum on the Structure, Vickers Microhardness, and Surface Potential in a New Cobalt-Based Alloy no Encontro de Outono da Sociedade Brasileira de Física, no período de 21 a 25 de maio de 2023, em Ouro Preto – MG;
- Surface Analysis and in vivo Effect of the New Alloy  $\text{Co}_{63}\text{Cr}_{28}\text{Ta}_9$  no evento 51th Annual Meeting of the Brazilian Society of Biochemistry and Molecular Biology (SBBq) / 46th Congress of the Brazilian Society of Biophysics (SBBf) / LAFESB, no período de 5 a 8 de setembro de 2022, em Águas de Lindóia – SP.

## **Participação em evento**

- III Simpósio Brasileiro de Engenharia da Nanotecnologia, no período de 15 a 17 de setembro de 2025, virtualmente.
- XIII Workshop da Pós-Graduação em Física, no período de 24 e 25 de outubro de 2024 em Teresina – PI;
- 1º Workshop do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, no período de 26 a 29 de agosto de 2024, virtualmente;

- VII CNPEM AFM Workshop no Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), dia 04 de julho, em Campinas – SP;
- Minicurso Gwyddion no Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), dia 05 de julho, em Campinas – SP;
- XXXVII Encontro de Física do Norte e Nordeste, no período de 27 a 29 de novembro de 2023, em Salvador – BA;
- Encontro de Outono da Sociedade Brasileira de Física, no período de 21 a 25 de maio de 2023, em Ouro Preto – MG;
- 51th Annual Meeting of the Brazilian Society of Biochemistry and Molecular Biology (SBBq) / 46th Congress of the Brazilian Society of Biophysics (SBBf) / LAFESB, no período de 5 a 8 de setembro de 2022, em Águas de Lindóia – SP;

#### **Produção técnica**

- Batista *et al.*, Eletrodo para Célula Eletroquímica - Suporte de Amostras 3D, link: <https://www.thingiverse.com/thing:7018643>, 2025.

#### **Participação em banca de monografia**

- “Estudo a Nível Celular das Alterações Biofísicas Ocasionadas por Diabetes Mellitus” do estudante Alefe Roger Silva França, em 23 de dezembro de 2022, virtualmente;
- “Estudo das Propriedades Físicas e Químicas de Blendas de Galactomanana e Pectina” da estudante Eva da Silva Barbosa, em 28 de junho de 2024, presencialmente no IFMA Campus Imperatriz.

#### **Coorientação de monografia**

- “A FÍSICA DA MOLHABILIDADE EM BIOMATERIAIS: um estudo correlativo com Microscopia de Força Atômica.” da estudante Rosa Maria Viana Sousa. Universidade Federal do Maranhão, 2025.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>3</b>
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>4</b>
<b>3.1 Biomateriais metálicos .....</b>	<b>4</b>
3.1.1 <i>Ligas metálicas à base de cobalto-cromo .....</i>	<i>6</i>
3.1.2 <i>Elemento químico tântalo .....</i>	<i>8</i>
<b>3.2 Características de superfície.....</b>	<b>9</b>
3.2.1 <i>Medidas de forma.....</i>	<i>9</i>
3.2.2 <i>Energia de superfície .....</i>	<i>12</i>
3.2.3 <i>Molhabilidade .....</i>	<i>13</i>
<b>3.3 Corrosão em materiais metálicos .....</b>	<b>15</b>
<b>3.4 Análise de superfície em resolução nanométrica .....</b>	<b>20</b>
3.4.1 <i>Mapeamento do potencial de superfície .....</i>	<i>22</i>
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>25</b>
<b>4.1 Síntese das ligas metálicas.....</b>	<b>25</b>
<b>4.2 Testes eletroquímicos .....</b>	<b>26</b>
4.2.1 <i>Preparação.....</i>	<i>26</i>
4.2.2 <i>Metalografia.....</i>	<i>27</i>
4.2.3 <i>Anodização .....</i>	<i>28</i>
<b>4.3 Molhabilidade .....</b>	<b>28</b>
<b>4.4 Imersão em Fluido Corporal Simulado .....</b>	<b>29</b>
<b>4.5 Citocompatibilidade .....</b>	<b>29</b>
<b>4.6 Ensaio <i>in vivo</i>.....</b>	<b>31</b>
<b>4.7 Técnicas de caracterização .....</b>	<b>33</b>
4.7.1 <i>Difração de Raios X.....</i>	<i>33</i>
4.7.2 <i>Espectroscopia Raman.....</i>	<i>33</i>
4.7.3 <i>Microdureza Vickers .....</i>	<i>33</i>
4.7.4 <i>Polarização Potenciodinâmica e Espectroscopia de Impedância Eletroquímica .....</i>	<i>34</i>
4.7.5 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Raios X por Dispersão em Energia.....</i>	<i>34</i>
4.7.6 <i>Microscopia de Força Atômica.....</i>	<i>35</i>

<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>36</b>
<b>5.1 Propriedades de <i>bulk</i> e de superfície das ligas .....</b>	<b>36</b>
5.1.1 <i>Estrutura cristalina .....</i>	36
5.1.2 <i>Microestrutura .....</i>	37
5.1.3 <i>Microdureza Vickers .....</i>	41
5.1.4 <i>Potencial de superfície e seu efeito na corrosão .....</i>	42
5.1.5 <i>Corrosão em fluido corporal .....</i>	48
5.1.6 <i>Nucleação de fosfato de cálcio .....</i>	50
5.1.7 <i>Formação de edema e migração de leucócito .....</i>	55
5.1.8 <i>Medição de citocinas.....</i>	57
<b>5.2 Modificação de superfície da liga Co<sub>(72)</sub>Cr<sub>(28)</sub> por anodização .....</b>	<b>57</b>
5.2.1 <i>Estrutura cristalina .....</i>	58
5.2.2 <i>Morfologia da superfície.....</i>	59
<b>5.3 Caracterização de superfície da série de ligas anodizadas .....</b>	<b>64</b>
5.3.1 <i>Estrutura cristalina .....</i>	64
5.3.2 <i>Morfologia da superfície.....</i>	66
5.3.3 <i>Molhabilidade .....</i>	72
5.3.4 <i>Viabilidade celular.....</i>	75
<b>6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>77</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>78</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>95</b>
<b>Apêndice A - Conversão dos dados brutos de potencial em função trabalho .....</b>	<b>95</b>
<b>Apêndice B - Relação quadrática entre composição e propriedades.....</b>	<b>99</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A Ciência dos Materiais desempenha um papel essencial no avanço da sociedade, ao possibilitar a produção, manipulação e otimização de materiais que atendam às demandas tecnológicas, industriais e cotidianas. Uma contribuição fundamental é a investigação da relação entre a microestrutura e as propriedades macroscópicas dos materiais. Em particular, as ligas metálicas<sup>1</sup>, objeto de estudo deste trabalho, são uma classe de materiais aplicada em áreas como construção [2], transporte [3], segurança [4] e saúde [5–7]. No campo da saúde, os metais e suas ligas têm exercido um papel predominante como biomateriais<sup>2</sup> estruturais devido às suas propriedades mecânicas superiores, como, por exemplo, a durabilidade e a resistência à fadiga [9], que os tornam ideais para diversas aplicações, como as ortopédicas [10], as dentárias [11] e as cardiovasculares [12], dominando o mercado global de biomateriais [13].

Os materiais metálicos que apresentam biocompatibilidade e resistência à corrosão, em ambientes fisiológicos, devem garantir o seu uso seguro como biomateriais por no mínimo 30 anos [14]. Um dos principais desafios no desenvolvimento de biomateriais metálicos é obter materiais com múltiplas funcionalidades [15]. Para isto, diversas abordagens têm sido propostas, tais como tratamentos e revestimentos de superfície [16–20], variação na composição química conferindo às ligas propriedades superiores aos metais de partida [21,22], design direcionado, controle das propriedades para alcançar respostas biológicas específicas [18], além da tentativa de compreensão de biointerfaces [23].

A principal aplicação dos metais e suas ligas na área biomédica está na ortopedia, um setor que enfrenta uma demanda mundial crescente [24,25], devido ao envelhecimento populacional, ao avanço tecnológico e ao acesso à saúde. Esse fenômeno é particularmente evidente no campo das artroplastias<sup>3</sup>, onde projeções indicam que as demandas por artroplastias totais do quadril e do joelho primárias, nos Estados Unidos, devem aumentar até 2030 em 174% e 673%, respectivamente, enquanto que as demandas por cirurgias de revisão do quadril e do joelho até 2030 devem crescer em 137% e em 601% [27]. Estudos realizados anteriormente em países como Estados Unidos, Suíça, Alemanha, Coreia do Sul, Espanha e México, já haviam demonstrado essa tendência de aumento [28,29]. No Brasil, embora os dados oficiais sejam escassos, a realidade clínica acompanha esta tendência de crescimento [30]. Outros segmentos da ortopedia também registram crescimento, como em cirurgia de coluna, fixação de fraturas e

---

<sup>1</sup> Materiais compostos de dois ou mais elementos em que o metal é o principal componente [1]

<sup>2</sup> Dispositivos, de origem sintética ou natural, que entram em contato com sistemas biológicos [8]

<sup>3</sup> Cirurgia que substitui uma articulação doente por uma nova articulação [26]



uso de enxertos ósseos [31–33]. Diante deste cenário, é fundamental o desenvolvimento de novas ligas com propriedades superiores.

Dentre os metais e ligas aplicados como implantes e próteses, os mais comuns são: o aço inoxidável, titânio (Ti) e ligas à base cobalto-cromo (Co-Cr) [9]. As ligas de Co-Cr são conhecidas por sua bioinércia, ou seja, a capacidade de permanecerem estáveis no corpo humano sem causar reações adversas significativas [9,34]. No entanto, a demanda por materiais com propriedades superiores tem impulsionado a investigação de novas composições destas ligas. A adição de um elemento liga como o tântalo (Ta), conhecido por apresentar bioatividade [35,36] e proliferação celular [37,38], pode resultar em alterações importantes no material. Além disso, a modificação da superfície de uma liga de Co-Cr dopada com Ta pode resultar em mudanças morfológicas, físicas e químicas mais adequadas para crescimento de fosfato de cálcio e viabilidade celular. Nessa direção, o desenvolvimento deste trabalho visou contribuir com a inovação dentro da Ciência dos Materiais desde a concepção de uma nova série de ligas metálicas  $\text{Co}_{(72-x)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(x)}$  ( $x = 0, 3, 6$  e  $9 \text{ \% m/m}^4$ ), a investigação de propriedades estrutural, mecânica, elétrica, até testes *in vitro* e *in vivo*.

Este trabalho está organizado em seis capítulos, que incluem desde os fundamentos teóricos até os resultados experimentais e suas implicações, conforme descritos a seguir: a Introdução (Seção 1) apresenta o contexto geral do trabalho, destacando a relevância dos metais e suas ligas no campo dos biomateriais, bem como os desafios; os Objetivos da pesquisa (Seção 2); a Revisão Bibliográfica (Seção 3) apresenta um levantamento abrangente dos conceitos teóricos e o estado da arte referente aos biomateriais metálicos, as características de superfície essenciais na otimização da interação entre o material e o sistema biológico, a corrosão em materiais metálicos e a Microscopia de Força com Sonda Kelvin como uma ferramenta poderosa no estudo de materiais metálicos; a Metodologia (Seção 4) descreve os detalhes dos procedimentos experimentais abordados na pesquisa; os Resultados e Discussão (Seção 5) descrevem e discute os resultados obtidos ao longo da pesquisa, abordando as propriedades de *bulk* e de superfície das ligas, sem e com modificação de superfície; por fim, a Conclusão e Perspectivas (Seção 6) pontua as considerações finais a partir dos resultados obtidos e as possibilidades de pesquisas futuras.

---

<sup>4</sup> Concentração massa/massa ou porcentagem em massa

## 2. OBJETIVOS

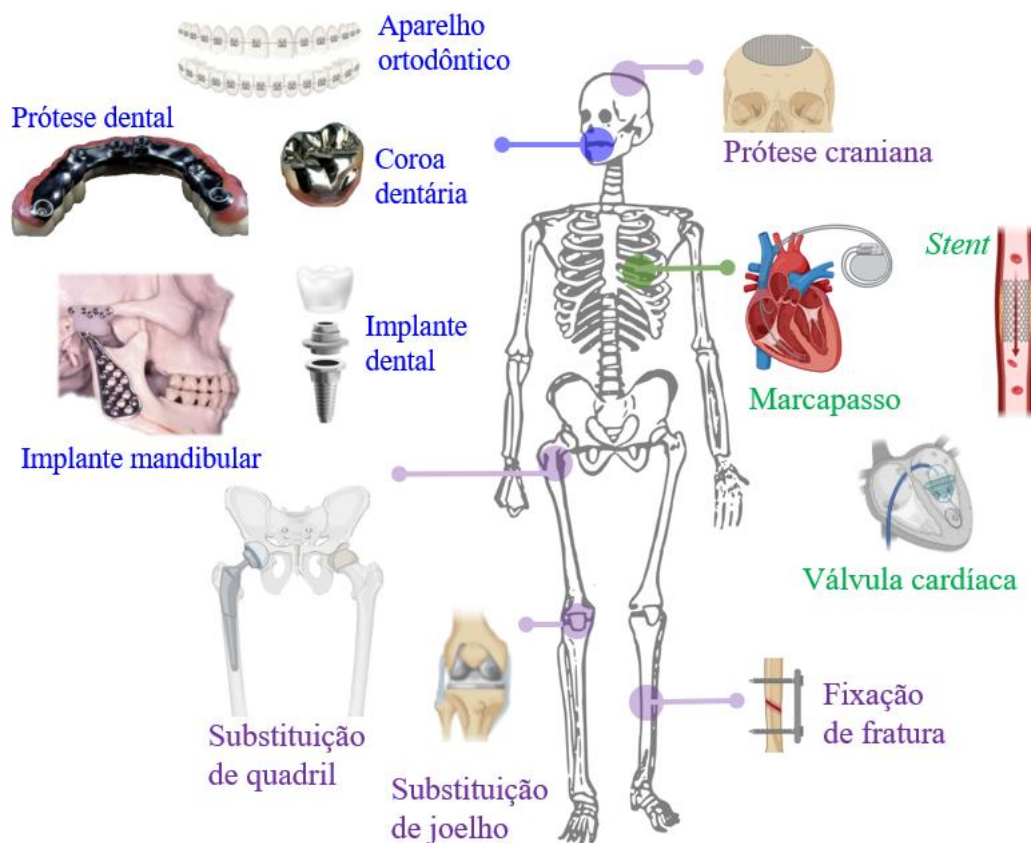
Este trabalho teve por objetivo produzir e avaliar novas ligas biocompatíveis à base de Co-Cr-Ta para aplicação como implantes na área médica. De forma específica, objetivou-se:

- Sintetizar as ligas  $\text{Co}_{(72-x)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(x)}$  ( $x = 0, 3, 6$  e  $9 \text{ \% m/m}$ ) utilizando a técnica de fusão em forno a arco voltaico;
- Caracterizar as ligas, de forma avançada, por meio das técnicas de difração de raios X, espectroscopia Raman, molhabilidade, microdureza Vickers, polarização potenciodinâmica, espectroscopia de impedância eletroquímica, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de raios X por dispersão em energia e microscopia de força atômica;
- Modificar a superfície das amostras através de ensaio eletroquímico por anodização;
- Realizar testes de biocompatibilidade *in vitro* por meio de experimentos de imersão em fluido corporal simulado e citocompatibilidade;
- Realizar teste *in vivo* para a amostra com melhor biocompatibilidade;
- Correlacionar as modificações na composição e na superfície das amostras com as suas propriedades estrutural, mecânica, elétrica e biocompatível.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Biomateriais metálicos

A expansão da indústria metalúrgica e uso de materiais metálicos como implantes médicos ocorreu em um período de desenvolvimento tecnológico. O desenvolvimento destes implantes metálicos se deu pela necessidade de reparo ósseo, pelo uso em dispositivos ortopédicos incluindo temporários e implantes permanentes, além do emprego em odontologia e ortodontia (Figura 1). Na projeção de um biomaterial metálico, seguro e com longo tempo de vida, devem ser levados em consideração características essenciais, mas não restringidas a: excelente biocompatibilidade; alta resistência à corrosão; propriedades mecânicas adequadas; alta resistência ao desgaste; e, osseointegração (no caso de próteses ósseas) [39].



**Figura 1. Aplicações de biomateriais metálicos no corpo humano:** odontológico, cardiovascular e ortopédico.  
Fonte: elaborado pelo autor com base em imagens de domínio público.

A fim de ter um consenso sobre os conceitos utilizados na área de biomateriais, foram realizadas conferências em 1985 em Chester, Reino Unido e em 2018 em Chengdu, China, ambas confirmando a definição de biocompatibilidade como "a capacidade de um material de

desempenhar suas funções desejadas com relação a uma terapia médica, de induzir uma resposta apropriada do hospedeiro em uma aplicação específica e de interagir com sistemas vivos sem ter qualquer risco de lesão, toxicidade ou rejeição pelo sistema imunológico e efeitos locais ou sistêmicos indesejáveis ou inapropriados” [40]. Trata-se portanto de um termo amplo que envolve vários contextos para cada tipo de material, como a influência de topografia e composição química na osseointegração de implantes dentários [41], a estabilização de íons metálicos ao serem liberados em fluidos corporais [42], a capacidade do material causar danos ou destruição às células [43] e respostas inflamatórias [44], dentre outros.

A principal limitação dos materiais metálicos está na liberação de íons metálicos tóxicos devido ao processo de corrosão e a resistência a isto determinará o sucesso a longo prazo do biomaterial. Conforme o local em que o implante é inserido experimenta diferentes condições de corrosão devido a presença de íons cloreto, de proteínas, flutuações de força iônica, variações de pH [39,45] e outros, tornando o corpo humano um ambiente agressivo para o implante com uma variedade de reações indesejadas, como hipersensibilidade, falha estrutural e a liberação de íons tóxicos. Idealmente, o biomaterial metálico deve apresentar resistência à corrosão em condições adversas e permanecer atuando com liberação de íons metálicos em nível satisfatório por um longo período (mais de 30 anos) em condições fisiológicas normais (estado em que o corpo humano funciona de maneira equilibrada e saudável) [39].

Enquanto isto, as propriedades mecânicas destacam os metais dos demais materiais, fazendo-os serem escolhidos para aplicações que os demais não podem atuar, como componentes de suporte de carga. Fatores que influenciam as propriedades mecânicas das ligas metálicas envolvem a composição química e impurezas de liga [46] e variações nas condições de processamento [47]. Diversas propriedades mecânicas podem ser avaliadas como densidade, ductilidade, tenacidade à fratura, dureza, resistência à fadiga e módulo de Young, proporcionando aplicações específicas dependendo da resposta obtida [8,45]. Por exemplo, em substituição de quadril é importante conhecer a resposta do implante a cargas cíclicas proporcionais ao peso do paciente [48] e o desempenho de fadiga de entalhe controlado por tensão [15].

No caso da aplicação dos metais como implantes ósseos é vantajoso que haja a osseointegração. Este processo é definido como a conexão estrutural e funcional direta entre o osso vivo e a superfície do implante de suporte de carga [49]. Fatores que melhoram a osseointegração incluem a composição química [50], topografia [51], tratamentos [20] e revestimentos de superfície [52], potencial de cicatrização óssea [53], dentre outros. A exemplo,

o elemento metálico Ta é utilizado em aplicações que requerem o contato com o osso devido a possibilidade de formação óssea sobre a sua superfície quando é submetido a tratamento de superfície [54] e quando apresenta porosidade [55].

Os requisitos de biocompatibilidade e corrosão levam a utilização de um reduzido número de metais como implantes cirúrgicos. Os materiais metálicos rotineiramente aplicados como biomateriais metálicos incluem os aços inoxidáveis [56], Ti [57] e ligas à base de Co-Cr [58]. Estes, quando aplicados como suporte de carga, fornecem satisfatoriamente resistência à corrosão, força e resistência à fratura a longo prazo (substituição de juntas) ou a curto prazo (fixação de fratura) [59]. Outros metais têm sido pesquisados recentemente, como ligas de magnésio (Mg) [60], de níquel-titânio (Ni-Ti) [61], de zircônio-nióbio (Zr-Nb) [62] e de Ta [63].

Dentre as aplicações mais comuns dos biomateriais metálicos estão as que necessitam de capacidade de carga, mas recentemente novas perspectivas têm sido desenvolvidas. No caso de aplicação ortopédica, faz-se necessário longevidade, regeneração de tecidos, reconstrução eficaz de defeitos ósseos e risco minimizado de infecções [64]. Além destas tendências em pesquisas, outras têm se desenvolvido: técnicas avançadas de manufatura aditiva<sup>5</sup> a fim de obter biomateriais com propriedades e desempenho favoráveis; superfícies biofuncionalizadas com o intuito de melhorar a regeneração óssea e minimizar infecções; substitutos ósseos metálicos biodegradáveis; e desenvolvimento de biomateriais metálicos em combinação a materiais cerâmicos ou poliméricos.

### *3.1.1 Ligas metálicas à base de cobalto-cromo*

O cobalto metálico foi inicialmente usado no início dos anos 1900 para aplicações industriais, mas para aplicação como implante não era eficiente devido as baixas ductilidade e resistência à corrosão. Devido a isso, em 1907 e 1903, Elwood Haynes inventou as ligas à base de Co-Cr com resistência à corrosão aprimorada, permitindo em 1930 o seu uso como implantes e dispositivos médicos quando uma liga de Co-Cr-Mo (Vitallium) foi utilizada em funções dentárias. Em 1950 e 1960 foi alcançado um avanço significativo para esta classe de ligas com a utilização da liga Co-Cr-Mo fundida em substituições totais de quadril artificiais. As normas da Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM, do inglês *American Society for Testing and Materials*) para estas ligas foram desenvolvidas a partir das décadas de 1960 a 1990 para

---

<sup>5</sup> Aborda tecnologias que permitem a criação de objetos a partir de um modelo virtual [65]

aplicações em dispositivos médicos e a partir de 2000 para fabricação de *stents*<sup>6</sup>. Ainda na década de 1980 iniciaram-se os estudos com manufatura aditiva, havendo crescimento considerável na década de 2000 com a fabricação de dispositivos para diversas aplicações [67]. As ligas à base de Co-Cr mais utilizadas para implantes e dispositivos médicos atendem aos seguintes padrões ASTM: CoCr<sub>(28)</sub>Mo<sub>(6)</sub> (ASTM F75) [68], CoCr<sub>(20)</sub>W<sub>(15)</sub>Ni<sub>(10)</sub> (ASTM F90) [69], CoCr<sub>(28)</sub>Mo<sub>(6)</sub> com alto teor de carbono (C), nitrogênio (N) e sem níquel (Ni) (ASTM F1537) [70] e CoNi<sub>(35)</sub>Cr<sub>(20)</sub>Mo<sub>(10)</sub> (ASTM F562) [71] (Tabela 1).

Suas propriedades são fortemente influenciadas por mudanças na composição e no método de síntese. A exemplo, a liga ASTM F75, fundida, apresenta alta resistência à corrosão e sua microestrutura é composta pelas estruturas hexagonal ( $\epsilon$ Co) e cúbica ( $\alpha$ Co). Enquanto isso, na liga ASTM F1537, processada termodinamicamente, a microestrutura é composta por grãos mais endurecidos e fase hexagonal compacta induzida por cisalhamento. Além disso, devido estas diferenças, a ASTM F1537 pode apresentar resistência à fadiga e o dobro do módulo de Young quando comparada a ASTM F75 [22,67].

**Tabela 1.** Composições químicas de ligas à base de Co-Cr mais utilizadas no setor biomédico. Fonte: [22,67].

Elemento	Composição (% m/m)			
	ASTM F75	ASTM F1537	ASTM F90	ASTM F562
Cobalto (Co)	Balanceado			
Cromo (Cr)	27,00 – 30,00	26,00 – 30,00	19,00 – 21,00	19,00 – 21,00
Molibdênio (Mo)	5,00 – 7,00	5,00 – 7,00	–	9,00 – 10,50
Manganês (Mn)	1,00 máx.	1,00 máx.	1,00 – 2,00	0,15 máx.
Silício (Si)	1,00 máx.	1,00 máx.	0,40 máx.	0,15 máx.
Ferro (Fe)	0,75 máx.	0,75 máx.	3,00 máx.	1,00 máx.
Tungstênio (W)	0,20 máx.	–	14,00 – 16,00	–
Níquel (Ni)	0,50 máx.	1,00 máx.	9,00 – 11,00	33,00 – 37,00
Carbono (C)	0,35 máx.	0,15 – 0,35	0,05 – 0,15	0,25 máx.
Nitrogênio (N)	0,25 máx.	0,25 máx.	–	–

As ligas à base de Co-Cr são aplicadas como dispositivos médicos devido a sua biocompatibilidade [72–74], resistência à corrosão e ao desgaste [75,76] e excelentes propriedades mecânicas [39], e como próteses dentárias, devido à sua resistência à fadiga e capacidade de retenção [77,78]. Estas propriedades estão associadas à natureza cristalográfica do Co, ao fortalecimento da solução sólida com elementos como Cr, Mo e W, à formação de

<sup>6</sup> Dispositivos em forma de tubos minúsculos com malha expansível, que mantêm as artérias abertas [66]

carbonetos metálicos e à formação de óxido de superfície atribuída pelo Cr ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) [79]. No entanto, algumas questões devem ser superadas, como valores divergentes do módulo de Young destas ligas quando comparadas com a matriz óssea, dificuldade de usinabilidade, ausência de bioatividade e liberação de íons metálicos tóxicos devido à corrosão [39,80–82].

Na última década, as pesquisas em ligas à base de Co-Cr têm envolvido a aplicação de diferentes técnicas de síntese, variação na composição química e funcionalização da superfície. Maior liberação de íons metálicos foi observada para amostras fundidas e fresadas quando comparadas a outras técnicas, como sinterizada a laser [83]. A adição de elementos à liga de Co-Cr como o Ta promove resistência à corrosão quando oxidada ao ar [84], crescimento de hidroxiapatita (HA) quando tratada termoquimicamente [85] e cobre (Cu) diminui o desgaste e aumenta resistência à corrosão [86]. Além disso, revestimentos de superfície como de grafeno [17] e de dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) [16] promovem aumento da biocompatibilidade da liga de Co-Cr-Mo.

### 3.1.2 Elemento químico tântalo

O elemento Ta, utilizado neste trabalho em adição à liga de Co-Cr, teve seu primeiro relato de uso em sistemas biológicos em 1940 [87], ao ser utilizado como placas para dispositivos de fixação de fratura e como fio para suturas de pele. Ao longo dos anos, também tem sido aplicado em implantes ortopédicos que exigem crescimento ósseo e altas cargas fisiológicas (fusões espinhais, artroplastia de quadril e joelho e como substituto ósseo) [36]. Além disso, tem sido adicionado em outros materiais como metais [85,88], cerâmicas [89] e polímeros [90] para melhorar as propriedades físico-químicas e biológicas. As pesquisas mostram o Ta e seus derivados com ampla perspectiva para aplicações médicas [63,91].

Este é um elemento de destaque no setor biomédico devido a sua combinação única de propriedades: alta resistência mecânica e à corrosão [92,93], biocompatibilidade, proliferação celular [37,38] e bioatividade *in vitro* [35,54] e *in vivo* [36,94]. A superioridade do Ta quanto a resistência à corrosão é proveniente da formação de uma camada de óxido de Ta ( $\text{Ta}_2\text{O}_5$ ) que protege o metal de ataques corrosivos [95]. O Ta já foi utilizado em ligas de Co-Cr a fim de melhorar suas propriedades, como bioatividade [85] e resistência à corrosão quando inserido como elemento de liga [84] e como revestimento de superfície [96]. Dentre outras características, é um elemento que facilmente é identificado em radiografias devido a sua radiopacidade [97] e não apresenta magnetismo [98].

### 3.2 Características de superfície

As propriedades de superfície dos materiais como rugosidade, assimetria, curtose, energia de superfície e molhabilidade são cruciais para otimizar a interação do material com o sistema biológico [99–102]. Esta otimização surge devido à influência direta desses parâmetros em processos como a disseminação celular, adesão, diferenciação osteoblástica, osseointegração e expressão gênica [103], aperfeiçoando a biocompatibilidade dos materiais em estudo. Portanto, a caracterização e a compreensão dessas características são imprescindíveis para o projeto de biomateriais, conforme detalhado a seguir.

#### 3.2.1 Medidas de forma

A rugosidade (Figura 2) é uma medida da aspereza da superfície, quantificada pelos parâmetros de rugosidade média ( $R_a$ ) e rugosidade média quadrática ( $R_q$ ) [104,105]. A  $R_a$  é dada pelo desvio médio aritmético dos dados de altura da superfície da linha média de um determinado perfil (Equação 1). A linha média é definida como o melhor ajuste com áreas iguais do perfil acima e abaixo dela. Enquanto isso, o  $R_q$  calcula o desvio padrão da distribuição dos dados de altura (Equação 2) [106]. O parâmetro  $R_a$  não é sensível às pequenas variações de altura em relação à linha média como o parâmetro  $R_q$ , tornando esse último a melhor escolha na detecção de rugosidade da superfície. A  $R_a$  é definida por:

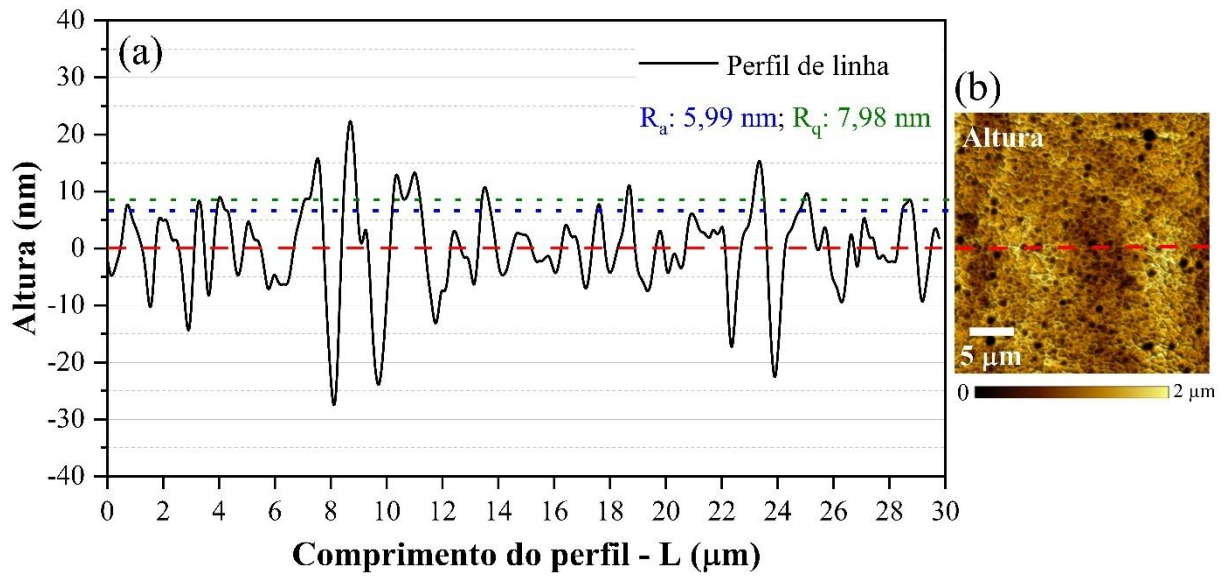
$$R_a = \frac{1}{L} \int_0^L |y(x)| dx, \quad \text{Equação 1}$$

onde  $L$  é o número de pontos de altura,  $y$  é o valor da altura acima da linha média a uma distância  $x$  da origem. Já a  $R_q$  pode ser definida por:

$$R_q = \sqrt{\frac{1}{L} \int_0^L [y(x)]^2 dx}, \quad \text{Equação 2}$$

onde as variáveis são as mesmas do parâmetro  $R_a$ , mas agora com o desvio quadrático médio da raiz do perfil.





**Figura 2. Rugosidades média ( $R_a$ ) e média quadrática ( $R_q$ ) obtidas a partir da técnica de Microscopia de Força Atômica para uma amostra de Co-Cr com modificação de superfície: (a)  $R_a$  e  $R_q$  do perfil de linha (L) retirado do (b) mapa de altura. Fonte: elaborado pelo autor.**

A rugosidade superficial é um parâmetro importante para proliferação celular na superfície de biomateriais. Diversos desafios surgem ao considerar as discussões atuais sobre a influência da rugosidade na resposta celular, como a necessidade de avaliar mais de dois tipos de células e mais de uma funcionalidade delas (adesão celular, migração, proliferação e diferenciação), efeito a curto e longo prazo, valor crítico de rugosidade e efeitos sinérgicos com outras propriedades físicas e químicas [107]. A exemplo, Yoda *et al.*, (2014) mostraram que o nível mínimo de rugosidade que afetava a atividade inicial de adesão bacteriana era diferente conforme o tipo de biomaterial usado [99]. Além destas considerações, para uma análise mais completa da superfície, é necessário obter outros parâmetros estatísticos, a fim de que outras informações significativas não sejam perdidas [106], como a distribuição de probabilidade das alturas e a distribuição espacial de picos e vales.

O parâmetro assimetria ( $R_{sk}$ ) indica se a superfície é descrita principalmente por picos ou vales (Equação 3), como mostrado na Figura 3, onde a distribuição de altura com valor negativo descreve uma superfície principalmente de vales (Figura 3-a,d), enquanto a de valor positivo uma superfície principalmente de picos (Figura 3-b,e). Em caso de distribuição simétrica de alturas ao redor da linha média o  $R_{sk}$  será igual a zero (Figura 3-c,f). A assimetria é dada por:

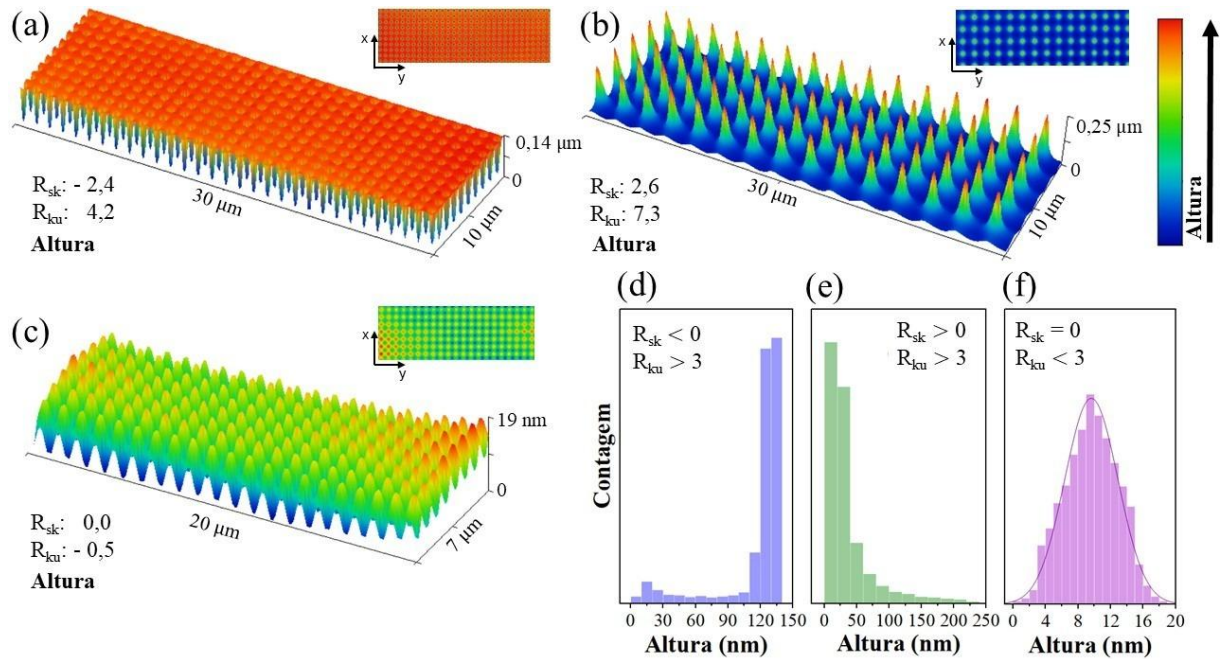
$$R_{sk} = \frac{1}{R_q^3} \frac{1}{L} \int_0^L [y(x)]^3 dx, \quad \text{Equação 3}$$

onde  $R_q$  é a rugosidade média quadrática,  $L$  é o número de pontos de altura,  $y$  é o valor da altura acima da linha média a uma distância  $x$  da origem.

Outro parâmetro importante de superfície é a curtose ( $R_{ku}$ ), que descreve o achatamento da curva da distribuição de probabilidades, neste caso de alturas (Equação 4). Uma distribuição de probabilidade normal tem assimetria zero e curtose 3,0, portanto se a curtose for maior que 3 a distribuição de alturas é pontiaguda (Figura 3-a,b,d,e), se menor que 3 é achatada (Figura 3-c,f) [106]. A curtose é dada por:

$$R_{ku} = \frac{1}{R_q^4} \frac{1}{L} \int_0^L [y(x)]^4 dx, \quad \text{Equação 4}$$

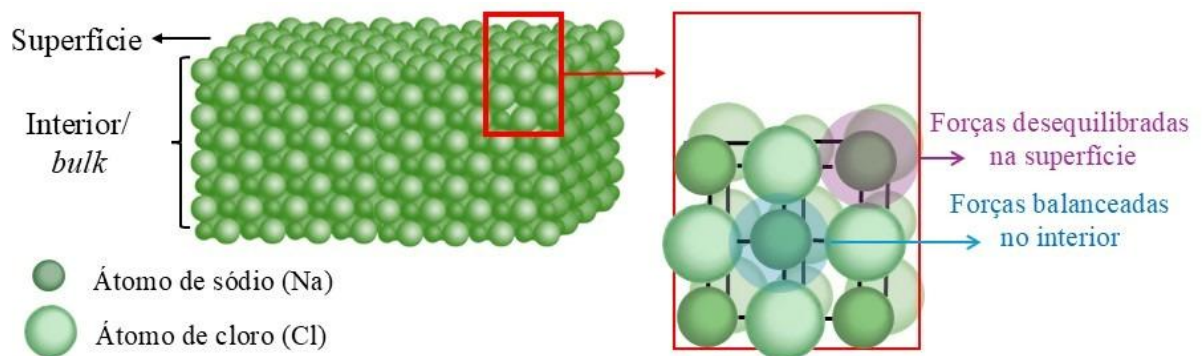
onde as variáveis são as mesmas do parâmetro  $R_{sk}$ , mas agora com os termos  $R_q$  e  $y(x)$  elevados a quarta potência.



**Figura 3. Topografias de grades de calibração utilizadas na Microscopia de Força Atômica caracterizadas por assimetria ( $R_{sk}$ ) e curtose ( $R_{ku}$ ): presença principal de (a) vales, (b) picos e (c) picos e vales simetricamente. Distribuição de alturas das topografias (d, e) pontiagudas e (f) achatada. Fonte: elaborado pelo autor.**

### 3.2.2 Energia de superfície

A energia de superfície está relacionada à quantidade de forças intermoleculares presentes na superfície do material, isto é, a energia em excesso na superfície comparada ao *bulk*. Essa energia surge, pois, as moléculas na interface sólido-ar não estão coordenadas completamente por outras moléculas semelhantes a ela como estão no interior do *bulk*, resultando em um excesso de energia (Figura 4). Portanto, ela é responsável por determinar a quantidade de força atrativa ou repulsiva que a superfície pode exercer sobre outros materiais [63]. Ela apresenta relação direta com a intensidade das interações no interior do *bulk* e com o nível de exposição da superfície. Assim, a energia da superfície será maior quando as interações no *bulk* forem mais intensas ou quando houver maior exposição da superfície [108]. Por isto, os metais geralmente possuem energia de superfície significativamente maior do que os polímeros, por exemplo.



**Figura 4.** Ligações balanceadas no interior (*bulk*) e desbalanceadas na superfície de um cristal de cloreto de sódio (NaCl). Fonte: elaborado pelo autor.

Em termos quantitativos, a energia de superfície pode ser definida como o trabalho adicional por unidade de área de aumento em uma superfície, conforme Equação 5 [109]:

$$\gamma = \frac{\Delta W}{\Delta S}, \quad \text{Equação 5}$$

onde  $\gamma$  é a energia de superfície,  $\Delta W$  é o trabalho adicional e  $\Delta S$  é o aumento da área de superfície. Para metais simples, Zhang *et al.* [109] mostraram que o termo  $\Delta W$  da Equação 5 representa o número de ligações pendentes e a energia de ligação, enquanto o termo  $\Delta S$

representa o comprimento da ligação dos átomos e o relaxamento da estrutura<sup>7</sup>. Para ligas metálicas, que são sistemas mais complexos, outros parâmetros devem ser levados em consideração, como a possível presença de defeitos [110].

Diversos fatores podem influenciar a energia de superfície, como estrutura cristalina [111,112], composição química [113,114], carga de superfície [115,116] e morfologia [117,118]. No contexto dos biomateriais, a influência da energia de superfície é avaliada em diferentes situações: Sista *et al.* (2011) observaram que em ligas à base de Ti a adesão de células osteoblásticas foram superiores ao adicionar zircônio (Zr) quando comparada as ligas pura de Ti ou com adição de nióbio (Nb), devido a maior energia de superfície na liga de TiZr [100]; a proliferação celular diminuiu em menos da metade em materiais poliméricos quando comparados as ligas metálicas que possuem maior energia de superfície [101]; aumento da deposição de fosfato de cálcio com o aumento da energia de superfície, promovendo nucleação mais rápida de HA em fluido corporal simulado (do inglês *Simulated Body Fluid* - SBF) [119].

### 3.2.3 Molhabilidade

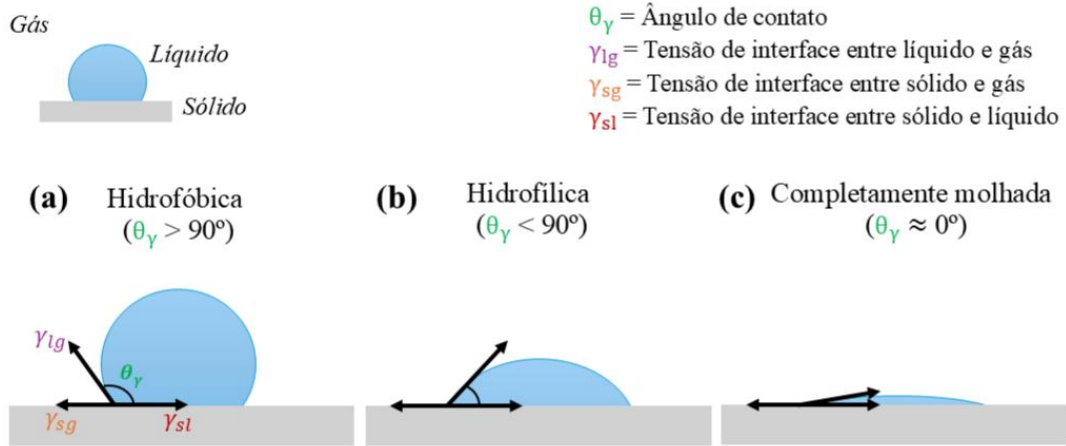
A molhabilidade pode ser definida como a atração interfacial entre um líquido e outro líquido ou sólido, ou seja, a tendência de um líquido se espalhar por uma superfície específica [120]. Este é um parâmetro que pode ser influenciado por características como rugosidade, química da superfície, condições de temperatura e pressão, propriedades do líquido e do substrato, e outros [120,121].

