

**MINISTÉRIO DA DEFESA
EXÉRCITO BRASILEIRO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

HAZEL PALOMA REIS CORADO PAULINO

**REVESTIMENTO DA SUPERFÍCIE DO TITÂNIO COM ÓXIDO DE GRAFENO
E NIÓBIA PARA APLICAÇÕES EM BIOMATERIAIS**

**RIO DE JANEIRO
2023**

HAZEL PALOMA REIS CORADO PAULINO

REVESTIMENTO DA SUPERFÍCIE DO TITÂNIO COM ÓXIDO DE
GRAFENO E NIÓBIA PARA APLICAÇÕES EM BIOMATERIAIS

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências em Ciência dos Materiais.

Orientador(es): Carlos Nelson Elias, D.C.

Rio de Janeiro

2023

©2023

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

Praça General Tibúrcio, 80 – Praia Vermelha

Rio de Janeiro – RJ CEP: 22290-270

Este exemplar é de propriedade do Instituto Militar de Engenharia, que poderá incluí-lo em base de dados, armazenar em computador, microfilmear ou adotar qualquer forma de arquivamento.

É permitida a menção, reprodução parcial ou integral e a transmissão entre bibliotecas deste trabalho, sem modificação de seu texto, em qualquer meio que esteja ou venha a ser fixado, para pesquisa acadêmica, comentários e citações, desde que sem finalidade comercial e que seja feita a referência bibliográfica completa.

Os conceitos expressos neste trabalho são de responsabilidade do(s) autor(es) e do(s) orientador(es).

Paulino, Hazel Paloma Reis Corado.

Revestimento da superfície do titânio com óxido de grafeno e nióbia para aplicações em biomateriais / Hazel Paloma Reis Corado Paulino. – Rio de Janeiro, 2023.

78 f.

Orientador(es): Carlos Nelson Elias.

Tese (doutorado) – Instituto Militar de Engenharia, Ciência dos Materiais, 2023.

1. Implantes Dentários; Pentóxido de Nióbio; Óxido de Grafeno. i. Elias, Carlos Nelson (orient.) ii. Título

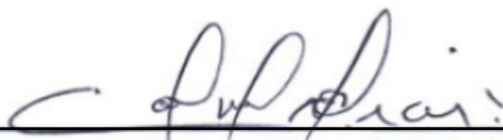
HAZEL PALOMA REIS CORADO PAULINO

Revestimento da superfície do titânio com óxido de grafeno e nióbia para aplicações em biomateriais

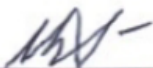
Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências em Ciência dos Materiais.

Orientador(es): Carlos Nelson Elias.

Aprovado em Rio de Janeiro, 26 de julho de 2023, pela seguinte banca examinadora:



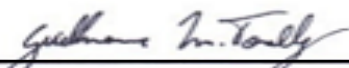
Prof. Carlos Nelson Elias - D.C. do IME - Presidente



Prof. André Ben-Hur da Silva Figueiredo - D.C. do IME



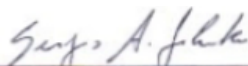
Prof. Alaelson Vieira Gomes - D.C. do IME



Prof. Guilherme Monteiro Torelly - D.C. da PUC- RJ



Prof. Rodrigo Félix de Araújo Cardoso - D.C. do CBPF



Prof. Sergio Alexandre Gehrke - D.C. da UMH-Espanha.

Rio de Janeiro

2023

Este trabalho é dedicado a Deus, a minha família, aos amigos e principalmente ao meu amado filho, Murilo Corado

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos principais são direcionados primeiramente a Deus, que me permitiu poder viver, acreditar e concretizar este sonho e que sempre está comigo. Obrigada Senhor!

Ao Exército Brasileiro e ao Instituto Militar de Engenharia pela oportunidade e apoio;

À CAPES, pela bolsa de incentivo, disponibilidade de artigos e periódicos que completam o referencial teórico deste trabalho;

À FIOCRUZ-LATEB, por nos ajudar, auxiliar, apoiar na sintetização de materiais.

Aos professores da pós-graduação em Ciências dos Materiais, que tanto se dedicam a nós discentes;

Ao meu orientador, Prof. Carlos Nelson Elias, que é minha referência de ser humano, de professor, de pesquisador, de liderança, de entusiasmo pela pesquisa e de amor pela docência. Obrigada por ter sempre ter acreditado em mim, me dado forças para continuar;

À Professora Elizabeth Martinez, pelo apoio com as análises biológicas e disponibilidade;

À minha família, por todo apoio e amor incondicional, pelas orações, pela paciência e pela incentivo de sempre e principalmente meu filho Murilo, que mesmo sem saber, foi o meu maior combustível de viver. Família, conseguimos!

Aos meus colegas de laboratório, que tornavam meu dias mais alegres, obrigada pelo excelente convívio no tempo que passamos juntos. E as amigas que ganhei de Deus, Francielly, Dyanni e Larissa, que muito além do sorriso fácil, nos dias difíceis sempre estiveram ao meu lado. Meninas, obrigada terem auxiliado nas análises, pela força, pelo estudo, pelo sorriso, pelas lágrimas e por último e não menos importante, pelo nosso cafezinho. Vocês foram imprescindíveis

A todos que me auxiliaram diretamente e indiretamente, a realizar o sonho dessa Amazonense. Meu eterno, muito obrigada.

*“Nunca se afaste dos seus sonhos,
pois se eles se forem,
você continuará vivendo,
mas terá deixado de existir.
(Charles Chaplin)*

RESUMO

Na busca por melhorar os índices de sucesso de implantes biomédicos, especialmente em termos de propriedades bactericidas e integração com tecidos biológicos, a aplicação de materiais contendo óxido de grafeno e pentóxido de nióbio tem se mostrado uma realidade promissora. Neste estudo, o titânio comercialmente puro (Ti cp) foi revestido com óxido de grafeno (GO), pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) e uma combinação dos dois materiais (NBGO), utilizando o método de deposição eletroforética. A morfologia da superfície, rugosidade, molhabilidade e degradação das amostras revestidas e não revestidas foram analisadas por meio de técnicas como microscopia eletrônica de varredura, interferometria, ângulo de contato, análise eletroquímica e viabilidade bacteriana utilizando a bactéria *Streptococcus mutans*. Além disso, a presença de óxido de grafeno e nióbio na superfície das amostras foi confirmada por meio de técnicas como difração de raios X, fluorescência de raios X, espectroscopia Raman e espectroscopia de raios X por energia dispersiva. Os resultados obtidos demonstraram que as amostras revestidas com NBGO apresentaram a maior rugosidade superficial ($Ra\ 0,64\ \mu m$) e são hidrofóbicas. Os ângulos de contato entre a água e a superfície das amostras não revestidas (Ti cp), revestidas com GO (TiGO), revestidas com uma combinação de GO e Nb_2O_5 (NBGO) e revestidas com Nb_2O_5 (TiNb) foram de $50,74^\circ$, $44,35^\circ$, $55,86^\circ$ e $100,35^\circ$, respectivamente. Nos testes de corrosão eletroquímica, observou-se que o revestimento com óxido de grafeno aumentou a resistência à corrosão, enquanto o revestimento com Nb_2O_5 diminuiu a resistência à corrosão. O efeito negativo do revestimento de Nb_2O_5 na resistência à corrosão foi compensado pela liberação de Nb_2O_5 , que auxilia na osseointegração, aumentando a viabilidade celular. Em resumo, este estudo evidenciou que o revestimento NBGO pode ser uma abordagem eficaz para combinar o efeito bactericida do óxido de grafeno com o efeito de osseointegração do Nb_2O_5 . Essas descobertas são relevantes para o desenvolvimento de biomateriais mais eficazes, que possam limitar a adesão bacteriana.

Palavras-chave: Implantes Dentários; Pentóxido de Nióbio; Óxido de Grafeno.

ABSTRACT

In the quest to improve the success rates of biomedical implants, especially in terms of bactericidal properties and integration with biological tissues, the application of materials containing graphene oxide and niobium pentoxide has shown to be a promising reality. In this study, commercially pure aluminum (Ti cp) was coated with graphene oxide (GO), niobium pentoxide (Nb_2O_5) and a combination of the two materials (NBGO), using the electrophoretic deposition method. The surface morphology, roughness, wettability and degradation of the confronted and non-exposed samples were clues through techniques such as scanning electron microscopy, interferometry, contact angle, electrochemical analysis and bacterial viability using the bacterium *Streptococcus mutans*. In addition, the presence of graphene and niobium oxide on the surface of the samples was confirmed using techniques such as X-ray diffraction, X-ray fluorescence, Raman spectroscopy and energy-dispersive X-ray spectroscopy. Results accepted that samples exposed with NBGO had the highest surface roughness (Ra 0,64 μm) and are hydrophobic. The contact angle between water and the surface of uncoated (Ti cp), GO-coated (TiGO), coated with a combination of GO and Nb_2O_5 (NBGO) and Nb_2O_5 (TiNb) coated samples were 50.74° , 44.35° , 55.86° and 100.35° , respectively. In the electrochemical resistance tests, it was observed that the graphene oxide coating increased the resistance to resistance, while the coating with Nb_2O_5 experienced the resistance to resistance. The negative effect of the Nb_2O_5 coating on resistance was offset by the release of Nb_2O_5 , which aids in osseointegration, increasing cell viability. In summary, this study shows that the NBGO coating can be an effective approach to combine the bactericidal effect of graphene oxide with the osseointegration effect of Nb_2O_5 . These findings are relevant to the development of more effective biomaterials that can prevent early bacterial adhesion.

Keywords: Dental Implants; Niobium Pentoxide; Graphene Oxide.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Diferentes regiões do corpo onde o titânio pode ser implantado. (a) prótese craniana; (b) guia cirúrgico; (c) prótese de escápula; (d) prótese de joelho; (e) implantes dentários; (f) gaiola de fusão intersomática; (g) copo acetabular; e (h) prótese de quadril	20
Figura 2 – Modelos de implantes dentários	21
Figura 3 – Biofilme e placa bacteriana aderida na superfície dos implantes e componentes protéticos. Foto cedida por: Renata Machado	24
Figura 4 – Adição de nanopartículas com ação antimicrobiana sobre os implantes e/ou componentes protéticos	25
Figura 5 – Complexo de Socransky	26
Figura 6 – Representação esquemática de diferentes alótropos do carbono	27
Figura 7 – Imagens de TEM, as folhas de óxido de grafeno rompendo membrana bacteriana em meio a saliva. Setas vermelhas indicam ruptura da membrana e as pretas marcam as folhas de GO	30
Figura 8 – Produtos derivados do Nióbio. Adaptado de (TAGUSAGAWA,1995)	31
Figura 9 – Diagrama de fases Nb-O	32
Figura 10 – Desenho esquemático de deposição eletroforética- EPD.	34
Figura 11 – Aspecto marrom-escuro após a primeira etapa de sintetização do GO	36
Figura 12 – Aspecto castanho após a etapa de oxidação do GO	37
Figura 13 – óxido e grafeno lavado	38
Figura 14 – óxido e grafeno sintetizado	38
Figura 15 – Amostra conectada ao fio de cobre e embutida	39
Figura 16 – Micrografia da superfície da amostra após preparação	40
Figura 17 – Sistema de deposição do GO.	41
Figura 18 – Sistema de deposição do Nióbia.	41
Figura 19 – Fluxograma das caracterizações das amostras com revestimento.	42
Figura 20 – Desenho esquemático para análise de corrosão.	44
Figura 21 – Difratoograma de raios-X da amostra com revestimento de nióbia.	47
Figura 22 – Espectro de Raman do óxido de grafeno.	48
Figura 23 – Espectros EDS da análise da composição química da superfície de Ti antes e depois do revestimento de óxido de grafeno e pentóxido de nióbio. (a) Ti cp antes do revestimento. (b) TiGO (c) TiNb. (d)NBGO.	49