Em geral, utiliza-se o ângulo de contato ( $\theta$ )<sup>8</sup> para medir a molhabilidade, em que superfícies com boa molhabilidade são chamadas de hidrofílicas ( $\theta < 90^\circ$ ) e aquelas com baixa molhabilidade de hidrofóbicas ( $\theta > 90^\circ$ ) [122] (Figura 5). A energia de superfície e a molhabilidade dos materiais estão relacionadas, visto que materiais com alta energia de superfície (como vidros e metais) tendem a ser hidrofílicos ao promover adesão de líquidos polares, reduzindo assim a energia livre, enquanto os com baixa energia de superfície (como polímeros e materiais orgânicos) tendem a ser hidrofóbicos [118].

---

<sup>7</sup> Processo pelo qual os átomos ou moléculas de um material se reorganizam espontaneamente para minimizar a energia total do sistema.

<sup>8</sup> É uma medida do ângulo formado entre a superfície de um sólido e a linha tangente a uma gota de líquido na superfície desse sólido [122]



**Figura 5. Molhamento de diferentes superfícies sólidas imersas em um gás:** os ângulos de contato das gotas depositadas descrevem as superfícies como (a) hidrofóbica ( $\theta > 90^\circ$ ), (b) hidrofílica ( $\theta < 90^\circ$ ) e (c) completamente molhada ( $\theta \approx 0^\circ$ ). Fonte: elaborado pelo autor.

A equação fundamental da molhabilidade (Equação 6) foi proposta por Thomas Young em 1805, com base na suposição de uma superfície sólida ideal e a gota como uma entidade consistente [123]:

$$\cos \theta_Y = \frac{\gamma_{sg} - \gamma_{sl}}{\gamma_{lg}}, \quad \text{Equação 6}$$

onde  $\gamma$  é a tensão superficial,  $\theta_Y$  é o ângulo de contato de equilíbrio do sistema e os termos  $\gamma_{sg}$ ,  $\gamma_{sl}$  e  $\gamma_{lg}$  são as tensões de interface entre sólido e gás, sólido e líquido, e líquido e gás, respectivamente.

Os termos energia de superfície e tensão superficial possuem o mesmo princípio físico, o de desequilíbrio de forças na superfície, mas são descritos de formas diferentes se o material mencionado for um líquido (tensão superficial; força por unidade de comprimento atuando tangencialmente à superfície de um líquido) ou um sólido (energia de superfície; energia necessária para criar uma superfície) [124]. Embora a tensão superficial de líquidos possa ser medida por métodos como tensiometria por anel ou gota pendente, a determinação direta da energia de superfície dos sólidos é mais complexa devido à imobilidade molecular na sua superfície. Diante disso, a equação fundamental da molhabilidade (Equação 6) fornece um método indireto para determinar a energia de superfície dos sólidos [125].

A descrição das características de superfície dos biomateriais, como rugosidade, assimetria, curtose, energia de superfície e molhabilidade, é fundamental no desenvolvimento de novos materiais para aplicações médicas. Além disso, em ambientes fisiológicos que são

dinâmicos e agressivos, essas características de superfície podem influenciar diretamente a resistência à corrosão de materiais metálicos utilizados em implantes e dispositivos [85,126–128]. Assim, o estudo dos mecanismos de corrosão em meios biológicos torna-se essencial para aliar a otimização de superfície à durabilidade dos materiais metálicos.

### 3.3 Corrosão em materiais metálicos

A corrosão é definida como a deterioração de um material, geralmente metálico, por ação química ou eletroquímica do meio, associada ou não a esforços mecânicos. O material pode ser submetido a diversas alterações que o tornam inadequado para o uso em consequência do processo de corrosão, como o desgaste e as variações químicas e estruturais [129]. A corrosão por ação química ocorre de forma direta entre o metal e o agente químico (ex.: ataque por ácidos; oxidação à alta temperatura), enquanto a corrosão eletroquímica é comum em ambientes úmidos ou aquosos (ex.: corrosão atmosférica; corrosão galvânica) [1,129].

No processo eletroquímico ocorre uma reação química chamada de oxidação, na qual há a transferência de elétrons de uma espécie química para outra, fazendo com que os metais percam elétrons ( $e^-$ ). A Equação 7 exemplifica uma reação de oxidação de um metal  $M$  com número de valência  $n$ , que se torna um íon carregado positivamente ( $M^{n+}$ ) ao perder seus  $n$  elétrons de valência ( $ne^-$ ). Os elétrons gerados são transferidos para a outra espécie química, tornando-se parte dela. Esta reação é chamada de redução. As Equações 8 e 9 descrevem a redução de uma espécie química, de forma que sua natureza dependerá da solução à qual o metal está exposto, como íons de hidrogênio ( $H^+$ ; Equação 8) e íons metálicos ( $M^{n+}$ ; Equação 9). O local onde ocorre a oxidação é chamado de ânodo e onde ocorre a redução é chamado de cátodo [1].



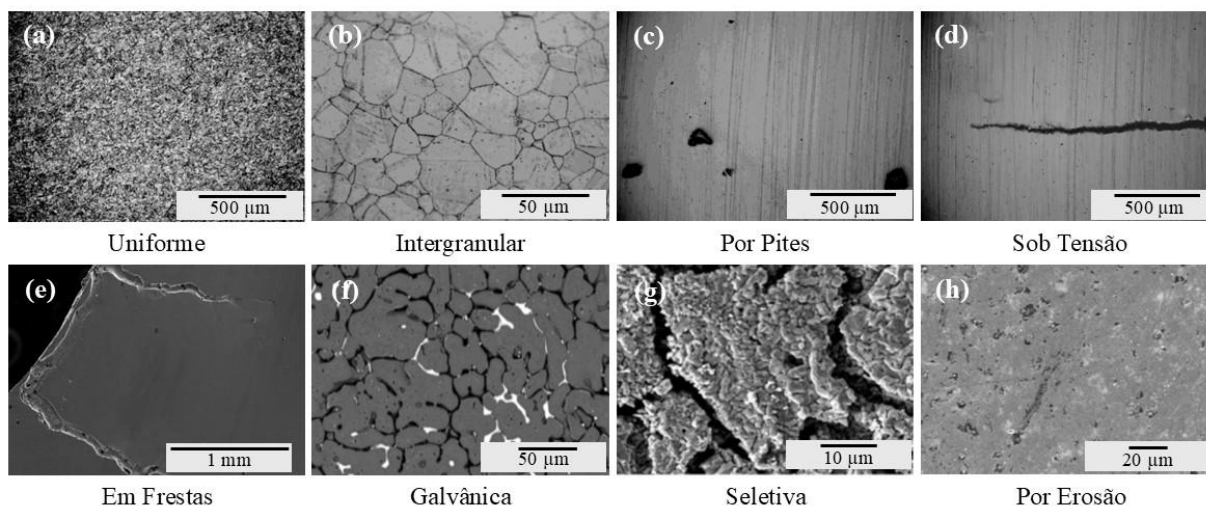
No processo eletroquímico, uma diferença de potencial é estabelecida quando o metal é imerso em uma solução eletrolítica. Esta diferença de potencial apresenta naturezas elétrica e

química. Se dois metais distintos estiveram imersos em uma mesma solução, é possível que os potenciais elétricos sejam diferentes e, portanto, haja transferência espontânea de elétrons ao serem ligados por um condutor metálico. Quando materiais metálicos de potenciais elétricos diversos estão em contato, a corrosão do material metálico que funciona como ânodo é mais acentuada que a corrosão isolada desse material sob a ação do mesmo meio corrosivo [129].

A corrosão metálica pode ser classificada de acordo com suas formas de manifestação: uniforme, intergranular, por pites <sup>9</sup>, sob tensão, em frestas, galvânica, por corrosão seletiva e corrosão-erosão [1,130–134]. A corrosão uniforme ocorre por toda a extensão da superfície de forma equivalente, podendo gerar depósitos ou incrustações (Figura 6-a) [1,130]. A corrosão intergranular acontece nos contornos de grãos das ligas, com dissolução nesses limites (Figura 6-b) [1,130]. A corrosão por pites acontece de forma localizada, com o surgimento de buracos sobre a superfície em direção ao interior do material (Figura 6-c) [1,130]. A corrosão sob tensão decorre da combinação de um ambiente corrosivo e de uma tensão de tração, promovendo trincas (Figura 6-d) [1,130]. A corrosão em frestas resulta das diferenças de concentração de íons ou gases na solução eletrolítica sobre o metal, manifestando-se na forma de fendas e rachaduras (Figura 6-e) [1,131]. A corrosão galvânica acontece quando dois metais ou ligas imersos em um eletrólito são conectados eletricamente, fazendo com que a região mais nobre sofra redução e a menos nobre oxide/corroa (Figura 6-f) [1,132]. A corrosão seletiva ocorre quando um elemento ou constituinte de uma liga em solução sólida é removido preferencialmente durante o processo de corrosão (Figura 6-g) [1,133]. Por fim, a corrosão por erosão resulta da combinação de um ataque químico e da abrasão ou desgaste mecânico ocasionado pelo movimento de um fluido, gerando ranhuras e ondulações (Figura 6-h) [1,134].

---

<sup>9</sup> A corrosão localizada em metais, especialmente em aços inoxidáveis, pode ocorrer sob a forma de corrosão por pites (*do inglês pitting corrosion*), caracterizada pela formação de cavidades profundas e localizadas na superfície metálica.



**Figura 6. Tipos de corrosão baseados em suas formas de manifestação:** (a) uniforme, (b) intergranular, (c) por pites, (d) sob tensão, (e) em frestas, (f) galvânica, (g) seletiva e (h) por erosão. Fonte: [130–134].

Com base nisso, a resistência à corrosão dos metais e suas ligas é um requisito fundamental para sua biocompatibilidade e consequentemente uso como biomaterial [14]. Este processo ocorre nas ligas quando inseridas no sistema biológico, segundo as condições físicas e químicas diferentes das condições ambientais, que envolvem, por exemplo, diferentes valores de pH e concentração de oxigênio, íons aquosos, solução salina (geralmente em condições normais 9 g/L NaCl), aminoácidos e proteínas solúveis, tornando o meio um ambiente agressivo para o implante [39,45]. As consequências da corrosão destes materiais metálicos no sistema biológico envolvem liberação de espécies tóxicas, afrouxamento e falha do implante, alteração do pH do fluido corporal, resposta alérgica, e outros [135].

As ligas de Ti, ligas de Co-Cr e aços inoxidáveis são usados geralmente como implantes devido às suas propriedades mecânicas e alta resistência à corrosão segundo a formação de filmes passivos na superfície [136]. Esses filmes promovem proteção aos metais e suas ligas contra a corrosão geral em ambiente agressivo, como  $\text{TiO}_2$  para ligas de Ti [137],  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  para ligas de Co-Cr [138] e  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  e óxido de ferro III ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) para o aço inoxidável [139].

As ligas à base do Co-Cr possuem um desempenho geral satisfatório, mas a liberação de íons metálicos causada por corrosão e por movimento mecânico tem sido alvo de estudos [83,140,141]. Alguns tópicos desses estudos estão relacionados ao fato da corrente de corrosão da liga se mostrar maior em pH ácido do que em pH neutro (em soro e em soluções tampão inorgânicas) [140], e a liberação de íons, que é influenciada pela combinação de materiais e técnica de fabricação [83,141]. Diante disso, avançar com pesquisas em relação ao efeito da



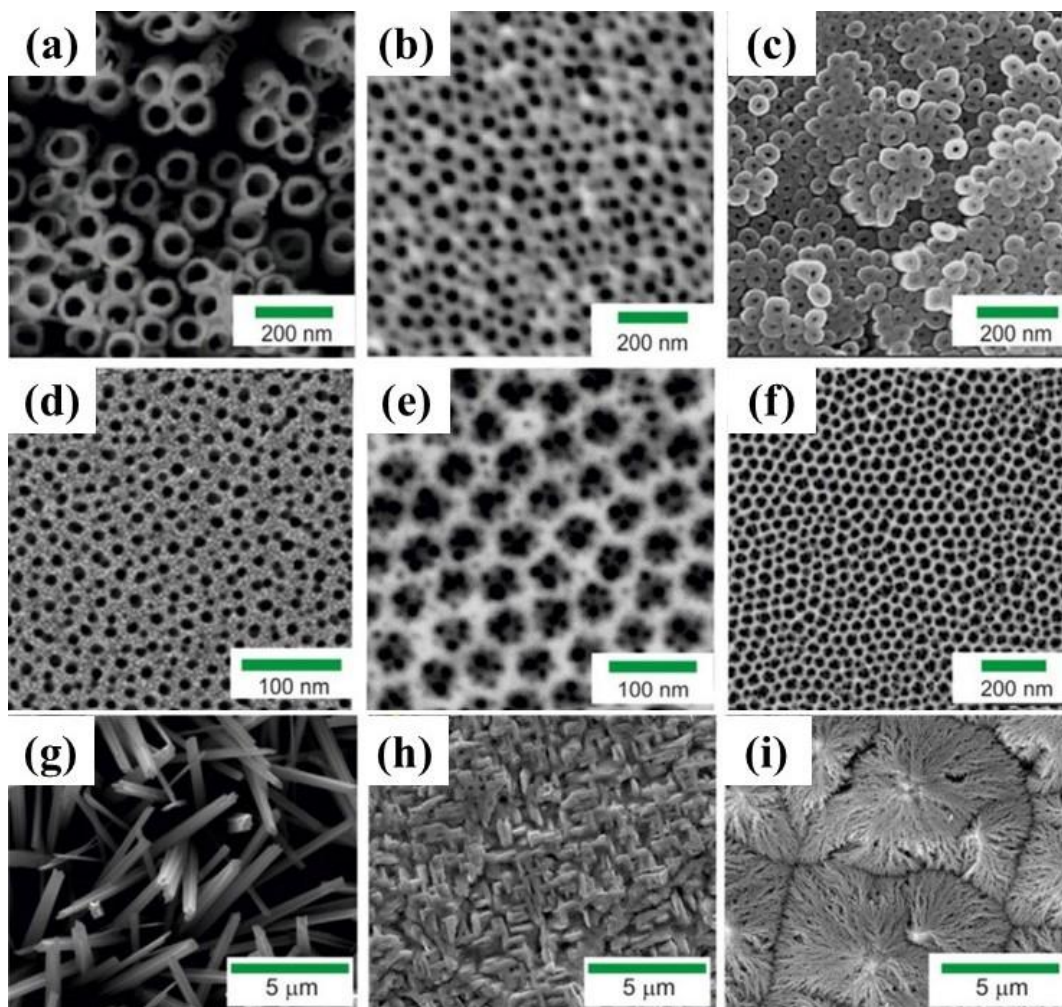
liberação de íons metálicos, bem como potencializar as superfícies metálicas, é de interesse no desenvolvimento destes materiais amplamente utilizados no setor biomédico.

Diversas abordagens são aplicadas aos metais e ligas a fim de melhorar a resistência à corrosão, como a adição de novos elementos liga e tratamentos/revestimentos de superfície [63,96]. O elemento Ta tem sido alvo de grandes pesquisas por suas excelentes propriedades mecânica e biológica, dentre as quais destaca-se a sua melhor resistência à corrosão em relação ao Co e ao Cr [63]. Além disso, um estudo mostrou que o revestimento de Ta em liga Co-Cr melhorou a resistência à corrosão da liga à base de Co [96].

Uma abordagem promissora para tratamento de superfícies metálicas é a anodização (Figura 7): processo de oxidação eletroquímica da superfície a fim de melhorar a resistência à corrosão além de propriedades de superfície como biocompatibilidade, osseointegração e molhabilidade [142,143]. Neste método, são formados óxidos metálicos em formas típicas de nanotubos ou nanoporos na superfície de materiais metálicos (Figura 7-a-f). Além destes, existem morfologias nano e micrométricas atípicas que podem ser causadas devido a condições de anodização não otimizadas ou pelo fato de serem realizadas em metais não passiváveis<sup>10</sup> [145]. Exemplos de estruturas atípicas são micro/nanofios [146], microestruturas labirínticas [147] e microcones [148] (Figura 7-g-i). Este tipo de morfologia típica (nanotubos) tem potencializado superfície de ligas de Ti com maior deposição de cálcio por osteoblastos [149] e em ligas de Co-Cr-Mo ao melhorar a osseointegração [150].

---

<sup>10</sup> Metal passivável apresenta alta resistência à passagem de corrente segundo a formação de um óxido do metal, fazendo-o atuar como cátodo [144]



**Figura 7. Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura de substratos metálicos com estruturas típicas (a - f) e atípicas (g - i) formadas por anodização: (a) Ferro, (b) Gálio, (c) Háfio, (d) Nióbio, (e) Tântalo, (f) Zircônio, (g) Hidróxido de cobre (II), (h) Trióxido de molibdênio e (i) Pentóxido de nióbio. Fonte: [145].**

A investigação da corrosão em micro e nanoescala requer uma caracterização precisa da superfície da liga em termos de composição e potencial eletroquímico. Empregar a combinação de técnicas como Microscopia de Força com Sonda Kelvin (do inglês *Kelvin Probe Force Microscopy* - KPFM), Polarização Potenciodinâmica (do inglês *Potentiodynamic polarization* - PDP) e Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (do inglês *Electrochemical Impedance Spectroscopy* - EIS) tem fornecido excelentes informações sobre a corrosão de ligas e nobreza local na microestrutura. A partir da análise de dados extraídos dessas técnicas, é possível relacionar, por exemplo, a resistência à polarização e o potencial [151] e a taxa de corrosão com a diferença de potencial [152]. É essencial avaliar se as relações entre o potencial por KPFM e os parâmetros eletroquímicos por meio de ensaios com PDP e EIS são diretas ou inversas, uma vez que o metal pode se comportar de forma diferente no ar e em uma solução específica [153].

### 3.4 Análise de superfície em resolução nanométrica

Para acessar a escala nanométrica e realizar a caracterização da superfície nesse nível, uma das técnicas mais poderosas é a Microscopia de Força Atômica (do inglês *Atomic Force Microscopy* - AFM). Trata-se de uma técnica experimental baseada na caracterização de materiais por meio da detecção das forças interatômicas produzidas entre uma sonda e a superfície da amostra. A sonda é composta por um cantiléver flexível ao qual está fixada uma ponta que escaneia a amostra. Durante a varredura, linha por linha, um laser incide sobre o cantiléver e é refletido até um fotodetector sensível às deflexões provocadas no cantiléver devido às interações entre a ponta e a amostra. Esta detecção permite associar um valor de altura a cada posição  $x$ ,  $y$  e  $z$  da superfície da amostra e, assim, gerar a imagem topográfica [154,155].

Além disso, o AFM permite quantificar a força de interação em um procedimento chamado de espectroscopia de força. Nesse método, durante a aproximação e a retração da sonda, a deflexão do cantiléver é obtida em função do deslocamento vertical do *scanner* piezoelétrico<sup>11</sup>, o que resulta em uma curva de deflexão do cantiléver *versus* deslocamento do *scanner*. Conhecendo a sonda utilizada na medição, é possível converter essa informação em uma curva de força *versus* distância sonda-amostra aplicando a lei de Hooke, conforme a Equação 10 [155]:

$$F = -k\Delta x, \quad \text{Equação 10}$$

onde  $F$  é a força,  $k$  é a constante de mola do cantiléver e o  $\Delta x$  a deflexão do cantiléver.

As forças identificadas durante a interação entre a sonda do AFM e a superfície da amostra podem ser atrativas ou repulsivas, dependendo da distância entre elas. Se a distância for grande o suficiente, a força resultante é atrativa, dominada pelas forças de van der Waals. Para pequenas distâncias, a força resultante é repulsiva devido à sobreposição das nuvens eletrônicas da sonda e da amostra, efeito regido pelo princípio de exclusão de Pauli. Estas interações podem ser modeladas pelo potencial de Lennard-Jones (Equação 11), que descreve a energia de interação entre dois átomos ou moléculas neutras em função da distância. O termo que representa as forças de repulsão (proporcional a  $r^{-12}$ ) diminui rapidamente com a distância, enquanto o termo atrativo (proporcional a  $r^{-6}$ ) diminui de forma mais gradual [156,157].

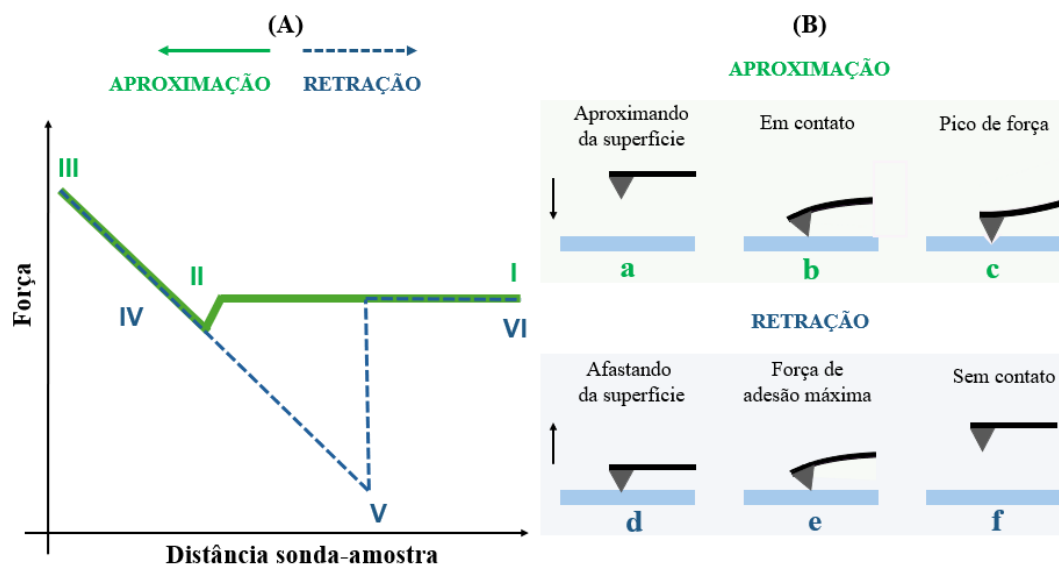
---

<sup>11</sup> Componente do AFM responsável pelo movimento da ponta ou da amostra nos eixos  $x$ ,  $y$  e  $z$  durante a varredura. A escolha para movimentar a ponta ou a amostra dependerá do equipamento em uso.

$$V(r) = 4\epsilon \left[ \left( \frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma}{r} \right)^6 \right], \quad \text{Equação 11}$$

onde  $V$  é o potencial intermolecular,  $r$  é a distância entre os dois átomos ou moléculas,  $\epsilon$  é a profundidade do poço deste potencial e  $\sigma$  é a posição do ponto de equilíbrio ( $V = 0$ ).

Esses dois regimes (atrativo e repulsivo) são claramente observados na curva de força obtida durante uma medida de AFM. A Figura 8 mostra uma representação esquemática de um gráfico da curva de força *versus* distância sonda-amostra (Figura 8-A) comparado às posições relativas da sonda e da amostra (Figura 8-B). Durante a aproximação (linha verde na Figura 8), a curva começa em uma região sem contato, onde a força é praticamente nula, indicando que a ponta está longe da superfície (Figura 8-I-a). À medida que a sonda se aproxima, forças de longo alcance, podem surgir antes do contato físico. Quando a ponta toca a superfície, a curva exibe uma inclinação abrupta onde as forças de atração próximas à superfície puxam a ponta para baixo (Figura 8-II-b). Deste ponto em diante, a sonda aplica força à superfície da amostra até atingir a força máxima (pico de força, Figura 8-III). Ao pressionar a superfície, o cantiléver se curva para cima (Figura 8-c). Na retração (linha azul na Figura 8), a sonda começa a subir até que as forças estejam em equilíbrio com as forças da superfície (Figura 8-IV), nesta região o cantiléver se curva para baixo (Figura 8-d). A partir desse ponto, a sonda encontra forças de resistência para separá-la da superfície. O cantiléver sofre uma deflexão negativa até que a força que rompe o contato exceda as forças da superfície (fenômeno de adesão), perdendo o contato com a amostra. O ponto em que a força de adesão entre a sonda e a amostra é máxima corresponde ao ponto de deflexão mínima da curva força (Figura 8-V-e). Após o descolamento, a sonda está na região sem contato (Figura 8-f), a curva retorna à linha de base, completando o ciclo da curva de força *versus* deslocamento (Figura 8-VI).



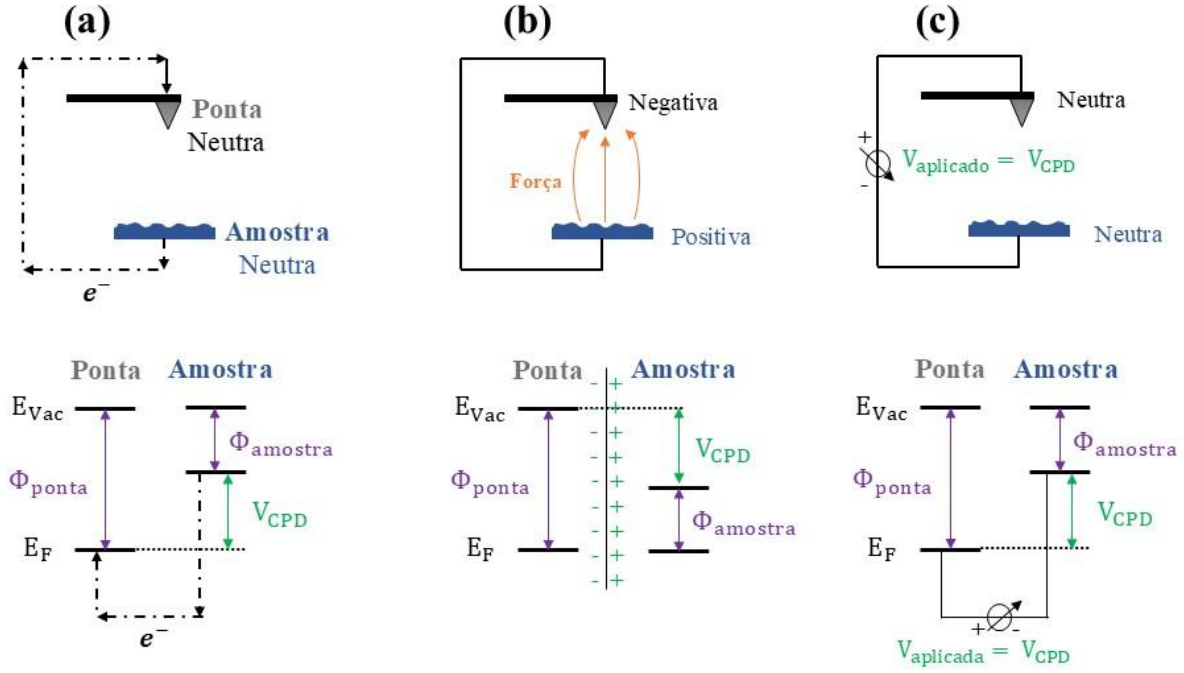
**Figura 8.** Curva de força *versus* distância sonda-amostra (A) comparado às posições relativas da sonda e da amostra. As linhas verde e azul representam as curvas de aproximação e retração, respectivamente. Fonte: elaborado pelo autor.

A técnica de AFM possui diversas variações, cada uma com um mecanismo de funcionamento específico que permite gerar diferentes informações, todas baseadas na interação de uma sonda com a amostra. As informações podem incluir dados mecânicos, com o modo Propriedades Nanomecânicas Quantitativas (do inglês *PeakForce Tapping Quantitative Nanomechanics* - QNM) [85,158]; dados magnéticos, com a Microscopia de Força Magnética (do inglês *Magnetic Force Microscopy* - MFM) [159,160]; propriedades tribológicas, com a Microscopia de Força Lateral (do inglês *Lateral Force Microscopy* - LFM) [161,162]; e o potencial de superfície, com o KPFM [163,164].

### 3.4.1 Mapeamento do potencial de superfície

Na técnica de KPFM, uma diferença de potencial é aplicada entre a sonda e a superfície da amostra, gerando mapas de potencial de superfície — propriedade intrínseca do material que define a força motriz do metal ou liga para participar de reações químicas e/ou eletroquímicas [165]. A abordagem emprega uma sonda condutora para escanear a superfície do material, conforme descrito pela Figura 9. Dois metais distintos possuem níveis de Fermi ( $E_F$ ) diferentes, que geram uma diferença de potencial entre os dois metais ( $V_{CPD}$ ) quando colocados em contato elétrico (Figura 9-a-b). Nesse momento, os elétrons são deslocados do metal com maior  $E_F$  para

o de menor  $E_F$  (Figura 9-b). O termo  $V_{CPD}$  é dependente da função trabalho ( $\Phi$ )<sup>12</sup> de cada um dos metais, conforme a Equação 12. A técnica de KPFM fornece uma tensão de compensação ( $V_{aplicada}$ ) até que as cargas superficiais desaparecem, neutralizando o  $V_{CPD}$  e, portanto, obtendo o seu valor (Figura 9-c). Este dado é obtido ajustando a tensão até que a força elétrica sentida pelo cantiléver seja anulada [153,166].



**Figura 9. Aparato experimental da Microscopia de Força com Sonda Kelvin (KPFM) e das bandas de energia de dois metais distintos (ponta e amostra):** interação entra a ponta e a amostra (a) ao serem colocados em contato elétrico, (b) quando os níveis de Fermi ( $E_F$ ) se igualam e (c) o momento em que o KPFM aplica uma tensão ( $V_{aplicada}$ ) de mesma magnitude da diferença de potencial de contato ( $V_{CPD}$ ) entre amostra e a ponta. A função trabalho é dada pela diferença entre as energias do nível de vácuo ( $E_{Vac}$ ) e do  $E_F$ . Fonte: adaptado de [153].

$$V_{CPD} = \frac{\Phi_1 - \Phi_2}{e}, \quad \text{Equação 12}$$

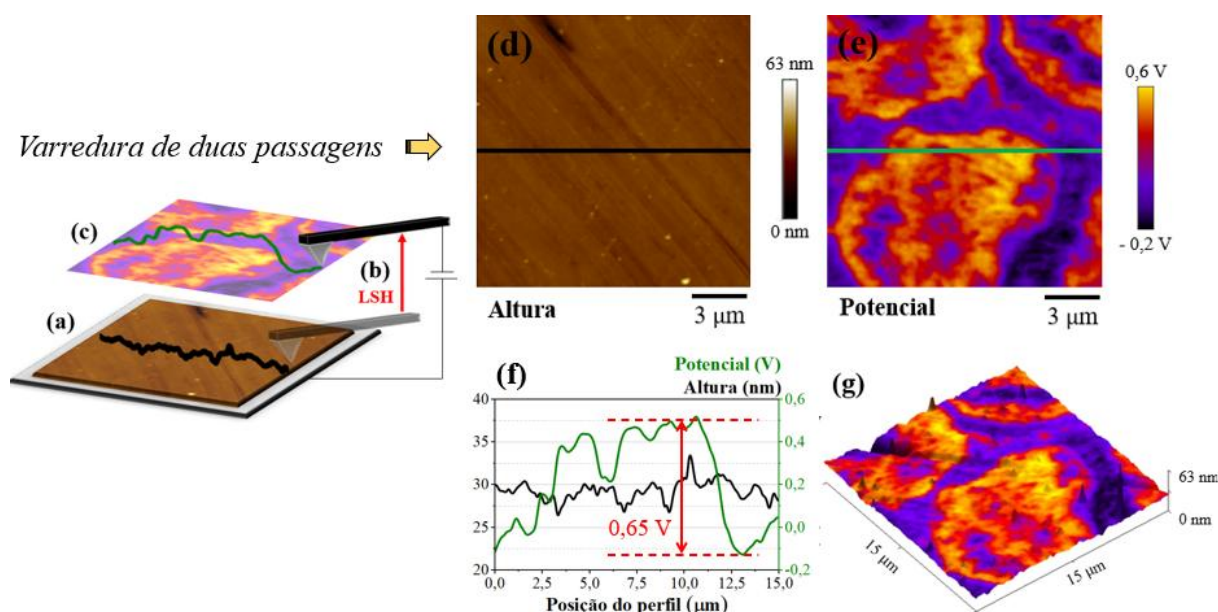
onde  $V_{CPD}$  é a diferença de potencial de contato entre a amostra e a ponta,  $e$  é a carga elementar,  $\Phi_1$  e  $\Phi_2$  são as funções trabalho da amostra e da ponta, respectivamente.

A fim de obter a informação topográfica e o potencial correspondente da amostra, o procedimento é realizado em duas passagens (Figura 10). A topografia é medida pelo modo *Tapping* (contato intermitente) na primeira passagem (Figura 10-a), e em seguida, pelo modo

<sup>12</sup> Energia mínima necessária para remover um elétron de uma estrutura sólida, calculada pela diferença entre as energias do nível de vácuo ( $E_{Vac}$ ) e do nível de Fermi ( $E_F$ ) do sistema.

*Lift* (levantamento da sonda) a sonda é elevada a uma determinada altura<sup>13</sup> (Figura 10-b) para medir o potencial na segunda passagem (Figura 10-c) ajustando a tensão conforme explicado na Figura 9. As duas medições são intercaladas, com cada linha medida duas vezes.

O KPFM é uma técnica eficaz para avaliar a nobreza local de microestruturas de ligas metálicas multifásicas [164,167,168]. A nobreza dos metais está relacionada à sua tendência de participar de reações químicas quando expostos a determinado ambiente [169], sendo influenciada pela função trabalho do metal e, conseqüentemente, pelo potencial [153]. A Figura 10 mostra um exemplo das informações que podem ser obtidas por KPFM em uma amostra de Co-Cr-Ta: topografia (Figura 10-a), potencial de superfície correspondente (Figura 10-b), perfis de linhas extraídos dos mapas (Figura 10-c) e mapa 3D com altura e potencial mesclados (Figura 10-d). Os diferentes contrastes no potencial sugerem a distribuição de elementos ou estruturas sem influência topográfica, bem como regiões com nobrezas eletroquímicas distintas ( $V_{CPD} = 0,65$  V). Pesquisas realizadas em ligas de Mg [170], aço inoxidável [164], Ti [171] e zinco (Zn) [172] demonstraram a eficiência do KPFM, especialmente quando associado a outras técnicas na investigação da microestrutura e corrosão dos metais e suas ligas.



**Figura 10. Microscopia de Força com sonda Kelvin:** Representação da varredura: (a) detecção da topografia, (b) elevação da sonda e (c) detecção do potencial. Dados de uma amostra de Co-Cr-Ta (tratados com o *software Gwyddion*): (d) topografia em 2D, (e) potencial em 2D, (f) posições dos perfis de altura (linha preta) e de potencial (linha verde) e (g) potencial mesclado à topografia em 3D. Fonte: elaborado pelo autor.

<sup>13</sup> LSH - altura de elevação de varrimento, do inglês *Lift Scan Height*



## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Síntese das ligas metálicas

Os metais utilizados na síntese, suas respectivas marcas e purezas, foram o Co (Sigma-Aldrich, 99,5%), Cr (Sigma-Aldrich, 99,995%) e Ta (Alfa Aesar, 99,95%). A série de ligas metálicas  $\text{Co}_{(72-x)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(x)}$  ( $x = 0, 3, 6$  e  $9$  % m/m) foi sintetizada por fusão em forno a arco voltaico, no Laboratório de Materiais Metálicos situado na Universidade Federal do Maranhão – Campus Imperatriz. As massas de cada metal foram medidas em balança analítica (Shimadzu, AUW220D) conforme a porcentagem em massa para a produção de cada liga. Após aferição, os metais foram inseridos no forno a arco voltaico para serem fundidos em atmosfera controlada com gás argônio. Durante o processo de fusão as ligas foram viradas e refundidas três vezes para garantir boa homogeneidade. Após a fusão, as ligas resfriadas foram seladas em tubos de quartzo com atmosfera inerte de argônio. Em seguida, foram submetidas a tratamento térmico em forno tipo mufla (Jung, J200), aquecendo-as a  $1000$  °C a uma taxa de  $5$  °C/min e mantidas a essa temperatura por 48 h, seguidas de resfriamento rápido.

Como resultado da síntese, foram obtidas as amostras na forma de botões (Figura 11) nomeadas de acordo com a composição:  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  (0 % m/m Ta),  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  (3 % m/m Ta),  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  (6 % m/m Ta) e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  (9 % m/m Ta). Para viabilizar as caracterizações que requerem superfícies planas, os botões foram cortados transversalmente em uma máquina de corte (Nitrocut) utilizando um disco diamantado. As fatias foram submetidas a lixamento manual em uma politriz (Pantec, Polipan-u) com lixas de carbetto de silício com granulometria 800, 1200, 2400, 3000 e, em seguida, polidas com pastas de diamante de 6, 3, 1 e  $0,25$   $\mu\text{m}$ , cada uma por 2-3 minutos a fim de obter uma superfície livre de arranhões e marcas profundas. A cada troca de lixa ou pasta a amostra foi lavada com álcool isopropílico. Ao final do processo, as amostras foram lavadas em banho ultrassônico em acetona e em álcool isopropílico por 10 min cada para remover contaminantes da superfície.

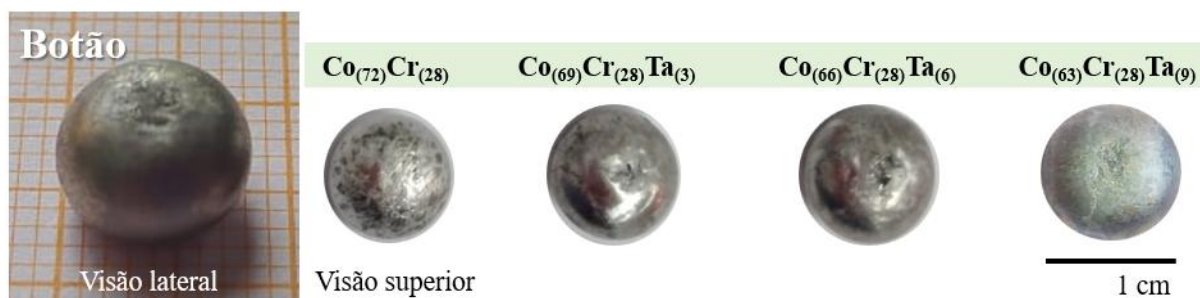


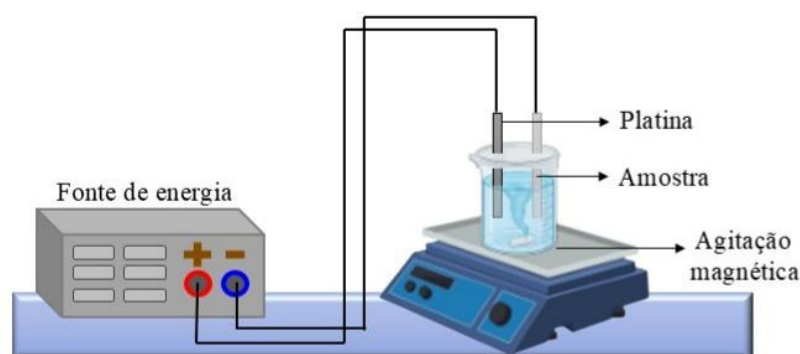
Figura 11. Ligas metálicas obtidas por fusão em forno a arco voltaico. Fonte: elaborado pelo autor.



## 4.2 Testes eletroquímicos

### 4.2.1 Preparação

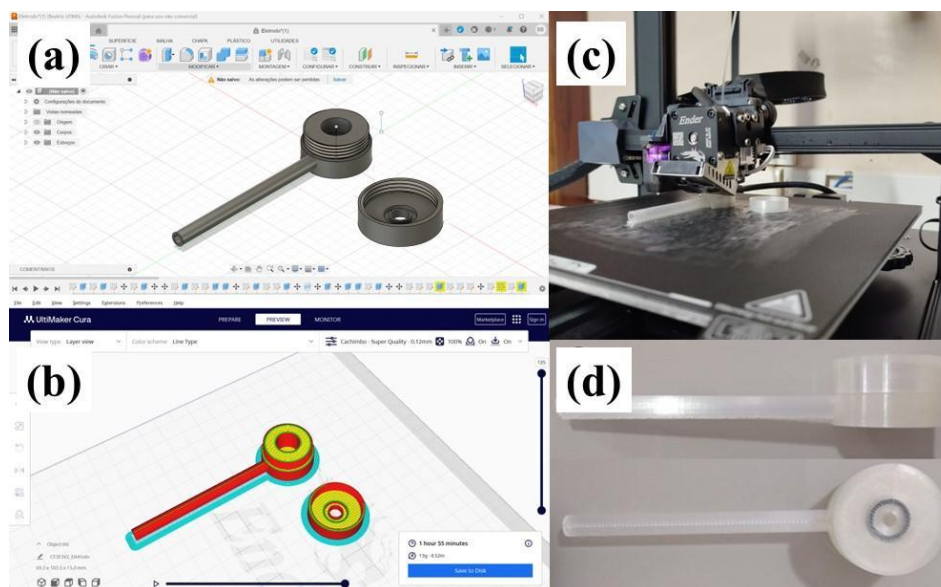
Para a caracterização e modificação de superfície das amostras, foram empregadas diferentes técnicas. Inicialmente, o preparo metalográfico foi realizado para revelar a microestrutura resultante da síntese por fusão em forno a arco voltaico e para avaliar os efeitos da adição de Ta na matriz Co-Cr. Posteriormente, modificações de superfície foram induzidas por meio do processo de anodização, com intuito de formar nanoestruturas porosas. Para a execução destes processos, utilizou-se uma célula eletroquímica de dois elétrodos (Figura 12), na qual a amostra atuou como ânodo (eletrodo de trabalho), conectada ao polo positivo de uma fonte de energia elétrica (Instrutherm, FA-3005), enquanto um contra-eletrodo de platina, devido à sua estabilidade química e alta resistência à polarização, atuou como cátodo conectado ao polo negativo da fonte.



**Figura 12. Aparato experimental para processo eletroquímico das amostras:** célula eletroquímica constituída por dois eletrodos, o ânodo (amostra) e o cátodo (folha de platina), imersos em um eletrólito sob agitação magnética e conectados a uma fonte de alimentação de corrente contínua. Fonte: elaborado pelo autor.

Para garantir o contato elétrico e o suporte físico das amostras (no formato de fatias planas) com o sistema, foi necessário desenvolver um eletrodo-suporte personalizado. Utilizou-se plataformas de *software* de modelagem 3D, o Autodesk Fusion 360 para desenhar o modelo (Figura 13-a) e o UltiMaker Cura 5.4.0 a fim de preparar o arquivo para impressão (Figura 13-b). A impressão do eletrodo (Figura 13-c) foi realizada em uma impressora 3D (Creality, Ender 3 S1) com filamento de polilático (PLA). Os parâmetros de impressão utilizados foram: densidade de preenchimento 100% (para garantir resistência mecânica e vedação contra fluidos), temperatura de impressão 220°C, temperatura da mesa 60°C (para melhor adesão do material) e velocidade de impressão 150 mm/s. O resultado do eletrodo impresso é apresentado

na Figura 13-d. Os arquivos \*.stl (pronto para impressão)<sup>14</sup> e \*.step (editável)<sup>15</sup> do eletrodo-suporte foram disponibilizados no *Thingiverse*, uma plataforma digital de código aberto que busca compartilhar arquivos de impressão 3D [173]. O projeto foi intitulado de “Eletrodo para Célula Eletroquímica – Suporte de Amostras 3D” [174].



**Figura 13. Projeto de impressão 3D de um eletrodo de suporte para amostra:** (a) interface gráfica do *software* Autodesk Fusion, (b) interface gráfica do *software* Ultimaker Cura 5.4.0, (c) eletrodo sendo impresso e (d) eletrodo impresso em PLA com a impressora 3D. Fonte: Elaborada pelo autor.

#### 4.2.2 Metalografia

A solução utilizada para o teste de metalografia foi preparada com 48,1 % v/v de etilenoglicol ( $C_2H_6O_2$ , moderador da taxa de corrosão), 48,1 % v/v de água destilada (meio condutor) e 3,7 % v/v de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ , agente corrosivo). Foi aplicada uma tensão de 50 V ao sistema (Figura 12), sob agitação magnética por 1 min. Estas proporções e parâmetros foram aplicados a fim de obter um ataque uniforme e controlado. Após o teste, as amostras foram submetidas a lavagem sequencial em banho ultrassônico com acetona (para remoção de contaminantes orgânicos) e em álcool isopropílico (para eliminar resíduos polares e promover secagem rápida), cada etapa por 10 min.