Figura 24 – Morfologia das superfícies das amostras obtidas por interferometria. A) Ti cp. B) amostra revestida com óxido de grafeno (TiGO). C) amostra revestida com nióbia (TiNb). D) amostra revestida com NBGO. A escala de cores indica a presença das irregularidades na superfície na forma de picos e vales. A cor verde indica a presença de cavidades na superfície e a cor vermelha indica a presença de saliências.	50
Figura 25 – Comparação da análise de Anova e de Tukey para os parâmetros Ra, Rz e RMS de rugosidade.	54
Figura 26 – A) Óxido de grafeno; B) Nióbia; C) Nióbia com Óxido de grafeno (NBGO); D) Titânio comercialmente puro (Ti cp).	55
Figura 27 – Comparação de análise Anova e Tukey para parâmetros ângulo de contato e energia de superfície.	57
Figura 28 – Medidas do potencial de circuito aberto para Ti cp, TiGO, TiNb e NBGO em solução fisiológica contendo 0,9 % de NaCl.	59
Figura 29 – Curva de polarização para Ti cp, TiGO, TiNb e NBGO em uma solução fisiológica contendo 0,9% de NaCl.	61
Figura 30 – Potencial de Circuito Aberto (OCP), potencial de corrosão (E_{corr}) e densidade de corrente (i_{corr}).	61
Figura 31 – Micrografia do Ti cp (grupo controle) com ataque ácido.	62
Figura 32 – Micrografia da superfície com deposição de Niobia (Nb).	62
Figura 33 – Morfologia da superfície do Ti cp com deposição de Óxido de grafeno.	63
Figura 34 – Morfologia da superfície do Ti cp com deposição de Óxido de grafeno em 25.000 de magnificação.	63
Figura 35 – Morfologia da superfície da amostra recoberta com NBGO	64
Figura 36 – Morfologia da superfície da amostra recoberta com NBGO com aumento de 15.000 vezes.	65
Figura 37 – Morfologia da superfície da amostra recoberta com NBGO. Mostra-se o tamanho da partícula de nióbia na folha de óxido de grafeno.	65
Figura 38 – Morfologia da superfície da amostra recoberta com NBGO com 20.000 de magnificação.	66
Figura 39 – Imagem de microscopia óptica do ensaio de viabilidade bacteriana. Syto9 - Coloração verde: Bactérias vivas, Iodeto de propídio- Coloração vermelha: Bactérias mortas e Merged- verde e vermelha: Bactérias vivas e mortas.	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características do titânio	19
Tabela 2 – Percentuais em peso da composição química do Ti cp.	21
Tabela 3 – Dados das análises estatísticas Anova e Tukey do parâmetro Ra.	52
Tabela 4 – Dados das análises estatísticas Anova e Tukey do parâmetro RZ.	53
Tabela 5 – Dados das análises estatísticas Anova e Tukey do parâmetro RMS.	53
Tabela 6 – Parâmetros de energia de superfície.	56
Tabela 7 – Parâmetros ângulo de contato.	57
Tabela 8 – Resultado do teste de viabilidade Bacteriana.	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ti cp	Titânio comercialmente puro
Niobia	Pentóxido de Nióbio
ECAP	Equal channel angular pressing
TiNb	Superfície revestida com Niobia
NBGO	Superfície revestida com Niobia e Óxido de grafeno
TiGO	Superfície revestida com Óxido de grafeno
DRX	Difração de Raios X
EDS	Espectroscopia de raios X por energia dispersiva
RPM	Rotações por minuto
S.mutans	Streptococcus mutans
S. aureus	Staphylococcus aureus
GO	Óxido de grafeno
rGO	Óxido de grafeno reduzido
OCP	Open circuit potential

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	JUSTIFICATIVA	17
1.2	OBJETIVOS	18
1.2.0.1	OBJETIVO GERAL	18
1.2.0.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1	O TITÂNIO	19
2.1.1	O TITÂNIO COMERCIALMENTE PURO (TI CP) PARA IMPLANTES	20
2.1.2	A MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DO TITÂNIO	22
2.2	O BIOFILME BACTERIANO	24
2.3	O CARBONO	27
2.3.1	O GRAFITE	27
2.3.2	O ÓXIDO DE GRAFENO	28
2.3.3	A APLICAÇÃO BIOLÓGICA DO GRAFENO	29
2.4	O NIÓBIO	31
2.4.1	O PENTÓXIDO DE NIÓBIO	31
2.4.2	APLICAÇÃO BIOLÓGICA DA NIÓBIA/PENTÓXIDO DE NIÓBIO	32
2.5	A ELETROQUÍMICA	34
2.5.1	DEPOSIÇÃO ELETROFORÉTICA	34
2.5.2	CORROSÃO	35
3	MATERIAIS E MÉTODOS	36
3.1	PRODUÇÃO DE ÓXIDO DE GRAFENO - GO	36
3.2	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	39
3.2.1	ELETRODEPOSIÇÃO DO ÓXIDO DE GRAFENO (GO)	40
3.2.2	ELETRODEPOSIÇÃO DA NIÓBIA	41
3.3	CARACTERIZAÇÕES DA SUPERFÍCIE	42
3.3.1	RUGOSIDADE	42
3.3.2	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA- MEV	42
3.3.3	ESPECTROSCOPIA DE RAMAN	43
3.3.4	MOLHABILIDADE	43
3.3.5	RESISTÊNCIA À CORROSÃO	43
3.3.6	DIFRAÇÃO DE RAIOS X	45
3.3.7	FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X	45
3.3.8	ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR ENERGIA DISPERSIVA - EDS	45

3.3.9	VIABILIDADE CELULAR	45
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1	DIFRAÇÃO DE RAIOS X	47
4.2	ESPECTROSCOPIA RAMAN	48
4.3	ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR ENERGIA DISPERSIVA-EDS . . .	49
4.4	RUGOSIDADE	50
4.5	MOLHABILIDADE	55
4.6	CORROSÃO	59
4.7	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	61
4.8	VIABILIDADE BACTERIANA	66
5	CONCLUSÃO	69
	REFERÊNCIAS	70

1 INTRODUÇÃO

As modificações da superfície dos implantes de titânio para a reposição dentária despertam grande interesse na comunidade científica dedicada à pesquisa em biomateriais. Apesar dos implantes dentários de titânio apresentarem índice de sucesso da ordem de 95 %, existem casos críticos que exigem que a superfície do implante apresente melhor capacidade de osseointegração, especialmente em pacientes submetidos a enxerto ósseo ou tratamento quimioterápico. As modificações da superfície dos implantes podem envolver alterações na morfologia e na composição química. Por meio desses tratamentos de superfície, é possível melhorar as interações das proteínas e células dos tecidos biológicos com a camada externa de óxido de titânio. Mudanças na morfologia da superfície, como micro e nano rugosidades, porosidade e composição química afetam a capacidade das células aderirem ao substrato implantado (1).

Entre os diversos biomateriais metálicos utilizados em implantes dentários osseointegráveis, o titânio comercialmente puro ASTM F67 (Ti cp) e a liga Ti-6Al-4V (Ti G5) especificada pela Norma ASTM F136 são os materiais mais amplamente recomendados. A formação da camada de óxido de titânio nesses materiais estabelece uma interação altamente favorável com as células osteogênicas, promovendo assim a osseointegração. A superfície do filme de passivação é levemente carregada negativamente em pH fisiológico e facilita a interação com as células e proteínas. Além disso, o titânio possui uma constante dielétrica comparável à da água, resultando em uma interação de Coulomb semelhante àquela observada na água (2).

As limitações do Ti cp como material para implantes dentários incluem um módulo de Young superior ao do osso, baixa resistência mecânica e uma baixa resistência ao desgaste para determinadas aplicações. É um desafio melhorar as propriedades mecânicas do Ti cp sem comprometer a sua biocompatibilidade. Por outro lado, O Ti ASTM F136 (Ti-6Al-4V) apresenta uma maior resistência mecânica, mas pode liberar íons tóxicos, como o alumínio e o vanádio (2, 3) .

As modificações no processo de fabricação incluem a utilização de técnicas como ECAP (*Equal Channel Angular Pressing*), que promovem uma alta deformação a frio para obter um tamanho de grão nanométrico, e tratamentos de superfície. Nos tratamentos da superfície faz-se alterações na morfologia, rugosidade estrutura cristalina e composição química da superfície. A composição química pode ser alterada pela adição de íons e partículas, com o objetivo de induzir a formação de fosfato de cálcio semelhante à apatita na superfície do óxido de titânio, por meio de processos naturais do organismo (4, 3).

A demanda por implantes ortopédicos e dentários continuará crescendo, e o titânio

e suas ligas têm sido amplamente utilizados nessas aplicações. Embora esses implantes tenham alcançado altas taxas de sucesso, duas complicações principais podem ocorrer: a falta de integração do tecido ósseo e a proliferação bacteriana, o que pode resultar em peri-implantite. O tratamento da superfície dos implantes desempenha um papel fundamental na osseointegração e na prevenção da peri-implantite. A modificação adequada da superfície do implante pode promover interações favoráveis com as células ósseas, estimulando sua adesão e proliferação, resultando em uma integração mais eficaz com o tecido ósseo circundante. Além disso, um revestimento de superfície apropriado pode ajudar a inibir a adesão e a colonização bacteriana, reduzindo o risco de infecção e peri-implantite (5).

O objetivo do presente estudo é promover modificações na superfície do titânio comercialmente puro (Ti cp) por meio da incorporação de óxido de grafeno, tanto com quanto sem a adição de pentóxido de nióbio. O principal propósito dessas modificações é prevenir a perda precoce de implantes devido a infecções bacterianas e, ao mesmo tempo, melhorar o processo de osseointegração. Até o momento, não foram encontrados estudos semelhantes que façam essa abordagem específica, destacando a relevância e inovação do presente trabalho.

1.1 JUSTIFICATIVA

A aderência de biofilmes e o desenvolvimento de processos inflamatórios crônicos em próteses ortopédicas e implantes dentários são questões frequentes e preocupantes. Nos implantes, a formação de biofilmes pode ser um contribuinte significativo para a ocorrência de peri-implantite. Apesar das diversas abordagens empregadas para mitigar esse problema, a raspagem do implante e o uso de antibióticos permanecem como os métodos mais eficazes. No entanto, mesmo com essas medidas, os episódios inflamatórios podem se repetir, resultando na potencial perda do implante.

Nesse sentido, a modificação da superfície e a aplicação de modificações químicas em ligas de titânio para a fabricação de biomateriais de implantes assumem um papel crucial. É diante desse contexto que se insere o objetivo central deste trabalho: o desenvolvimento de um tratamento de superfície para o titânio comercialmente puro, incorporando revestimentos de óxido de grafeno (GO) e nióbia. Essa proposta busca abordar algumas das limitações presentes nos implantes odontológicos comerciais vigentes.

Vale ressaltar que as limitações em relação às resistências mecânicas e à capacidade de resistência ao desgaste do Ti F67 foram previamente abordadas por meio do desenvolvimento do processamento de barras de titânio com tamanho de grãos nanométricos, empregando a técnica de ECAP. Essa abordagem resultou em uma resistência mecânica equiparável à do Ti-6Al-4V, contribuindo para estabelecer um cenário propício para a realização dos objetivos propostos por este estudo (6).

1.2 OBJETIVOS

1.2.0.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo central desta tese de doutorado consiste em desenvolver uma superfície com propriedades bactericidas por meio da deposição de um filme de óxido de grafeno (GO), tanto com quanto sem a adição de nióbia (Nb_2O_5), utilizando como substrato o titânio comercialmente puro (Ti cp). A abordagem visa não apenas a criação de uma superfície antibacteriana, mas também a avaliação das implicações biológicas decorrentes dessa modificação. Para isso, busca-se realizar uma análise abrangente que engloba a quantificação da rugosidade da superfície revestida, a avaliação da resistência à corrosão, a medição da molhabilidade e a avaliação da eficácia bactericida do revestimento desenvolvido.