<sup>14</sup> Formato de arquivo para transmissão de dados geométricos usados em impressão 3D (Linguagem Padrão de Triângulos, do inglês *Standard Triangle Language*).

<sup>15</sup> Formato de arquivo usado para compartilhar modelos 3D entre diferentes softwares de modelagem digital (Padrão para Troca de Dados de Produto, do inglês *Standard for the Exchange of Product Data*).

### 4.2.3 Anodização

A solução utilizada para o processo de anodização foi composta por 92,81 % v/v de água destilada (meio condutor), 5,23 % v/v de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (agente corrosivo) e 1,96 % v/v de ácido fluorídrico (HF, agente corrosivo), mantida sob agitação durante o procedimento para garantir a homogeneidade do meio. A célula eletroquímica (Figura 12) foi configurada com a amostra e o contra-eletródo posicionados a uma distância de 2 cm, para garantir campo elétrico homogêneo. A área de exposição das amostras e do contra-eletródo foi de 0,39 e 2  $\text{cm}^2$ , respectivamente.

Inicialmente, foram realizados testes dos parâmetros de anodização apenas na amostra de  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , aplicando uma tensão de 2 V e variando os parâmetros de tempo (20, 40 e 60 s), da superfície da amostra e da solução eletrolítica. Estes dois últimos parâmetros definiram o procedimento metodológico em rota 1, onde a amostra e a solução foram reutilizadas em cada tempo (anodização sequencial), e na rota 2, onde a amostra foi polida novamente e uma solução nova foi preparada a cada tempo (Tabela 2). Após a análise dos resultados, todas as amostras da série de ligas foram submetidas à anodização, com uma tensão de 2 V por 20 s. Após os testes, as amostras foram lavadas em banho ultrassônico com acetona e em álcool isopropílico, cada etapa por 10 min.

**Tabela 2.** Parâmetros utilizados para a anodização da amostra  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ .

<b>Tensão (V)</b>	2		
<b>Tempo (s)</b>	20	40	60
<b>Rota 1</b>	-	Solução de 20 s Amostra de 20 s	Solução de 40 s Amostra de 40 s
<b>Início</b>	Solução nova Amostra polida	-	-
<b>Rota 2</b>	-	Solução nova Amostra polida	Solução nova Amostra polida

### 4.3 Molhabilidade

A molhabilidade das superfícies das amostras, sem e com modificação, foi determinada por meio do ângulo de contato, medido utilizando o método da gota séssil e o algoritmo de análise de contornos ativos *DropSnake* [175]. Uma gota de água destilada de 3  $\mu\text{L}$  foi depositada com uma micropipeta perpendicularmente à superfície das amostras e o perfil da gota foi

registrado após 3 min com o uso de um microscópio digital USB. A partir das imagens geradas, o ângulo de contato foi medido utilizando o método *DropSnake* com auxílio do *software* ImageJ (Figura 14). Foram realizadas 10 medidas para as amostras polidas e anodizadas, com gotas posicionadas aleatoriamente sobre a superfície. O experimento foi realizado em condições ambiente, com temperatura de 25 °C e umidade de 50 %.



**Figura 14. Aparato experimental para medição de molhabilidade:** medição do ângulo de contato do líquido sobre a amostra com auxílio de um microscópio digital USB e do *software* Image J. Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.4 Imersão em Fluido Corporal Simulado

Avaliou-se o crescimento de fosfato de cálcio na superfície das amostras sem modificação de superfície por meio da imersão SBF. O fluido foi preparado conforme protocolo estabelecido na literatura [176,177]. As amostras foram imersas em SBF dentro de tubos Falcon, durante 28 dias em banho-maria com temperatura controlada a 36,5 °C e pH medido diariamente. Após a imersão, as amostras foram cuidadosamente enxaguadas com água deionizada para remover os sais residuais e, em seguida, secas ao ar à temperatura ambiente (25 °C) antes da caracterização subsequente.

#### 4.5 Citocompatibilidade

A citocompatibilidade das amostras foi avaliada mediante a exposição direta a fibroblastos murinos (linhagem L929), seguida de quantificação da viabilidade celular baseada no ensaio MTT<sup>16</sup>, de acordo com a norma ISO 10993-528. A linhagem L929 foi selecionada por ser amplamente adotada como linhagem celular de referência para o rastreamento do potencial

<sup>16</sup> Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio): ensaio colorimétrico

citotóxico de materiais para dispositivos médicos, incluindo ligas metálicas [178,179]. As células L929 foram fornecidas e cultivadas pelo Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisa com Células-Tronco (NUPCelt), oriundas do banco de células do Laboratório de Cultivo Celular (LABCelT), ambos da Universidade Federal do Piauí, em Teresina – PI.

Para o cultivo de células L929, foi utilizado o DMEM<sup>17</sup>, suplementado com 1% de solução de penicilina e estreptomicina<sup>18</sup>, 1% de aminoácidos não essenciais<sup>19</sup> e 15% de soro fetal bovino<sup>20</sup>. Para a tripsinização das células L929, utilizou-se a Trypsin EDTA phenol red<sup>21</sup>. Como solução de lavagem, utilizou-se tampão fosfato 1x, pH 7,2 (PBS<sup>22</sup>).

Resumidamente, as células L929 foram submetidas ao descongelamento rápido mediante a imersão controlada do criotubo em banho-maria a 37 °C por 60 s. Imediatamente, a suspensão celular foi transferida para um meio de cultura completo pré-aquecido a 37 °C e submetida à centrifugação a 1200 RPM para remover o DMSO<sup>23</sup> residual. O processo foi imediatamente seguido pela avaliação da viabilidade celular por meio do teste de exclusão pelo azul de Tripán. Para tal, uma alíquota de 10 µL da suspensão celular foi misturada com uma solução de azul de Tripán, na proporção de 1:1, em hemocitômetro. A contagem celular foi realizada, onde foram enumeradas as células não viáveis e as células viáveis. A partir desses dados, a porcentagem de viabilidade celular foi calculada mediante a Equação 13.

$$Viabilidade\ celular\ (\%) = \frac{Número\ de\ células\ viáveis}{Número\ total\ de\ células} \times 100, \quad \text{Equação 13}$$

As células foram ressuspensas no meio de cultura completo até uma concentração de  $2,2 \times 10^5$  células viáveis/mL e 2 mL da suspensão celular foi colocado em poços de cultivo de uma placa de seis poços ( $4,9 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>). O meio de cultura foi trocado a cada 72 horas e as células mantidas incubadas em estufa<sup>24</sup> sob as condições de 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub> e 95% de umidade, até alcançarem confluência de 80%. A tripsinização foi realizada acrescentando-se Tripsina-EDTA a cada poço de cultivo. Os poços tripsinizados foram incubados a 37 °C por 10

---

<sup>17</sup> Meio de Eagle modificado por Dulbecco, do inglês *Eagle's minimal essential*

<sup>18</sup> Gibco™, Thermo Fisher Scientific Inc, catálogo 15140122, 10.000U/mL, v.100mL

<sup>19</sup> Gibco™, Thermo Fisher Scientific Inc, catálogo 11140050, 100x, v.100mL

<sup>20</sup> Gibco™, Thermo Fisher Scientific Inc, catálogo 10500064, v.500mL

<sup>21</sup> Gibco™, Thermo Fisher Scientific Inc, catálogo 25200056, 0,25%, v.500mL

<sup>22</sup> Solução tampão de fosfato, do inglês *Phosphate-Buffered Saline* – PBS (Gibco™, Thermo Fisher Scientific Inc, catálogo 70013032, 10x, v.500mL)

<sup>23</sup> Dimetilsulfóxido: solvente orgânico com propriedades anti-inflamatórias e analgésicas

<sup>24</sup> Thermo Fisher Scientific Inc, jacket water, série 310

min, lavados com PBS e repicados na proporção 1:2 em garrafas de cultivo de 25 cm<sup>2</sup>, mantidos incubados em estufa de CO<sub>2</sub> a 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub> e 95% de umidade.

Para a análise, extratos dos materiais foram preparados a partir de fragmentos (uma unidade de cada amostra) das amostras, os quais foram incluídos individualmente em 1 mL de meio suplementado (DMEM<sup>25</sup>, 10% soro fetal bovino<sup>26</sup>, 1% antibiótico – penicilina/estreptomicina<sup>27</sup>) e mantidos por 24 h em incubadora a 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub>. Após esse período, os extratos obtidos foram incluídos em placas de 96 poços (cada grupo experimental testado em triplicata) contendo cultura de fibroblastos murinos L929. Para validação do ensaio, foram estabelecidos um controle negativo, composto apenas pelo meio suplementado, e um controle positivo, composto por 90% do meio suplementado e 10% de DMSO. As células em contato com os extratos (grupos experimentais, controles positivo e negativo) foram mantidas incubadas a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> por 24 e 48 h.

Então, os meios de cultivo e extratos foram removidos, os poços foram enxaguados com PBS e, posteriormente, 100 µL de solução de MTT (0,5 mg/mL) foram adicionados a cada poço. Após 4 horas de incubação, a solução foi removida e os cristais de formazano foram dissolvidos com 100 µL de DMSO. A absorbância foi medida a 570 nm usando um leitor de microplacas (Biotek Elx 800). A viabilidade celular foi calculada através da Equação 14, onde A<sub>t</sub> representa a absorbância dos grupos de tratamento e A<sub>c</sub> representa a absorbância do grupo de controle.

$$Viabilidade\ celular\ (\%) = \frac{A_t}{A_c} \times 100, \quad \text{Equação 14}$$

#### 4.6 Ensaio *in vivo*

A formação de edema, migração de leucócitos e medição de citocinas foram realizadas no Laboratório de Nanorradiofarmácia e Radiofarmácia do Instituto de Energia Nuclear, localizado no Rio de Janeiro - RJ. Camundongos machos C57BL/6 (20-30 g) (n=6) foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12 h com temperatura controlada com comida e água *ad libitum*<sup>28</sup>. Para avaliar o efeito *in vivo*, a amostra de Co<sub>(63)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(9)</sub> foi desintegrada e

---

<sup>25</sup> DMEM high glucose, Capricorn, ref: 150763

<sup>26</sup> BNB, ref: 150023

<sup>27</sup> Capricorn, ref:150772

<sup>28</sup> O estudo em animais foi conduzido seguindo as diretrizes éticas da *International Association for the Study of Pain* e aprovado pelo *Institutional Animal Care and Use Internal Review Board* (licença n. CEUA LW-43/14)

administrada intra-articularmente (i.a.) até a concentração final de 25  $\mu$ L em animais saudáveis ou com inflamação articular induzida por Zymosan <sup>29</sup>. A inflamação articular foi induzida por injeção i.a. de Zymosan (500  $\mu$ g/cavidade) que foi diluída em solução salina estéril para um volume final de 25  $\mu$ L. Os animais de controle receberam, i.a., injeções de volumes iguais de solução salina estéril. O inchaço da articulação do joelho foi avaliado medindo-se os diâmetros transversais de cada articulação do joelho usando paquímetros digitais (Digimatic Caliper, Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japão).

Os valores da espessura articular do joelho foram expressos em milímetros como a diferença do diâmetro articular do joelho antes e após a indução da inflamação articular. Após 24 h da indução da inflamação articular, os camundongos foram eutanasiados com excesso de anestésico (pentobarbital sódico 3 % - Hypnol). As cavidades sinoviais do joelho foram lavadas com 300  $\mu$ L de PBS contendo EDTA<sup>30</sup> (10 mM). As contagens totais de leucócitos <sup>31</sup> foram realizadas em um contador automático de partículas (Coulter Z2, Beckman Coulter Inc., Brea, CA, EUA). As contagens celulares diferenciais foram realizadas sob microscopia de luz (1000 $\times$ ) usando esfregaços de cytopspin (Cytospin 3, Shandon Inc., Pittsburgh, PA, EUA) corados de acordo com o método de May-Grunwald-Giemsa. As contagens foram relatadas como número de células por cavidade ( $\times 10^5$ ).

Os níveis de IL-1 $\beta$  e IL-6 <sup>32</sup> foram quantificados nas lavagens da articulação do joelho 48 h após a injeção de Zymosan. O ensaio imunoenzimático sanduíche (do inglês *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* - ELISA)<sup>33</sup> foi realizado usando protocolos fornecidos pelos fabricantes (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA). Os resultados são expressos em picograma por mililitro (pg/mL). Os resultados são apresentados como média  $\pm$  (erro padrão) SE e foram analisados estatisticamente por meio de análise de variância (*Analysis of variance* - ANOVA) seguida do teste de Newman-Keuls-Student. Todos os testes foram realizados no GraphPad Prism 5.00 (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA). Valores de  $p^{34} \leq 0,05$  foram considerados significativos.

---

<sup>29</sup> Reagente formado por paredes de levedura, utilizado para simular inflamação artrítica

<sup>30</sup> Ácido etileno diamino Tetra-Acético (do inglês *Ethylenediaminetetraacetic* – EDTA)

<sup>31</sup> Grupo de células que protege o organismo contra infecções

<sup>32</sup> Tipos de interleucinas produzidas por células do sistema imunológico, regulam a resposta imune do organismo

<sup>33</sup> Teste de laboratório que detecta a presença de substâncias específicas em amostras biológicas

<sup>34</sup> Probabilidade de observar uma estatística de interesse igual ou mais extrema que a observada nos dados

## 4.7 Técnicas de caracterização

### 4.7.1 Difração de Raios X

Os padrões de difração de raios X das amostras foram obtidos em amostras em formato *bulk* a temperatura ambiente. O difratômetro (D8 Advance, Bruker) com radiação Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ ), tensão 40 kV, corrente de 40 mA e detector linear (LynxEye) foi utilizado para obtenção do difratograma no intervalo ( $2\theta$ ) de 20 a 100°, em passo angular de 0,02° e tempo de contagem 1 s por passo. As medidas foram realizadas em quatro ângulos azimutais, 0, 40, 90 e 140°, em vista das possíveis orientações preferenciais presentes nas amostras em *bulk*. Entre os difratogramas obtidos, selecionou-se aquele que apresentava o maior número de picos cristalográficos para análise. A base de dados cristalográficos *Inorganic Crystal Structure Database* (ICSD) foi utilizada para identificação das estruturas cristalinas.

### 4.7.2 Espectroscopia Raman

Os espectros vibracionais das amostras foram registrados à temperatura ambiente utilizando um Espectrômetro Raman (Horiba, T64000), equipado com um laser de comprimento de onda de 532 nm. As medidas foram realizadas na faixa espectral de 70 a 1500  $\text{cm}^{-1}$ , com tempo de aquisição de 30 s e 3 acumulações por ponto.

### 4.7.3 Microdureza Vickers

A resistência das amostras à deformação plástica localizada foi avaliada por meio do ensaio de Microdureza Vickers. Utilizou-se um microdurômetro (Shimadzu, HMV-2T) equipado com um penetrador de diamante piramidal de base quadrada. O valor de dureza Vickers (HV) foi calculado conforme a Equação 15, que determina o quociente entre a carga aplicada ( $F$  - kgf) e a área de impressão ( $d^2$  -  $\text{mm}^2$ ). Para cada amostra, foram realizadas 10 indentações em regiões espaçadas (o dobro da diagonal de indentação), aplicando-se uma carga de 0,5 kgf (que corresponde a 4,9 N) com um tempo de permanência de 15 s. A média e o desvio padrão amostral (SD) foram calculados a partir do conjunto de dados. As diferenças entre as médias foram analisadas estatisticamente por meio da ANOVA, seguida de teste Tukey, considerando valores de  $p \leq 0,05$  significativos.



$$HV = \frac{1,8544}{d^2} \times 100,$$

Equação 15

#### 4.7.4 Polarização Potenciodinâmica e Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

O comportamento corrosivo das amostras foi avaliado através de medições eletroquímicas utilizando um potenciostato/galvanostato (Autolab, PGSTAT30). Para o preparo da amostra, foi embutida em resina epóxi, lixada e polida. Para evitar que as soluções aquosas utilizadas nos testes de corrosão penetrassem nos poros da resina e causassem corrosão em fresta, a amostra foi revestida com esmalte, deixando uma área exposta média de 0,32 cm<sup>2</sup> para os testes. A coleta de dados e medição da taxa de corrosão foi facilitada pelo *software* Nova 2.1.4. a 25°C.

Para os testes de Polarização potenciodinâmica (PDP) e Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS), uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos foi empregada. O eletrodo de platina serviu como contraeletrodo, enquanto um eletrodo de prata/cloreto de prata (Ag(s)/AgCl(s), KCl saturado) foi usado como eletrodo de referência. As amostras atuaram como eletrodo de trabalho. Foram utilizados dois eletrólitos, solução fisiológica (9 g/L NaCl) e SBF, a fim de simularem a concentração iônica do plasma sanguíneo. Antes de cada teste, as amostras foram imersas no eletrólito por aproximadamente 30 minutos para estabilização no potencial de circuito aberto (OCP). Nos testes de PDP, a faixa de varredura de tensão começou de -0,1V a +2,0V em relação ao OCP, com uma taxa de varredura de 1 mV/s. Os testes foram concluídos quando a densidade de corrente ultrapassou 1 mA/cm<sup>2</sup>. Para os testes EIS, uma varredura de frequência foi realizada usando 51 pontos de dados cobrindo uma faixa de frequência de 50 kHz a 10 mHz. Foi utilizada uma onda senoidal com amplitude de 15 mV.

#### 4.7.5 Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Raios X por Dispersão em Energia

As informações sobre a morfologia e composição química das amostras foram obtidas por Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS). Com o MEV (Evo, Zeiss), imagens com ampliações de até 30k vezes foram obtidas utilizando os detectores de elétrons secundários e retroespalhados, enquanto com o EDS (Bruker, XFlash 410M), adquiriu-se a distribuição dos elementos químicos na superfície. A quantificação da porcentagem da fase extra em relação à matriz das amostras foi realizada

através da análise de contraste das imagens de MEV (três imagens por amostra) utilizando o *software* ImageJ, seguindo a metodologia da binarização e segmentação por limiar (*threshold*).

#### 4.7.6 Microscopia de Força Atômica

Os dados foram obtidos com um AFM (Bruker, Multimode 8) equipado com uma controladora Nanoscope V. As medidas foram realizadas em dois modos operacionais distintos: o modo de Propriedades Nanomecânicas Quantitativas (QNM) para obter informações de rugosidade, assimetria e área, e o modo Microscopia de Força com Sonda Kelvin (KPFM) para detecção do potencial de superfície e função trabalho. No modo QNM, a sonda oscila e toca a superfície de forma intermitente durante a varredura. A cada contato, registra a interação entre a ponta e a amostra por meio de uma curva de força (Figura 8), a partir da qual são extraídas características mecânicas da superfície do material [180]. No modo KPFM, a medição ocorre em dois passos. Primeiro, a topografia é detectada em contato intermitente. Em seguida, a sonda é elevada e, durante um segundo passo sobre a mesma linha, um potencial elétrico oscilante é aplicado entre a ponta e a amostra. Um circuito de *feedback* ajusta um potencial contínuo para anular as forças eletrostáticas; este potencial é uma medida direta da diferença de potencial de contato (Figura 9), que está relacionada à função trabalho da superfície do material [153,166].

No modo QNM, utilizou-se uma sonda de Si (Bruker, Scanasyst Air) com constante de mola de 0,4 N/m, enquanto no modo KPFM empregou-se uma sonda de Si (Bruker, PFQNE-AL) com constante de mola 0,8 N/m e altura de elevação de 70 nm. Os mapas foram adquiridos com resolução de 256 x 256 pixels e frequência de varredura de 1 KHz. O pré-processamento dos dados (remoção de fundo polinomial e o alinhamento de linhas) foi realizado no *software* Gwyddion. A conversão dos dados brutos de potencial em função trabalho são detalhados no Apêndice A. Todas as medições foram conduzidas em condições ambientais controladas, com temperatura em 25 °C e umidade relativa em 50 %, aproximadamente.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta seção apresenta e discute os resultados das amostras da série de ligas metálicas  $\text{Co}_{(72-x)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(x)}$  ( $x = 0, 3, 6$  e  $9 \text{ \% m/m}$ ), organizados em três tópicos: 5.1 Propriedades de *bulk* e de superfície das ligas, incluindo análise estrutural (cristalina e microestrutural), microdureza, potencial de superfície, corrosão em fluido corporal, nucleação de fosfato de cálcio e resposta inflamatória; 5.2 Modificação de superfície da liga  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  por anodização, contendo a análise estrutural e morfológica de superfície; e 5.3 Caracterização de superfície da série de ligas anodizadas, abrangendo análise estrutural (cristalina e microestrutural), morfológica, molhabilidade e viabilidade celular. A discussão correlaciona as propriedades físicas, químicas e biológicas para potencial aplicação biomédica das ligas com e sem modificação de superfície.

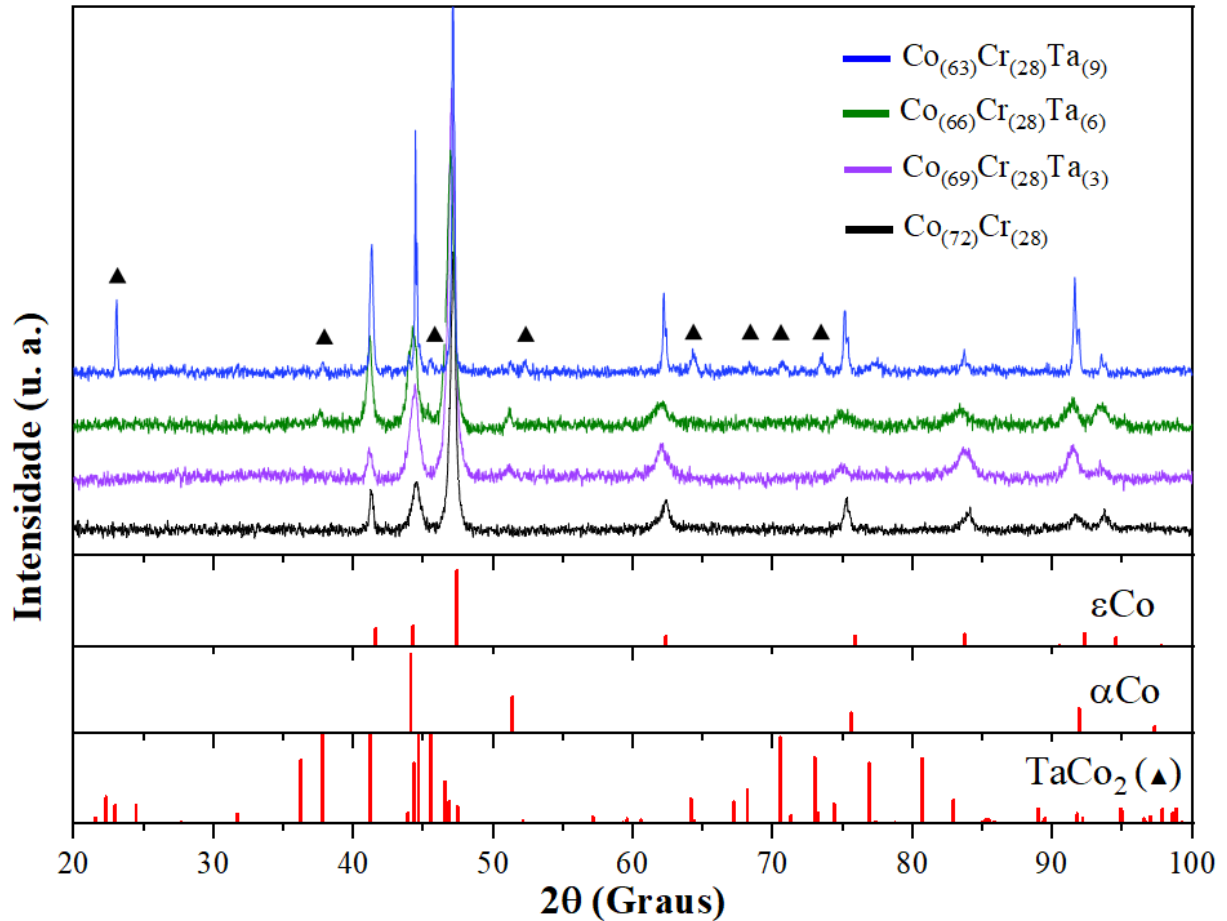
### 5.1 Propriedades de *bulk* e de superfície das ligas

#### 5.1.1 Estrutura cristalina

A análise da estrutura cristalina das amostras obtida por DRX (Figura 15) mostrou que a composição química e a condição de resfriamento escolhidos propiciaram a formação de um sistema heterogêneo. A estrutura é descrita pelas fases  $\epsilon\text{Co}$  com estrutura hexagonal compacta e grupo espacial  $\text{P6}_3\text{mmc}$  (ICSD nº 44990) [181],  $\alpha\text{Co}$  com estrutura cúbica de face centrada e grupo espacial  $\text{Fm-3m}$  (ICSD nº 53805) [182] e  $\text{TaCo}_2$  com estrutura hexagonal compacta e grupo espacial  $\text{P6}_3\text{mmc}$  (ICSD nº 625333) [183]. Observa-se que a fase  $\text{TaCo}_2$  surge a medida em que há o aumento da concentração de Ta na amostra a base de Co-Cr, segundo o surgimento de picos desta fase a partir da amostra  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e aumento na intensidade de picos nas regiões de fases  $\epsilon\text{Co}$  e  $\alpha\text{Co}$ .

Os difratogramas da série de amostras (Figura 15) e os diagramas de fases dos sistemas Co-Cr e Co-Ta [184] indicam que o Cr entra em solução sólida na rede do Co, enquanto o Ta forma uma nova fase por estar acima do limite de solubilidade dos alótropos do Co. A presença simultânea das fases  $\epsilon\text{Co}$  e  $\alpha\text{Co}$  sugere que o resfriamento não foi rápido o suficiente para suprimir completamente a transformação alotrópica do Co, resultando em uma microestrutura com os dois alótropos. Enquanto isso, a fase  $\text{TaCo}_2$  é um composto intermetálico chamado de fase de Laves (estequiometria  $\text{AB}_2$ ) que se forma quando a razão entre os raios atômicos se encontra na faixa de 1,05 e 1,67 [185], neste caso de 1,1. Estudo prévio [85] mostrou que

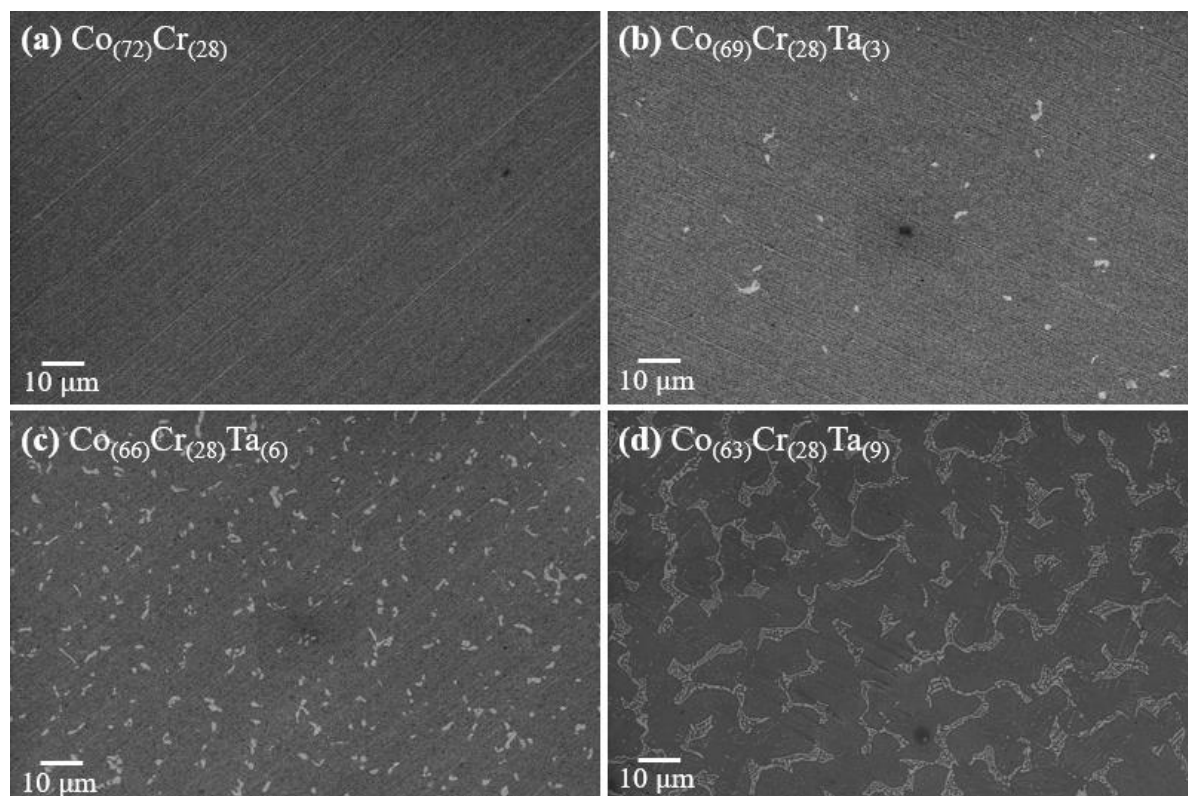
concentrações de Ta acima de 4 % m/m em ligas à base de Co-Cr-W induzem a precipitação da fase Laves aqui observada.



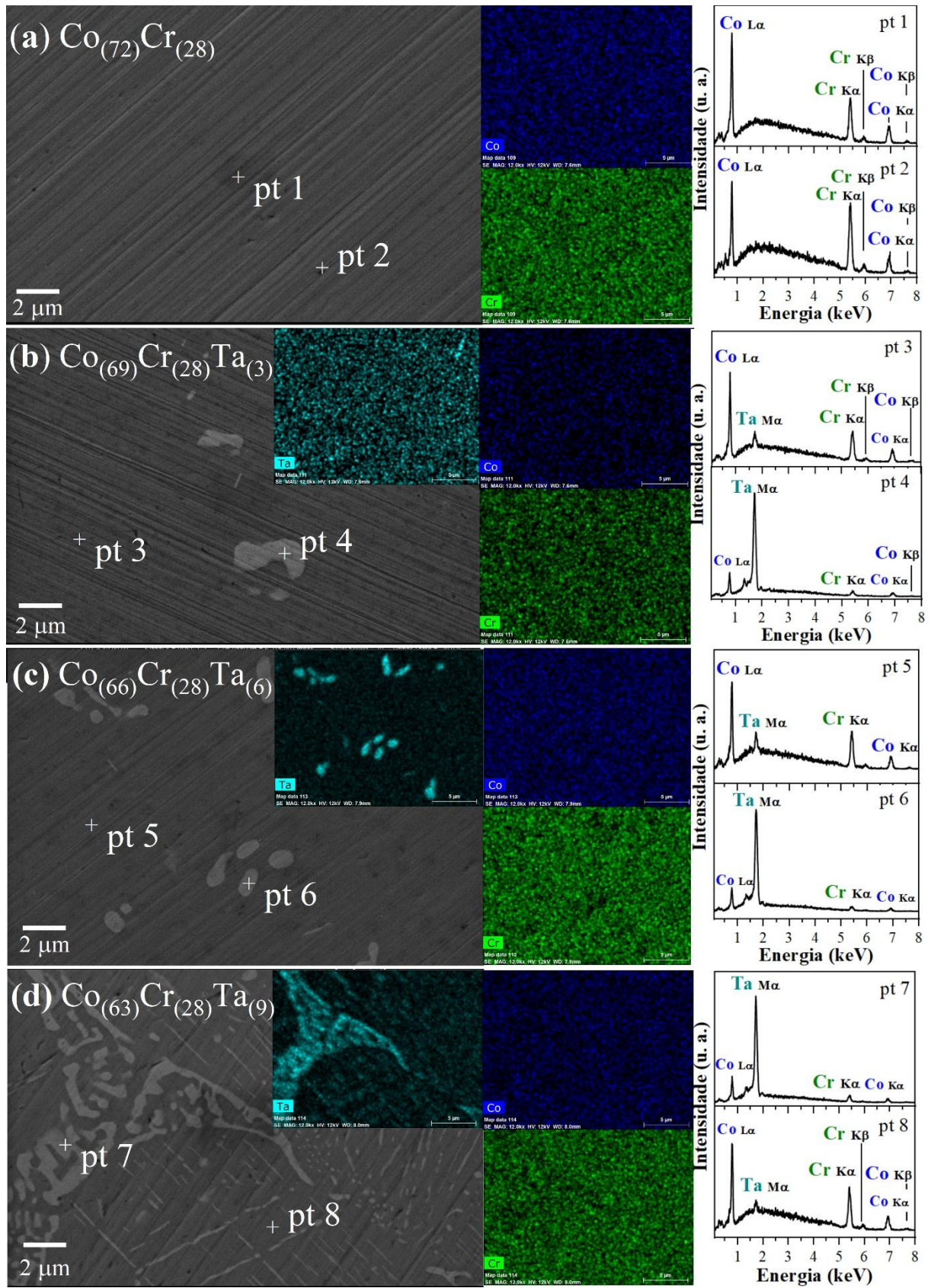
**Figura 15. Padrões de difração de raios X das amostras sem modificação de superfície:** os gráficos com barras representam as fases cristalográficas  $\epsilon\text{Co}$ ,  $\alpha\text{Co}$  e  $\text{TaCo}_2$  presentes nas amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ . O símbolo de triângulo representa os picos da fase  $\text{TaCo}_2$ .

### 5.1.2 Microestrutura

A análise da microestrutura usando MEV (Figura 16), mostra um padrão com alto contraste que surge à medida que o Ta é inserido na matriz de Co-Cr. Efeitos de composição e topografia não são esperados no contraste observado na imagem de MEV, sugere-se neste caso a influência da diferença de tensão na superfície da liga devido à sensibilidade que a emissão de elétrons secundários possui em relação este parâmetro [186]. Na subseção 5.1.4 este tema será abordado por meio da análise do potencial por KPFM. Mapas composicionais e espectros EDS (Figura 17) indicam que as regiões de alto contraste são ricas em Co e Ta e as de baixo contraste ricas em Co e Cr com alguma porção de Ta.



**Figura 16. Micrografia eletrônica de varredura:** (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ , (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  (magnificação de 2 kx, detector de elétrons secundários).



**Figura 17. Informações morfológica e elemental da superfície:** micrografia obtida por MEV, mapas composicionais e pontos 1-8 descritos pelo EDS de (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ , (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  (magnificação de 12 kx, detector de elétrons secundários).



Esta é uma microestrutura que apresenta desvio da distribuição uniforme dos elementos químicos da liga, gerando a separação dos elementos em diferentes regiões no estado sólido, típica de ligas fundidas [187], nomeada de dendrítica. Neste trabalho, a matriz metálica como região interdendrítica é formada majoritariamente pelos elementos Co e Cr, portanto contém os alótropos do Co ( $\epsilon$ Co e  $\alpha$ Co), enquanto as regiões dendríticas são ricas em Co e Ta, o que revela que são constituídas pela fase de Laves ( $\text{TaCo}_2$ ). Embora o DRX tenha detectado a fase  $\text{TaCo}_2$  apenas a partir da amostra  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$ , o MEV/EDS indica sua presença já em  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ . A porcentagem da fase  $\text{TaCo}_2$  foi calculada em relação a matriz Co-Cr ( $\epsilon$ Co e  $\alpha$ Co) utilizando o *software* ImageJ (Tabela 3).

**Tabela 3.** Porcentagem de fase  $\text{TaCo}_2$  em relação a matriz Co-Cr ( $\epsilon$ Co e  $\alpha$ Co).

Amostra	Fase	Porcentagem da fase (média $\pm$ SE)
$\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$	TaCo <sub>2</sub>	-
$\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$		1,3 $\pm$ 0,4
$\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$		3,7 $\pm$ 0,4
$\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$		12,9 $\pm$ 0,7

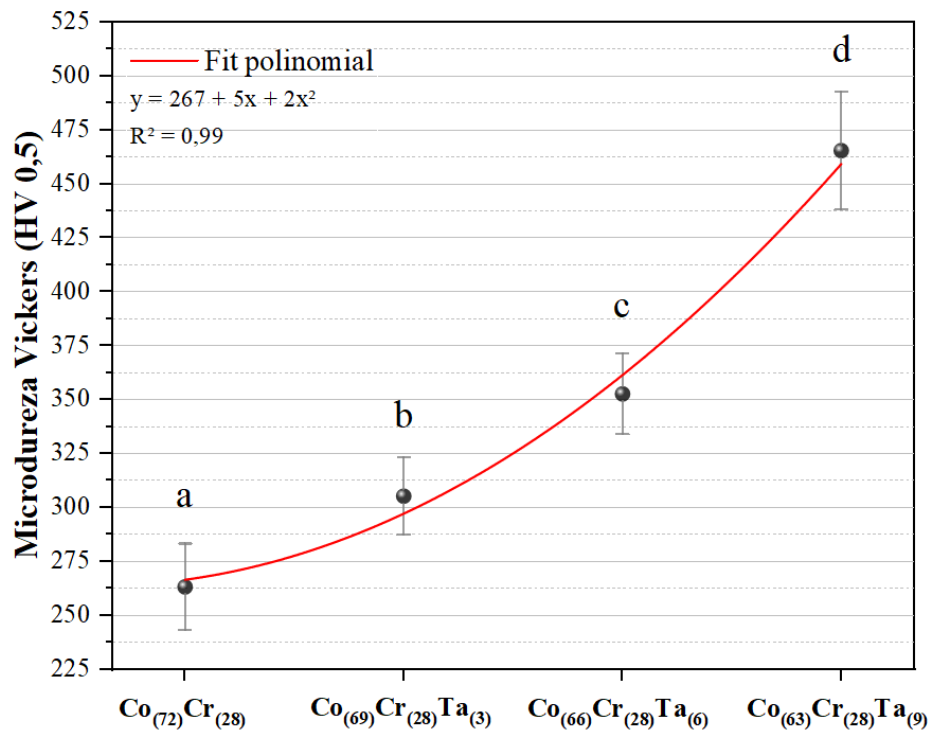
A porcentagem da fase  $\text{TaCo}_2$  aumentou significativamente com o teor de Ta nas amostras, passando de 1,3 % ( $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ) para 12,9% ( $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ ). Esta tendência não-linear e baixos erros padrão ( $< 0,7\%$ ), estão condizentes com a baixa solubilidade do Ta na matriz de Co-Cr. A ausência de picos de  $\text{TaCo}_2$  no DRX da liga  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ , apesar da sua detecção por MEV/EDS (1,3%), acontece possivelmente devido à sua baixa porcentagem na amostra, abaixo do limite de detecção do DRX ( $\sim 2\%$  em volume) [188].

Espera-se que a segregação tenha ocorrido desta maneira devido a dois motivos: (i) limite de solubilidade dos elementos Cr e Ta nos alótropos do Co, conforme visto no DRX (Figura 15); (ii) diferenças nas temperaturas de fusão dos elementos (Co: 1.495 °C, Cr: 1.907 °C e Ta: 3020 °C), sendo o Ta o de maior ponto de fusão cristalizando nos estágios iniciais da solidificação. Esta última causa foi utilizada em outras pesquisas [189–191] para explicar a segregação de elementos com ponto de fusão mais alto em ligas metálicas fundidas. A exemplo no setor biomédico, a liga Co-Cr-Mo (F75), regulamentada pela ASTM e amplamente utilizada como implante ortopédico, apresenta este tipo de estrutura dendrítica [192].

### 5.1.3 Microdureza Vickers

A resistência à deformação plástica localizada para a série de amostras foi obtida por Microdureza Vickers (Figura 18). Observa-se que a Microdureza aumentou à medida que o Ta foi inserido na matriz Co-Cr, com valores médios e desvios padrões de  $263 \pm 20$  ( $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ),  $305 \pm 18$  ( $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ),  $353 \pm 19$  ( $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$ ) e  $466 \pm 27$  HV0,5 ( $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ ). O comportamento desta propriedade obedece a uma função polinomial ( $y = 267 + 5x + 2x^2$ ,  $R^2 = 0,99$ ) para a dureza em função da concentração de Ta. Outras ligas à base de Co utilizadas no setor biomédico, como F75 e F90, apresentam microdureza em uma faixa de 300 a 400 HV [8].

O alto valor de dureza é um indício da presença de diferentes elementos liga e de estruturas cristalinas compactas e distintas na liga, enquanto a tendência de aumento está de acordo com o aumento do composto intermetálico  $\text{TaCo}_2$  (Tabela 3). Este tipo de estrutura, fases de Laves, é comumente utilizado no reforço de materiais estruturais [193]. Além disso, foi observado que um aumento na dureza pode elevar a resistência ao desgaste do material metálico [194], resposta significativa para materiais que entram em contato com soluções agressivas, como fluido corporal.

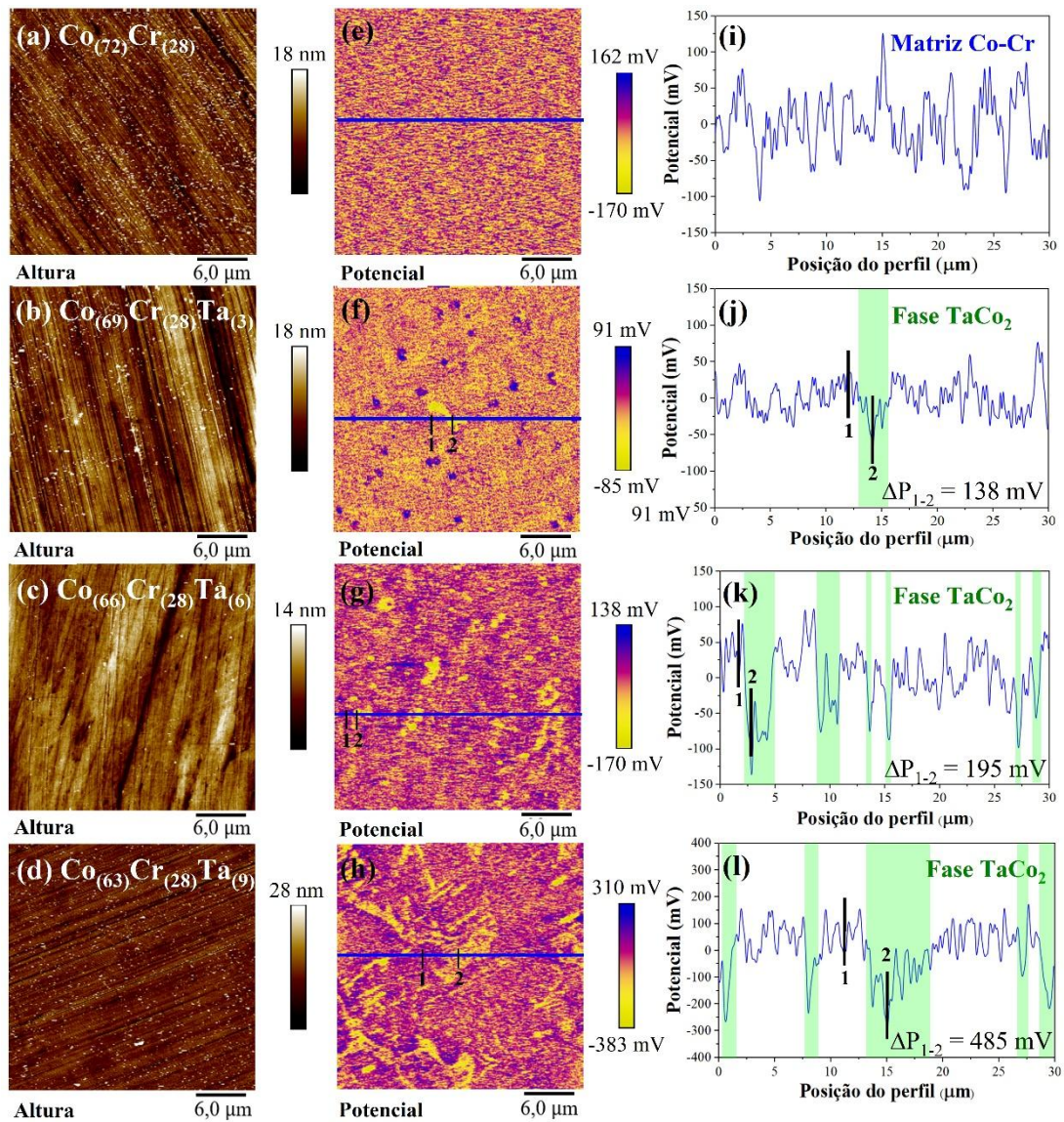


**Figura 18. Resistência à deformação plástica localizada por Microdureza Vickers:** As esferas informam o valor médio, a linha vermelha indica o ajuste polinomial, enquanto as barras são os desvios padrões para as amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ . As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).