1.2.0.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Deposição um filme de GO com e sem nióbia na superfície de amostras de Ti cp F67
- Analisar as morfologias da superfície do Ti cp após o tratamento de superfície;
- Quantificar a rugosidade dos tratamentos de superfície;
- Quantificar a molhabilidade;
- Determinar a resistência à corrosão;
- Analisar a composição química da superfície do Ti cp antes e após adição de Óxido de Grafeno (GO) e Nióbia (Nb_2O_5)
- Analisar os efeitos biológicos do revestimento com ação bactericida.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O titânio

As principais fontes comerciais de titânio são a ilmenita ($FeTiO_3$), o rutilo (TiO_2), o anatásio (TiO_2) e o leucoxênio (7). Na Tabela 1 são apresentadas informações básicas sobre o titânio.

Tabela 1 – Características do titânio

(7) .

Características do Titânio	Valores
Número atômico	22
ConFiguração eletrônica	[Ar] 4s2 3d2
Massa atômica	47,9
Ponto de fusão	1660,0° C (1933,15 K, 3020,0° F)
Ponto de ebulição	3287,0° C (3.560,15 K, 5948,6° F)
Número de prótons / Elétrons	22
Número de nêutrons	26
Classificação	Metais de Transição
Estrutura Cristalina	Hexagonal
Densidade	293K : 4, 54g/cm ³
Cor	Prateado.
Data da descoberta	1791
Descobridor	William Gregor
Nome de Origem	A partir da palavra grega titanos (Titans)
Aplicações	Tinta, borracha, papel, biomateriais
Obtido a partir de	Minerais (ilmenita, rutilo)

O dióxido de titânio (TiO_2), devido às suas características de opacidade, alvura, resistência ao ataque químico, poder de cobertura e ausência de toxicidade, é amplamente utilizado na fabricação de pigmentos empregados nas indústrias de tinta, papel, plástico, borracha, fibras, vernizes, entre outros. O titânio metálico é usado em indústrias metalúrgicas, químicas, elétricas, cerâmicas, biomateriais entre outros (8). O titânio comercialmente puro (Ti cp) é empregado em motores a jato, carcaças e fuselagens de avião, equipamentos resistentes à corrosão para indústrias naval e em processamentos químico. A liga Ti-6Al-4V com microestrutura α - β é empregada em implantes e próteses que necessitam elevada resistência, equipamentos para processamentos químicos e componentes estruturais de fuselagem de avião (9).

2.1.1 O titânio comercialmente puro (Ti cp) para Implantes

O Ti cp e a liga Ti-6Al-4V são usados como biomateriais e em outras aplicações, exemplo pode ser observado, conforme a Figura 1 Existem diferenças nas composições e nas propriedades quando o material é especificado para uso como biomaterial. Para ser usado como biomaterial os percentuais de impurezas são menores, até mesmo a liga Ti-6Al-4V usada na engenharia é diferente da especificada para uso como biomaterial. A principal propriedade do Ti cp é sua capacidade de osseointegração. O filme de óxido de titânio permite a adesão de células ósseas. A osseointegração ocorre quando o biomaterial fica firmemente ligado ao osso através de proteínas e glicoproteínas. O primeiro critério para selecionar o material a ser utilizado na confecção dos implantes osseointegráveis é que não apresente degradação da película compacta dos óxidos e hidróxidos em sua superfície quando exposto aos fluidos corporais (2).

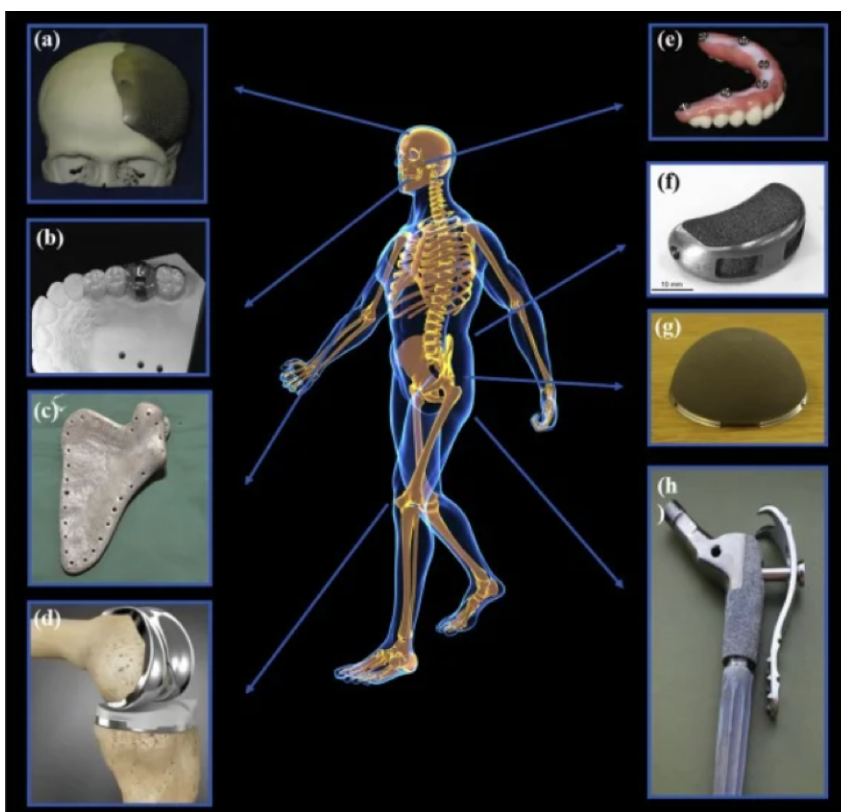


Figura 1 – Diferentes regiões do corpo onde o titânio pode ser implantado. (a) prótese craniana; (b) guia cirúrgica; (c) prótese de escápula; (d) prótese de joelho; (e) implantes dentários; (f) gaiola de fusão intersomática; (g) copo acetabular; e (h) prótese de quadril (10).

O material implantável, exemplificado na Figura 2 deve ter excelente biocompatibilidade, pois a formação de uma ligação interfacial entre o tecido e o implante determina o sucesso da cicatrização peri-implantar precoce (11). O material deve ter resistência mecânica para suportar as cargas orais e possuir alta resistência à corrosão e ao desgaste para evitar a liberação de íons metálicos no corpo humano (12, 13).

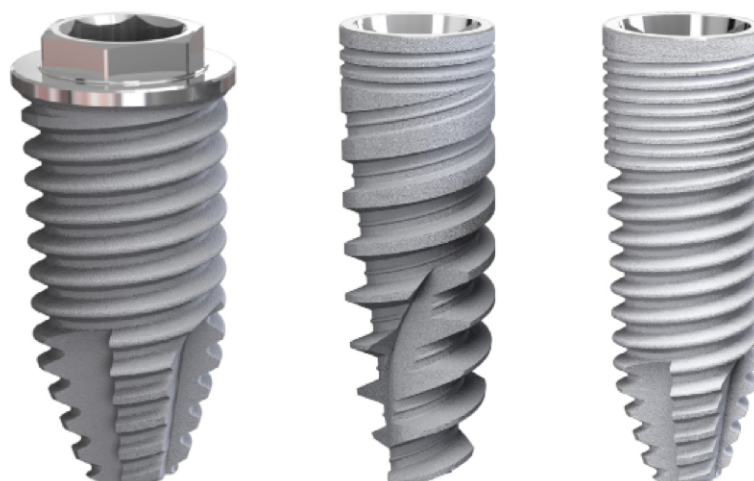


Figura 2 – Modelos de implantes dentários. Adaptado de (2).

O titânio é normalmente recoberto por uma fina camada de óxido protetora, que determina em grande parte as propriedades da superfície do implante. Este óxido, naturalmente formado, é responsável pela excelente biocompatibilidade dos implantes devido ao baixo nível de condutividade eletrônica, uma alta resistência à corrosão e um estado termodinamicamente estável em valores de pH fisiológicos (14). A espessura da camada de óxido pode ser aumentada por tratamentos químicos e eletroquímicos. A presença de TiO_2 melhora a osseointegração, a resistência à corrosão e a biocompatibilidade do titânio.

Com base na Norma ASTM F67, o Ti cp é classificado em graus de acordo com o teores de N, Fe e O em sua composição química. Na Tabela 2 são mostradas as composições do Ti cp (15).

Tabela 2 – Percentuais em peso da composição química do Ti cp.

Elemento	Grau do titânio			
	1	2	3	4
Nitrogênio	0,03	0,03	0,053	0,05
Carbono	0,08	0,08	0,08	0,08
Hidrogênio	0,015	0,015	0,015	0,015
Ferro	0,20	0,30	0,30	0,50
Oxigênio	0,18	0,25	0,35	0,40
Titânio	Balanço	Balanço	Balanço	Balanço

2.1.2 A modificação da Superfície do Titânio

A evolução da implantodontia é claramente observável. No entanto, uma série de hipóteses emergiram para explicar as possíveis causas por trás das falhas precoces dos implantes. Dentre as explicações estão o procedimento cirúrgico inadequado, baixa densidade óssea, formato do implante e falta de estabilidade primária (devido ao baixo torque de inserção), infecção periodontal prévia e contaminação bacteriana (16). Para mitigar as causas de falhas dos implantes odontológicos, faz-se necessário o tratamento da superfície dos mesmos.

A modificação da superfície dos biomateriais tem sido amplamente utilizada para melhorar seu desempenho. Através destes tratamentos é possível modificar as propriedades da superfície, incluindo a adição de grupos funcionais e alteração da carga elétrica superficial (17). Nas últimas décadas foram desenvolvidas novas superfícies dos biomateriais com emprego de abordagens da engenharia de tecido ósseo para modular a atividade das células envolvidas na regeneração óssea e induzir a formação óssea (18).

A modificação da superfície influencia diretamente a biocompatibilidade do material. A resposta fisiológica do organismo em contato com a sua superfície depende dos fenômenos de interação entre células e substratos, os quais podem ser definidos a partir da adesão, proliferação e diferenciação (19). Por exemplo, as características que influenciam na adesão da fibrina são físicas (tensão e adesão), químicas (tipos moleculares), estruturais (tipo de arranjo das moléculas). Estes parâmetros influenciam na osseointegração. Caso as interações destes parâmetros não sejam favoráveis, a malha formada pela fibrina simplesmente não fica aderida à superfície. Por outro lado, caso estas interações sejam favoráveis, uma malha é formada com ligações de fibrina na superfície e o processo de osseointegração se inicia (20). Logo, é evidente que a composição química ou a mudança da superfície dos implantes dependem dos tratamentos superficiais, tais parâmetros são fundamentais para uma melhor adsorção de proteínas e ancoramento celular (21).

As propriedades do óxido nativo de Ti não são as melhores para garantir a resposta celular para a osseointegração, a qual pode necessitar até um ano para se concretizar (22). Por esse motivo, faz-se o tratamento da superfície para modificar a morfologia, energia e molhabilidade dos implantes. As modificações na superfície conduzem a uma alteração na resposta osteoblástica, afetando fatores como a adesão celular, atividade da fosfatase alcalina e produção de osteocalcina. Esse processo resulta em um aumento da osteogênese e da osseointegração, contribuindo para o fortalecimento tanto da estabilidade mecânica primária quanto da osseointegração secundária do implante.

Resultados da literatura mostram que o tratamento da superfície dos implantes com ácido induzem a formação óssea, devido à melhor resposta celular (23). Superfícies sem tratamento superficial apresentam uma camada passiva de óxido com espessura na

ordem de 7,9 nm. Entretanto, os tratamentos termoquímicos das superfícies do titânio e suas ligas, aumentam a espessura para até 50 nm com melhor atividade biológica e processo de osseointegração (24) (25) (26) .

Existem algumas desvantagens do aumento da rugosidade de superfície dos implantes, dentre elas a maior taxa de formação de biofilme e aumento da perimplantite (27). Por este motivo há necessidade do desenvolvimento de modificações químicas da superfície para melhorar a osseointegração e reduzir os processos infecciosos por bactérias do biofilme. Uma das possibilidades é obter superfície bactericidas.