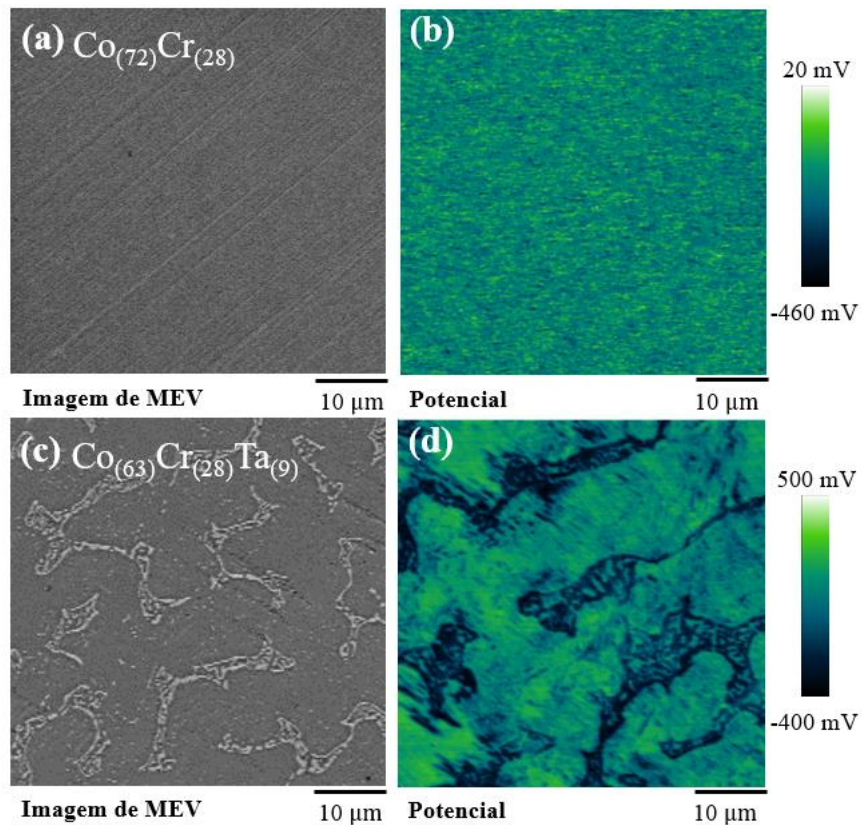
### 5.1.4 Potencial de superfície e seu efeito na corrosão

A distribuição do potencial nas superfícies das amostras foi obtida por KPFM (Figura 19). Os mapas de altura (Figura 19-a-d) revelam superfícies em escala nanométrica com a presença de resquícios de partículas da pasta utilizada no polimento, enquanto os mapas de potencial (Figura 19-e-h) mostram que a distribuição não tem relação com as topografias das amostras e sim com a morfologia identificada inicialmente por MEV (Figura 16). As posições dos perfis de linha (Figura 19-i-l) indicam as regiões com a presença da fase  $\text{TaCo}_2$  e a diferença de potencial relativa ( $\Delta P_{1-2}$ ) entre estas regiões e a matriz Co-Cr. As diferenças estrutural e composicional entre fases adjacentes originam diferenças de potencial local.



**Figura 19. Topografia, potencial e posição do perfil:** (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ , (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ .

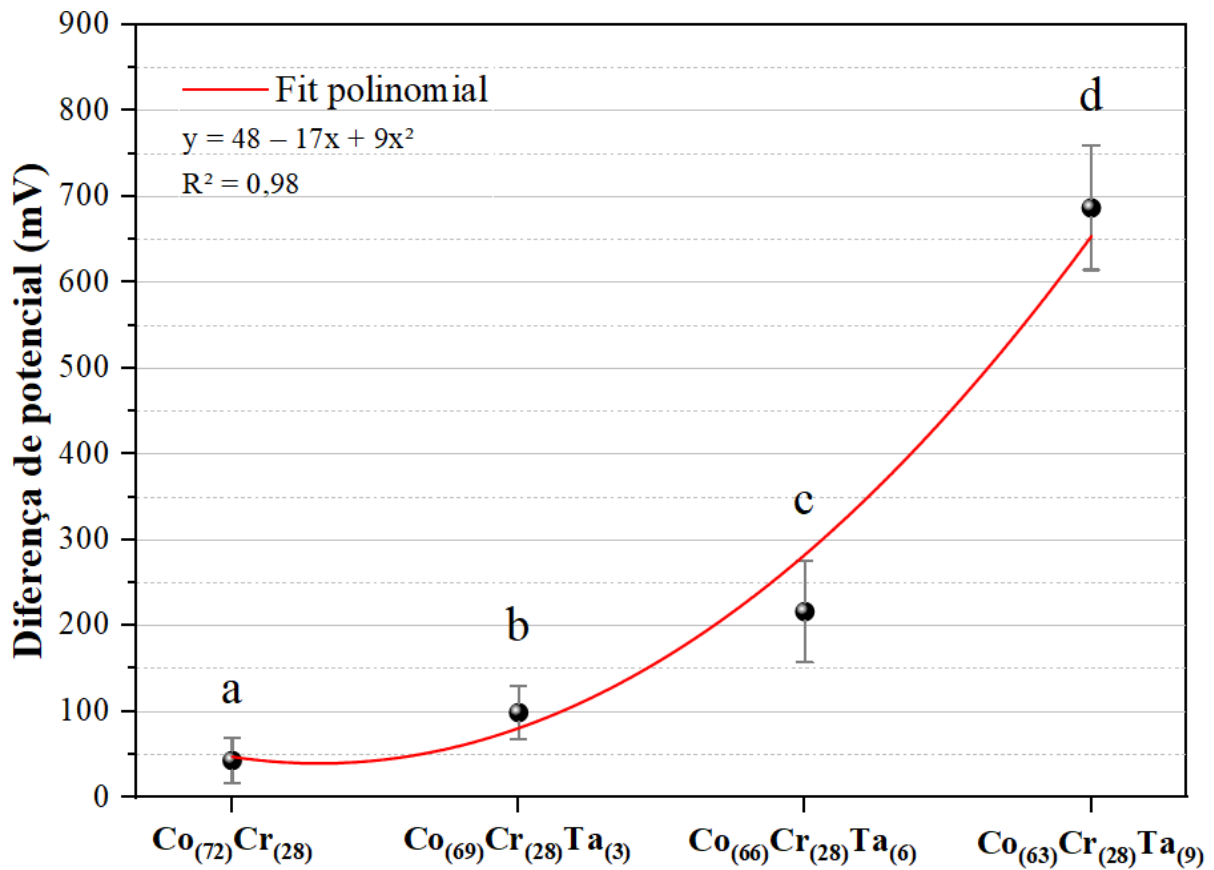
Os resultados mostram uma relação direta das imagens de MEV no modo de elétrons secundários com a mudança de potencial por KPFM para todas as amostras. Na amostra  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , que apresenta distribuição uniforme dos elementos (Figura 20-a), o mapa de potencial também é uniforme (Figura 20-b). Em contraste, a amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ , a segregação de fases é refletida tanto no contraste heterogêneo do MEV (Figura 20-c) quanto no mapa de KPFM (Figura 20-d). Esta relação foi possível devido a sensibilidade da emissão dos elétrons secundários aos potenciais elétricos locais. Um condutor emite mais elétrons secundários, resultando em um contraste de luz. Quando com tensão positiva, o condutor emite menos elétrons resultando em um contraste escuro, enquanto com tensão negativa emite mais elétrons gerando regiões com contrastes claros [186,195].



**Figura 20.** Comparação entre morfologia e o potencial da superfície das amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ : (a-c) Imagens de MEV no modo SE e (b-d) mapas de potencial por KPFM, com varreduras de 50 x 50  $\mu\text{m}$ . Estas imagens não correspondem às mesmas regiões, mas sim às mesmas amostras.

Observa-se que as diferenças de potenciais relativos ( $\Delta P_{1-2}$ ) entre a fase  $\text{TaCo}_2$  e a matriz Co-Cr medidas para os mapas da Figura 19 aumentam à medida que o Ta precipita na estrutura. Estas diferenças correspondem a regiões caracterizadas pela segregação dos elementos químicos da liga. A fim de conhecer a tendência deste dado ao longo das superfícies das

amostras, 30 regiões como estas foram medidas e obteve-se um valor médio da diferença dos potenciais locais para cada amostra (Figura 21). Para a amostra  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  foram medidas regiões aleatórias devido a sua homogeneidade. Vê-se que a  $\Delta P$  aumentou à medida em que o Ta foi inserido na matriz Co-Cr, com valores médios e desvios padrões de  $43 \pm 27$  ( $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ),  $99 \pm 31$  ( $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ),  $217 \pm 59$  ( $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$ ) e  $687 \pm 73$  mV ( $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ ). O comportamento desta propriedade obedece a uma função polinomial ( $y = 48 - 17x + 9x^2$ ,  $R^2 = 0,98$ ) para  $\Delta P$  em função da concentração de Ta. A mesma tendência e comportamento não linear foram observados para medidas de Microdureza Vickers, ambos os dados estão relacionados ao aumento do composto intermetálico  $\text{TaCo}_2$  (Tabela 3).

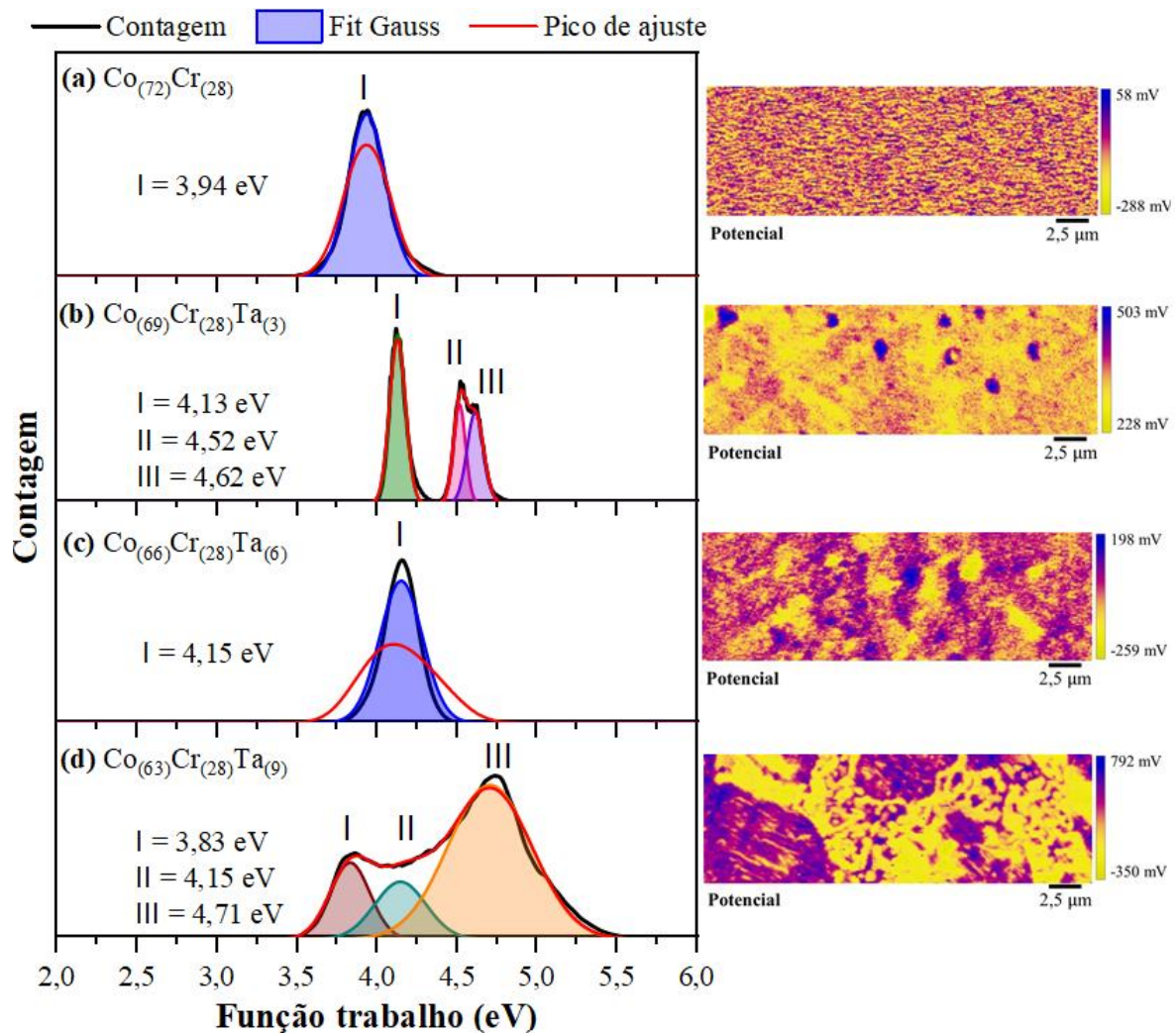


**Figura 21. Diferença de potencial entre a fase  $\text{TaCo}_2$  e matriz Co-Cr.** As esferas informam o valor médio, a linha vermelha indica o ajuste polinomial, enquanto as barras são os desvios padrões para as amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ . As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Para interpretar os valores de potencial além do método de perfil de linha convencional (Figura 19-i-1, Figura 21), foi obtida a distribuição da função trabalho para 30 mapas de cada amostra (Figura 22). A comparação entre a amostra  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  e as demais, com adição



crescente de Ta, revela novamente que a segregação do Ta na matriz Co-Cr afetou, neste caso, a função trabalho. Além de aumentar seu valor, tornou-se heterogênea, de modo que os ajustes foram realizados com até três curvas gaussianas. A exceção foi a amostra  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$ , que apesar da segregação elementar apresenta distribuição uniforme como em  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ . Isso sugere que esta concentração (6 % m/m Ta) pode representar o limite para se obter uma distribuição uniforme da função trabalho na presença de segregação elementar. Espera-se que a dispersão dos dados esteja associada à sensibilidade da função trabalho a características como a orientação cristalográfica, o tipo de estrutura cristalina e possíveis defeitos.

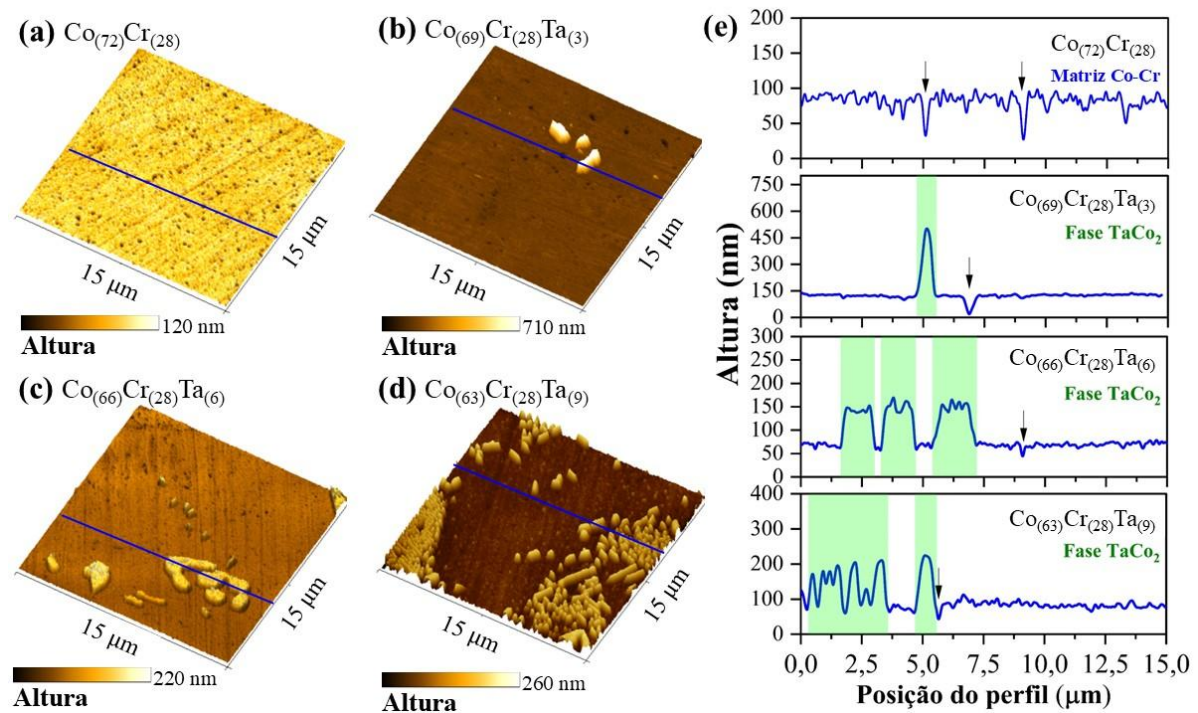


**Figura 22. Distribuição da função trabalho ajustada com funções Gaussianas:** (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  ( $R^2 = 0,99$ ), (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  ( $R^2 = 0,99$ ), (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  ( $R^2 = 0,97$ ) e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  ( $R^2 = 0,99$ ). Os mapas de potenciais à direita são representativos de um grupo de 30 mapas para cada amostra.

Os dados de potencial obtidos por KPFM têm sido úteis no estudo de corrosão localizada e atividades galvânicas em escala de micrômetros a nanômetros [153]. Variações no potencial

entre intermetálicos e a matriz são reconhecidas como fatores críticos que influenciam o desempenho da corrosão [152,196]. Além disso, é natural pensar que regiões com menores valores de potencial, associados a menores valores de função trabalho, são regiões onde uma menor quantidade de energia pode extrair elétrons dessa superfície, sugerindo áreas mais suscetíveis à corrosão. Essa ideia sugere que regiões que apresentam potencial positivo atuam como um cátodo (matriz Co-Cr), pois são regiões geradas a partir de cargas elétricas positivas e tenderão a emitir menos elétrons, como sugerido para a formação de imagens SEM no modo SE. O oposto é observado para regiões com potencial negativo, que devem atuar como ânodo (fase TaCo<sub>2</sub>) durante um processo de corrosão, pois são geradas por cargas elétricas negativas, emitindo mais elétrons.

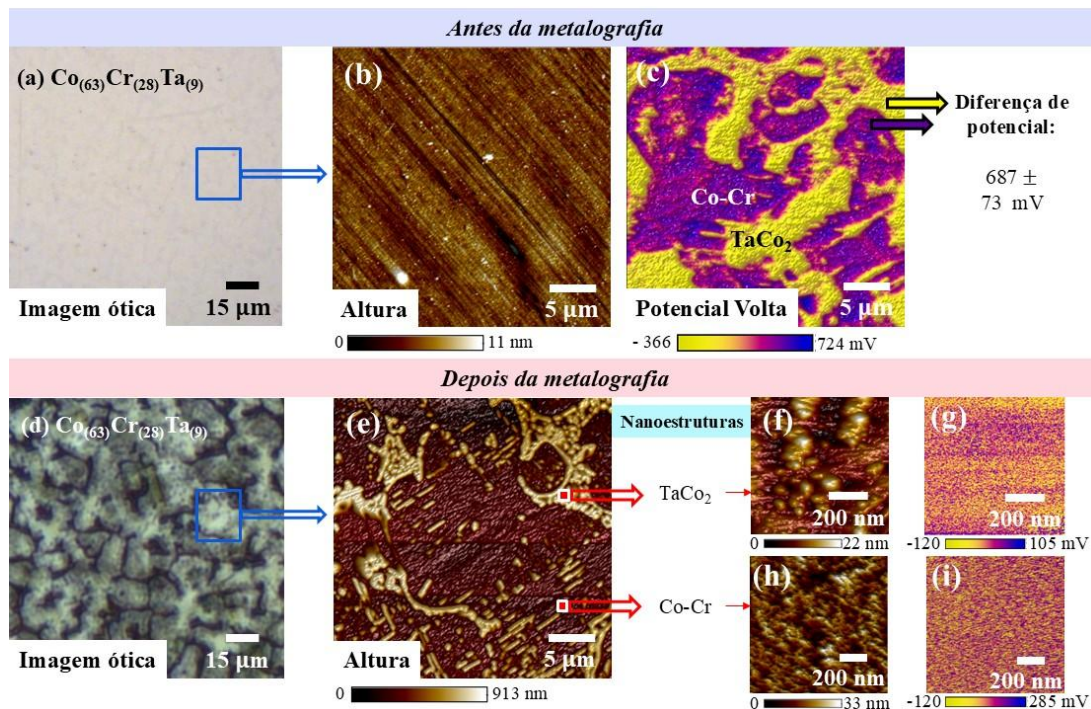
A fim de avaliar esta hipótese, as amostras foram submetidas ao teste metalográfico com etilenoglicol e ácido sulfúrico por 1 minuto (Figura 23). Após o teste, a superfície revelou estruturas projetadas (altura ~ 300 nm), remontando a morfologia à fase TaCo<sub>2</sub>, enquanto a matriz Co-Cr apresentou dissolução seletiva (Figura 23-b-d). Além disso, com o ataque ácido observou-se a formação de poros assinalados pelas setas na Figura 23-e. O teor relativamente maior de Ta nos precipitados de Laves e o menor teor na matriz Co-Cr originaram células microgalvânicas.



**Figura 23. Efeito da metalografia com ácido por 1 min na superfície:** topografia em três dimensões de (a) Co<sub>72</sub>Cr<sub>28</sub>, (b) Co<sub>69</sub>Cr<sub>28</sub>Ta<sub>3</sub>, (c) Co<sub>66</sub>Cr<sub>28</sub>Ta<sub>6</sub>, (d) Co<sub>63</sub>Cr<sub>28</sub>Ta<sub>9</sub> e (e) respectivas posições dos perfis de linhas azuis. As setas indicam a posição de buracos na matriz Co-Cr.

Curiosamente, estes resultados contradizem a expectativa inicial derivada do KPFM, que implicava corrosão da fase  $\text{TaCo}_2$  devido ao seu potencial negativo. Porém, vale ressaltar que a literatura [197–199] já relatou anteriormente uma mudança na polaridade dos potenciais, fenômeno justificado por variações no ambiente de medição. Especificamente, as medições realizadas no ar podem não estar diretamente correlacionadas com a reatividade do material em solução, como evidenciado pelos resultados deste estudo. Davis *et al.*, [171] mostraram que fase de maior potencial e, portanto, mais nobre, foi atacada preferencialmente durante teste de corrosão forçado.

Assim, a natureza catódica (maior nobreza) das regiões ricas na fase  $\text{TaCo}_2$  foi confirmada através de medidas de potencial (Figura 19) combinadas com medidas topográficas pós-ataque metalográfico em solução ácida (Figura 23). A resistência à corrosão do Ta metálico contra vários metais e ligas (por exemplo,  $\text{Au} < \text{aços} < \text{Co-Cr} < \text{Ti-6Al-4V} < \text{Ti} < \text{Nióbio} < \text{Ta}$ ) [200] já foi relatado na literatura. Converge com as informações obtidas neste estudo para a fase  $\text{TaCo}_2$  dispersa na matriz Co-Cr (fases  $\epsilon\text{Co}$  e  $\alpha\text{Co}$ ). Estudos revelam que a resistência à corrosão do Ta está associada à formação de uma camada de  $\text{Ta}_2\text{O}_5$  [93,201,202]. De forma geral, combinou-se as imagens ópticas aos mapas topográficos e de potencial da amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  antes e após ataque metalográfico, conforme Figura 24.



**Figura 24.** Características topográfica e de potencial da amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  antes e após metalografia com ácido por 1 min: (a,d) Imagem óptica, (b,e,f,h) mapa topográfico e (c,g,i) mapa de potencial.

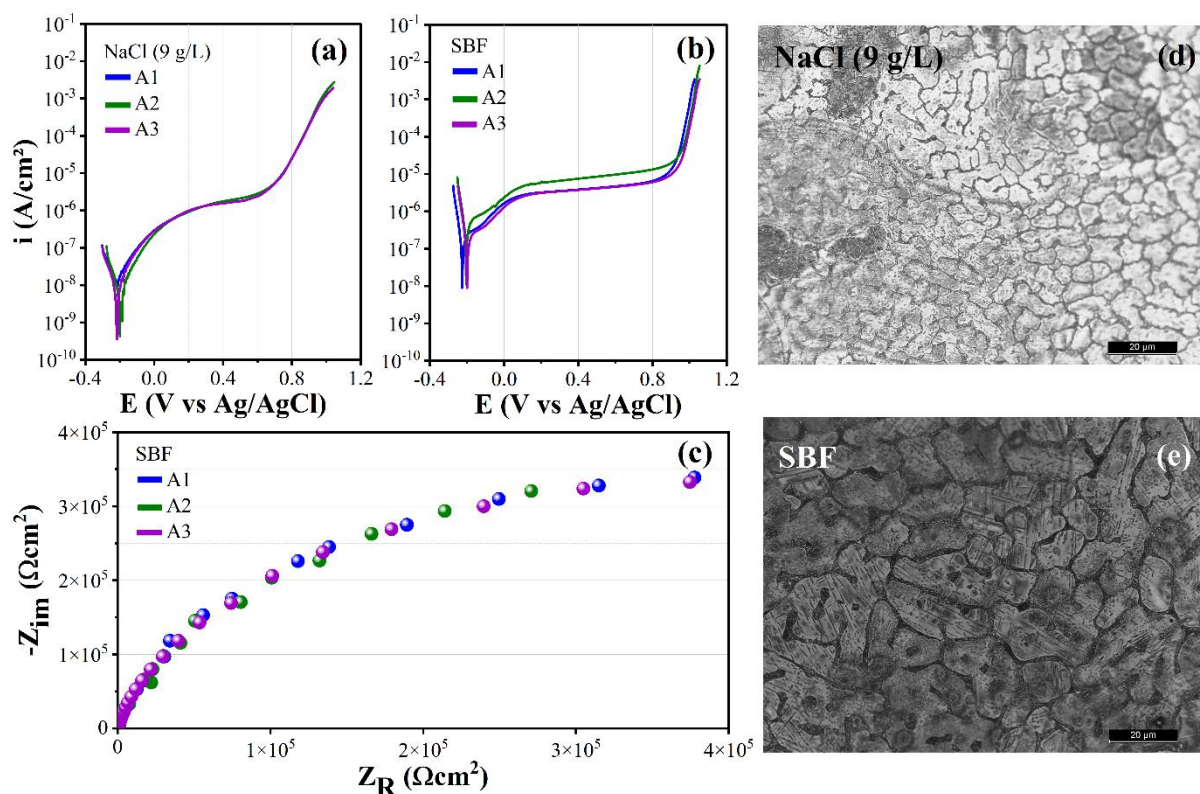
Antes da metalografia, a superfície é definida por linhas de polimento (Figura 24-b) e por regiões de potencial positivo e negativo (Figura 24-c) não relacionadas à topografia. Após a técnica, regiões de potencial negativo ( $\text{TaCo}_2$ ) são projetadas da superfície, enquanto aquelas de potencial positivo (Co-Cr) são submetidas à dissolução (Figura 24-e). As informações também são reveladas pelas imagens óticas (Figura 24-a,d), onde as fases  $\text{TaCo}_2$  e Co-Cr apresentam contrastes claros e escuros, respectivamente. Além disso, foi observada formação de estruturas nessas regiões após a corrosão, na forma de partículas para  $\text{TaCo}_2$  (Figura 24-f) e poros para Co-Cr (Figura 24-h), ambos com potencial uniforme (Figura 24-g,i). O surgimento destas estruturas motivou o estudo de anodização nas amostras (Subseções 5.2 e 5.3).

#### 5.1.5 Corrosão em fluido corporal

Dentre as amostras da série de ligas, selecionou-se a  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  para análise da corrosão por ter a maior concentração de Ta e, portanto, ser a condição mais crítica da série (maior porcentagem de fase extra e diferença de potencial local).

O comportamento eletroquímico da amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  foi avaliado em soluções de NaCl e SBF por meio de curvas de Polarização Potenciodinâmica (PDP) e Impedância Eletroquímica (EIS), conforme Figura 25 e descrição na Tabela 4. Pode-se observar que o potencial de corrosão ( $E_{\text{corr}}$ ) da amostra apresentou valor médio igual em ambos os meios (-0,21 V), com passivação considerável apenas em SBF e potencial de ruptura mais nobre ( $E_b$ ) neste meio quando comparado ao NaCl. A taxa de corrosão que indica a velocidade de desgaste da superfície metálica apresentou maior valor médio em SBF ( $2,56 \times 10^{-4}$  mm/ano) do que em NaCl ( $3,03 \times 10^{-5}$  mm/ano), indicando que, a longo prazo, o SBF é o meio mais severo, o que pode ser atribuído à sua alta concentração de espécies iônicas. Imagens óticas após a corrosão (Figura 25-d,e) mostram que a superfície apresentou dissolução seletiva, conforme previsto pelas medidas de KPFM (Figura 19) e observado em técnica de metalografia (Figura 23). Apesar da segregação da liga, ambas as taxas são aceitáveis para implantes de biomateriais metálicos ( $10^{-4}$  mm/ano) [203]. Notavelmente, a liga desenvolvida neste estudo apresentou um  $E_{\text{corr}}$  mais nobre (-0,21 V) quando comparada à liga Co-Cr-Mo-Ni (-0,66 V) em NaCl (9 g/L) [204] e semelhante ao da liga Vitallium, Co-Cr-Mo, (-0,21 V) em SBF [205].





**Figura 25.** Comportamento eletroquímico da amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  em NaCl (9 g/L) e SBF. Micrografia ótica após testes eletroquímicos em (d) NaCl (9 g/L) e (e) SBF. (a, b) Curvas de polarização potenciodinâmica e (c) diagrama de Nyquist, descrito pela impedância imaginária ( $Z_{im}$ ) versus real ( $Z_R$ ).

**Tabela 4.** Potencial de corrosão ( $E_{corr}$ ), corrente de corrosão ( $I_{corr}$ ), potencial de ruptura ( $E_b$ ) e taxa de corrosão para  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  em NaCl e SBF.

Eletrólito	$E_{corr}$ (V vs Ag/AgCl)	$I_{corr}$ (A/cm <sup>2</sup> )	$E_b$ (V vs Ag/AgCl)	Taxa de corrosão (mm/ano)	
NaCl	A1	-0,22	$1,28 \times 10^{-8}$	0,70	$3,19 \times 10^{-5}$
	A2	-0,19	$6,46 \times 10^{-8}$	0,72	$2,85 \times 10^{-5}$
	A3	-0,21	$7,06 \times 10^{-8}$	0,71	$3,04 \times 10^{-5}$
	Média	-0,21	$4,93 \times 10^{-8}$	0,71	$3,03 \times 10^{-5}$
	SD	0,02	$3,18 \times 10^{-8}$	0,01	$1,70 \times 10^{-6}$
SBF	A1	-0,20	$2,10 \times 10^{-7}$	0,94	$2,98 \times 10^{-4}$
	A2	-0,20	$2,87 \times 10^{-7}$	0,93	$2,70 \times 10^{-4}$
	A3	-0,22	$7,56 \times 10^{-7}$	0,91	$2,01 \times 10^{-4}$
	Média	-0,21	$4,18 \times 10^{-7}$	0,93	$2,56 \times 10^{-4}$
	SD	0,01	$2,96 \times 10^{-7}$	0,02	$4,99 \times 10^{-5}$

Observação: Amostras em triplicata (A1, A2 e A3); Desvio padrão (SD).



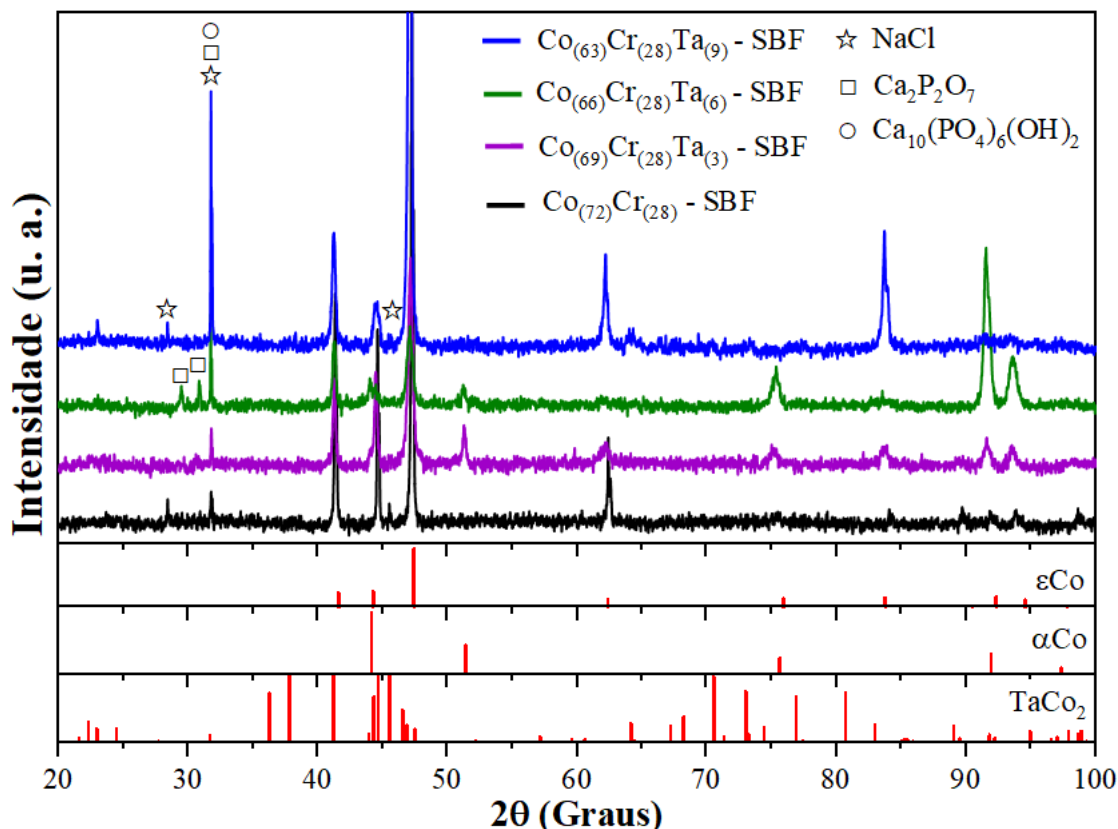
A técnica de EIS revelou que o arco capacitivo apresenta resistência aos processos de troca de carga, pois o arco não foi completado, terminando em 377 kΩ.cm<sup>2</sup>. Esta resistência é compatível com a observada nos resultados de PDP em SBF. Pode-se inferir que a alta resistência à corrosão na liga Co<sub>(63)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(9)</sub> pode ser atribuída à formação de Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> a partir da matriz de Co-Cr e óxido de tântalo a partir da fase secundária de TaCo<sub>2</sub>. Estudos anteriores destacaram a resistência à corrosão conferida por óxidos de cromo em ligas à base de Co-Cr [206] e óxidos de tântalo em ligas à base de Ta, como Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub> [202] e CrTaO<sub>4</sub> [84].

Os resultados sugerem que a diferença de potencial entre as fases da liga foi responsável pela corrosão localizada na superfície, mas que não impediu que a liga apresentasse uma taxa de corrosão aceitável para implantes biomédicos. Respostas benéficas a uma diferença de potencial foram observadas antes, de acordo com a formação de uma película passiva espessa em uma liga metálica [207], como também observado aqui na passivação da superfície da amostra em SBF. Espera-se que os constituintes da liga, Cr e Ta, tenham sido os fatores decisivos na corrosão semelhante a outras ligas já estabelecidas no campo biomédico. Além disso, como as regiões ricas em TaCo<sub>2</sub> aumentam o potencial eletroquímico global da amostra, por serem mais nobres que a matriz, e possuem porcentagem de fase maior na série de amostras conforme o acréscimo de Ta (Tabela 3), espera-se que a Co<sub>(63)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(9)</sub> seja a com menor taxa de corrosão.

#### 5.1.6 Nucleação de fosfato de cálcio

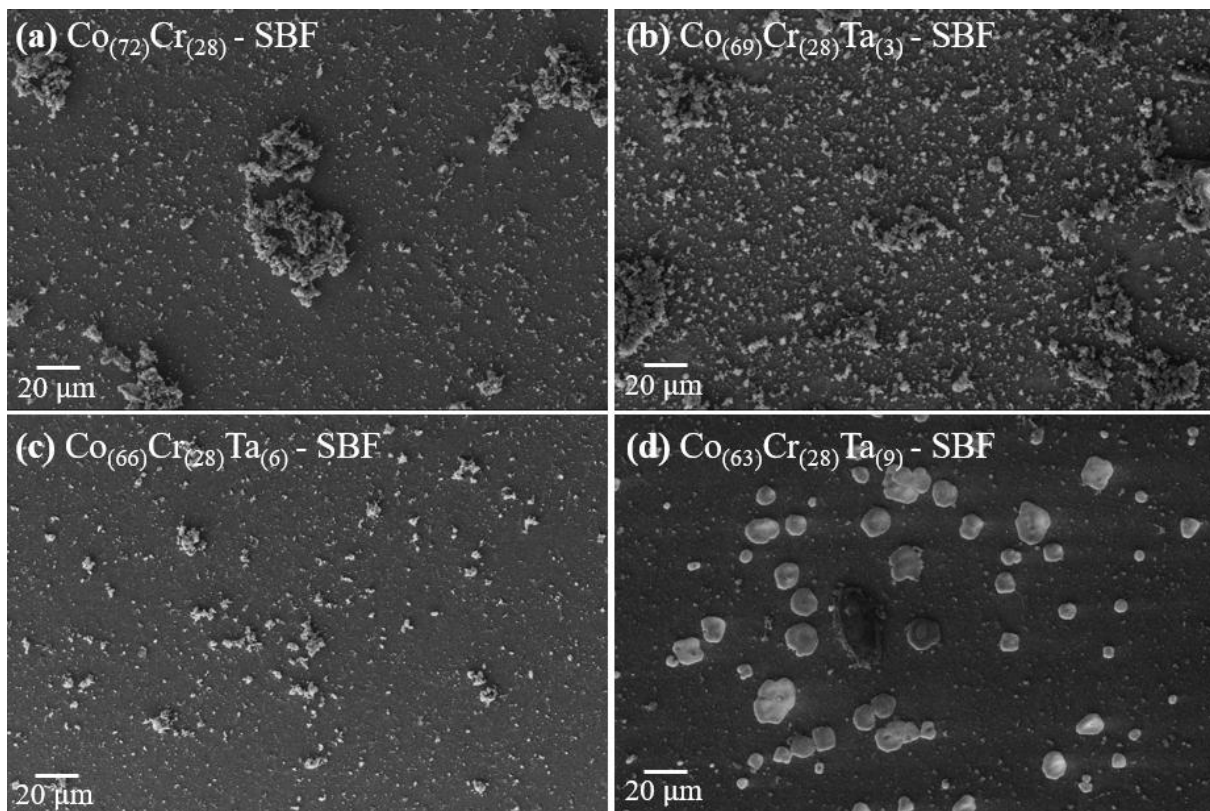
A superfície das amostras após imersão em SBF foi caracterizada por DRX (Figura 26) e observou-se o surgimento de picos indicados por símbolos (☆, □ e ○), além das fases presentes no *bulk* (εCo, αCo e TaCo<sub>2</sub>). A análise sugere que os novos picos correspondem ao cloreto de sódio (NaCl) com estrutura cúbica e grupo espacial Fm-3m (ICSD nº 29929) [208] e aos fosfatos de cálcio conhecidos por pirofosfato de cálcio (Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) com estrutura tetragonal e grupo espacial P41 (ICSD nº 14313) [209] e por hidroxiapatita (Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>) com estrutura hexagonal e grupo espacial P6<sub>3</sub>m (ICSD nº 24240) [210]. Embora o pico em 31,7° (2θ) presente em todas as amostras seja característico de cloreto de sódio, não se pode descartar a possível presença de hidroxiapatita, uma vez que seu principal pico também ocorre próximo a essa posição (~31,8°). Além disso, a possível formação de pirofosfato de cálcio, principalmente na amostra Co<sub>(66)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(6)</sub>, é de interesse neste estudo em vista da sua

relevância biológica ao apresentar propriedades bioativas e não-tóxicas [211], além de ser considerado como precursor da hidroxiapatita durante o processo de formação óssea [212].



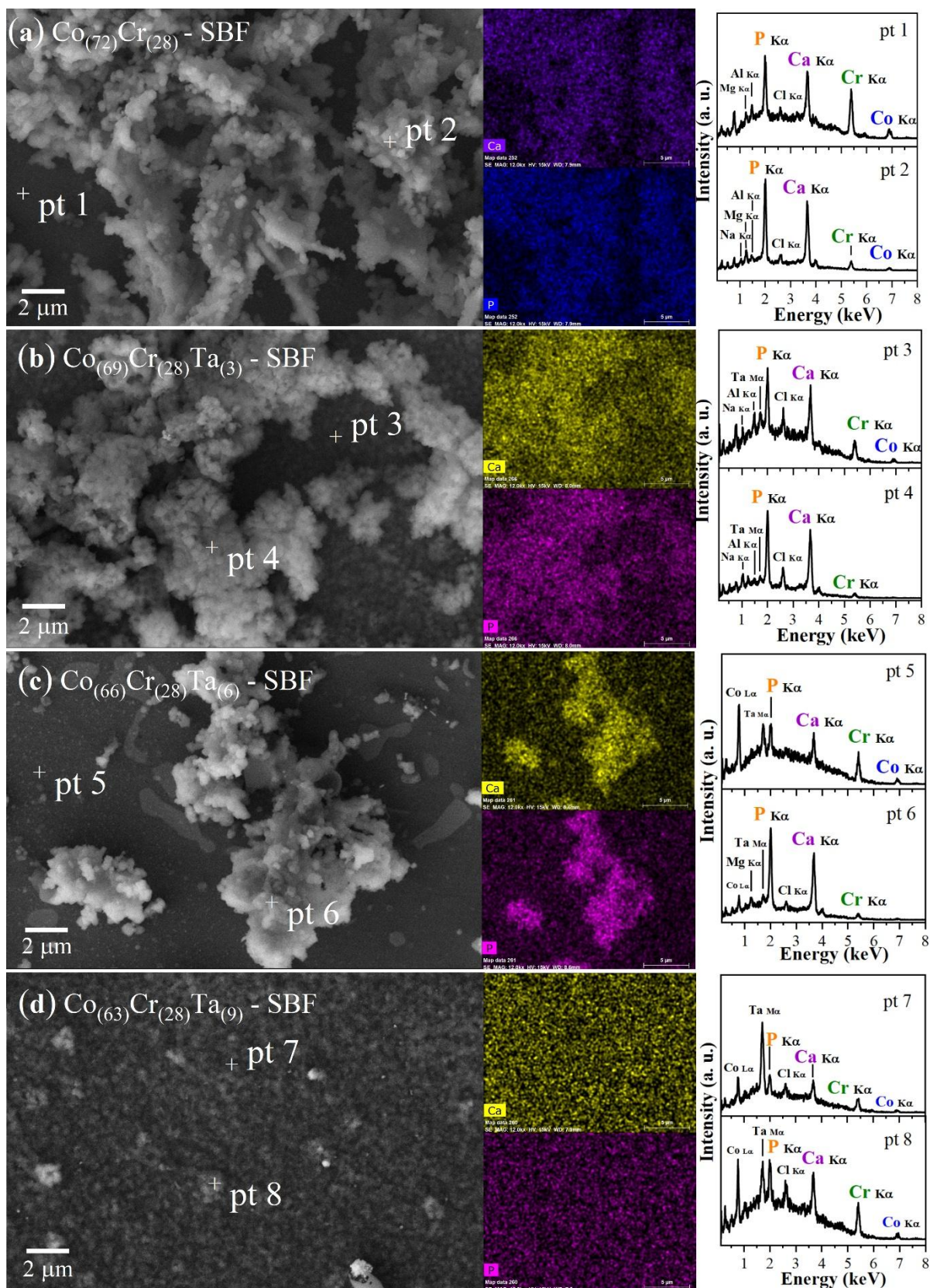
**Figura 26. Padrões de difração de raios X das amostras após imersão em SBF:** os gráficos com barras representam as fases  $\epsilon\text{Co}$ ,  $\alpha\text{Co}$  e  $\text{TaCo}_2$ , enquanto os símbolos representam as estruturas de  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  e  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  presentes nas amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  -,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  -,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  - e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  - SBF.