2.2 O biofilme bacteriano

As bactérias estão naturalmente presentes na saliva, na língua, nas bochechas e nas superfícies dos dentes, especialmente em áreas de retenção, como fissuras, bem como no sulco gengival. Cada uma dessas regiões da cavidade oral apresenta ecossistemas bacterianos distintos (28). É importante ressaltar que a presença e a quantidade de bactérias variam em cada uma dessas partes e é essencial que essas microbiotas vivam em equilíbrio para evitar o surgimento de patologias.

O biofilme/placa microbiana (Figura 3) pode ser definido como uma “comunidade complexa e funcional de uma ou mais espécies de micróbios, envoltos em uma matriz de exopolissacarídeos e ligados uns aos outros ou a uma superfície sólida”. A estrutura dental, estrutura óssea e o biofilme podem estar em implantes cerâmicos ou metálicos (28). Desde



Figura 3 – Biofilme e placa bacteriana aderida na superfície dos implantes e componentes protéticos. Foto cedida por: Renata Machado

a descoberta da osseointegração por Branemark na década de 1960, a implantodontia vem aumentando sua popularidade cientificamente, e tem sido reconhecida como uma das principais especialidades odontológicas para devolução estética e funcional dos pacientes (29). Atualmente, a utilização de implantes dentários constitui uma alternativa de reabilitação altamente previsível e difundida para a substituição de dentes ausentes.

Durante a colocação de implantes, é importante estar ciente que podem ocorrer complicações, algumas das quais são relativamente comuns. Estas complicações incluem o posicionamento inadequado dos implantes, como em uma angulação errada, ou a perfuração

acidental da parede inferior do seio maxilar ou do canal mandibular. Outras complicações possíveis incluem o afastamento da tábua óssea vestibular ou lingual, ocorrência de hemorragia, fratura de mandíbula, fratura do próprio implante e deiscência da ferida nos tecidos moles. Além disso, problemas sistêmicos e hábitos prejudiciais, como o tabagismo, também podem impactar negativamente a integração do implante. A infecção bacteriana é outra complicação relevante que pode ocorrer (30), porém pode ser evitada com o tratamento de superfície adequado e utilizando nanopartículas, conforme Figura 4, para evitar e/ou tratar a entrada de microorganismos.

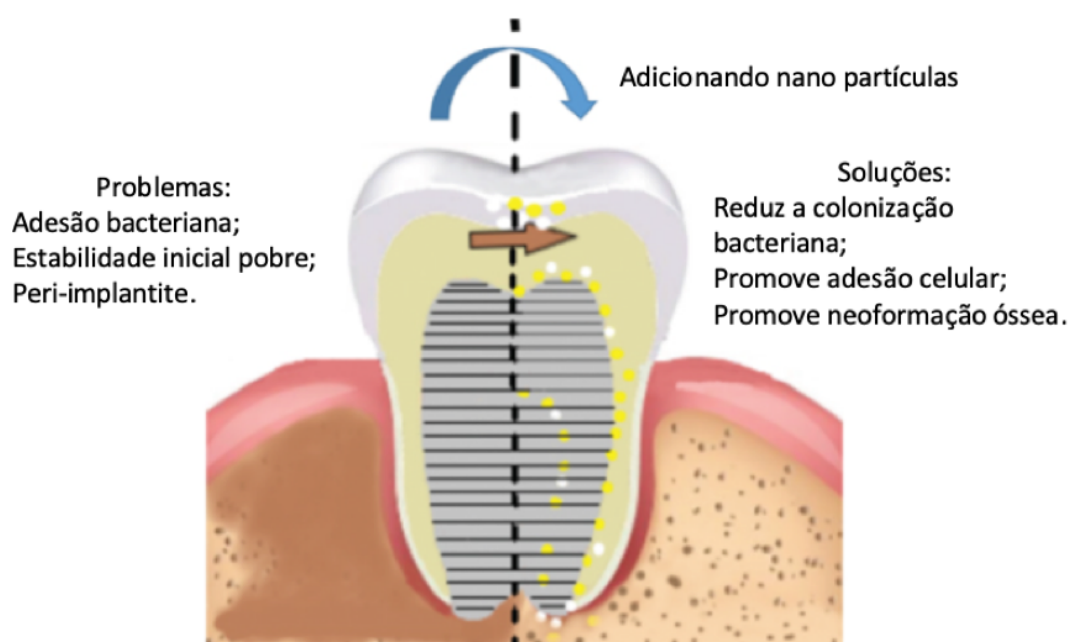


Figura 4 – Adição de nanopartículas com ação antimicrobiana sobre os implantes e/ou componentes protéticos. Adaptado de (31).

Os riscos de infecção na região dos implantes podem estar relacionados com a presença de bactérias e reações inflamatórias concomitantes. Com isso, a longevidade dos implantes pode ser comprometida por uma sobrecarga oclusal e ou peri-implantite, dependendo da geometria e das características de superfícies dos implantes (32). O biofilme bacteriano exibe algumas propriedades que são inerentes à microbiota em geral, cuja consequência clínica é a susceptibilidade reduzida a agentes antimicrobianos, bem como sua sinergia ao patógeno (33).

Uma dessas patologias é a peri-implantite, que é definida como uma reação inflamatória com perda de suporte ósseo em tecidos circunvizinhos a um implante em função, resultando na perda progressiva da osseointegração e do osso marginal de suporte. Essa condição pode ser comparada à periodontite, uma patologia que acomete os dentes e frequentemente é associada com supuração e bolsas mais profundas, mobilidade, dor ou sensação de corpo estranho (34, 35, 36).

Na primeira fase da peri-implantite, ocorre a formação de uma película adquirida na superfície do implante, composta por proteínas salivares, peptídeos e outras substâncias. Essa película possui receptores para adesinas, que facilitam a colonização inicial de espécies pertencentes ao complexo amarelo de Socransky (Figura 5), como *Streptococcus* e *Actinomyces*. (37).