A superfície da série de amostras após imersão em SBF caracterizada por MEV (Figura 27) apresenta a formação de esferoides, enquanto em  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  o surgimento de estruturas compactas, ambos distribuídos de forma irregular. Nota-se que os esferoides diminuem a medida que a concentração de Ta aumenta nas amostras, até a formação das estruturas de alto contraste na amostra com maior concentração de Ta ( $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ ). Nas medidas de EDS, observa-se que os esferoides têm como elementos principais o fósforo (P) e o cálcio (Ca) (Figura 28), enquanto as estruturas compactas têm os elementos sódio (Na) e cloro (Cl) (Figura 29), corroborando com o DRX que indicou a formação de fosfato de cálcio e  $\text{NaCl}$  após imersão das amostras em SBF. Além destas estruturas, vê-se que há distribuição dos elementos Ca e P como um filme nucleado na superfície nos pontos 1, 3, 5 e 7 (Figura 28).



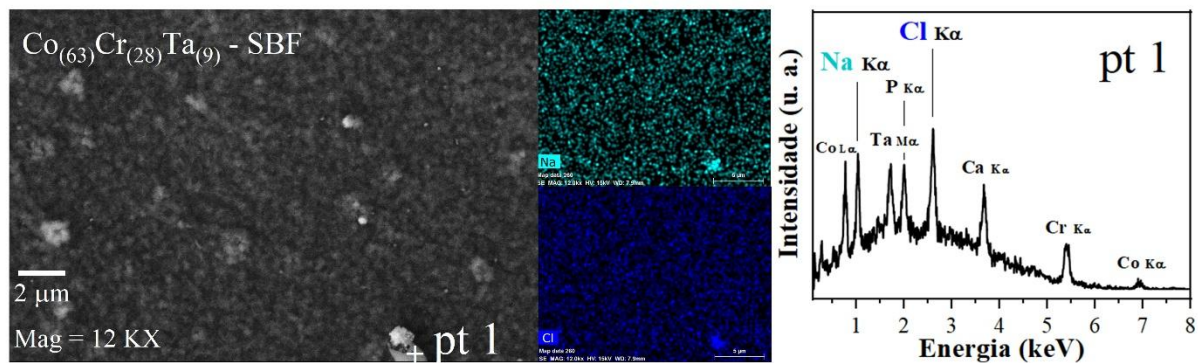
**Figura 27. Micrografia eletrônica de varredura (magnificação de 1 kx) das amostras após imersão em SBF:**

(a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  - , (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  - , (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  - e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  - SBF.



**Figura 28. Informações morfológicas e elementares da superfície (magnificação de 12 kx) das amostras após imersão em SBF: imagem da microestrutura de superfície, mapas composicionais e pontos 1-8 descritos pelo EDS de (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  - , (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  - , (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  - e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  - SBF.**





**Figura 29.** Informações morfológicas e elementares da superfície (magnificação de 12 kx) da amostra de  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  após imersão em SBF: imagem da microestrutura de superfície, mapas composicionais e ponto 1 descritos pelo EDS.

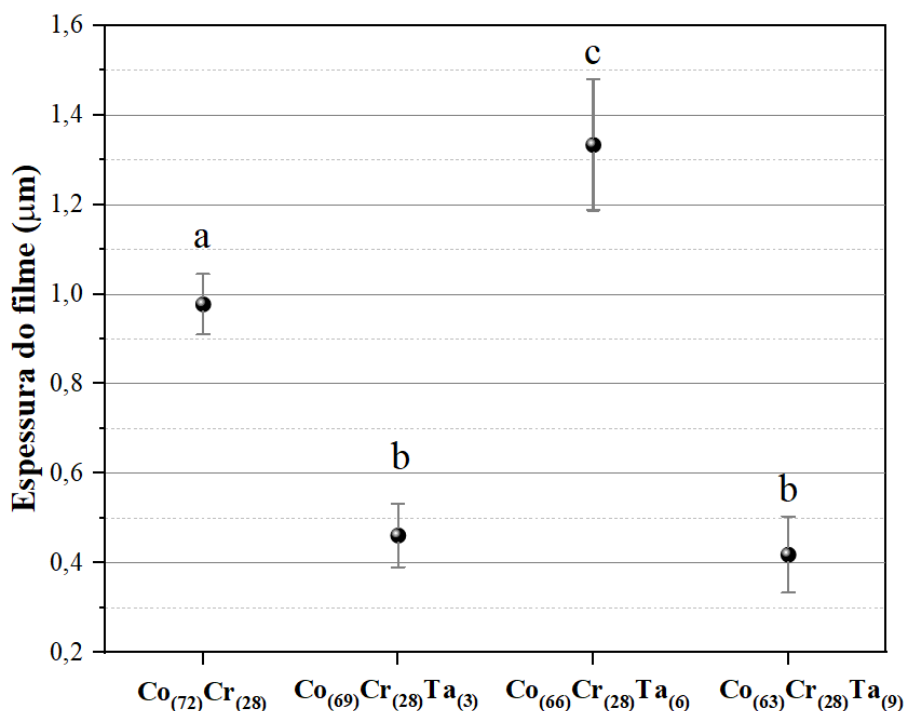
A partir dos espectros de EDS foi possível extrair a razão Ca/P do fosfato de cálcio nucleado na superfície, na forma esferoide e filme (Tabela 5), ressaltando que o equipamento não foi calibrado para os elementos químicos, levando em consideração aqui as intensidades relativas de Ca e P. O valor médio de  $\text{Ca/P} \sim 1,8$  não condiz com o esperado caso seja o pirofosfato de cálcio ( $\text{Ca/P} = 1$ ) ou hidroxiapatita ( $\text{Ca/P} = 1,67$ ) [213], reforçando que estas não são as únicas fases de fosfato de cálcio nucleado durante a interação das amostras com o SBF.

**Tabela 5.** Razão Ca/P calculada a partir dos espectros de EDS das amostras após imersão em SBF.

Amostra	Razão Ca/P		
	Filme	Esferoide	Valor médio
$\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ - SBF	1,84	1,83	1,835
$\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ - SBF	1,84	1,83	1,835
$\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$ - SBF	1,82	1,84	1,830
$\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ - SBF	1,84	1,86	1,85

Com a técnica de AFM, foi possível medir as espessuras dos filmes (Figura 30) em  $0,98 \pm 0,07 \mu\text{m}$  ( $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ),  $0,46 \pm 0,07 \mu\text{m}$  ( $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ),  $1,33 \pm 0,15 \mu\text{m}$  ( $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$ ) e  $0,42 \pm 0,09 \mu\text{m}$  ( $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ ). Os filmes apresentaram espessura em escala micrométrica, mais espessas em  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  e de  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$ . Esta tendência mostra relação entre a espessura do filme com a distribuição da função trabalho da superfície das amostras (Figura 22). Amostras com distribuição de função trabalho homogênea e valor médio crescente ( $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  e  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$ ) têm aumento da espessura do filme com diferença estatística, enquanto amostras com função trabalho heterogênea e valor no mesmo range ( $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ ) têm menor espessura do filme e não possuem diferença estatística.

Ao comparar apenas as amostras com segregação de elementos ( $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ ), a maior espessura do filme é observada para a  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  que possui distribuição uniforme da função trabalho, superando a  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , mostrando que a adição de Ta à liga  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  em 6 % m/m foi eficiente em melhorar a nucleação de fosfato de cálcio além de promover distribuição uniforme de função trabalho.

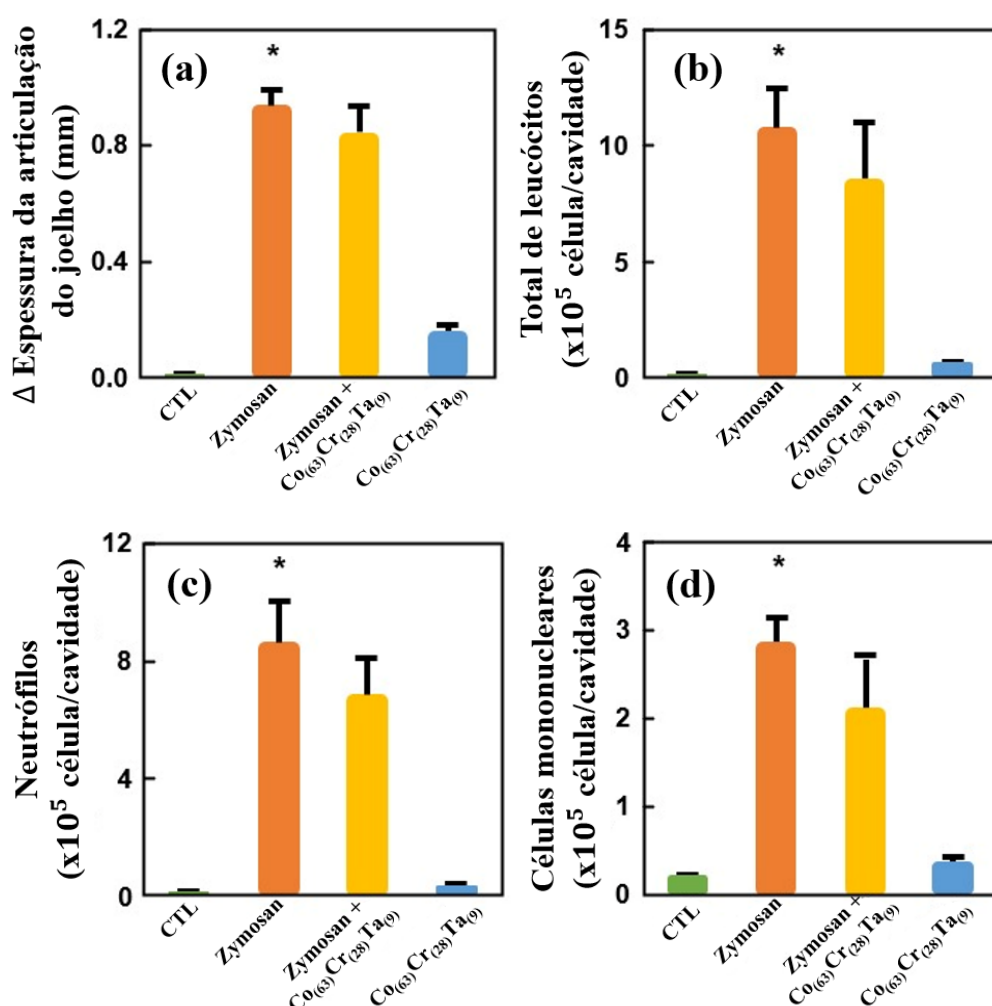


**Figura 30. Espessuras dos filmes nucleados sobre as amostras após imersão em SBF por 28 dias:** As esferas informam o valor médio e as barras são os desvios padrões para as amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ . As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 5.1.7 Formação de edema e migração de leucócito

Analisou-se a resposta inflamatória causada pela amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  em um modelo de artrite induzida por Zymosan em camundongos C57BL/6. O reagente Zymosan é amplamente utilizado para induzir inflamação articular [214], caracterizada por edema local e recrutamento de leucócitos para a cavidade sinovial. A amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  foi escolhida para análise por representar o extremo superior de concentração de Ta na série estudada, enquanto a amostra de Co-Cr, como extremo inferior, é reportada na literatura [215] como sendo segura para uso *in vivo*.

A injeção de Zymosan nas articulações do joelho de camundongos induziu a formação de edema significativo (Figura 31-a) e aumentou a contagem de leucócitos totais (Figura 31-b), neutrófilos (Figura 31-c) e células mononucleares (Figura 31-d) em seu exsudato articular 24 h após o estímulo. No entanto, a administração intra-articular da amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  não induziu formação significativa de edema (Figura 31-a) ou migração de leucócitos (Figura 31-b-d). Quando a amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  foi administrada em camundongos com artrite induzida por Zymosan, também não foram observados efeitos na formação de edema e migração celular para a cavidade sinovial, demonstrando seu efeito inerte *in vivo*. O ensaio biológico em animais não apresentou efeito nocivo observado nas duas condições analisadas, o que significa que a amostra pode ser utilizada com segurança.



**Figura 31. Efeito de intra-articular administração da amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  na formação de edema e migração de leucócitos.** (a) A espessura da articulação do joelho. As células sinoviais do joelho foram recuperadas e analisadas em (b) leucócitos totais, (c) neutrófilos e (d) migração de células mononucleares. CTL são os animais do grupo controle. Os dados foram apresentados como média  $\pm$  SE (n=6). Estatisticamente significativos ( $p \leq 0,05$ ) são indicados entre os grupos estimulado e não estimulado (\*).

### 5.1.8 Medição de citocinas

Em relação à resposta anti-inflamatória em nível molecular é possível observar uma redução na IL-1 $\beta$  (Figura 32). A resposta inflamatória é caracterizada pela secreção de citocinas pró-inflamatórias, principalmente IL-1 $\beta$  [216], assim a redução de seu nível mostra que um processo anti-inflamatório foi ativado [217,218]. O mesmo é observado para a IL-6, importante interleucina envolvida no sistema imunológico e na inflamação, desempenhando um papel crítico na inflamação crônica [219]. Portanto, a redução dos níveis de IL-6 significa que uma resposta anti-inflamatória foi ativada [220,221].

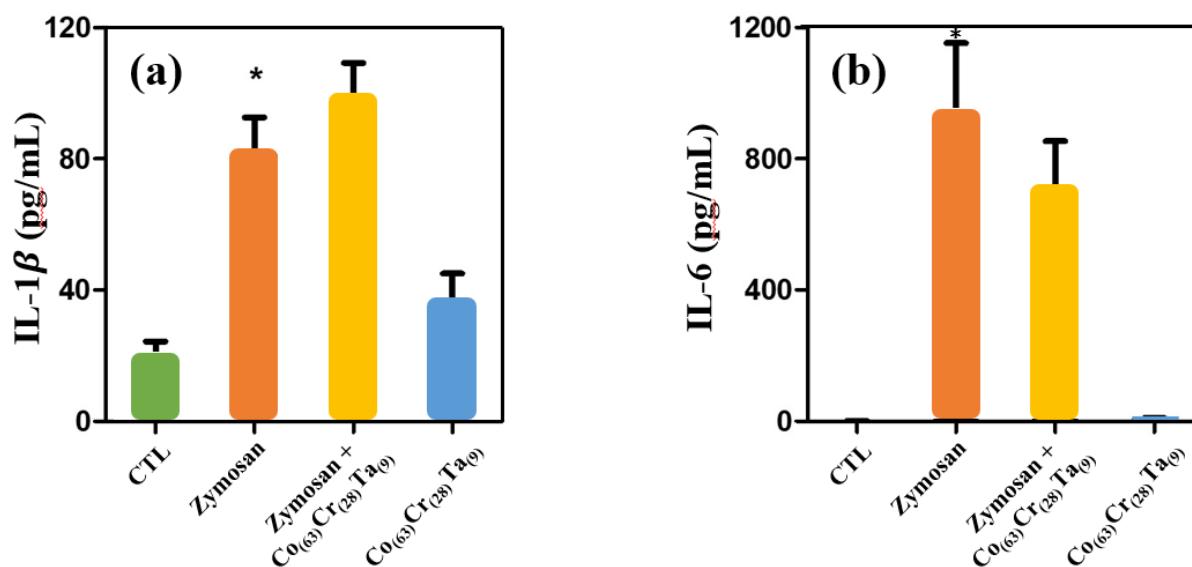


Figura 32. Comparação da quantificação de interleucina de lavagens da articulação do joelho de animais 48 h após a injeção de Zymosan ou administrado com a amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ . (a) Quantificação de IL-1 $\beta$  e (b) a quantificação de IL-6.

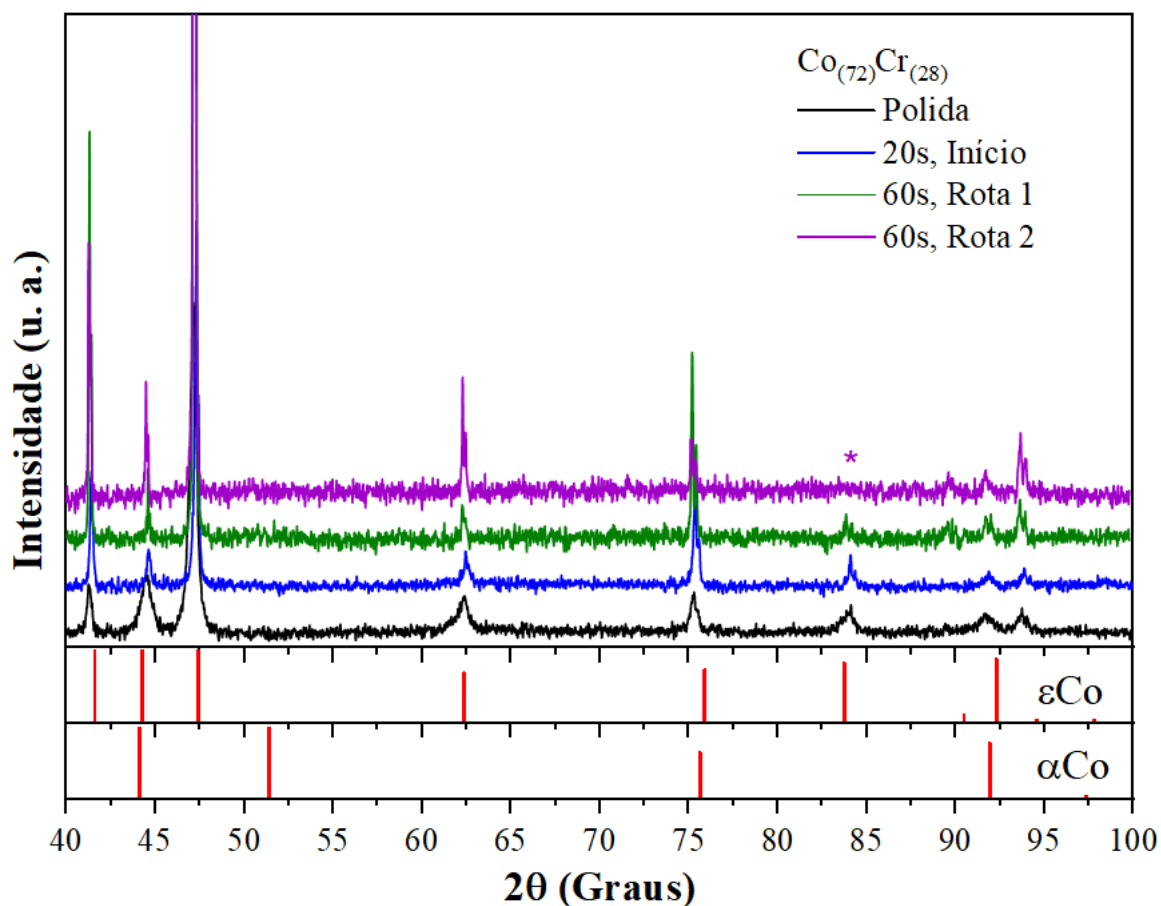
## 5.2 Modificação de superfície da liga $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ por anodização

Baseado na formação de poros na amostra de  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  após teste de metalografia (Figura 23), buscou-se analisar a influência dos parâmetros de anodização na superfície desta amostra. Foram realizados processos de anodização alterando-se três parâmetros: (i) o tempo do processo eletroquímico (20, 40 e 60 s), (ii) a superfície da amostra e (iii) a solução eletrolítica. Estes dois últimos parâmetros definiram o procedimento metodológico em rota 1, onde a amostra e a solução foram reutilizadas em cada tempo (anodização sequencial), e rota 2, onde a amostra foi polida novamente e uma solução nova foi preparada a cada tempo.



### 5.2.1 Estrutura cristalina

O padrão de difração de raios X para as superfícies anodizadas por 20s e 60s (rotas 1 e 2) é apresentado na Figura 33. Observa-se que não houve a formação de fases extras além das fases observadas no *bulk* ( $\epsilon\text{Co}$  e  $\alpha\text{Co}$ )<sup>35</sup>. Esta ausência de picos extras pode ser atribuída a dois motivos principais: formação de óxidos amorfos ou óxidos cristalinos em volume insuficiente para serem detectados pelo DRX. Para complementar esta análise, a Seção 5.3 apresenta um estudo com a Espectroscopia Raman, o qual permitiu a identificação dos óxidos de cobalto e cromo formados na superfície da amostra  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  anodizada por 20s.



**Figura 33.** Padrões de difração de raios X das amostras de  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  polidas e anodizadas por 20s e 60s (Rotas 1 e 2): os padrões estão identificados pelas fases cristalográficas  $\epsilon\text{Co}$  e  $\alpha\text{Co}$ .

<sup>35</sup> O pico em 84° ( $2\theta$ ) não identificado na amostra anodizada por 60s na rota 2, assinalado pelo asterisco, foi identificado para a mesma amostra em outras medidas ao variar o ângulo azimutal.

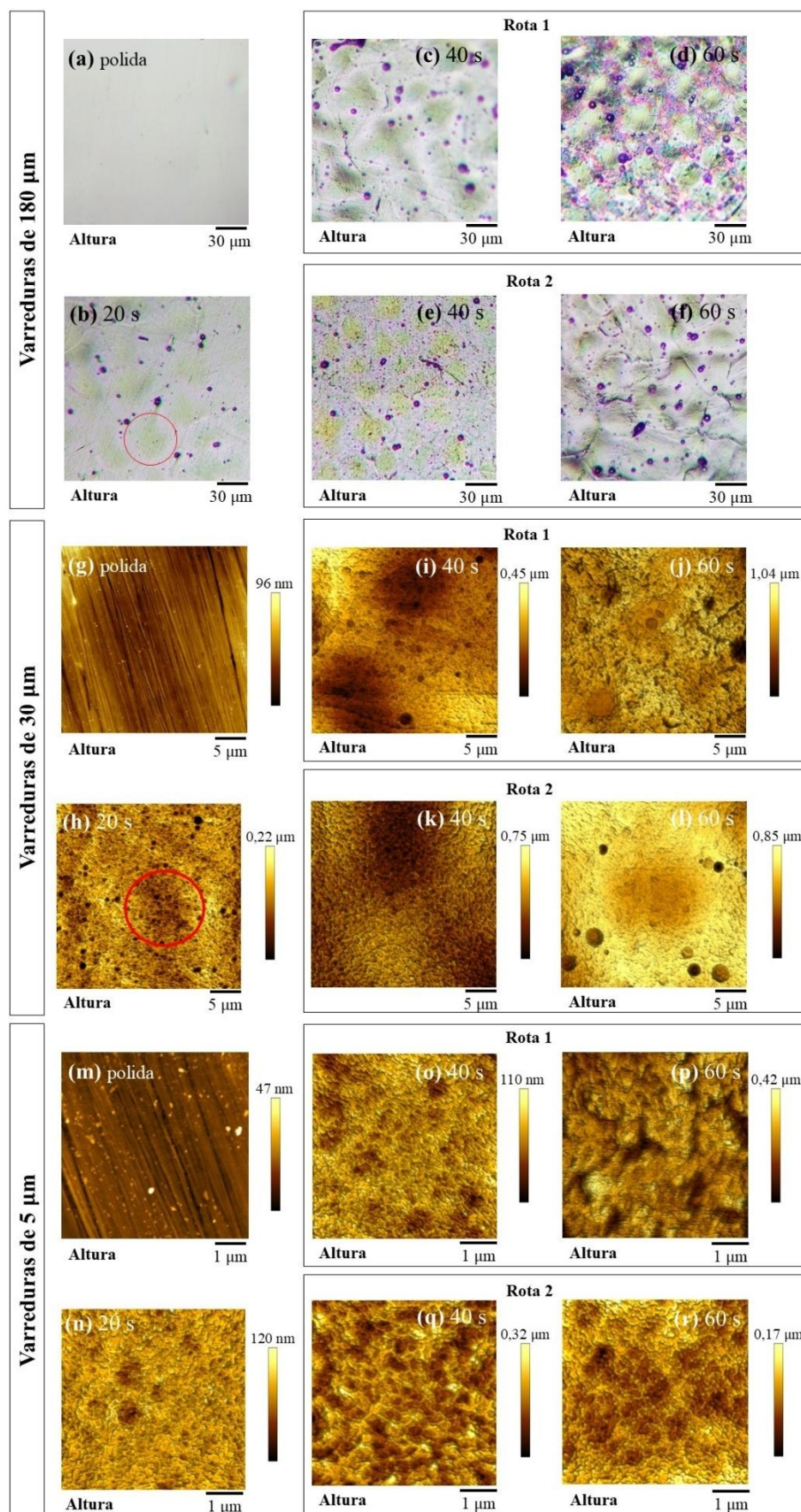
### 5.2.2 Morfologia da superfície

Em vista dos possíveis efeitos diversos da anodização em diferentes escalas, foram obtidas imagens com varredura de 180  $\mu\text{m}$  com um microscópio ótico (Figura 34-a-e) e dados de topografia com o AFM em varreduras de 30 (Figura 34-f-j) e 5  $\mu\text{m}$  (Figura 34-k-o).

A partir das imagens óticas observa-se a formação de poros (pontos escuros) e depressões (círculo vermelho na Figura 34-b) em comparação à amostra apenas polida (Figura 34-a). Estas depressões se apresentam em maior evidência à medida que o tempo de anodização aumenta em ambas as rotas (Figura 34-b-f). Além disso, a anodização induziu a formação de padrões coloridos, sugerindo a ocorrência de um fenômeno ótico resultante da interferência da luz com as micro- e/ou nanoestruturas geradas na superfície.

Para as varreduras de 30  $\mu\text{m}$  (Figura 34-g-l), são identificadas as linhas do polimento para a amostra polida (Figura 34-g), enquanto nas demais são observadas as depressões (círculos vermelhos) e poros de diâmetros e profundidades que variam de escala micro até a escala nanométrica. Ainda nestas varreduras, na rota 1 (Figura 34-h-l), observa-se a formação de poros (20 e 40 s) até o surgimento de microfissuras (60 s), sugerindo a união de poros em maiores tempos de anodização. Enquanto isso, na rota 2 (Figura 34- k-l), observa-se que as microfissuras não são obtidas quando a amostra é polida e uma nova solução é utilizada. Quanto ao diâmetro dos poros (Tabela 6), alcançaram escala micrométrica, aumentando em função do tempo de anodização, no entanto, não apresentam periodicidade.

Para as varreduras de 5  $\mu\text{m}$  (Figura 34-m-r), os poros ficam em evidência para todos os mapas, exceto para o mapa de 60s na rota 1, onde é possível observar microfissuras ao invés de poros. Os dados demonstram que a anodização foi eficiente em modificar significativamente a topografia das amostras, com a substituição de marcas de polimento (Figura 34-g-m) pela formação mais notória e uniforme de poros no tempo de 20s (Figura 34-h-n) e de 40s rota 2 (Figura 34-k-q).



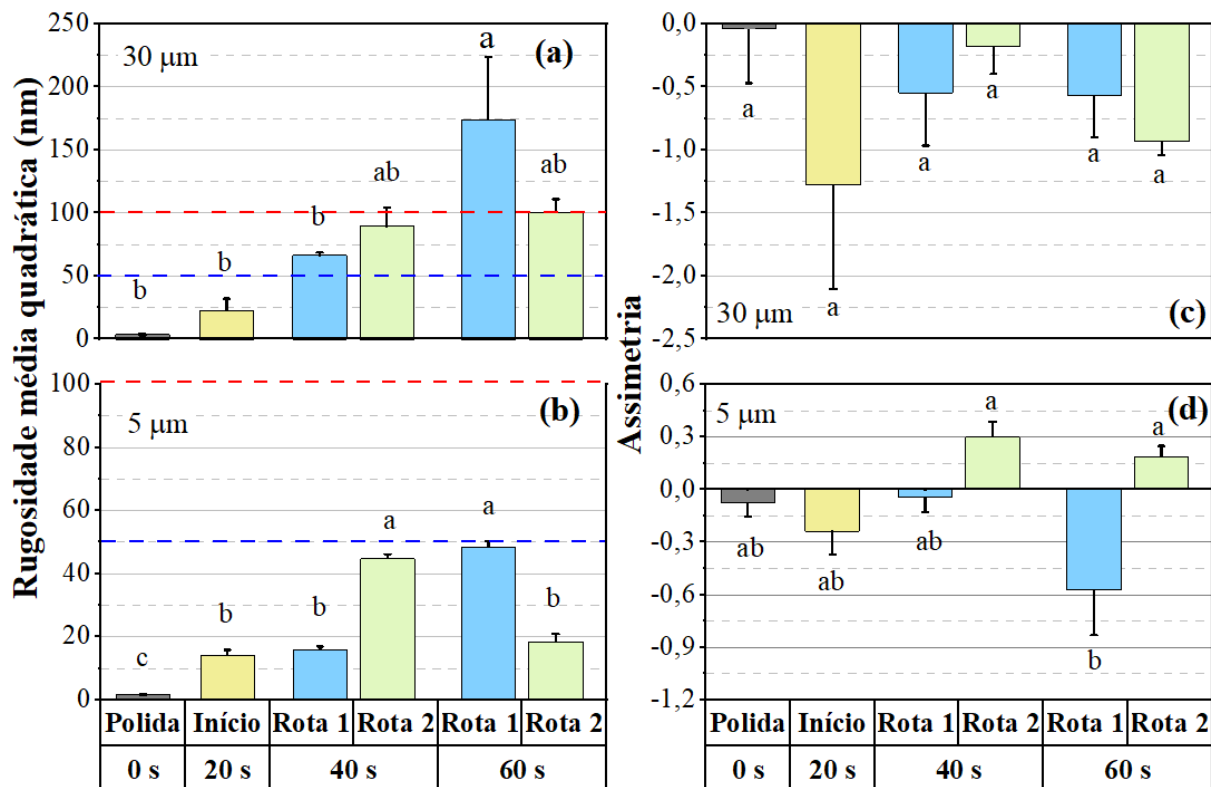
**Figura 34. Morfologia das amostras de  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  antes (polida) e após anodização:** (a-f) imagens óticas das superfícies com varreduras de 180  $\mu\text{m}$ , topografia por AFM das superfícies com varreduras de (g-l) 30  $\mu\text{m}$  e (m-r) 5  $\mu\text{m}$ , identificadas conforme procedimento metodológico (Rotas 1 e 2).

**Tabela 6.** Diâmetro dos poros obtidos para a amostra de  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  anodizada a 2V, a partir da análise de varreduras de 30  $\mu\text{m}$ .

<b>Tempo (s)</b>	20	40	60
<b>Diâmetro dos poros (média <math>\pm</math> SE) (<math>\mu\text{m}</math>)</b>			
<b>Rota 1</b>	-	$0,83 \pm 0,03$	Microfissuras
<b>Início</b>	$0,72 \pm 0,03$	-	-
<b>Rota 2</b>	-	$0,76 \pm 0,04$	$1,26 \pm 0,08$

A superfície da amostra  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  apresentou a formação de poros, porém sem o padrão regular típico como observado para outros metais como o titânio [222] e zircônio [223] (Figura 7). Apesar disso, foi possível obter morfologias variadas, com potencial para melhorar a biocompatibilidade da liga  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ . Entre as estruturas observadas, destacam-se: os poros vistos na amostra anodizada por 20s ( $0,72 \pm 0,03 \mu\text{m}$ ) (Figura 34-h-n), os poros na amostra anodizada por 40s rota 2 ( $0,76 \pm 0,04 \mu\text{m}$ ) (Figura 34-k-q) e as microfissuras na amostra anodizada por 60 s rota 1 (Figura 34-j-p).

A fim de auxiliar a análise da topografia, quantificou-se a rugosidade média quadrática ( $R_q$ ) e a assimetria ( $R_{sk}$ ) a partir dos dados de AFM das amostras polidas e anodizadas, conforme Figura 35 e descrição na Tabela 7. Inicialmente, em ambas as varreduras, a amostra polida, quando comparada às anodizadas, é caracterizada pelos menores valores de  $R_q$  e  $R_{sk}$ , refletindo uma superfície mais lisa e com vales menos destacados (linhas de polimento). Para as amostras anodizadas, em varreduras de 30  $\mu\text{m}$  (Figura 35-a,c), o  $R_q$  aumentou progressivamente com o tempo de anodização em ambas as rotas (Figura 35-a), enquanto o  $R_{sk}$  revelou que a amostra anodizada a 20s apresentou maior densidade de poros na superfície, com comportamento distinto entre as rotas: diminuição (Rota 1) e aumento (Rota 2) da linha média em função do tempo (Figura 35-c). Enquanto isso, para as varreduras de 5  $\mu\text{m}$  (Figura 35-b,d), o aumento da rugosidade está principalmente associado ao aumento de poros para a rota 1, enquanto a diminuição de rugosidade está associada à presença de picos na superfície da amostra a rota 2. Estes resultados são consistentes com os mapas topográficos anteriores (Figura 34).



**Figura 35. Propriedades de superfície da amostra de  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  polidas e anodizadas:** rugosidades médias quadráticas em varreduras de (a)  $30\ \mu\text{m}$  e (b)  $5\ \mu\text{m}$ , e assimetria em varreduras de (c)  $30\ \mu\text{m}$  e (d)  $5\ \mu\text{m}$ . As linhas tracejadas em vermelho e azul indicam as rugosidades de 100 e 50 nm, respectivamente. As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 7.** Dados quantitativos das propriedades de superfície: rugosidade média quadrática e assimetria para as amostras polidas e anodizadas de  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ .

$\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$			Polida	Início	Rota 1	Rota 2	Rota 1	Rota 2
			0 s	20 s	40 s		60 s	
Rugosidade média quadrática (nm)	30 μm	Média	3,7	23	67	90	174	101
		SE	0,6	9	2	15	50	10
	5 μm	Média	1,7	14	16	45	48	19
		SE	0,2	2	1	2	2	2
Assimetria	30 μm	Média	0,0	-1,3	-0,6	-0,2	-0,6	-0,9
		SE	0,4	0,8	0,4	0,2	0,3	0,1
	5 μm	Média	0,0	-0,2	0,0	0,3	-0,6	0,2
		SE	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1

Embora as varreduras de 30 e 5  $\mu\text{m}$  representem escalas micrométricas, a modificação de superfície permitiu que as amostras atingissem rugosidades nanométricas com variações menores que 100 nm, exceto para a amostra com microfissuras (174 nm). Apesar da amostra polida também apresentar valor nanométrico, as amostras com modificações de superfície são superiores por estarem associadas à formação de poros, destacando aqui a importância de avaliar as características topográficas associadas a parâmetros de superfície (como rugosidade e assimetria). Nas varreduras de 5  $\mu\text{m}$ , os valores de rugosidade são menores que 50 nm, apresentando poros com dimensões inferiores, demonstrando a transição de rugosidade entre as escalas (Figura 35-b). Quanto ao comportamento distinto entre as rotas, na rugosidade (5  $\mu\text{m}$ ) e na assimetria (5 e 30  $\mu\text{m}$ ), espera-se que o processo de anodização sequencial tenha influenciado na taxa de dissolução da superfície.

No contexto de biomateriais, a rugosidade e morfologia de superfície em escalas nano e submicrométrica tem demonstrado influência na interação celular. Estudo anterior [224] mostrou que ligas de Ti com superfície tubular promoveram maior proliferação de fibroblastos<sup>36</sup> comparadas as ligas de Ti polidas, mesmo ambas apresentando rugosidade nanométrica. Corroborando a isto, outra pesquisa [225] mostrou que a adesão de células-tronco<sup>37</sup> em ligas de Ti ocorreu em rugosidades em escala nano e submicrométrica, e, quando as características da superfície estavam na mesma escala do tamanho da célula, a adesão era reduzida, sugerindo que a rugosidade na mesma escala da célula causava estresse ao citoesqueleto celular.

No presente trabalho, exploramos possíveis aplicações ortopédicas que envolvem a interação com células ósseas, como os osteoblastos<sup>38</sup>, que possuem diâmetro médio de 15 a 30  $\mu\text{m}$ . A formação de estruturas porosas com rugosidade inferior a 100 nm, aqui observada, alinha-se com as evidências da literatura para adesão celular satisfatória. Baseado na análise dos resultados desta subseção, selecionou-se o tempo de 20s para anodizar a série de amostras completa (Subseção 5.3), uma vez que esta condição proporcionou menor rugosidade ( $R_q = 23 \pm 9 \text{ nm}$ ) e assimetria ( $R_{sk} = -1,3 \pm 0,8$ ) indicando maior presença de poros na amostra de  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , características importantes para aplicação ortopédica [224,225].

---

<sup>36</sup> Células do tecido conjuntivo (pele, tendões, órgãos) responsáveis pela síntese e manutenção da matriz extracelular.

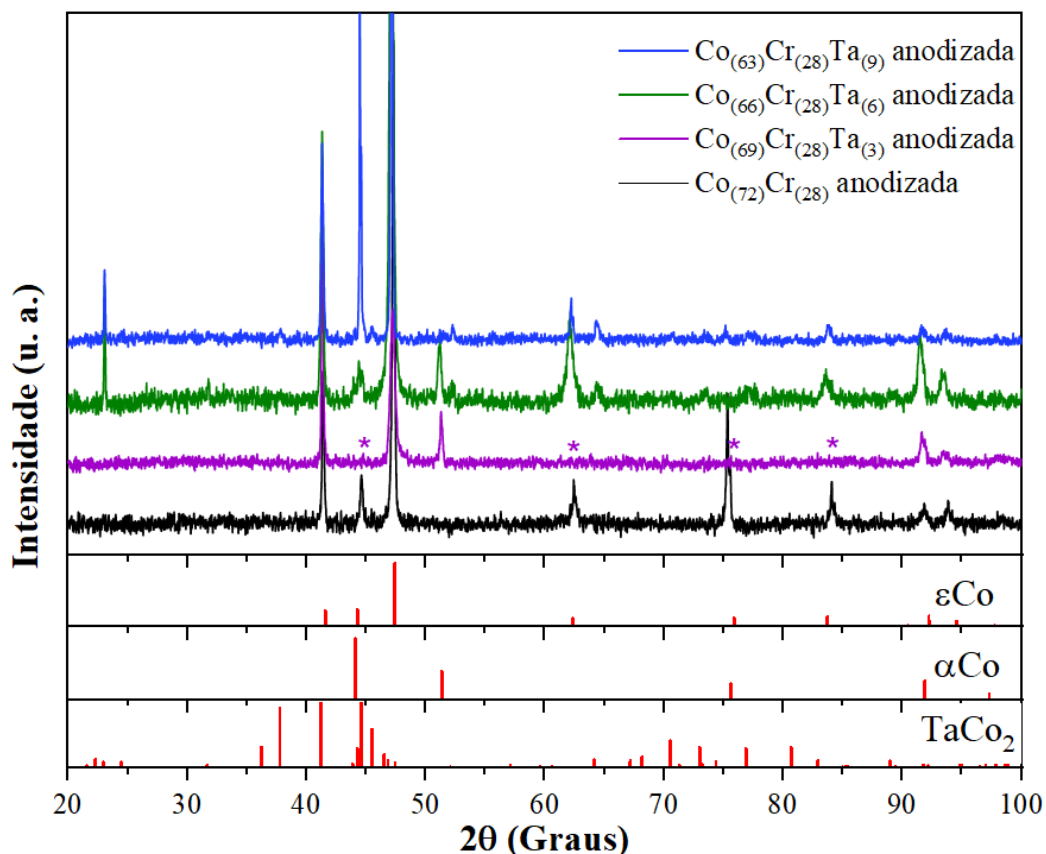
<sup>37</sup> Células-tronco mesenquimais (hMSCs) são multipotentes, diferenciando-se em tipos celulares de linhagens mesodérmicas (como osteoblastos, condrócitos e adipócitos)

<sup>38</sup> Células que participam da formação do tecido ósseo, essenciais para o desenvolvimento, crescimento e reparo dos ossos

### 5.3 Caracterização de superfície da série de ligas anodizadas

#### 5.3.1 Estrutura cristalina

A análise estrutural por DRX (Figura 36) não identificou fases extras além das fases já observadas no *bulk* ( $\epsilon\text{Co}$ ,  $\alpha\text{Co}$  e  $\text{TaCo}_2$ ). Picos de menor intensidade da fase  $\epsilon\text{Co}$  (asteriscos na Figura 36) para a amostra  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  anodizada, não foram identificados em quaisquer ângulos azimutais (0, 45, 90 e 140°), apesar de terem sido identificados na amostra sem anodização (Figura 15). Inicialmente, esperava-se a formação de óxidos de cromo ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) e de tântalo ( $\text{Ta}_2\text{O}_5$ ) conhecidos na literatura por formarem filmes de proteção em superfícies metálicas contra corrosão em ambientes agressivos [95,138]. Esta observação motivou o estudo por Espectroscopia Raman apresentado a seguir.



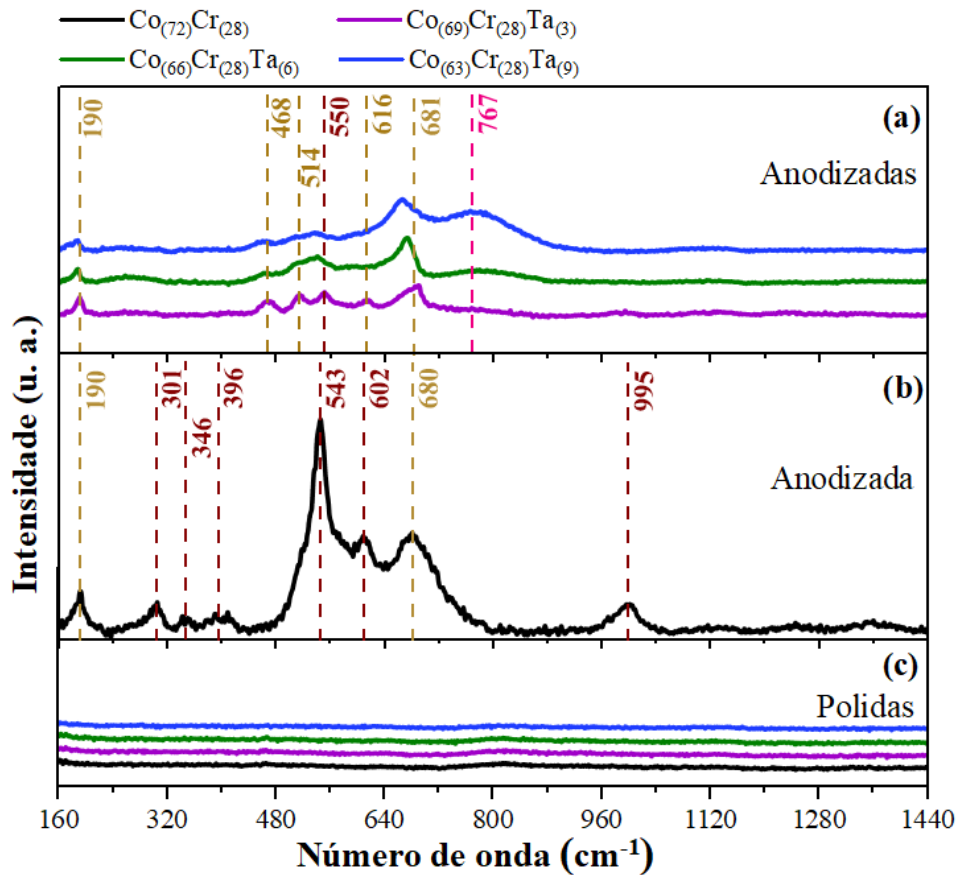
**Figura 36. Padrões de difração de raios X das amostras anodizadas:** gráficos com barras representam as fases cristalográficas  $\epsilon\text{Co}$ ,  $\alpha\text{Co}$  e  $\text{TaCo}_2$  presentes nas amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ .

Para complementar a análise estrutural, que inicialmente não indicou a formação de óxidos por meio da técnica de DRX, realizou-se a caracterização por espectroscopia Raman



(Figura 37). Para as amostras polidas, não foram observadas bandas vibracionais (Figura 37-c), indicando ausência de óxidos detectáveis na superfície. Na amostra  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  anodizada, registrou-se bandas definidas em 190 e 680  $\text{cm}^{-1}$ , características de óxido de cobalto II e III ( $\text{Co}_3\text{O}_4$ ) [226,227], em 301, 346, 543 e 602  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao óxido de cromo III ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) cristalino [228,229] e em 396 e 995  $\text{cm}^{-1}$  características de óxido de cromo VI ( $\text{CrO}_3$ ) [230,231] (Figura 37-b).

Nas amostras anodizadas contendo Ta ( $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ ) identificaram-se bandas em 190, 468, 514, 616 e 681  $\text{cm}^{-1}$  associadas ao  $\text{Co}_3\text{O}_4$  [226,227] e em 550  $\text{cm}^{-1}$  referente a  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  [228,229]. Além disso, observa-se uma banda larga em  $\sim 767 \text{ cm}^{-1}$  típica de óxido de tântalo amorfo ( $\text{Ta}_x\text{O}_y$ ) [232,233] (Figura 37-a). As atribuições são consistentes com a literatura, conforme detalhado na Tabela 8. Notavelmente, observa-se que a medida em que o Co é substituído por Ta na série de amostras (Figura 37-a), verifica-se uma perda progressiva da definição das bandas dos óxidos de cromo e cobalto, enquanto a contribuição do óxido de tântalo amorfo se torna mais visível. Esse comportamento sugere que o Ta interfere na cristalinidade ou na espessura da camada oxidada.



**Figura 37. Espectros Raman das amostras:** (a)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  anodizadas; (b)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  anodizada; (c)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  polidas.

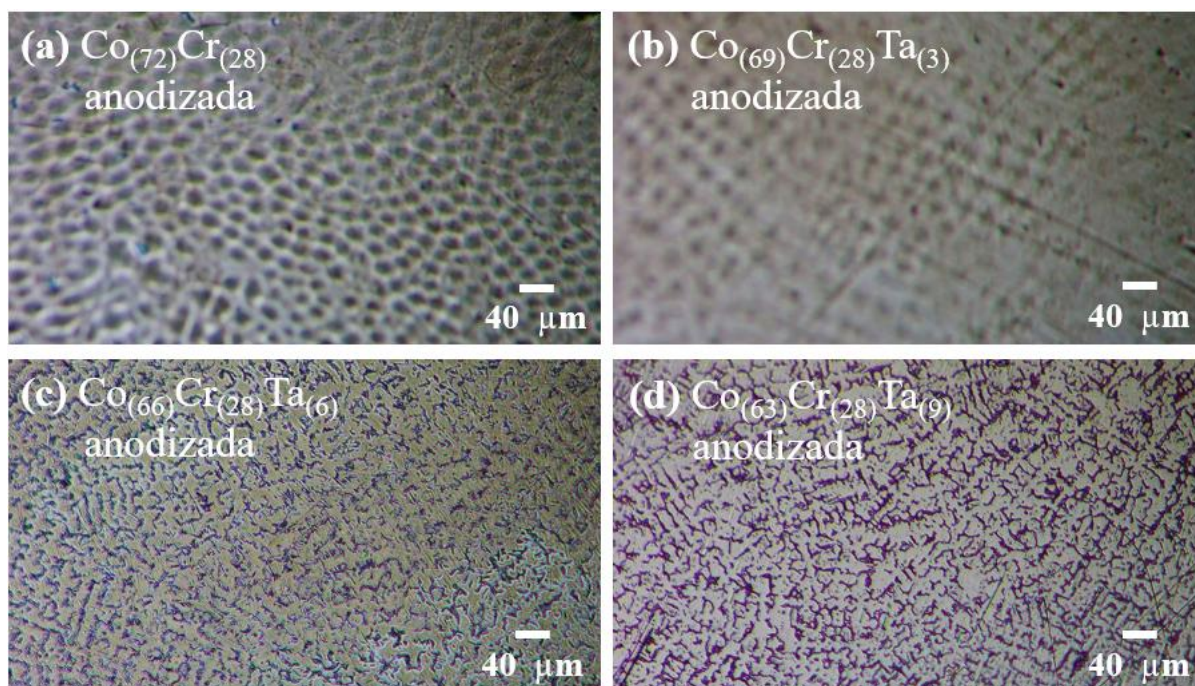


**Tabela 8.** Óxidos de cromo, cobalto e tântalo identificados por Espectroscopia Raman para as amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  anodizadas.

Óxido	Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )		Referência
	Este trabalho	Outros trabalhos	
$\text{Co}_3\text{O}_4$	190	191, 190	[226,227]
$\text{Cr}_2\text{O}_3$	301	305, 304	[228,229]
$\text{Cr}_2\text{O}_3$	346	350, 342	[228,229]
$\text{CrO}_3$	396	385, 379	[230,231]
$\text{Co}_3\text{O}_4$	468	473, 467	[226,227]
$\text{Co}_3\text{O}_4$	514	514, 512	[226,227]
$\text{Cr}_2\text{O}_3$	543 / 550	551, 538	[228,229]
$\text{Cr}_2\text{O}_3$	602	609, 596	[228,229]
$\text{Co}_3\text{O}_4$	616	609, 602	[226,227]
$\text{Co}_3\text{O}_4$	680 / 681	678, 670	[226,227]
$\text{CrO}_3$	995	1000, 1010	[230,231]
$\text{Ta}_x\text{O}_y$	767	677, 707	[232,233]

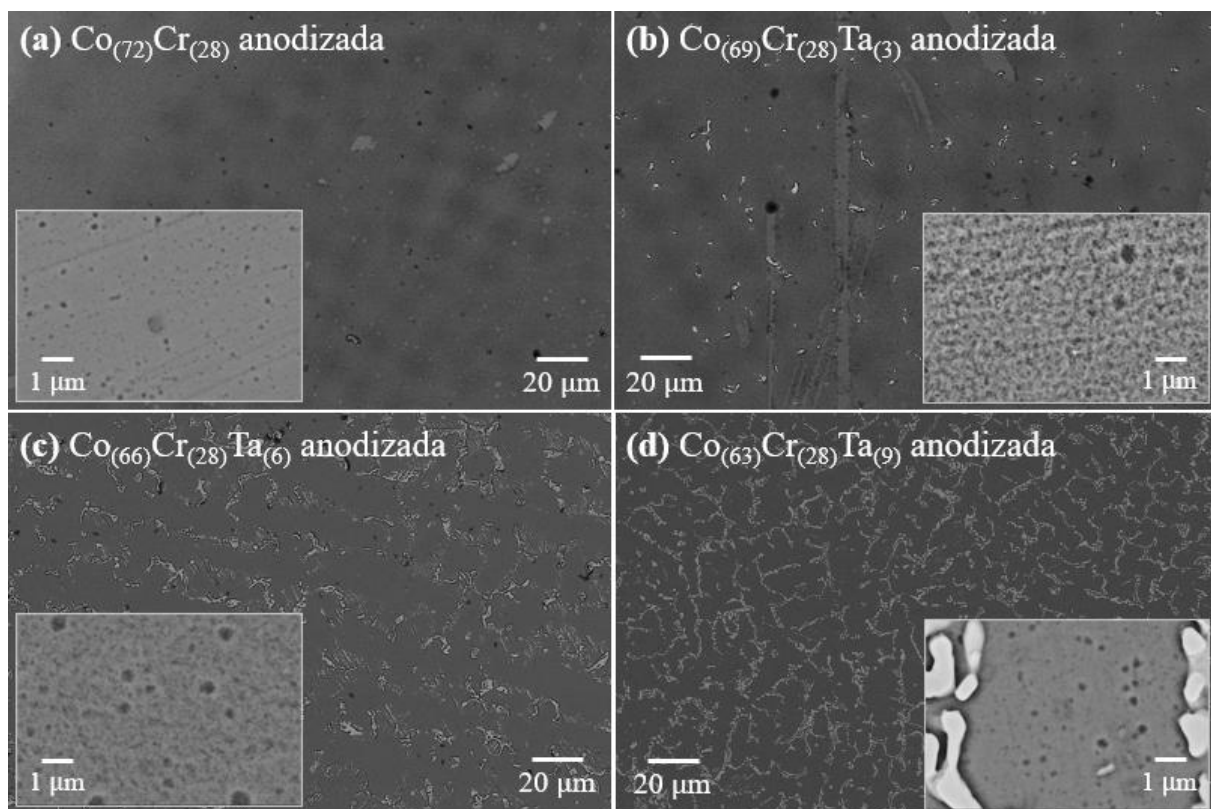
### 5.3.2 Morfologia da superfície

As imagens obtidas por microscopia ótica das amostras anodizadas em função da concentração de Ta são apresentadas na Figura 38. Na amostra  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  (Figura 38-a) observa-se a presença evidente das depressões descritas anteriormente (Subseção 5.2.2), com diâmetro de  $\sim 15 \mu\text{m}$ . Nota-se uma redução na amostra  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  (Figura 38-b) e o desaparecimento nas amostras de maior concentração de Ta,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  (Figura 38-c-d). Associado a isto, verifica-se a corrosão localizada da matriz Co-Cr (contraste claro) e a projeção da fase  $\text{TaCo}_2$  (contraste escuro) nas amostras  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  (Figura 38-c-d), devido as diferenças de potencial local. Esses dados mostram que a formação destas depressões é característica da liga binária de  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , enquanto a inserção de Ta e o surgimento da segregação impedem sua formação.



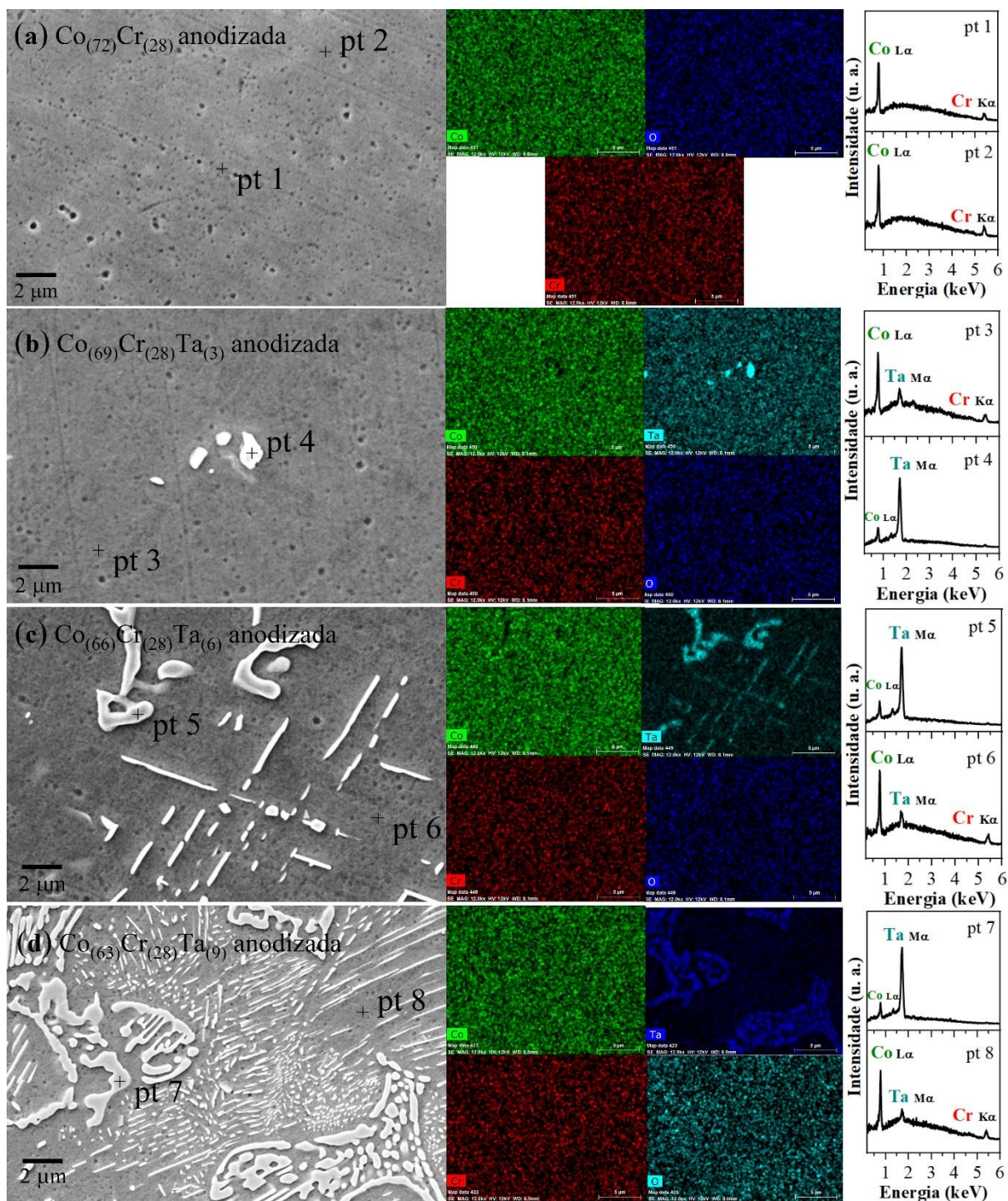
**Figura 38. Morfologia das amostras anodizadas obtida por Microscopia ótica:** (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  anodizada, (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  anodizada, (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  anodizada e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  anodizada.

A partir das imagens de MEV (Figura 39) é possível notar os detalhes da microestrutura, representada pelas depressões, as projeções da fase  $\text{TaCo}_2$  e os poros na matriz Co-Cr (*insets*). A partir da análise por EDS (Figura 40), identifica-se a distribuição localizada de Ta e homogênea de Co e Cr.



**Figura 39.** Micrografia eletrônica de varredura das amostras após anodização: (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ , (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  (magnificação de 1 kx e 30 kx, detector de elétrons retroespalhados).



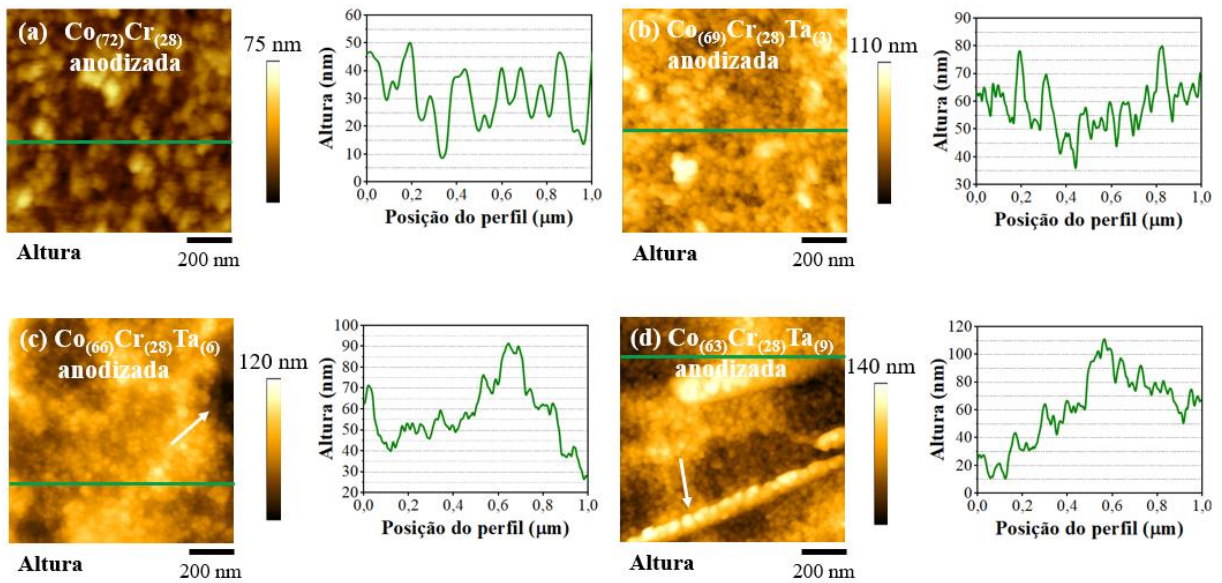


**Figura 40.** Informações morfológica e elementar da superfície das amostras após anodização: micrografia obtida por MEV, mapas composicionais e pontos 1-8 descritos pelo EDS de (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ , (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  (magnificação de 12 kx, detector de elétrons secundários).

A caracterização por AFM foi realizada em varreduras de 1  $\mu\text{m}$  (Figura 41, Figura 42), uma vez que as amostras contendo Ta apresentaram superfícies muito acidentadas após a anodização, impedindo que fossem realizadas medidas com o AFM em escalas maiores (30 e 5

$\mu\text{m}$ ), como analisadas para a amostra  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  anodizada (Seção 5.2). Aqui, as medidas de 1  $\mu\text{m}$  foram realizadas na região porosa da matriz Co-Cr, entre as projeções da fase  $\text{TaCo}_2$ , como mostrado nos *insets* da Figura 39. Com base na análise feita por Espectroscopia Raman, espera-se que as características topográficas descritas a seguir tenham influência dos óxidos metálicos nucleados devido a anodização.

A análise dos mapas topográficos (Figura 41) revelou que nesta escala há a presença de estruturas particuladas em forma esférica, com dimensões distintas. Enquanto a amostra  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  exibiu partículas com diâmetro médio de  $\sim 50\text{ nm}$  (Figura 41-a), as amostras com adição de Ta (Figura 41-b-d) apresentaram estruturas com diâmetros menores que a primeira,  $\sim 40\text{ nm}$  para  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  e  $\sim 27\text{ nm}$  para  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ , corroborando com as respectivas seções transversais que evidenciaram uma redução das distâncias entre picos e vales. A Figura 42-a e a Tabela 9 mostram a variação do diâmetro das partículas em função da composição.

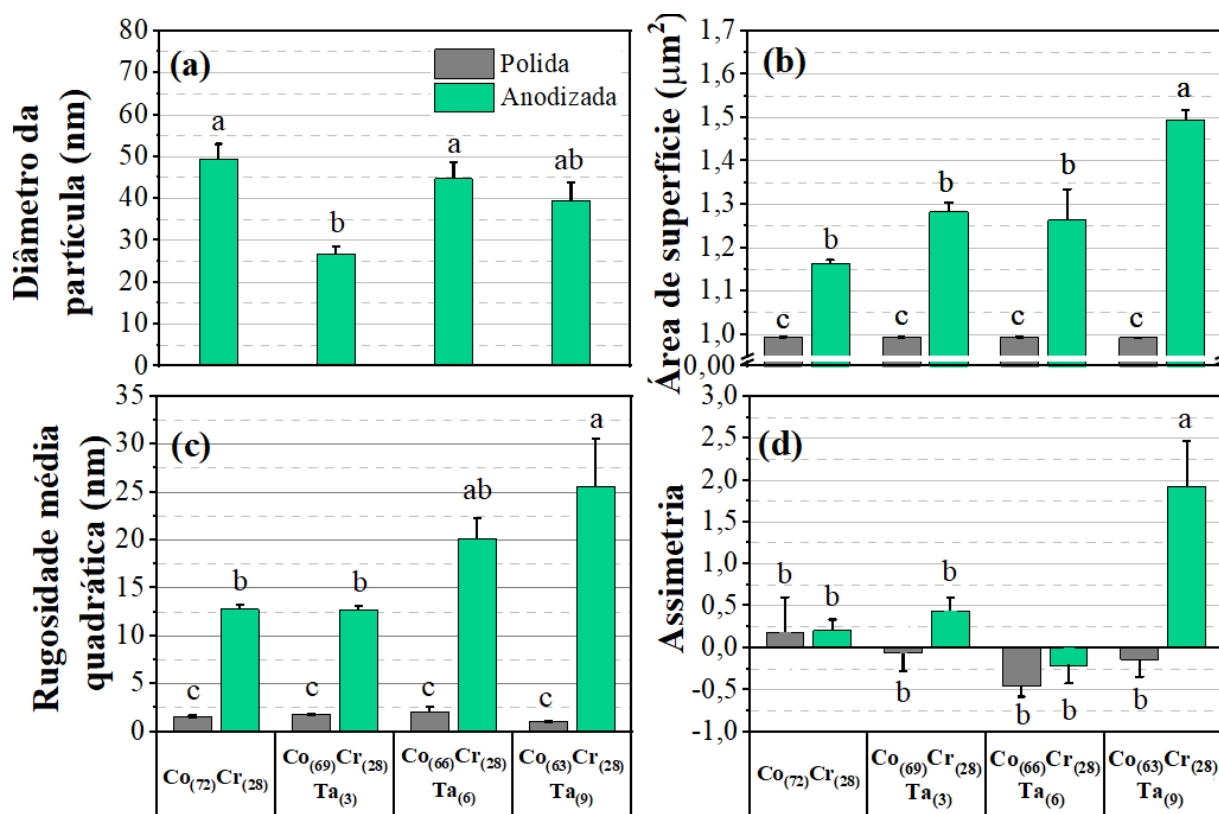


**Figura 41. Informação de morfologia das amostras anodizadas:** topografia e perfil de linha das amostras (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , (b)  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ , (c)  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e (d)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  em varreduras de 1  $\mu\text{m}$ .

A incorporação de Ta modificou a cinética de formação das nanopartículas durante a anodização, considerando que há parcelas de Ta na matriz Co-Cr onde as medidas foram realizadas (Figura 40). A partir da anodização da série de amostras, constatou-se a presença de estruturas porosas e projetadas (Figura 40) associadas a nanopartículas (Figura 41), indicando morfologias distintas entre as duas escalas analisadas. As nanopartículas são potencialmente relevantes em aplicações biomédicas, como ao promover adsorção de proteínas [234] e influenciar na adesão celular [235] devido à alta área de superfície que proporcionam, aliado a

outras características como composição química e morfologia [234]. Já os poros e estruturas projetadas micrométricas podem melhorar a ancoragem mecânica de tecido [236].

Além do diâmetro das partículas, foi possível extrair dados de área de superfície (Figura 42-b), rugosidade média quadrática (Figura 42-c) e assimetria (Figura 42-d), com valores descritos na Tabela 9. As amostras anodizadas exibiram maior área de superfície que as polidas, devido à corrosão expor a microestrutura subjacente, bem como formar as nanopartículas. Dentre as anodizadas, a área aumentou com a concentração de Ta, possivelmente pela mudança no potencial local causado pela inserção de Ta na matriz Co-Cr, acelerando a dissolução de forma mais intensa para a amostra  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ . Esses resultados sugerem que maior área de superfície também pode ser observada em escalas micrométricas, corroborada com as imagens de MEV (Figura 39).



**Figura 42. Propriedades de superfície das amostras polidas e anodizadas:** (a) diâmetro de partícula, (b) área de superfície, (c) rugosidade média quadrática e (d) assimetria das amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  em varreduras de 1  $\mu\text{m}$ . As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

As amostras anodizadas apresentaram rugosidade superior em relação às polidas, bem como variações progressivas entre as composições após anodização (Figura 42-c). Este



aumento está alinhado ao aumento da área de superfície, com rugosidade < 50 nm, apresentando possíveis implicações positivas para interação celular, conforme discutido em subseção anterior (5.2.2). Por fim, as análises estatísticas não revelaram diferença significativa na assimetria geral entre a maioria das amostras polidas e anodizadas. No entanto, a amostra Co<sub>(63)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(9)</sub> anodizada exibiu assimetria única com predominância de picos, associados à projeção acentuada da fase TaCo<sub>2</sub> (seta na Figura 41-d).

**Tabela 9.** Dados quantitativos das propriedades de superfície para as amostras polidas e anodizadas.

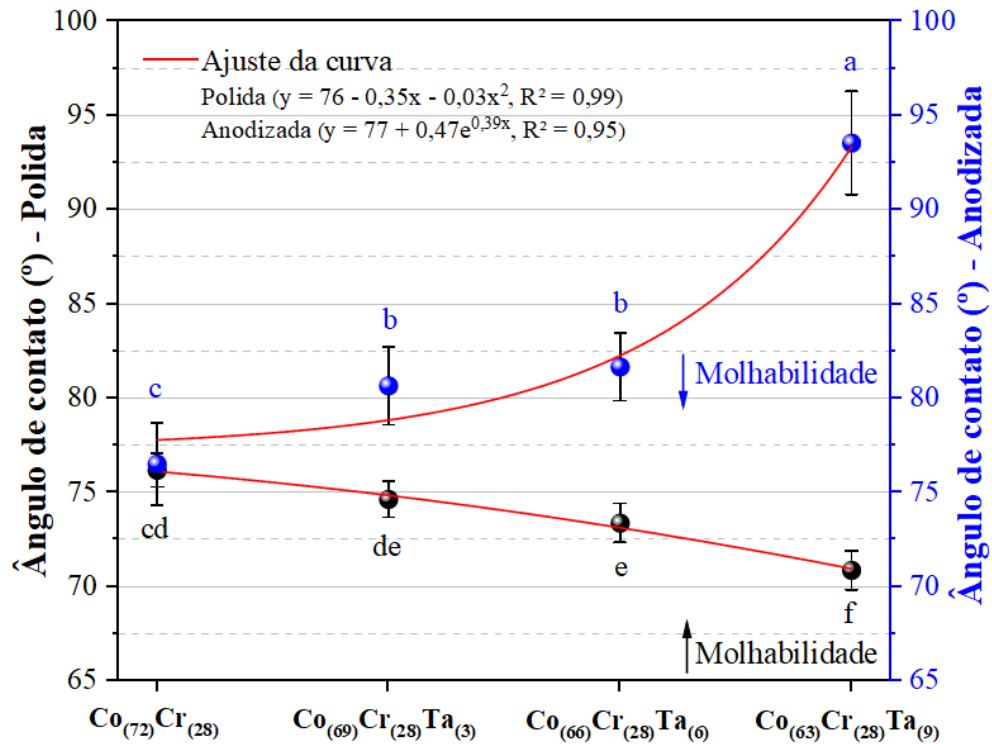
Propriedade			Co <sub>(72)</sub> Cr <sub>(28)</sub>	Co <sub>(69)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(3)</sub>	Co <sub>(66)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(6)</sub>	Co <sub>(63)</sub> Cr <sub>(28)</sub> Ta <sub>(9)</sub>
Diâmetro da partícula (nm)	Anod	Méd.	49	27	45	40
		SE	4	2	4	10
Área de superfície (µm <sup>2</sup> )	Polid	Méd.	1	1	1	1
		SE	0	0	0	0
	Anod	Méd.	1,2	1,3	1,3	1,5
		SE	0,0	0,0	0,1	0,0
Rugosidade média quadrática (nm)	Polid	Méd.	1,6	1,8	2,0	1,1
		SE	0,1	0,1	0,6	0,1
	Anod	Méd.	12,8	12,7	20	26
		SE	0,5	0,4	2	5
Assimetria	Polid	Méd.	0,2	-0,1	-0,5	-0,1
		SE	0,4	0,2	0,1	0,2
	Anod	Méd.	0,2	0,4	-0,2	1,9
		SE	0,1	0,2	0,2	0,5

Observação: abreviação para anodizada (Anod), média (Méd.) e erro padrão (SE).

### 5.3.3 Molhabilidade

Além da morfologia, a molhabilidade de superfície é essencial para prever o comportamento do biomaterial no sistema biológico, uma vez que é influenciada por fatores como composição química, topografia e estrutura cristalográfica e eletrônica [120,121]. A Figura 43 apresenta os ângulos de contato das amostras polidas e anodizadas, cujos valores são descritos na Tabela 10. As amostras polidas exibem características hidrofílicas ( $\theta < 90^\circ$ ) com aumento da molhabilidade em função da concentração de Ta, obedecendo a uma função

polinomial de segunda ordem ( $y = 76 - 0,35x - 0,03x^2$ ,  $R^2 = 0,98$ ) com variação gradual. Aliás, a dependência quadrática em função da concentração de Ta também foi observada para os resultados de porcentagem de fase, Microdureza Vickers e diferença de potencial, como detalhado no Apêndice B. Em contraste, as amostras anodizadas apresentam comportamento oposto, com a diminuição mais acentuada da molhabilidade em função da concentração de Ta, ajustada por uma função exponencial ( $y = 77 + 0,47e^{0,39x}$ ,  $R^2 = 0,95$ ). Neste grupo, apenas a  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  anodizada tem superfície hidrofóbica ( $\theta \sim 94^\circ$ ).



**Figura 43.** Ângulo de contato da gota sobre as amostras polidas e anodizadas: as esferas informam o valor médio e as barras são os desvios padrões para as amostras  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ . As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 10.** Dados quantitativos do ângulo de contato da gota sobre as amostras polidas e anodizadas.

Propriedade		$\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$	$\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$	$\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$	$\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$
Ângulo de contato (°)	Polida	Média	76,2	74,6	73,4
		SD	0,9	1,0	1,0
	Anod	Média	77	81	82
		SD	2	2	3

Observação: abreviação para anodizada (Anod) e desvio padrão (SD).



As amostras polidas apresentam variação composicional com o aumento de Ta/TaCo<sub>2</sub> (Tabela 3), bem como aumento nas diferenças de potencial local (Figura 21). De acordo com a Equação 6, um menor ângulo de contato indica que a energia de superfície da amostra aumentou. Portanto, sugere-se que a tendência de aumento da molhabilidade é influenciada pela segregação de TaCo<sub>2</sub>, ao gerar sítios com maior afinidade por água, enquanto efeitos topográficos são descartados em vista do mesmo preparo de superfície para todas as amostras polidas (Figura 42). Quanto aos valores de ângulo de contato característicos de hidrofiliidade, espera-se que os tipos de estrutura cristalina formados ( $\epsilon$ Co,  $\alpha$ Co e TaCo<sub>2</sub>) tenham influenciado a molhabilidade, visto que são estruturas compactas e, portanto, apresentam ligações metálicas fortes, resultando em energias de superfície mais altas que superam a força de coesão da gota.

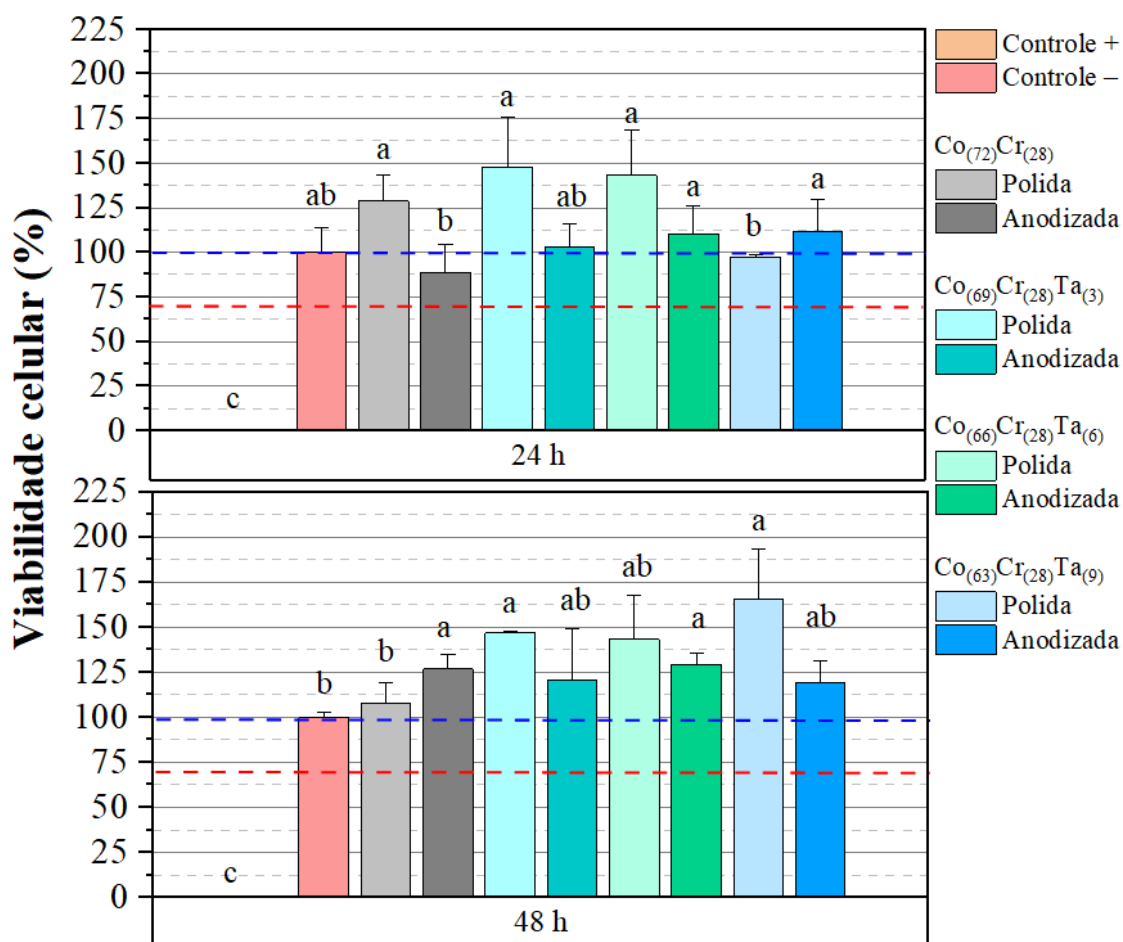
De acordo com a literatura [237], superfícies hidrofílicas favorecem a adsorção de íons e nucleação de fosfatos de cálcio. Embora todas as amostras deste estudo tenham se tornado progressivamente mais hidrofílicas (Figura 43) e tenham apresentado nucleação de fosfato de cálcio, a espessura do filme formado (Figura 30) não segue a tendência do aumento de hidrofiliidade. Este resultado sugere que a hidrofiliidade, unicamente, não é um parâmetro suficiente para controlar o crescimento do filme. Propõe-se, portanto, que a homogeneidade das propriedades eletrônicas na interface é um fator crucial. Essa hipótese se baseia na análise da distribuição uniforme da função trabalho (Figura 22) para Co<sub>(72)</sub>Cr<sub>(28)</sub> e Co<sub>(66)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(6)</sub>.

Para as amostras anodizadas, efeitos topográficos na molhabilidade não são descartados em vista da influência significativa do processo de anodização na topografia (Figura 39, Figura 41, Figura 42) em relação às polidas. Especificamente, a anodização promoveu a corrosão localizada da matriz Co-Cr e projeção da fase TaCo<sub>2</sub>. Esta topografia resultante, com a projeção da fase extra, reduz a área de contato efetivo entre a superfície e a gota de água, o que explica a diminuição observada da hidrofiliidade. Este fenômeno de redução da molhabilidade pela diminuição da área efetiva é documentado na literatura [238].

Enquanto isso, a molhabilidade similar das amostras Co<sub>(72)</sub>Cr<sub>(28)</sub> polida ( $\theta \sim 76^\circ$ ) e anodizada ( $\theta \sim 77^\circ$ ) indica que a presença de óxidos, depressões, poros, maior área de superfície e rugosidade causados pela anodização foram insuficientes para modificar a hidrofiliidade. Um efeito mais profundo, como a projeção da fase TaCo<sub>2</sub> observada nas demais ligas, foi necessário para alterar significativamente o ângulo de contato.

### 5.3.4 Viabilidade celular

A biocompatibilidade pode ser avaliada *in vitro* observando o comportamento celular, como diferenciação, proliferação e viabilidade celular [102]. Pensando nisto, investigaram-se os efeitos da inserção de Ta e do processo de anodização nas amostras de Co-Cr-Ta na viabilidade de fibroblastos após 24 e 48 h de contato (Figura 44). De acordo com a literatura [179], um material só é considerado citotóxico quando a viabilidade celular está abaixo de 70% (linha vermelha na Figura 44). Em ambos os tempos de análise, todas as amostras apresentaram uma viabilidade celular igual ou superior à do controle negativo (100%), confirmando a biocompatibilidade das ligas polidas e anodizadas com a linhagem celular de fibroblastos.



**Figura 44. Testes de sobrevivência celular após 24 e 48 h de cultura celular nas amostras:** As colunas indicam o valor médio e as barras são os desvios padrão para as amostras Co<sub>(72)</sub>Cr<sub>(28)</sub>, Co<sub>(69)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(3)</sub>, Co<sub>(66)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(6)</sub> e Co<sub>(63)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(9)</sub>. As linhas tracejadas em azul e vermelho indicam a viabilidade celular de 100 e 70 %, respectivamente. As médias que não partilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Após 48 h, a viabilidade celular para as amostras polidas apresentou uma tendência de aumento proporcional à concentração de Ta, atingindo um pico de 165% na amostra de  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ . A análise estatística confirmou que as amostras contendo Ta,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ , exibiram uma viabilidade celular significativamente superior à liga binária  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ . A amostra  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$ , por sua vez, apresentou um valor intermediário, sem diferença significativa em relação aos outros dois grupos. Sugere-se que esta biocompatibilidade melhorada se deve à heterogeneidade da função de trabalho observada especificamente nas amostras  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  (Figura 22). Tal heterogeneidade elétrica pode imitar o microambiente natural da membrana extracelular [239–241], potencialmente favorecendo a viabilidade celular.

Esta hipótese é corroborada por Bai *et al.* [241], ao demonstrarem que a distribuição heterogênea do potencial de superfície promove uma maior adsorção de proteínas, o que, por sua vez, estimula as células a estenderem ativamente os seus corpos, uma resposta positiva ao microambiente [241,242]. Em contraste, as amostras de  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  e  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$ , embora ainda apresentem viabilidade celular, são caracterizadas por um potencial de superfície mais homogêneo e, conseqüentemente, estimulam uma resposta celular mais fraca. A amostra de  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  representa um equilíbrio otimizado entre a composição, a microestrutura e as propriedades eletrônicas de superfície. Isto reflete no seu comportamento celular intermediário, corroborado pelo teste de Tukey (identificado como "ab", não diferindo significativamente do  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}/\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  ("a") e do  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  ("b")).

As amostras anodizadas mantiveram uma alta citocompatibilidade (superiores a 100%), estatisticamente equivalente à das amostras polidas, demonstrando que o processo não prejudica a resposta celular. No entanto, o efeito da anodização variou conforme a composição das amostras. Para a amostra  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ , a anodização aumentou significativamente a viabilidade celular, atribuído à mudança topográfica por meio da substituição de linhas de polimento por poros que, mesmo sem alterar a molhabilidade em escala macroscópica, criaram um microambiente mais favorável à viabilidade celular, conforme previsto na Seção 5.2. Para as amostras contendo Ta,  $\text{Co}_{(69)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(3)}$ ,  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ , a hidrofiliabilidade foi reduzida devido à projeção da fase  $\text{TaCo}_2$ , sem comprometer a viabilidade celular. A aleatoriedade dos poros causada pela presença da fase extra não permitiu estabelecer uma diferença significativa entre as amostras, sugerindo a necessidade de grupos amostrais maiores ou de outros ensaios biológicos para uma conclusão mais robusta.

## 6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

As ligas metálicas de  $\text{Co}_{(72-x)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(x)}$  ( $x = 0, 3, 6$  e  $9 \text{ \% m/m}$ ) foram sintetizadas com sucesso. A investigação revelou que o Ta é um elemento-chave para modular as propriedades da liga ao promover: microestrutura do tipo dendrítica; endurecimento significativo, com um incremento de até  $77 \text{ \%}$  em relação a  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$ ; aumento de hidrofiliidade; modulação da resposta eletroquímica em nanoescala, aumentando gradativamente a diferença de potencial entre a matriz Co-Cr (ânodo) e a fase  $\text{TaCo}_2$  (cátodo), o que refletiu em um aumento da função trabalho; perfil de corrosão adequado para aplicações biomédicas, com a liga  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  exibindo uma taxa de corrosão ( $\sim 10^{-4} \text{ mm/ano}$ ) comparável à de biomateriais estabelecidos.

As rotas de anodização desenvolvidas demonstraram a viabilidade de produzir micro e nanoestruturas de superfície, com potencial de aprimorar a biocompatibilidade. Dentre os principais achados, destacam-se: produção de óxido metálicos; formação de poros micrométricos ( $\sim 0,8 \text{ }\mu\text{m}$ ) e microfissuras; variação na densidade de poros conforme a necessidade; estruturas porosas e rugosidade com dimensões inferiores a  $100 \text{ nm}$ ; nanopartículas com diâmetro médio de até  $\sim 50 \text{ nm}$ ; e, redução da hidrofiliidade, abrindo perspectivas para aplicações onde é necessária a hidrofobicidade.

A avaliação da biocompatibilidade indicou que todas as amostras são citocompatíveis com fibroblastos. Dentre as ligas polidas, a  $\text{Co}_{(66)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(6)}$  destacou-se como a mais promissora para aplicações em contato com tecido ósseo, exibindo maior nucleação de fosfato de cálcio ( $\sim 1,33 \text{ }\mu\text{m}$ ) e comportamento hidrofílico ( $\theta \sim 73^\circ$ ) devido à alta energia de superfície. Dentre as amostras anodizadas, a  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  ressalta-se para aplicações que necessitam de hidrofobicidade, sendo a única da série a apresentar essa característica ( $\theta \sim 94^\circ$ ). Além disso, os ensaios *in vivo* confirmaram a segurança da liga  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ , inferindo-se um perfil biocompatível para toda a série investigada.

Para investigar outros aspectos das ligas aqui desenvolvidas, tem-se como perspectivas futuras: (1) caracterização química dos óxidos formados pela anodização utilizando a Espectroscopia de Fotoelétrons de Raios X; (2) caracterização robusta das propriedades mecânicas, como módulo de elasticidade e resistência à fadiga; (3) estudo da molhabilidade com outros líquidos e cálculo da energia de superfície; (4) análise da corrosão em nanoescala utilizando uma célula eletroquímica com a Microscopia de Força Atômica; (5) avaliar outras modificações de superfície, como a oxidação controlada e o revestimento com hidroxiapatita e óxido de tântalo.

## REFERÊNCIAS

- [1] W.D. Callister Jr, D.G. Rethwisch, *Ciência e engenharia de materiais: uma introdução*, 9th ed., 2016.
- [2] C. Buchanan, L. Gardner, Metal 3D printing in construction: A review of methods, research, applications, opportunities and challenges, *Engineering Structures* 180 (2019) 332–348. <https://doi.org/10.1016/j.engstruct.2018.11.045>.
- [3] K.-M. Hong, Y.C. Shin, Prospects of laser welding technology in the automotive industry: A review, *Journal of Materials Processing Technology* 245 (2017) 46–69. <https://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2017.02.008>.
- [4] V. Zhukova, P. Corte-Leon, J.M. Blanco, M. Ipatov, J. Gonzalez, A. Zhukov, Electronic Surveillance and Security Applications of Magnetic Microwires, *Chemosensors* 9 (2021) 100. <https://doi.org/10.3390/chemosensors9050100>.
- [5] C. He, M. Asif, Q. Liu, F. Xiao, H. Liu, B.Y. Xia, Noble Metal Construction for Electrochemical Nonenzymatic Glucose Detection, *Adv Materials Technologies* 8 (2023) 2200272. <https://doi.org/10.1002/admt.202200272>.
- [6] T.V. Basova, E.S. Vikulova, S.I. Dorovskikh, A. Hassan, N.B. Morozova, The use of noble metal coatings and nanoparticles for the modification of medical implant materials, *Materials & Design* 204 (2021) 109672. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2021.109672>.
- [7] S. Acharya, R. Soni, S. Suwas, K. Chatterjee, Additive manufacturing of Co–Cr alloys for biomedical applications: A concise review, *Journal of Materials Research* 36 (2021) 3746–3760. <https://doi.org/10.1557/s43578-021-00244-z>.
- [8] B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons, *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 4th ed., Elsevier, 2020.
- [9] K. Prasad, O. Bazaka, M. Chua, M. Rochford, L. Fedrick, J. Spoor, R. Symes, M. Tieppo, C. Collins, A. Cao, D. Markwell, K. (Ken) Ostrikov, K. Bazaka, *Metallic Biomaterials: Current Challenges and Opportunities*, *Materials* 10 (2017) 884. <https://doi.org/10.3390/ma10080884>.
- [10] G. Szczęsny, M. Kopec, D.J. Politis, Z.L. Kowalewski, A. Łazarski, T. Szolc, A Review on Biomaterials for Orthopaedic Surgery and Traumatology: From Past to Present, *Materials* 15 (2022) 3622. <https://doi.org/10.3390/ma15103622>.
- [11] S. Tharani Kumar, S. Prasanna Devi, C. Krithika, R.N. Raghavan, Review of Metallic Biomaterials in Dental Applications, *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* 12 (2020) S14. [https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS\\_88\\_20](https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_88_20).
- [12] J. Fu, Y. Su, Y.-X. Qin, Y. Zheng, Y. Wang, D. Zhu, Evolution of metallic cardiovascular stent materials: A comparative study among stainless steel, magnesium and zinc, *Biomaterials* 230 (2020) 119641. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119641>.
- [13] Biomaterials Market Size, Share, Trends and Revenue Forecast [Latest], *MarketsandMarkets* (n.d.). <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biomaterials-393.html> (accessed January 23, 2024).
- [14] S. Ali, A.M. Abdul Rani, Z. Baig, S.W. Ahmed, G. Hussain, K. Subramaniam, S. Hastuty, T.V.V.L.N. Rao, Biocompatibility and corrosion resistance of metallic biomaterials, *Corrosion Reviews* 38 (2020) 381–402. <https://doi.org/10.1515/corrrev-2020-0001>.
- [15] J.R. Davis, *Handbook of Materials for Medical Devices*, 2003. <http://www.mdpi.com/1422-0067/19/9/2684> (accessed January 23, 2024).
- [16] N. Logan, A. Sherif, A.J. Cross, S.N. Collins, A. Traynor, L. Bozec, I.P. Parkin, P. Brett, TiO<sub>2</sub>-coated CoCrMo: Improving the osteogenic differentiation and adhesion of

- mesenchymal stem cells *in vitro*, J Biomedical Materials Res 103 (2015) 1208–1217. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35264>.
- [17] Q. Zhang, K. Li, J. Yan, Z. Wang, Q. Wu, L. Bi, M. Yang, Y. Han, Graphene coating on the surface of CoCrMo alloy enhances the adhesion and proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells, Biochemical and Biophysical Research Communications 497 (2018) 1011–1017. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.02.152>.
  - [18] X. Yan, W. Cao, H. Li, Biomedical Alloys and Physical Surface Modifications: A Mini-Review, Materials 15 (2021) 66. <https://doi.org/10.3390/ma15010066>.
  - [19] A. Rajendran, S. Sugunapriyadharshini, D. Mishra, D.K. Pattanayak, Role of calcium ions in defining the bioactivity of surface modified Ti metal, Materials Science and Engineering: C 98 (2019) 197–204. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.096>.
  - [20] K. Akeda, S. Yamaguchi, T. Matsushita, T. Kokubo, K. Murata, N. Takegami, A. Matsumine, A. Sudo, Bioactive pedicle screws prepared by chemical and heat treatments improved biocompatibility and bone-bonding ability in canine lumbar spines, PLoS ONE 13 (2018) e0196766. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196766>.
  - [21] D.L. Klarstrom, Wrought cobalt- base superalloys, JMEP 2 (1993) 523–530. <https://doi.org/10.1007/BF02661736>.
  - [22] L.H.M. Antunes, C.R.P. De Lima, Cobalt-Chromium Alloys – Properties and Applications ☆, in: Reference Module in Materials Science and Materials Engineering, Elsevier, 2018: p. B9780128035818093863. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.09386-3>.
  - [23] M.F. Kunrath, T.C. Muradás, N. Penha, M.M. Campos, Innovative surfaces and alloys for dental implants: What about biointerface-safety concerns?, Dental Materials 37 (2021) 1447–1462. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2021.08.008>.
  - [24] M.C.S. Inacio, S.E. Graves, N.L. Pratt, E.E. Roughead, S. Nemes, Increase in Total Joint Arthroplasty Projected from 2014 to 2046 in Australia: A Conservative Local Model With International Implications, Clinical Orthopaedics & Related Research 475 (2017) 2130–2137. <https://doi.org/10.1007/s11999-017-5377-7>.
  - [25] M.A. Brouillette, S.P. Kaiser, P. Konadu, R.A. Kumah-Ametepey, A.J. Aidoo, R.C. Coughlin, Orthopedic Surgery in the Developing World: Workforce and Operative Volumes in Ghana Compared to Those in the United States, World j. Surg. 38 (2014) 849–857. <https://doi.org/10.1007/s00268-013-2314-0>.
  - [26] BRASIL, Joelho, Ministério Da Saúde. Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia. (2024). <https://www.into.saude.gov.br/dicas-dos-especialistas/joelho> (accessed June 7, 2024).
  - [27] S. Kurtz, K. Ong, E. Lau, F. Mowat, M. Halpern, Projections of Primary and Revision Hip and Knee Arthroplasty in the United States from 2005 to 2030, JBJS 89 (2007) 780. <https://doi.org/10.2106/JBJS.F.00222>.
  - [28] C. Pabinger, A. Geissler, Utilization rates of hip arthroplasty in OECD countries, Osteoarthritis and Cartilage 22 (2014) 734–741. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2014.04.009>.
  - [29] H.-A. Kim, S. Kim, Y.I. Seo, H.J. Choi, S.-C. Seong, Y.W. Song, D. Hunter, Y. Zhang, The epidemiology of total knee replacement in South Korea: national registry data, Rheumatology 47 (2008) 88–91. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kem308>.
  - [30] M.D.C. Ferreira, J.C.P. Oliveira, F.F. Zidan, C.E.D.S. Franciozi, M.V.M. Luzo, R.J. Abdalla, Artroplastia total de joelho e quadril: a preocupante realidade assistencial do Sistema Único de Saúde brasileiro, Revista Brasileira de Ortopedia 53 (2018) 432–440. <https://doi.org/10.1016/j.rbo.2016.11.002>.
  - [31] C.I. Shaffrey, T.J. Buell, Editorial. Training the next generation of spine surgeons: an orthopedic and neurosurgical collaboration with historical precedence, Journal of

- Neurosurgery: Spine 35 (2021) 549–551. <https://doi.org/10.3171/2020.12.SPINE201849>.
- [32] M. Rupp, L. Klute, S. Baertl, N. Walter, G. Mannala, L. Frank, C. Pfeifer, V. Alt, M. Kerschbaum, The clinical use of bone graft substitutes in orthopedic surgery in Germany—A 10-years survey from 2008 to 2018 of 1,090,167 surgical interventions, *J Biomed Mater Res* 110 (2022) 350–357. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34911>.
- [33] S. Zhang, D. Patel, M. Brady, S. Gambill, K. Theivendran, S. Deshmukh, J. Swadener, S. Junaid, L.J. Leslie, Experimental testing of fracture fixation plates: A review, *Proc Inst Mech Eng H* 236 (2022) 1253–1272. <https://doi.org/10.1177/09544119221108540>.
- [34] A.D. S., S.P.A. P., J. N., T. K., S.H. K., Advancement in biomedical implant materials—a mini review, *Front. Bioeng. Biotechnol.* 12 (2024). <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1400918>.
- [35] T. Kokubo, H.-M. Kim, M. Kawashita, Novel bioactive materials with different mechanical properties, *Biomaterials* 24 (2003) 2161–2175. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00044-9](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00044-9).
- [36] B.R. Levine, S. Sporer, R.A. Poggie, C.J. Della Valle, J.J. Jacobs, Experimental and clinical performance of porous tantalum in orthopedic surgery, *Biomaterials* 27 (2006) 4671–4681. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.04.041>.
- [37] D.M. Findlay, K. Welldon, G.J. Atkins, D.W. Howie, A.C.W. Zannettino, D. Bobyn, The proliferation and phenotypic expression of human osteoblasts on tantalum metal, *Biomaterials* 25 (2004) 2215–2227. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.09.005>.
- [38] K.J. Welldon, G.J. Atkins, D.W. Howie, D.M. Findlay, Primary human osteoblasts grow into porous tantalum and maintain an osteoblastic phenotype, *J Biomedical Materials Res* 84A (2008) 691–701. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.31336>.
- [39] Q. Chen, G.A. Thouas, Metallic implant biomaterials, *Materials Science and Engineering: R: Reports* 87 (2015) 1–57. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2014.10.001>.
- [40] L. Ghasemi-Mobarakeh, D. Kolahreez, S. Ramakrishna, D. Williams, Key terminology in biomaterials and biocompatibility, *Current Opinion in Biomedical Engineering* 10 (2019) 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.cobme.2019.02.004>.
- [41] J. Moritz, A. Abram, M. Čekada, U. Gabor, M. Garvas, I. Zdovc, A. Dakskobler, J. Cotič, K. Ivičak-Kocjan, A. Kocjan, Nanoroughening of sandblasted 3Y-TZP surface by alumina coating deposition for improved osseointegration and bacteria reduction, *Journal of the European Ceramic Society* 39 (2019) 4347–4357. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2019.05.051>.
- [42] T. Hanawa, Biocompatibility of titanium from the viewpoint of its surface, *Science and Technology of Advanced Materials* 23 (2022) 457–472. <https://doi.org/10.1080/14686996.2022.2106156>.
- [43] M. Wątroba, W. Bednarczyk, P.K. Szewczyk, J. Kawałko, K. Mech, A. Grünewald, I. Unalan, N. Taccardi, G. Boelter, M. Banzhaf, C. Hain, P. Bała, A.R. Boccaccini, In vitro cytocompatibility and antibacterial studies on biodegradable Zn alloys supplemented by a critical assessment of direct contact cytotoxicity assay, *J Biomed Mater Res* 111 (2023) 241–260. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.35147>.
- [44] Z. Liu, H. Liu, R. Vowden, L. Hughes, D. Qi, W. Francis, G. Perino, R. Pink, J. Xiao, B. Li, Z. Xia, Combination of cobalt, chromium and titanium nanoparticles increases cytotoxicity in vitro and pro-inflammatory cytokines in vivo, *Journal of Orthopaedic Translation* 38 (2023) 203–212. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2022.10.013>.
- [45] J. González-Carrasco, S. Cifuentes Cuellar, M. Lieblich Rodríguez, Metals, in: *Bone Repair Biomaterials*, Elsevier, 2019: pp. 103–140. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102451-5.00005-6>.

- [46] K. Dietrich, J. Diller, S. Dubiez-Le Goff, D. Bauer, P. Forêt, G. Witt, The influence of oxygen on the chemical composition and mechanical properties of Ti-6Al-4V during laser powder bed fusion (L-PBF), *Additive Manufacturing* 32 (2020) 100980. <https://doi.org/10.1016/j.addma.2019.100980>.
- [47] Y. Zhou, N. Li, J. Yan, Q. Zeng, Comparative analysis of the microstructures and mechanical properties of Co-Cr dental alloys fabricated by different methods, *The Journal of Prosthetic Dentistry* 120 (2018) 617–623. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2017.11.015>.
- [48] S.W. Robertson, A.R. Pelton, R.O. Ritchie, Mechanical fatigue and fracture of Nitinol, *International Materials Reviews* 57 (2012) 1–37. <https://doi.org/10.1179/1743280411Y.00000000009>.
- [49] P.-I. Brinemark, Osseointegration and its experimental backgroundd, *The Journal of Prosthetic Dentistry* 50 (1983).
- [50] J.A. Apablaza, F.J. Díaz, K.G. Sánchez, P. Navarro, C. Venegas, R. Fuentes, Analysis of the Chemical Composition and Morphological Characterization of Tissue Osseointegrated to a Dental Implant after 5 Years of Function, *IJMS* 23 (2022) 8882. <https://doi.org/10.3390/ijms23168882>.
- [51] Z. Du, Y. Xiao, S. Hashimi, S.M. Hamlet, S. Ivanovski, The effects of implant topography on osseointegration under estrogen deficiency induced osteoporotic conditions: Histomorphometric, transcriptional and ultrastructural analysis, *Acta Biomaterialia* 42 (2016) 351–363. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.06.035>.
- [52] P. Amaravathy, S. Sathyanarayanan, S. Sowndarya, N. Rajendran, Bioactive HA/TiO<sub>2</sub> coating on magnesium alloy for biomedical applications, *Ceramics International* 40 (2014) 6617–6630. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2013.11.119>.
- [53] L. Linder, K. Obrant, G. Boivin, Osseointegration of metallic implants: II. Transmission electron microscopy in the rabbit, *Acta Orthopaedica Scandinavica* 60 (1989) 135–139. <https://doi.org/10.3109/17453678909149240>.
- [54] T. Miyazaki, H.-M. Kim, T. Kokubo, C. Ohtsuki, H. Kato, T. Nakamura, Mechanism of bonelike apatite formation on bioactive tantalum metal in a simulated body fluid, *Biomaterials* 23 (2002) 827–832. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00188-0](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00188-0).
- [55] J.D. Bobyn, K.-K. Toh, S.A. Hacking, M. Tanzer, J.J. Krygier, Tissue response to porous tantalum acetabular cups, *The Journal of Arthroplasty* 14 (1999) 347–354. [https://doi.org/10.1016/S0883-5403\(99\)90062-1](https://doi.org/10.1016/S0883-5403(99)90062-1).
- [56] D. Pathote, D. Jaiswal, V. Singh, C.K. Behera, Optimization of electrochemical corrosion behavior of 316L stainless steel as an effective biomaterial for orthopedic applications, *Materials Today: Proceedings* 57 (2022) 265–269. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.02.501>.
- [57] F. Anene, C. Aiza Jaafar, I. Zainol, M. Azmah Hanim, M. Suraya, Biomedical materials: A review of titanium based alloys, *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part C* 235 (2021) 3792–3805. <https://doi.org/10.1177/0954406220967694>.
- [58] M. Niinomi, 4 - Co–Cr-based alloys, in: C. Wen (Ed.), *Structural Biomaterials*, Woodhead Publishing, 2021: pp. 103–126. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818831-6.00006-9>.
- [59] R. Narayan, ed., *Biomedical Materials*, Springer US, Boston, MA, 2009. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-84872-3>.
- [60] H. Zhou, B. Liang, H. Jiang, Z. Deng, K. Yu, Magnesium-based biomaterials as emerging agents for bone repair and regeneration: from mechanism to application, *Journal of Magnesium and Alloys* 9 (2021) 779–804. <https://doi.org/10.1016/j.jma.2021.03.004>.



- [61] M.S. Safavi, A. Bordbar-Khiabani, F.C. Walsh, M. Mozafari, J. Khalil-Allafi, Surface modified NiTi smart biomaterials: Surface engineering and biological compatibility, *Current Opinion in Biomedical Engineering* 25 (2023) 100429. <https://doi.org/10.1016/j.cobme.2022.100429>.
- [62] M. Hu, L. Wang, G. Li, Q. Huang, Y. Liu, J. He, H. Wu, M. Song, Investigations on microstructure and properties of Ti-Nb-Zr medium-entropy alloys for metallic biomaterials, *Intermetallics* 145 (2022) 107568. <https://doi.org/10.1016/j.intermet.2022.107568>.
- [63] G. Mani, D. Porter, K. Grove, S. Collins, A. Ornberg, R. Shulfer, A comprehensive review of biological and materials properties of Tantalum and its alloys, *J Biomedical Materials Res* 110 (2022) 1291–1306. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37373>.
- [64] A. Zadpoor, Current Trends in Metallic Orthopedic Biomaterials: From Additive Manufacturing to Bio-Functionalization, Infection Prevention, and Beyond, *IJMS* 19 (2018) 2684. <https://doi.org/10.3390/ijms19092684>.
- [65] M. Di Prima, J. Coburn, D. Hwang, J. Kelly, A. Khairuzzaman, L. Ricles, Additively manufactured medical products – the FDA perspective, *3D Print Med* 2 (2016) 1. <https://doi.org/10.1186/s41205-016-0005-9>.
- [66] D.J. Kereiakes, D.A. Cox, J.B. Hermiller, M.G. Midei, W.B. Bachinsky, E.D. Nukta, M.B. Leon, S. Fink, L. Marin, A.J. Lansky, Usefulness of a cobalt chromium coronary stent alloy, *The American Journal of Cardiology* 92 (2003) 463–466. [https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(03\)00669-6](https://doi.org/10.1016/S0002-9149(03)00669-6).
- [67] G. Mani, D. Porter, S. Collins, T. Schatz, A. Ornberg, R. Shulfer, A review on manufacturing processes of COBALT-CHROMIUM alloy implants and its impact on corrosion resistance and biocompatibility, *J Biomed Mater Res* 112 (2024) e35431. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.35431>.
- [68] ASTM F75-23: Standard specification for cobalt-28 chromium-6molybdenum alloy castings and casting alloy for surgical implants(UNS R30075), ASTM International, (2023).
- [69] ASTM F90-23: Standard specification for wrought cobalt-20chromium-15tungsten-10nickel alloy for surgical implant applications(UNS R30605), ASTM International, (2023).
- [70] ASTM F1537-20: Standard specification for wrought cobalt-28chromium-6molybdenum alloys for surgical implants (UNS R31537, UNSR31538, and UNS R31539), ASTM International, (2020).
- [71] ASTM F562-22: Standard specification for wrought 35cobalt-35nickel-20chromium-10molybdenum alloy for surgical implantapplications (UNS R30035), ASTM International, (2022).
- [72] X.Z. Xin, N. Xiang, J. Chen, B. Wei, In vitro biocompatibility of Co–Cr alloy fabricated by selective laser melting or traditional casting techniques, *Materials Letters* 88 (2012) 101–103. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2012.08.032>.
- [73] R.G. Craig, C.T. Hanks, Reaction of fibroblasts to various dental casting alloys, *J Oral Pathology Medicine* 17 (1988) 341–347. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1988.tb01547.x>.
- [74] E.J. Evans, L. Thomas, The in vitro toxicity of cobalt-chrome-molybdenum alloy and its constituent metals, *Biomaterials* 7 (1986) 25–29.
- [75] I. Gotman, Characteristics of Metals Used in Implants, *Journal of Endourology* 11 (1997) 383–389. <https://doi.org/10.1089/end.1997.11.383>.
- [76] S. Viennot, F. Dalard, M. Lissac, B. Grosgeat, Corrosion resistance of cobalt-chromium and palladium-silver alloys used in fixed prosthetic restorations, *European J Oral Sciences* 113 (2005) 90–95. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2005.00190.x>.

- [77] P.K. Vallittu, M. Kokkonen, Deflection fatigue of cobalt-chromium, titanium, and gold alloy cast denture clasp, *The Journal of Prosthetic Dentistry* 74 (1995) 412–419. [https://doi.org/10.1016/S0022-3913\(05\)80384-1](https://doi.org/10.1016/S0022-3913(05)80384-1).
- [78] P. Savitha, K. Lekha, R. Nadiger, Fatigue resistance and flexural behavior of acetal resin and chrome cobalt removable partial denture clasp: An in vitro study, *Eur J Prosthodont* 3 (2015) 71. <https://doi.org/10.4103/2347-4610.166185>.
- [79] D. Klarstrom, P. Crook, A. Sharif, Cobalt Alloys: Alloying and Thermomechanical Processing, in: *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*, Elsevier, 2017: p. B9780128035818092134. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.09213-4>.
- [80] T. Hanawa, Materials for metallic stents, *J Artif Organs* 12 (2009) 73–79. <https://doi.org/10.1007/s10047-008-0456-x>.
- [81] J.L. Gilbert, Metals: Basic Principles, in: *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 4th ed., Elsevier, 2020.
- [82] R. Martínez, J.C. Escobedo, D.A. Cortés, G.G. Alves, A.B.R. Linhares, J.M. Granjeiro, M. Prado, J.C. Ortiz, J.M. Almanza, E.M. Múzquiz-Ramos, In vitro bioactivity and biocompatibility of a Co–Cr–Mo alloy after heat treatment in contact with different bioactive systems, *Ceramics International* 39 (2013) 2003–2011. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2012.08.052>.
- [83] M. Kassapidou, L. Hjalmarsson, C.B. Johansson, P. Hammarström Johansson, E. Morisbak, A. Wennerberg, V. Franke Stenport, Cobalt–chromium alloys fabricated with four different techniques: Ion release, toxicity of released elements and surface roughness, *Dental Materials* 36 (2020) e352–e363. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2020.08.012>.
- [84] M. Louis Etienne, G. Stéphane, L. Guillaume, M. Hideyuki, Microstructure and oxidation behavior of Co–Cr–Ta ternary alloys, *Journal of Alloys and Compounds* 936 (2023) 167968. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2022.167968>.
- [85] B. Da Silva Batista, L.M. Da Silva, A.S. De Menezes, L. Barbosa Corrêa, E. Cruz Rosas, R. Santos-Oliveira, F. Mendes, A.A.M. Macêdo, L.M. Rebelo Alencar, Physical, morphological and bioactive properties of CO–CR–W–TA alloys: Influence of insertion of tantalum and surface thermochemical treatment on bioactivity, *J Biomed Mater Res* 111 (2023) 1247–1258. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.35229>.
- [86] J. Luo, S. Wu, Y. Lu, S. Guo, Y. Yang, C. Zhao, J. Lin, T. Huang, J. Lin, The effect of 3 wt.% Cu addition on the microstructure, tribological property and corrosion resistance of CoCrW alloys fabricated by selective laser melting, *J Mater Sci: Mater Med* 29 (2018) 37. <https://doi.org/10.1007/s10856-018-6043-7>.
- [87] G.L. Burke, The corrosion of metals in tissues: and an introduction to Tantalum, *Canadian Medical Association Journal* 43 (1940).
- [88] Z. Liu, C. Wang, W. Wang, G. Xu, X. Liu, Effects of Tantalum on the microstructure and properties of Ti-48Al-2Cr-2Nb alloy fabricated via laser additive manufacturing, *Materials Characterization* 179 (2021) 111317. <https://doi.org/10.1016/j.matchar.2021.111317>.
- [89] B. Rahmati, E. Zalnezhad, A.A.D. Sarhan, Z. Kamiab, B. Nasiri Tabrizi, W.A.B.W. Abas, Enhancing the adhesion strength of tantalum oxide ceramic thin film coating on biomedical Ti–6Al–4V alloy by thermal surface treatment, *Ceramics International* 41 (2015) 13055–13063. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2015.07.090>.
- [90] H. Ogul, Radiation attenuation properties of polymer composites mixed with tantalum carbide, *Radiation Effects and Defects in Solids* 177 (2022) 531–544. <https://doi.org/10.1080/10420150.2022.2063124>.

- [91] X. Wang, B. Ning, X. Pei, Tantalum and its derivatives in orthopedic and dental implants: Osteogenesis and antibacterial properties, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 208 (2021) 112055. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112055>.
- [92] M.-D. Bermúdez, F.J. Carrión, G. Martínez-Nicolás, R. López, Erosion–corrosion of stainless steels, titanium, tantalum and zirconium, *Wear* 258 (2005) 693–700. <https://doi.org/10.1016/j.wear.2004.09.023>.
- [93] A. Robin, J.L. Rosa, Corrosion behavior of niobium, tantalum and their alloys in hot hydrochloric and phosphoric acid solutions, *International Journal of Refractory Metals and Hard Materials* 18 (2000) 13–21. [https://doi.org/10.1016/S0263-4368\(99\)00034-7](https://doi.org/10.1016/S0263-4368(99)00034-7).
- [94] H. Kato, T. Nakamura, S. Nishiguchi, Y. Matsusue, M. Kobayashi, T. Miyazaki, H.M. Kim, T. Kokubo, Bonding of alkali- and heat-treated tantalum implants to bone, *J Biomed Mater Res* 53 (2000) 28–35. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4636\(2000\)53:1%253C28::aid-jbm4%253E3.0.co;2-f](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(2000)53:1%253C28::aid-jbm4%253E3.0.co;2-f).
- [95] Z. Ding, Q. Zhou, Y. Wang, Z. Ding, Y. Tang, Q. He, Microstructure and properties of monolayer, bilayer and multilayer Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-based coatings on biomedical Ti-6Al-4V alloy by magnetron sputtering, *Ceramics International* 47 (2021) 1133–1144. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.08.230>.
- [96] U. Dorn, D. Neumann, M. Frank, Corrosion Behavior of Tantalum-Coated Cobalt–Chromium Modular Necks Compared to Titanium Modular Necks in a Simulator Test, *The Journal of Arthroplasty* 29 (2014) 831–835. <https://doi.org/10.1016/j.arth.2013.08.022>.
- [97] J.-S. Park, K.H. Yim, S. Jeong, D.H. Lee, D.G. Kim, A Novel High-Visibility Radiopaque Tantalum Marker for Biliary Self-Expandable Metal Stents, *Gut and Liver* 13 (2019) 366–372. <https://doi.org/10.5009/gnl18330>.
- [98] M. Tokaç, Influence of tantalum concentrations on the magnetic properties of amorphous CoFeTaB thin-films, *Journal of Non-Crystalline Solids* 572 (2021) 121080. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2021.121080>.
- [99] I. Yoda, H. Koseki, M. Tomita, T. Shida, H. Horiuchi, H. Sakoda, M. Osaki, Effect of surface roughness of biomaterials on *Staphylococcus epidermidis* adhesion, *BMC Microbiol* 14 (2014) 234. <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0234-2>.
- [100] S. Sista, C. Wen, P.D. Hodgson, G. Pande, The influence of surface energy of titanium/zirconium alloy on osteoblast cell functions in vitro, 97 (2011).
- [101] N.J. Hallab, K.J. Bundy, K. O'Connor, R.L. Moses, J.J. Jacobs, Evaluation of Metallic and Polymeric Biomaterial Surface Energy and Surface Roughness Characteristics for Directed Cell Adhesion, *Tissue Engineering* 7 (2001) 55–71. <https://doi.org/10.1089/107632700300003297>.
- [102] A.F. bin A. Fadzil, A. Pramanik, A.K. Basak, C. Prakash, S. Shankar, Role of surface quality on biocompatibility of implants - A review, *Annals of 3D Printed Medicine* 8 (2022) 100082. <https://doi.org/10.1016/j.stlm.2022.100082>.
- [103] R. Rasouli, A. Barhoum, H. Uludag, A review of nanostructured surfaces and materials for dental implants: surface coating, patterning and functionalization for improved performance, *Biomater Sci* 6 (2018) 1312–1338. <https://doi.org/10.1039/c8bm00021b>.
- [104] A.M. Ross, Z. Jiang, M. Bastmeyer, J. Lahann, Physical Aspects of Cell Culture Substrates: Topography, Roughness, and Elasticity, *Small* 8 (2012) 336–355. <https://doi.org/10.1002/sml.201100934>.
- [105] T.R. THOMAS, *Rough Surfaces*, Imperial College Press, London, 1999.
- [106] I.M. Hutchings, P. Shipway, *Tribology: friction and wear of engineering materials*, 2nd ed, Elsevier, Oxford, 2017.

- [107] M. Rahmati, E.A. Silva, J.E. Reseland, C. A. Heyward, H.J. Haugen, Biological responses to physicochemical properties of biomaterial surface, *Chem. Soc. Rev.* 49 (2020) 5178–5224. <https://doi.org/10.1039/D0CS00103A>.
- [108] J.N. Israelachvili, Adhesion and Wetting Phenomena, in: *Intermolecular and Surface Forces*, 3rd ed., 2011.
- [109] X. Zhang, W. Li, H. Kou, J. Shao, Y. Deng, X. Zhang, J. Ma, Y. Li, X. Zhang, Temperature and size dependent surface energy of metallic nano-materials, *Journal of Applied Physics* 125 (2019) 185105. <https://doi.org/10.1063/1.5090301>.
- [110] Y.-J. Hu, A. Sundar, S. Ogata, L. Qi, Screening of generalized stacking fault energies, surface energies and intrinsic ductile potency of refractory multicomponent alloys, *Acta Materialia* 210 (2021) 116800. <https://doi.org/10.1016/j.actamat.2021.116800>.
- [111] N.V. Sibirev, M.A. Timofeeva, A.D. Bol'shakov, M.V. Nazarenko, V.G. Dubrovskii, Surface energy and crystal structure of nanowhiskers of III–V semiconductor compounds, *Phys. Solid State* 52 (2010) 1531–1538. <https://doi.org/10.1134/S1063783410070309>.
- [112] E. Hadjittofis, M.A. Isbell, V. Karde, S. Varghese, C. Ghoroi, J.Y.Y. Heng, Influences of Crystal Anisotropy in Pharmaceutical Process Development, *Pharm Res* 35 (2018) 100. <https://doi.org/10.1007/s11095-018-2374-9>.
- [113] B. Romanowska, W. Róžańska, M. Zimniewska, The Influence of the Chemical Composition of Flax and Hemp Fibers on the Value of Surface Free Energy, *Materials* 17 (2024) 1104. <https://doi.org/10.3390/ma17051104>.
- [114] L. Wang, J. Zhang, H. Zhang, Y. Wang, Y. Zheng, Y. Zuo, K. Zhu, F. Jiao, Modelling for effects of surface chemical composition on contact angle and applications in membrane flux control, *Chemical Engineering Science* 267 (2023) 118319. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2022.118319>.
- [115] C.Y. Guo, J.P. Matinlinna, A.T.H. Tang, Effects of Surface Charges on Dental Implants: Past, Present, and Future, *International Journal of Biomaterials* 2012 (2012) 381535. <https://doi.org/10.1155/2012/381535>.
- [116] S. Bodhak, S. Bose, A. Bandyopadhyay, Role of surface charge and wettability on early stage mineralization and bone cell–materials interactions of polarized hydroxyapatite, *Acta Biomaterialia* 5 (2009) 2178–2188. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.02.023>.
- [117] Y. Shi, M. Wang, Z. Zhou, M. Zhao, Y. Hu, J. Yang, S. Tong, F. Lai, Artificial Neural Network-Based Prediction and Morphological Evolution of Cu<sub>2</sub>O Crystal Surface Energy, *Coatings* 13 (2023) 1609. <https://doi.org/10.3390/coatings13091609>.
- [118] X. Wang, Q. Zhang, Role of surface roughness in the wettability, surface energy and flotation kinetics of calcite, *Powder Technology* 371 (2020) 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2020.05.081>.
- [119] Y.-H. Ho, K. Man, S.S. Joshi, M.V. Pantawane, T.-C. Wu, Y. Yang, N.B. Dahotre, *In-vitro* biomineralization and biocompatibility of friction stir additively manufactured AZ31B magnesium alloy-hydroxyapatite composites, *Bioactive Materials* 5 (2020) 891–901. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.06.009>.
- [120] G. Kumar, K.N. Prabhu, Review of non-reactive and reactive wetting of liquids on surfaces, *Advances in Colloid and Interface Science* 133 (2007) 61–89. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2007.04.009>.
- [121] M. Malaki, A. Fadaei Tehrani, B. Niroumand, M. Gupta, Wettability in Metal Matrix Composites, *Metals* 11 (2021) 1034. <https://doi.org/10.3390/met11071034>.
- [122] S. Wang, K. Liu, X. Yao, L. Jiang, Bioinspired Surfaces with Superwettability: New Insight on Theory, Design, and Applications, *Chem. Rev.* 115 (2015) 8230–8293. <https://doi.org/10.1021/cr400083y>.

- [123] L. Sun, J. Guo, H. Chen, D. Zhang, L. Shang, B. Zhang, Y. Zhao, Tailoring Materials with Specific Wettability in Biomedical Engineering, *Advanced Science* 8 (2021) 2100126. <https://doi.org/10.1002/advs.202100126>.
- [124] M. Lewin, A. Mey-Marom, R. Frank, Surface free energies of polymeric materials, additives and minerals, *Polymers for Advanced Technologies* 16 (2005) 429–441. <https://doi.org/10.1002/pat.605>.
- [125] V. Khoshakava, M.R. Kamal, Effect of Surface Energy on Dispersion and Mechanical Properties of Polymer/Nanocrystalline Cellulose Nanocomposites, *Biomacromolecules* 14 (2013). <https://doi.org/10.1021/bm400784j>.
- [126] P. Gümpel, A. Hörtnagl, Influence of the surface condition on corrosion behavior of stainless steel, *Materials and Corrosion* 67 (2016) 607–620. <https://doi.org/10.1002/maco.201608893>.
- [127] W. Li, D.Y. Li, Influence of surface morphology on corrosion and electronic behavior, *Acta Materialia* 54 (2006) 445–452. <https://doi.org/10.1016/j.actamat.2005.09.017>.
- [128] S.Y. Misyura, The dependence of drop evaporation rate and wettability on corrosion kinetics, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 610 (2021) 125735. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.125735>.
- [129] V. Gentil, *Corrosão*, 6th ed., LTC, Rio de Janeiro, 2017.
- [130] X. Wang, J. Wang, C. Fu, Y. Gao, Determination of Corrosion Type by Wavelet-Based Fractal Dimension from Electrochemical Noise, *International Journal of Electrochemical Science* 8 (2013) 7211–7222. [https://doi.org/10.1016/S1452-3981\(23\)14840-1](https://doi.org/10.1016/S1452-3981(23)14840-1).
- [131] Crevice Corrosion Behaviors Between CFRP and Stainless Steel 316L for Automotive Applications, *Acta Metallurgica Sinica* (2024). <https://doi.org/10.1007/s40195-019-00909-z>.
- [132] H. Zhang, Y. Zhao, J. Liu, J. Xu, D. Guo, C. Li, X. Zhou, P. Yang, S. Zhang, Impact of rare earth elements on micro-galvanic corrosion in magnesium alloys: A comparative study of Mg-Nd and Mg-Y binary alloys, *International Journal of Electrochemical Science* 18 (2023) 100160. <https://doi.org/10.1016/j.ijoes.2023.100160>.
- [133] Y. Zhou, S. Mahmood, D.L. Engelberg, Brass dezincification with a bipolar electrochemistry technique, *Surfaces and Interfaces* 22 (2021) 100865. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2020.100865>.
- [134] W. Aperador, C. Amaya, J.C. Caicedo, Determination of the Best Behavior of [TiCN/TiNbCN]<sub>n</sub> Multilayer Coating on Erosion–Corrosion Resistance with Varying Particle Angular Velocity, *International Journal of Electrochemical Science* 8 (2013) 5275–5286. [https://doi.org/10.1016/S1452-3981\(23\)14681-5](https://doi.org/10.1016/S1452-3981(23)14681-5).
- [135] N. Eliaz, Corrosion of Metallic Biomaterials: A Review, *Materials* 12 (2019) 407. <https://doi.org/10.3390/ma12030407>.
- [136] S. Hiromoto, Corrosion of metallic biomaterials, in: *Metals for Biomedical Devices*, Elsevier, 2019: pp. 131–152. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102666-3.00004-3>.
- [137] N. Dai, L.-C. Zhang, J. Zhang, Q. Chen, M. Wu, Corrosion behavior of selective laser melted Ti-6Al-4 V alloy in NaCl solution, *Corrosion Science* 102 (2016) 484–489. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2015.10.041>.
- [138] I. Milošev, H.-H. Strehblow, The composition of the surface passive film formed on CoCrMo alloy in simulated physiological solution, *Electrochimica Acta* 48 (2003) 2767–2774. [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(03\)00396-7](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(03)00396-7).
- [139] N.B. Hakiki, S. Boudin, B. Rondot, M. Da Cunha Belo, The electronic structure of passive films formed on stainless steels, *Corrosion Science* 37 (1995) 1809–1822. [https://doi.org/10.1016/0010-938X\(95\)00084-W](https://doi.org/10.1016/0010-938X(95)00084-W).

- [140] F. Contu, B. Elsener, H. Böhni, Corrosion behaviour of CoCrMo implant alloy during fretting in bovine serum, *Corrosion Science* 47 (2005) 1863–1875. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2004.09.003>.
- [141] A. Carek, L. Slokar Benić, V. Bubalo, Metal Ions Release from Welded Co—Cr Dental Alloys, *Materials* 16 (2023) 3398. <https://doi.org/10.3390/ma16093398>.
- [142] S. Minagar, C. Berndt, C. Wen, Fabrication and Characterization of Nanoporous Niobia, and Nanotubular Tantala, Titania and Zirconia via Anodization, *JFB* 6 (2015) 153–170. <https://doi.org/10.3390/jfb6020153>.
- [143] D. Prando, A. Brenna, F.M. Bolzoni, M.V. Diamanti, M. Peddeferri, M. Ormellese, Electrochemical Anodizing Treatment to Enhance Localized Corrosion Resistance of Pure Titanium, *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials* 15 (2017) 19–24. <https://doi.org/10.5301/jabfm.5000344>.
- [144] Electrochemistry Dictionary and Encyclopedia, (n.d.). <https://knowledge.electrochem.org/ed/dict.htm> (accessed February 18, 2024).
- [145] G.D. Sulka, Introduction to anodization of metals, in: *Nanostructured Anodic Metal Oxides*, Elsevier, 2020: pp. 1–34. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816706-9.00001-7>.
- [146] B. Hu, W. Zhang, C. Yu, Z. Zheng, Y. Chen, J. Wang, J. Liu, K. Ma, W. Ren, Electrochemical Synthesis of Al/CuO Thermite Films on Copper Substrates, *Ind. Eng. Chem. Res.* 58 (2019) 7131–7138. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.8b05959>.
- [147] M. Szkoda, K. Trzciński, K. Siuzdak, A. Lisowska-Oleksiak, Photocatalytical properties of maze-like MoO<sub>3</sub> microstructures prepared by anodization of Mo plate, *Electrochimica Acta* 228 (2017) 139–145. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.01.064>.
- [148] S. Yang, Y. Aoki, H. Habazaki, Effect of electrolyte temperature on the formation of self-organized anodic niobium oxide microcones in hot phosphate–glycerol electrolyte, *Applied Surface Science* 257 (2011) 8190–8195. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2011.01.041>.
- [149] C. Yao, E.B. Slamovich, T.J. Webster, Enhanced osteoblast functions on anodized titanium with nanotube-like structures, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* (2007).
- [150] A. Latecola, G.A. Longhitano, L.H.M. Antunes, A.L. Jardini, E.D.C. Miguel, M. Béréš, C.S. Lambert, T.N. Andrade, R.L. Buchaim, D.V. Buchaim, K.T. Pomini, J.A. Dias, D.R.M.S. Spressão, M. Felix, G.B.C. Cardoso, M.R. Da Cunha, Osseointegration Improvement of Co-Cr-Mo Alloy Produced by Additive Manufacturing, *Pharmaceutics* 13 (2021) 724. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050724>.
- [151] C. Örnek, C. Leygraf, J. Pan, Passive film characterization of duplex stainless steel using scanning Kelvin probe force microscopy in combination with electrochemical measurements, *Npj Mater Degrad* 3 (2019) 8. <https://doi.org/10.1038/s41529-019-0071-8>.
- [152] A. Bahmani, S. Arthanari, K.S. Shin, Corrosion behavior of Mg–Mn–Ca alloy: Influences of Al, Sn and Zn, *Journal of Magnesium and Alloys* 7 (2019) 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.jma.2018.11.004>.
- [153] C. Örnek, C. Leygraf, J. Pan, On the Volta potential measured by SKPFM – fundamental and practical aspects with relevance to corrosion science, *Corrosion Engineering, Science and Technology* 54 (2019) 185–198. <https://doi.org/10.1080/1478422X.2019.1583436>.
- [154] H.-J. Butt, B. Cappella, M. Kappl, Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications, *Surface Science Reports* 59 (2005) 1–152. <https://doi.org/10.1016/j.surfrep.2005.08.003>.

- [155] F.A. Carvalho, N.C. Santos, Atomic force microscopy-based force spectroscopy — biological and biomedical applications, *IUBMB Life* 64 (2012) 465–472. <https://doi.org/10.1002/iub.1037>.
- [156] B. Cappella, G. Dietler, Force-distance curves by atomic force microscopy, *Surface Science Reports* 34 (1999) 1–104. [https://doi.org/10.1016/S0167-5729\(99\)00003-5](https://doi.org/10.1016/S0167-5729(99)00003-5).
- [157] P. Schwerdtfeger, D.J. Wales, 100 Years of the Lennard-Jones Potential, *J. Chem. Theory Comput.* 20 (2024) 3379–3405. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.4c00135>.
- [158] A. Kwaśniewska, M. Świetlicki, A. Prószyński, G. Gładyszewski, The Quantitative Nanomechanical Mapping of Starch/Kaolin Film Surfaces by Peak Force AFM, *Polymers* 13 (2021) 244. <https://doi.org/10.3390/polym13020244>.
- [159] F.L. Portilho, Pinto, Suyene Rocha, de Barros, Aline Oliveira da Silva, Helal-Neto, Edward, dos Santos, Sofia Nascimento, Bernardes, Emerson Soares, Ilem-Ozdemir, Derya, Asikoglu, Makbule, Alencar, Luciana Magalhães Rebelo, dos Santos, Clenilton Costa, Ricci-Junior, Eduardo, Sancenón, Félix, Martínez-Máñez, Ramón, R. and Santos-Oliveira, In loco retention effect of magnetic core mesoporous silica nanoparticles doped with trastuzumab as intralesional nanodrug for breast cancer, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* 46 (2018) 725–733. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1508030>.
- [160] M. Temiryazeva, E. Mamonov, A. Maydykovskiy, A. Temiryazev, T. Murzina, Magnetic Domain Structure of Lu<sub>2</sub>.1Bi<sub>0.9</sub>Fe<sub>5</sub>O<sub>12</sub> Epitaxial Films Studied by Magnetic Force Microscopy and Optical Second Harmonic Generation, *Magnetochemistry* 8 (2022) 180. <https://doi.org/10.3390/magnetochemistry8120180>.
- [161] T.I. Zubar, V.M. Fedosyuk, S.V. Trukhanov, D.I. Tishkevich, D. Michels, D. Lyakhov, A.V. Trukhanov, Method of surface energy investigation by lateral AFM: application to control growth mechanism of nanostructured NiFe films, *Sci Rep* 10 (2020) 14411. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71416-w>.
- [162] L.M. Rebelo, P.N. Cavalcante, J.S. De Sousa, J. Mendes Filho, S.A. Soares, J.B. Soares, Micromorphology and microrheology of modified bitumen by atomic force microscopy, *Road Materials and Pavement Design* 15 (2014) 300–311. <https://doi.org/10.1080/14680629.2013.869885>.
- [163] B. Da Silva Batista, S.F. Rodrigues, J.L. Cardoso, M.V.G. Rodrigues, A.S. De Menezes, R. Santos-Oliveira, L.M. Da Silva, L.M.R. Alencar, Tantalum's role in the microstructure and its influence on corrosive behavior in Co-Cr-Ta alloy, *Journal of Alloys and Compounds* 1010 (2025) 177216. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2024.177216>.
- [164] C. Örnek, J. Walton, T. Hashimoto, T.L. Ladwein, S.B. Lyon, D.L. Engelberg, Characterization of 475°C Embrittlement of Duplex Stainless Steel Microstructure via Scanning Kelvin Probe Force Microscopy and Magnetic Force Microscopy, *J. Electrochem. Soc.* 164 (2017) C207–C217. <https://doi.org/10.1149/2.0311706jes>.
- [165] R. Hausbrand, M. Stratmann, M. Rohwerder, The Physical Meaning of Electrode Potentials at Metal Surfaces and Polymer/Metal Interfaces: Consequences for Delamination, *J. Electrochem. Soc.* 155 (2008) C369. <https://doi.org/10.1149/1.2926589>.
- [166] S. Sadewasser, Experimental Technique and Working Modes, in: S. Sadewasser, T. Glatzel (Eds.), *Kelvin Probe Force Microscopy: Measuring and Compensating Electrostatic Forces*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2012: pp. 7–24. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-22566-6\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-22566-6_2).
- [167] S.-M. Baek, B. Kim, S. Park, Influence of Intermetallic Particles on the Corrosion Properties of Extruded ZK60 Mg Alloy Containing Cu, *Metals* 8 (2018) 323. <https://doi.org/10.3390/met8050323>.

- [168] V. Guillaumin, P. Schmutz, G.S. Frankel, Characterization of Corrosion Interfaces by the Scanning Kelvin Probe Force Microscopy Technique, *J. Electrochem. Soc.* 148 (2001) B163. <https://doi.org/10.1149/1.1359199>.
- [169] K.P. Kepp, Chemical Causes of Metal Nobleness, *ChemPhysChem* 21 (2020) 360–369. <https://doi.org/10.1002/cphc.202000013>.
- [170] D. Lee, B. Kim, S. Lee, S.-M. Baek, J.C. Kim, H.-T. Son, J.G. Lee, K.-S. Lee, S.S. Park, Enhanced corrosion resistance of Mg–Sn–Zn–Al alloy by Y microalloying, *Scripta Materialia* 163 (2019) 125–129. <https://doi.org/10.1016/j.scriptamat.2019.01.015>.
- [171] P.H. Davis, K. Robles, K. Livingston, S. Johns, V.A. Ravi, E. Graugnard, M.F. Hurley, Phase Separation in Ti-6Al-4V Alloys with Boron Additions for Biomedical Applications: Scanning Kelvin Probe Force Microscopy Investigation of Microgalvanic Couples and Corrosion Initiation, *JOM* 69 (2017) 1446–1454. <https://doi.org/10.1007/s11837-017-2378-7>.
- [172] X. Tong, Y. Han, R. Zhou, J. Zeng, C. Wang, Y. Yuan, L. Zhu, S. Huang, J. Ma, Y. Li, C. Wen, J. Lin, Mechanical properties, corrosion and degradation behaviors, and in vitro cytocompatibility of a biodegradable Zn–5La alloy for bone-implant applications, *Acta Biomaterialia* 169 (2023) 641–660. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.07.061>.
- [173] Thingiverse.com, Thingiverse - Digital Designs for Physical Objects, Thingiverse (n.d.). <https://www.thingiverse.com/> (accessed June 24, 2024).
- [174] B.S. Batista, M.M. Alencar Filho, Á.R.S. França, L.M.R. Alencar, Eletrodo para Célula Eletroquímica - Suporte de Amostras 3D, Thingiverse (2025). <https://www.thingiverse.com/thing:7018643> (accessed May 11, 2025).
- [175] A.F. Stalder, G. Kulik, D. Sage, L. Barbieri, P. Hoffmann, A snake-based approach to accurate determination of both contact points and contact angles, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 286 (2006) 92–103. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.03.008>.
- [176] E.O. Ningrum, I. Khoiroh, H.I. Nastiti, R.A. Affan, A.D. Karisma, E. Agustiani, A. Surono, H. Suroto, S. Suprpto, L.S. Taji, S. Widiyanto, Surface Coating Effect on Corrosion Resistance of Titanium Alloy Bone Implants by Anodizing Method, *IJTech* 14 (2023) 749. <https://doi.org/10.14716/ijtech.v14i4.6146>.
- [177] T. Kokubo, H. Takadama, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials* 27 (2006) 2907–2915. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>.
- [178] X. Gai, C. Liu, G. Wang, Y. Qin, C. Fan, J. Liu, Y. Shi, A novel method for evaluating the dynamic biocompatibility of degradable biomaterials based on real-time cell analysis, *Regen Biomater* 7 (2020) 321–329. <https://doi.org/10.1093/rb/rbaa017>.
- [179] C. Padilha Fontoura, P. Ló Bertele, M. Machado Rodrigues, A. Elisa Dotta Maddalozzo, R. Frassini, C. Silvestrin Celi Garcia, S. Tomaz Martins, J. da S. Crespo, C.A. Figueroa, M. Roesch-Ely, C. Aguzzoli, Comparative Study of Physicochemical Properties and Biocompatibility (L929 and MG63 Cells) of TiN Coatings Obtained by Plasma Nitriding and Thin Film Deposition, *ACS Biomater. Sci. Eng.* 7 (2021) 3683–3695. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.1c00393>.
- [180] X. Chang, S. Hallais, K. Danas, S. Roux, PeakForce AFM Analysis Enhanced with Model Reduction Techniques, *Sensors* 23 (2023) 4730. <https://doi.org/10.3390/s23104730>.
- [181] E.A. Owen, D.M. Jones, Effect of Grain Size on the Crystal Structure of Cobalt, *Proc. Phys. Soc. B* 67 (1954) 456–466. <https://doi.org/10.1088/0370-1301/67/6/302>.
- [182] A.W. Hull, X-Ray Crystal Analysis of Thirteen Common Metals, *Phys. Rev.* 17 (1921) 571–588. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.17.571>.
- [183] A. Raman, Roentgenographische untersuchungen im system tantal-kobalt, *Metall* 21 (1967) 900–903.



- [184] ASM alloy center database, (n.d.). <https://bdec.dotlib.com.br/inicioasm/application/alloyphasediagramdatabase> (accessed August 10, 2023).
- [185] B.S. Murty, J.W. Yeh, S. Ranganathan, Intermetallics, Interstitial Compounds and Metallic Glasses in High-Entropy Alloys, in: High Entropy Alloys, Elsevier, 2014: pp. 119–131. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800251-3.00007-9>.
- [186] V.G. Dyukov, S.A. Nepijko, G. Schönhense, Voltage Contrast Modes in a Scanning Electron Microscope and Their Application, in: Advances in Imaging and Electron Physics, Elsevier, 2016: pp. 165–246. <https://doi.org/10.1016/bs.aiep.2016.04.010>.
- [187] K.C. Antony, Wear-Resistant Cobalt-Base Alloys, JOM 35 (1983) 52–60. <https://doi.org/10.1007/BF03338205>.
- [188] L. Bolzoni, F. Yang, X-ray diffraction for phase identification in Ti-based alloys: benefits and limitations, Phys. Scr. 99 (2024) 065024. <https://doi.org/10.1088/1402-4896/ad4785>.
- [189] C.-M. Lin, C.-C. Juan, C.-H. Chang, C.-W. Tsai, J.-W. Yeh, Effect of Al addition on mechanical properties and microstructure of refractory AlxHfNbTaTiZr alloys, Journal of Alloys and Compounds 624 (2015) 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2014.11.064>.
- [190] J.P. Couzinié, G. Dirras, L. Perrière, T. Chauveau, E. Leroy, Y. Champion, I. Guillot, Microstructure of a near-equi-molar refractory high-entropy alloy, Materials Letters 126 (2014) 285–287. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.04.062>.
- [191] M. Zhang, X. Zhou, J. Li, Microstructure and Mechanical Properties of a Refractory CoCrMoNbTi High-Entropy Alloy, J. of Materi Eng and Perform 26 (2017) 3657–3665. <https://doi.org/10.1007/s11665-017-2799-z>.
- [192] J.V. Giacchi, C.N. Morando, O. Fornaro, H.A. Palacio, Microstructural characterization of as-cast biocompatible Co–Cr–Mo alloys, Materials Characterization 62 (2011) 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.matchar.2010.10.011>.
- [193] F. Stein, A. Leineweber, Laves phases: a review of their functional and structural applications and an improved fundamental understanding of stability and properties, J Mater Sci 56 (2021) 5321–5427. <https://doi.org/10.1007/s10853-020-05509-2>.
- [194] J.D. Bressan, D.P. Daros, A. Sokolowski, R.A. Mesquita, C.A. Barbosa, Influence of hardness on the wear resistance of 17-4 PH stainless steel evaluated by the pin-on-disc testing, Journal of Materials Processing Technology 205 (2008) 353–359. <https://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2007.11.251>.
- [195] P. Girard, Voltage contrast, J. Phys. IV France 01 (1991) C6-259–C6-270. <https://doi.org/10.1051/jp4:1991640>.
- [196] B. Mingo, R. Arrabal, M. Mohedano, C.L. Mendis, R. Del Olmo, E. Matykina, N. Hort, M.C. Merino, A. Pardo, Corrosion of Mg-9Al alloy with minor alloying elements (Mn, Nd, Ca, Y and Sn), Materials & Design 130 (2017) 48–58. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2017.05.048>.
- [197] M. Iannuzzi, K.L. Vasanth, G.S. Frankel, Unusual Correlation between SKPFM and Corrosion of Nickel Aluminum Bronzes, J. Electrochem. Soc. 164 (2017) C488–C497. <https://doi.org/10.1149/2.0391709jes>.
- [198] P. Schmutz, G.S. Frankel, Characterization of AA2024-T3 by Scanning Kelvin Probe Force Microscopy, J. Electrochem. Soc. 145 (1998) 2285–2295. <https://doi.org/10.1149/1.1838633>.
- [199] M. Rohwerder, F. Turcu, High-resolution Kelvin probe microscopy in corrosion science: Scanning Kelvin probe force microscopy (SKPFM) versus classical scanning Kelvin probe (SKP), Electrochimica Acta 53 (2007) 290–299. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2007.03.016>.

- [200] H. Zitter, H. Plenk, The electrochemical behavior of metallic implant materials as an indicator of their biocompatibility, *J. Biomed. Mater. Res.* 21 (1987) 881–896. <https://doi.org/10.1002/jbm.820210705>.
- [201] D.O. Halwani, P.G. Anderson, B.C. Brott, A.S. Anayiotos, J.E. Lemons, Clinical device-related article surface characterization of explanted endovascular stents: Evidence of *in vivo* corrosion, *J. Biomed Mater Res* 95B (2010) 225–238. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31698>.
- [202] Y.L. Zhou, M. Niinomi, T. Akahori, H. Fukui, H. Toda, Corrosion resistance and biocompatibility of Ti–Ta alloys for biomedical applications, *Materials Science and Engineering: A* 398 (2005) 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.msea.2005.03.032>.
- [203] R.I.M. Asri, W.S.W. Harun, M. Samykano, N.A.C. Lah, S.A.C. Ghani, F. Tarlochan, M.R. Raza, Corrosion and surface modification on biocompatible metals: A review, *Materials Science and Engineering: C* 77 (2017) 1261–1274. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.102>.
- [204] V.S. Saji, H.-C. Choe, Electrochemical behavior of Co-Cr and Ni-Cr dental cast alloys, *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* 19 (2009) 785–790. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(08\)60350-7](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(08)60350-7).
- [205] M.R. Haftbaradaran-Esfahani, M. Ahmadian, M. Atapour, Corrosion and Metal Release Investigation of a Porous Biomedical Vitallium Alloy Coated with 58S Sol-Gel Bioactive Glass, *J. of Materi Eng and Perform* 31 (2022) 10010–10020. <https://doi.org/10.1007/s11665-022-07017-7>.
- [206] A. Fratila, C. Jimenez-Marcos, J.C. Mirza-Rosca, A. Saceleanu, Mechanical properties and biocompatibility of various cobalt chromium dental alloys, *Materials Chemistry and Physics* 304 (2023) 127867. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2023.127867>.
- [207] D. Kong, C. Dong, X. Ni, L. Zhang, H. Luo, R. Li, L. Wang, C. Man, X. Li, The passivity of selective laser melted 316L stainless steel, *Applied Surface Science* 504 (2020) 144495. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.144495>.
- [208] S. Lee, H. Xu, H. Xu, J. Neuefeind, Crystal Structure of Moganite and Its Anisotropic Atomic Displacement Parameters Determined by Synchrotron X-ray Diffraction and X-ray/Neutron Pair Distribution Function Analyses, *Minerals* 11 (2021) 272. <https://doi.org/10.3390/min11030272>.
- [209] N.C. Webb, The crystal structure of  $\beta$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, *Acta Cryst* 21 (1966) 942–948. <https://doi.org/10.1107/S0365110X66004225>.
- [210] S.B. Hendricks, M.E. Jefferson, V.M. Mosley, The Crystal Structures of some Natural and Synthetic Apatite-Like Substances, *Zeitschrift Für Kristallographie - Crystalline Materials* 81 (1932) 352–369. <https://doi.org/10.1524/zkri.1932.81.1.352>.
- [211] M. Pujari-Palmer, S. Pujari-Palmer, X. Lu, T. Lind, H. Melhus, T. Engstrand, M. Karlsson-Ott, H. Engqvist, Pyrophosphate Stimulates Differentiation, Matrix Gene Expression and Alkaline Phosphatase Activity in Osteoblasts, *PLoS ONE* 11 (2016) e0163530. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163530>.
- [212] R.A. Terkeltaub, Inorganic pyrophosphate generation and disposition in pathophysiology, *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 281 (2001) C1–C11. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.281.1.C1>.
- [213] A.H. Aparecida, M.V.L. Fook, M.L. dos Santos, A.C. Guastaldi, Estudo da influência dos íons K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, SO<sub>4</sub>(2-) e CO<sub>3</sub>(2-) na cristalização biomimética de fosfato de cálcio amorfo (ACP) e conversão a fosfato octacálcico (OCP), *Quím. Nova* 30 (2007) 892–896. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000400024>.
- [214] K. Uryu, Y. Kakei, S. Sendo, I. Goto, K. Akashi, K. Nishimura, T. Shirai, J. Hirota, D. Takeda, M. Shigeoka, A. Kimoto, T. Hasegawa, J. Saegusa, M. Akashi, Zymosan-

- Treated SKG Mice: Assessing Effects of Systemic Inflammation on the Temporomandibular Joint, *Oral Diseases* n/a (n.d.). <https://doi.org/10.1111/odi.15242>.
- [215] S. Deng, X. Yan, P. Xiong, G. Li, T. Ku, N. Liu, C. Liao, G. Jiang, Nanoscale cobalt-based metal-organic framework impairs learning and memory ability without noticeable general toxicity: First in vivo evidence, *Science of The Total Environment* 771 (2021) 145063. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145063>.
- [216] A. Weber, P. Wasiliew, M. Kracht, Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) Processing Pathway, *Sci. Signal.* 3 (2010). <https://doi.org/10.1126/scisignal.3105cm2>.
- [217] W. Yang, X. Bai, X. Luan, J. Min, X. Tian, H. Li, H. Li, W. Sun, W. Liu, W. Fan, W. Liu, L. Sun, Delicate regulation of IL-1 $\beta$ -mediated inflammation by cyclophilin A, *Cell Reports* 38 (2022) 110513. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110513>.
- [218] V. Pretre, D. Papadopoulos, J. Regard, M. Pelletier, J. Woo, Interleukin-1 (IL-1) and the inflammasome in cancer, *Cytokine* 153 (2022) 155850. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2022.155850>.
- [219] T. Hirano, IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer, *International Immunology* 33 (2021) 127–148. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxaa078>.
- [220] N. Broman, K. Rantasärkkä, T. Feuth, M. Valtonen, M. Waris, U. Hohenthal, E. Rintala, A. Karlsson, H. Marttila, V. Peltola, T. Vuorinen, J. Oksi, IL-6 and other biomarkers as predictors of severity in COVID-19, *Annals of Medicine* 53 (2021) 410–412. <https://doi.org/10.1080/07853890.2020.1840621>.
- [221] M. Jarlborg, C. Gabay, Systemic effects of IL-6 blockade in rheumatoid arthritis beyond the joints, *Cytokine* 149 (2022) 155742. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155742>.
- [222] R.C. Mesquita, J.B. Serra, E.S. Silva, S.F. Rodrigues, B.S. Batista, L.M.R. Alencar, C.C. Melo, A.S. Menezes, A.O. Lobo, F.R. Marciano, Optimization of nanostructured surfaces of the  $\beta$ -alloy Ti-35Nb-5Ta: The effect of electrochemical anodization on the functional performance of titanium dioxide nanotubes, *Surface and Coatings Technology* 503 (2025) 131974. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2025.131974>.
- [223] L.-N. Wang, J.-L. Luo, Fabrication and mechanical properties of anodized zirconium dioxide nanotubular arrays, *J. Phys. D: Appl. Phys.* 44 (2011) 075301. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/44/7/075301>.
- [224] S. Mei, H. Wang, W. Wang, L. Tong, H. Pan, C. Ruan, Q. Ma, M. Liu, H. Yang, L. Zhang, Y. Cheng, Y. Zhang, L. Zhao, P.K. Chu, Antibacterial effects and biocompatibility of titanium surfaces with graded silver incorporation in titania nanotubes, *Biomaterials* 35 (2014) 4255–4265. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.02.005>.
- [225] M. Bigerelle, S. Giljean, K. Anselme, Existence of a typical threshold in the response of human mesenchymal stem cells to a peak and valley topography, *Acta Biomaterialia* 7 (2011) 3302–3311. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.05.013>.
- [226] D. Gallant, M. Pézolet, S. Simard, Optical and Physical Properties of Cobalt Oxide Films Electrogenerated in Bicarbonate Aqueous Media, *J. Phys. Chem. B* 110 (2006) 6871–6880. <https://doi.org/10.1021/jp056689h>.
- [227] Y. Nezzari, W. Darenfad, K. Mirouh, N. Guermat, N. Bouarissa, R. Merah, Hydrophobic nickel doped Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> sprayed thin films as solar absorber, *Opt Quant Electron* 56 (2024) 951. <https://doi.org/10.1007/s11082-024-06930-6>.
- [228] A.S.O. Gomes, N. Yaghini, A. Martinelli, E. Ahlberg, A micro-Raman spectroscopic study of Cr(OH)<sub>3</sub> and Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles obtained by the hydrothermal method, *Journal of Raman Spectroscopy* 48 (2017) 1256–1263. <https://doi.org/10.1002/jrs.5198>.
- [229] W.-X. Zhang, Y. Liang, J.-W. Luo, A.-P. Jia, Y.-J. Wang, J.-Q. Lu, M.-F. Luo, Morphological effects of ordered Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanorods and Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles on

- fluorination of 2-chloro-1,1,1-trifluoroethane, *J Mater Sci* 51 (2016) 6488–6496. <https://doi.org/10.1007/s10853-016-9948-x>.
- [230] J. Fan, Y. Cheng, Z. Xie, L. Jin, G. Hu, J. Lu, M. Luo, Y. Wang, Hydrogen adsorption on high surface area  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  materials, *Phys. Status Solidi A* 210 (2013) 1920–1924. <https://doi.org/10.1002/pssa.201329229>.
- [231] T.J. Dines, S. Inglis, Raman spectroscopic study of supported chromium(vi) oxide catalysts, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 5 (2003) 1320–1328. <https://doi.org/10.1039/b211857b>.
- [232] Y. Wang, L. Li, Y. Zhang, N. Zhang, S. Fang, G. Li, Crystalline-to-amorphous transformation of tantalum-containing oxides for a superior performance in unassisted photocatalytic water splitting, *International Journal of Hydrogen Energy* 42 (2017) 21006–21015. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.07.064>.
- [233] N. Zhang, L. Li, G. Li, Nanosized amorphous tantalum oxide: a highly efficient photocatalyst for hydrogen evolution, *Res Chem Intermed* 43 (2017) 5011–5024. <https://doi.org/10.1007/s11164-017-3052-y>.
- [234] A.E. Nel, L. Mädler, D. Velegol, T. Xia, E.M.V. Hoek, P. Somasundaran, F. Klaessig, V. Castranova, M. Thompson, Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface, *Nature Mater* 8 (2009) 543–557. <https://doi.org/10.1038/nmat2442>.
- [235] W. Jiang, B.Y.S. Kim, J.T. Rutka, W.C.W. Chan, Nanoparticle-mediated cellular response is size-dependent, *Nat Nanotechnol* 3 (2008) 145–150. <https://doi.org/10.1038/nnano.2008.30>.
- [236] C.-L. Chou, A.L. Rivera, V. Williams, J.F. Welter, J.M. Mansour, J.A. Drazba, T. Sakai, H. Baskaran, Micrometer scale guidance of mesenchymal stem cells to form structurally oriented large-scale tissue engineered cartilage, *Acta Biomaterialia* 60 (2017) 210–219. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.07.016>.
- [237] M. Järn, S. Areva, V. Pore, J. Peltonen, M. Linden, Topography and Surface Energy Dependent Calcium Phosphate Formation on Sol–Gel Derived  $\text{TiO}_2$  Coatings, *Langmuir* 22 (2006) 8209–8213. <https://doi.org/10.1021/la060966+>.
- [238] K. Liu, X. Yao, L. Jiang, Recent developments in bio-inspired special wettability, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 3240. <https://doi.org/10.1039/b917112f>.
- [239] Q. Tang, Y. Fan, J. Sun, W. Fan, B. Zhao, Z. Yin, Y. Cao, Y. Han, B. Su, C. Yang, P. Yu, C. Ning, L. Chen, Remodel Heterogeneous Electrical Microenvironment at Nano-Scale Interface Optimizes Osteogenesis by Coupling of Immunomodulation and Angiogenesis, *Small* 21 (2025) 2406090. <https://doi.org/10.1002/sml.202406090>.
- [240] G. Huang, F. Li, X. Zhao, Y. Ma, Y. Li, M. Lin, G. Jin, T.J. Lu, G.M. Genin, F. Xu, Functional and Biomimetic Materials for Engineering of the Three-Dimensional Cell Microenvironment, *Chem. Rev.* 117 (2017) 12764–12850. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00094>.
- [241] Y. Bai, X. Zheng, X. Zhong, Q. Cui, S. Zhang, X. Wen, B. Heng, S. He, Y. Shen, J. Zhang, Y. Wei, X. Deng, X. Zhang, Manipulation of Heterogeneous Surface Electric Potential Promotes Osteogenesis by Strengthening RGD Peptide Binding and Cellular Mechanosensing, *Advanced Materials* 35 (2023). <https://doi.org/10.1002/adma.202209769>.
- [242] A. Kotwal, C.E. Schmidt, Electrical stimulation alters protein adsorption and nerve cell interactions with electrically conducting biomaterials, *Biomaterials* 22 (2001) 1055–1064. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(00\)00344-6](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(00)00344-6).
- [243] NanoScope Analysis v1.40r1 Now Available - Free Download - The Nanoscale World, (n.d.). <http://nanoscaleworld.bruker-axs.com/nanoscaleworld/forums/t/812.aspx> (accessed May 25, 2025).

- [244] Bruker AFM Probes - PFQNE-AL, (n.d.). [https://www.brukerafmprobes.com/p-3817-pfqne-al.aspx?srsltid=AfmBOopHiFYor8CgGL9KGNdgm\\_ZGJUGfp7YYCMh8KyswWbXMnZkJ2LnU](https://www.brukerafmprobes.com/p-3817-pfqne-al.aspx?srsltid=AfmBOopHiFYor8CgGL9KGNdgm_ZGJUGfp7YYCMh8KyswWbXMnZkJ2LnU) (accessed May 25, 2025).
- [245] R. Tran, X.-G. Li, J.H. Montoya, D. Winston, K.A. Persson, S.P. Ong, Anisotropic work function of elemental crystals, *Surface Science* 687 (2019) 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.susc.2019.05.002>.
- [246] A. Kiejna, K.F. Wojciechowski, Work function of metals: Relation between theory and experiment, *Progress in Surface Science* 11 (1981) 293–338. [https://doi.org/10.1016/0079-6816\(81\)90003-4](https://doi.org/10.1016/0079-6816(81)90003-4).

## APÊNDICES

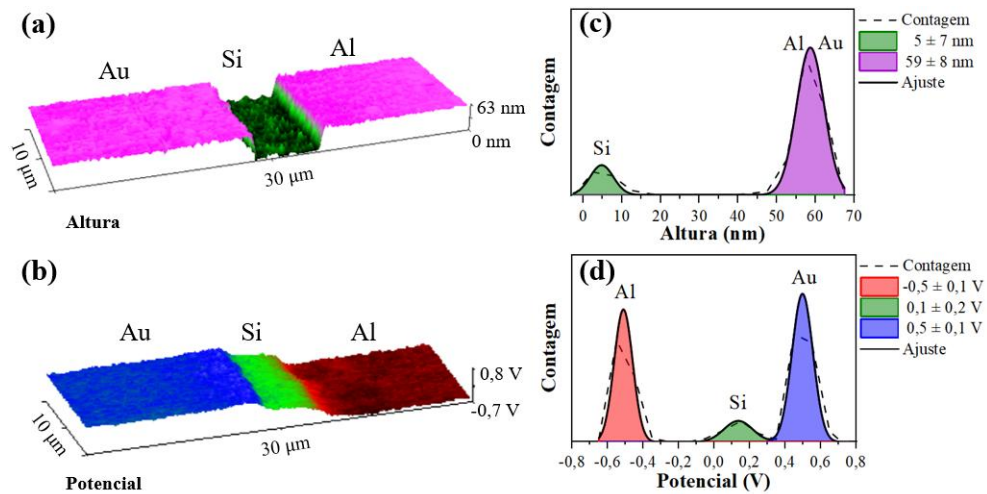
### Apêndice A - Conversão dos dados brutos de potencial em função trabalho

A literatura científica atual não descreve uma metodologia para utilizar a opção de conversão de potencial obtido por KPFM em valores de função trabalho (*Set input offset*), disponível no *software* Nanoscope Analysis 2.0 (Bruker) [243]. Embora essa conversão seja tecnicamente viável por meio do *software*, são necessárias descrições detalhadas sobre sua utilização, uma vez que há relação entre o potencial e as funções trabalho da sonda e da amostra (subseção 3.4.1). Retomando a Equação 12 (Seção 3), tem-se que:

$$V_{CPD} = \frac{\Phi_1 - \Phi_2}{e}, \quad \text{Equação 12}$$

onde  $V_{CPD}$  é a diferença de potencial de contato entre a amostra e a ponta,  $e$  é a carga elementar,  $\Phi_1$  e  $\Phi_2$  são as funções trabalho da amostra e da ponta, respectivamente.

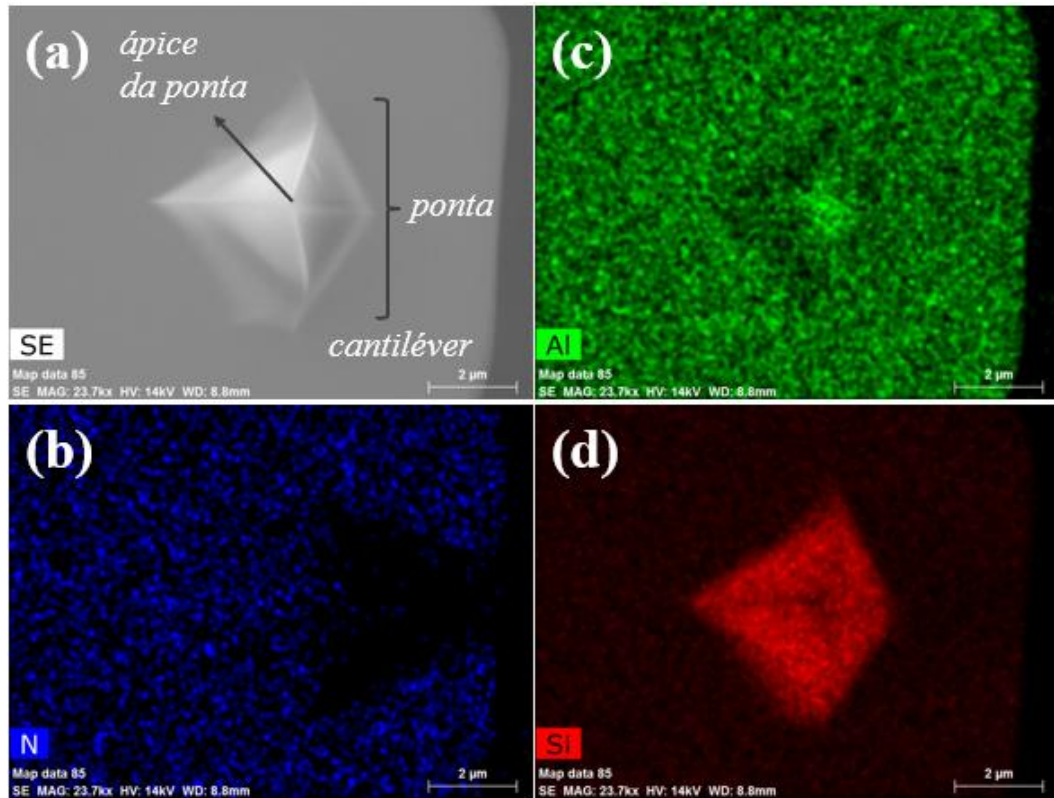
Durante a caracterização das amostras desenvolvidas neste trabalho, buscou-se um protocolo para medir a função trabalho das amostras a partir da medida de KPFM. Como etapa de validação, foi realizada a conversão dos dados de potencial ( $V_{CPD}$ ) em função trabalho para uma amostra de referência de alumínio-silício-ouro (Al-Si-Au), medida em ar (Figura A1). A Figura A1 mostra os mapas de topografia (a) e de potencial (b), bem como a distribuição dos dados correspondentes (c-d).



**Figura A1. Dados da grade Al-Si-Au obtidos a partir da técnica de KPFM: mapas de (a) topografia e de (b) potencial e distribuições em histograma da (c) altura e do (d) potencial.**

O histograma de altura (Figura A1-c) mostra a diferença topográfica da grade, onde o Si ocupa a parte mais baixa, enquanto Au e Al a parte mais alta. O histograma de potencial (Figura A1-d), por sua vez, revela distinções nas propriedades elétricas dos três elementos, evidenciadas pelo ajuste de três gaussianas. Os valores médios de  $V_{CPD}$  obtidos foram:  $0,50 \pm 0,14$  V (Au),  $0,14 \pm 0,19$  V (Si) e  $-0,51 \pm 0,12$  V (Al), medidos em relação à ponta. Nesta configuração de medição (ponta PFQNE-Al, ambiente atmosférico, polarização aplicada na ponta), observa-se que o potencial mais positivo está associado ao Au.

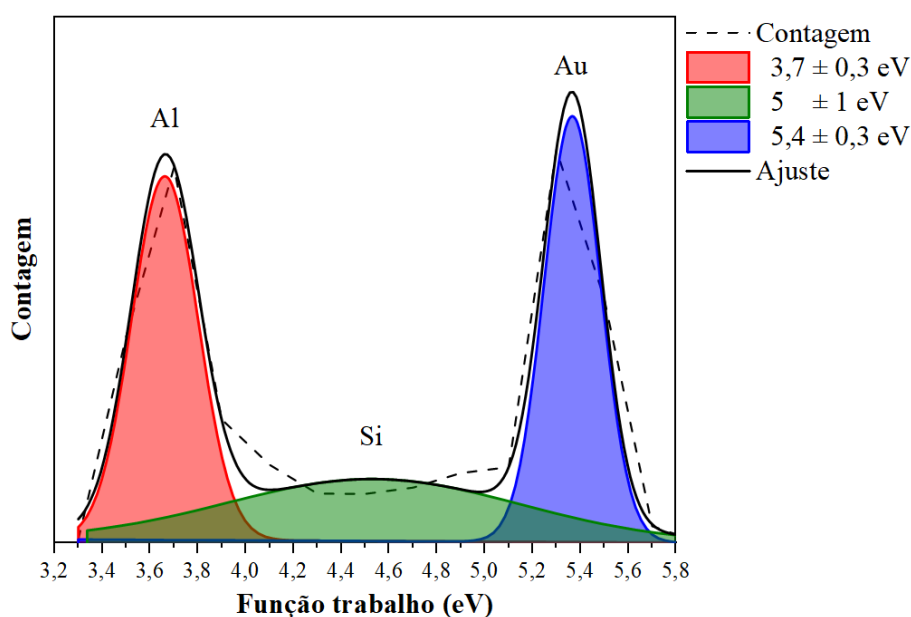
Conforme a Equação 12, o termo  $V_{CPD}$  é o parâmetro quantificado pelo KPFM durante o ajuste de tensão na medida. Considerando que a carga elementar ( $e$ ) e a função trabalho da ponta ( $\Phi_2$ ) são parâmetros conhecidos, a única variável a ser determinada é a função trabalho da amostra ( $\Phi_1$ ). Para caracterizar a composição do material do ápice da ponta (a região de maior interação com a amostra), realizou-se análise por EDS conforme a Figura A2. Apesar da especificação do fabricante [244] indicar que a sonda PFQNE-AL é composta por uma ponta de Si em um cantiléver de nitreto de silício ( $Si_3N_4$ ), a medida por EDS mostrou presença significativa de Al no cantiléver, bem como no ápice da ponta (Figura A2-c). Diante disso, adotou-se o valor de função trabalho do Al para a conversão dos dados de  $V_{CPD}$ .



**Figura A2. Mapas composicionais da ponta utilizada na medida de KPFM por EDS: (a) elétrons secundários (SE), (b) nitrogênio (N), (c) alumínio (Al) e (d) silício (Si).**

O *software* Nanoscope Analysis oferece a ferramenta *Set input offset*, que permite inserir a informação da sonda utilizada. Com base na caracterização química prévia da sonda (contendo Al), executou-se os seguintes passos para conversão dos dados: (1) realizou-se a medida por KPFM da grade padrão de Al-Si-Au; (2) inseriu-se o valor de referência para o Al (2,54 V) na função *Set input offset*; (3) salvou-se o mapa de potencial resultante; (4) exportou-se o dado para um documento de texto; (5) processaram-se os dados em um *software* de análise gráfica; e (6) converteu-se os valores de potencial (V) para função trabalho (eV) mediante multiplicação pela carga elementar ( $e = 1,6 \times 10^{-19}$  C).

Os valores de função trabalho (Figura A3) foram obtidos através de ajuste com três funções gaussianas, revelando:  $3,66 \pm 0,33$  eV (Al),  $4,54 \pm 1,44$  eV (Si) e  $5,37 \pm 0,28$  eV (Au). Esses valores apresentam concordância com dados reportados na literatura [245]: 3,88 eV (Al), 4,59 eV (Si) e 5,16 eV (Au), validando a metodologia aplicada.



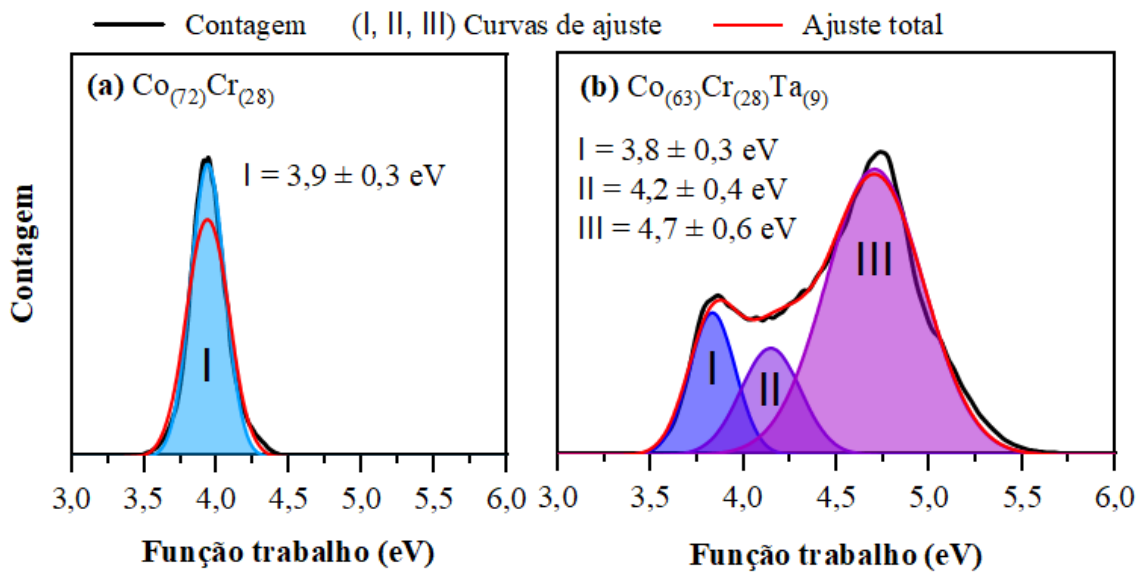
**Figura A3.** Histograma da função trabalho da grade Al-Si-Au obtido a partir da medida de KPFM.

O mesmo protocolo foi aplicado às amostras investigadas neste trabalho (Figura 22). Analisando os extremos da série de amostras,  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}$  ( $3,94 \pm 0,28$  eV) e  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$  (I:  $3,83 \pm 0,29$  eV, II:  $4,15 \pm 0,38$  eV e III:  $4,71 \pm 0,62$  eV) (Figura A4), observa-se que os valores situam-se dentro da faixa reportada para os elementos puros, Co (4,52 eV e 4,85 eV), Cr (4,11 eV e 3,94 eV) e Ta (4,26 eV) [245]. Entretanto, a atribuição específica de cada pico de ajuste (I, II e III na Figura A4) aos elementos individuais não é direta, visto que a função trabalho é uma propriedade influenciada por diversos parâmetros, como orientação cristalográfica,



presença de impureza ou adsorventes, composição química local e estados eletrônicos [245,246]. Na grade de calibração (Al-Si-Au), é possível fazer a atribuição direta (Figura A3) devido a distribuição bem definida dos elementos, enquanto nas ligas há a formação de solução sólida (matriz Co-Cr) e composto intermetálico ( $\text{TaCo}_2$ ) que introduzem modificações eletrônicas e influenciam na função trabalho calculada.

Mediante isso, destaca-se a importância da caracterização precisa da sonda utilizada, o controle das condições ambientais durante a medida e a utilização de uma amostra de referência para calibração.

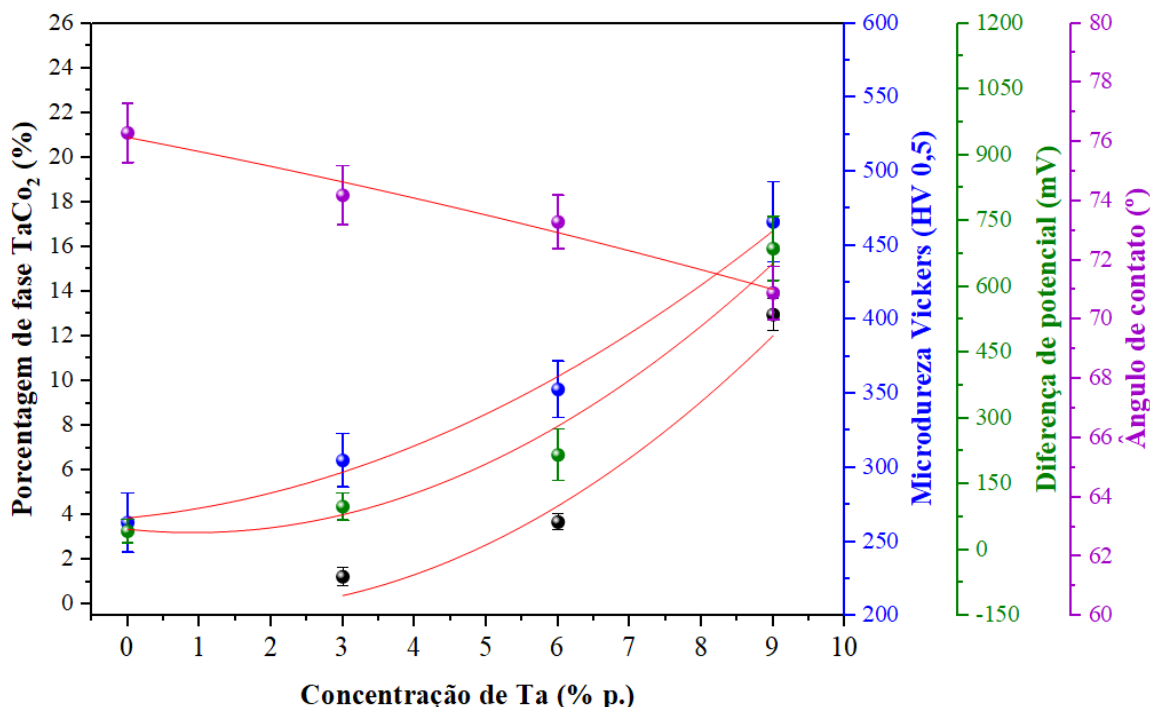


**Figura A4. Histogramas da função trabalho das amostras de ligas metálicas obtidos a partir da medida de KPFM: (a)  $\text{Co}_{(72)}\text{Cr}_{(28)}$  e (b)  $\text{Co}_{(63)}\text{Cr}_{(28)}\text{Ta}_{(9)}$ .**

## Apêndice B - Relação quadrática entre composição e propriedades

A caracterização das amostras polidas e os ajustes desses dados revelou que as propriedades das ligas Co-Cr-Ta seguem uma dependência quadrática com a concentração de Ta, indicando efeitos sinérgicos além da simples aditividade linear. A Figura B1 mostra a porcentagem de fase TaCo<sub>2</sub>, Microdureza Vickers, diferença de potencial e ângulo de contato para a série de amostras em função da concentração de Ta (0, 3, 6 e 9 % m/m.). A escolha do modelo quadrático foi baseada no alto coeficiente de determinação ( $R^2 \geq 0,98$ ) (Tabela B1).

O termo quadrático dominante na dureza e na diferença de potencial sugere que o endurecimento e a heterogeneidade eletrônica são governados pela formação de precipitados de TaCo<sub>2</sub>, enquanto o comportamento quase linear da molhabilidade indica maior energia de superfície com aumento da fase secundária. Apesar do termo quadrático na porcentagem de fase e na molhabilidade terem valor baixo, reforçam a tendência dessas propriedades com o aumento de TaCo<sub>2</sub>, capturando nuances que o ajuste linear não forneceria. O ajuste para a porcentagem de fase indica que em baixos teores de Ta (< 2,3 % m/m), a fase secundária não se forma imediatamente, sugerindo que a matriz dissolve o Ta adicionado.



**Figura B1.** Comparação entre a porcentagem de fase TaCo<sub>2</sub> e as propriedades de Microdureza Vickers, Diferença de potencial e Ângulo de contato para as amostras Co<sub>(72)</sub>Cr<sub>(28)</sub>, Co<sub>(69)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(3)</sub>, Co<sub>(66)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(6)</sub> e Co<sub>(63)</sub>Cr<sub>(28)</sub>Ta<sub>(9)</sub> polidas. As esferas informam o valor médio, a linha vermelha indica o ajuste polinomial e as barras são os desvios padrões.

**Tabela B1.** Descrição dos ajustes polinomiais realizados para as propriedades das amostras polidas em função da concentração de Ta (0, 3, 6 e 9 % m/m.).

<b>Propriedade das amostras polidas</b>	<b>Ajuste polinomial da propriedade (y) em função da concentração de Ta (x)</b>	<b>Coefficiente de determinação – R<sup>2</sup></b>
Porcentagem de fase TaCo <sub>2</sub> (%)	$y = -0,46x + 0,2x^2$	0,98
Microdureza Vickers (HV0,5)	$y = 227 + 5x + 2x^2$	0,99
Diferença de potencial (mV)	$y = 48 - 17x + 9x^2$	0,98
Ângulo de contato (°)	$y = 76 - 0,35x - 0,03x^2$	0,98