- Complexo azul:** *Actinomyces ssp.*
- Complexo violeta:** *Veillonella parvula* e *Actinomyces odontolyticus*
- Complexo verde:** *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga ochracea*, *Capnocytophaga sputigena*, *Capnocytophaga gingivalis* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sorotipo a.
- Complexo amarelo:** *Streptococcus mitis*, *S. oralis*, *S. sanguinis*, *S. gordonii* e *S. intermedius*.
- Complexo laranja:** *Streptococcus constellatus*, *Campylobacter rectus*, *C. showae*, *C. gracilis*, *Prevotella intermedia*, *P. nigrescens*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum* (sp. nucleatum), *F. nucleatum* (sp. vincentii), *F. nucleatum* (sp. polymorphum), *F. periodonticum*, *Eubacterium nodatum*
- Complexo vermelho:** *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*.

Figura 5 – Complexo de Socransky (37).

Em resumo, a doença periodontal pode ocasionar mobilidade, destruição dos tecidos periodontais e a perda óssea, podendo inclusive afetar a estabilidade de um implante já osseointegrado (38).

A peri-implantite pode remodelar a crista óssea de maneira progressiva afetando a interface osso-implante, resultando no rompimento da osseointegração (39).

2.3 O carbono

Por ser tetravalente, o carbono é capaz de realizar quatro ligações químicas covalentes e em seu estado fundamental seus elétrons são distribuídos, unicamente, nos $1sp^2$, $2sp^2$ e $2p^2$. Os dois elétrons do orbital $1s$ não participam de forma efetiva nas ligações eletrônicas, uma vez que estão fortemente ligados ao núcleo. As propriedades do carbono resultam da capacidade deste elemento formar orbitais híbridos, podem ocorrer de três maneiras: sp , sp^2 , sp^3 (40).

O carbono elementar tem dois isótopos estáveis (^{12}C , ^{13}C) e um isótopo radioativo (^{14}C). A abundância natural de ^{12}C é 98,89 %, ^{13}C é 1,108% e ^{14}C é $1 \times 10^{-10}\%$. O ^{14}C tem 6 prótons e 8 nêutrons e está presente nos carbonos à base de biomassa, mas não nos carbonos à base de petróleo (41).

O carbono possui formas alotrópicas que formam as substâncias simples, isto é, substâncias que são formadas somente por ligações entre átomos de carbono. Existem pelo menos sete alótropos do carbono (Figura 6) que são grafite (alfa e beta), diamante, lonsdaleíta (diamante hexagonal), fulerenos, nanotubos de carbono, óxido de grafeno e, nanotubos de carbono de parede múltipla (42, 43).

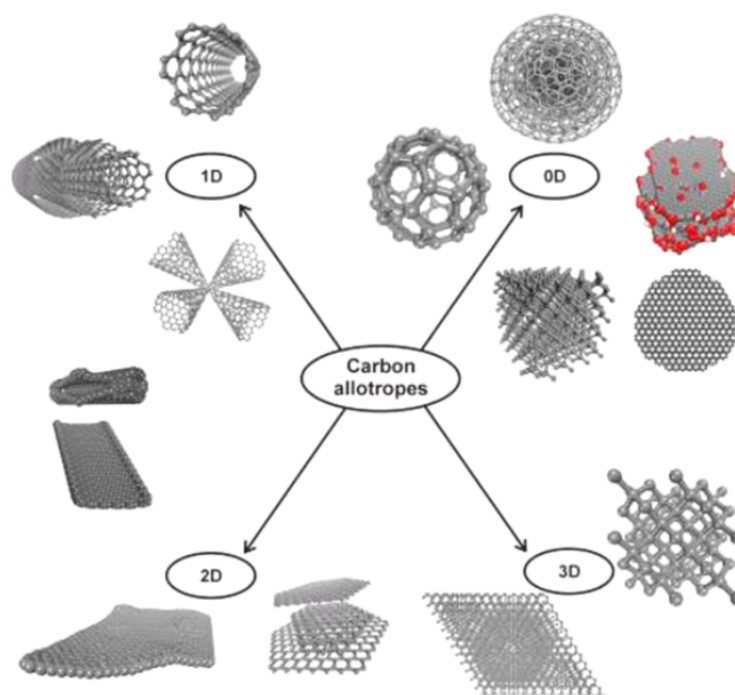


Figura 6 – Representação esquemática de diferentes alótropos do carbono (43).

2.3.1 O grafite

A importância de abordar esse material, é o fato dele ser usado como principal material para conseguirmos sintetizar o óxido de grafeno e seus demais alótropos 6.

O grafite natural é oriundo do metamorfismo do carbono, como xisto, gnaisses e mármore ou de rocha carbonatada. A classificação e a qualidade do grafite podem variar de acordo com o teor de carbono, tamanho das partículas e tipos de impurezas. O grafite é considerado um mineral não metálico, inerte, que apresenta coloração variando entre o cinza escuro e o preto, peso específico entre 2,1 e 2,3 g/cm^3 e brilho semi-metálico. Seu ponto de fusão é de 3.927 °C, sendo altamente refratário, lubrificante, compressível e maleável. Sua dureza é classificada entre 1 a 2 na escala de Mohs. Sua estrutura cristalina é formada por vários planos de átomos de carbono densamente dispostos em uma rede com simetria hexagonal. Tem excelente condutibilidade térmica de 30 $W.cm^{-1}.k^{-1}$ e sua densidade Elétrica: 2,25 $gm.cc^{-1}$, além de possuir grande resistência química, termal e à oxidação. Suas propriedades favorecem diversas aplicações, sendo, portanto, de grande interesse para a mineração, indústria química, indústria biomédica, dentre outras (44, 45).

A grafitização, que é a transformação do carbono em grafite, depende principalmente da matéria orgânica, temperatura e pressão atuantes durante o metamorfismo. Os depósitos de grafite originados a partir do metamorfismo de contato, podem ser formados a partir de intrusões ígneas em rochas carbonáticas, com produção de grafite lamelar do tipo flake. Já o grafite fino e microcristalino (dust) são formadas em rochas de baixo grau metamórfico (46) .

As propriedades do grafite sintético são comparadas àquelas do grafite natural, e é caracterizada pela sua alta pureza e baixa cristalinidade em relação ao grafite natural. O grafite sintético pode ser produzida utilizando o carvão mineral como matéria-prima, no entanto o preço do carvão mineral é elevado em relação ao carvão vegetal. Outro contraponto é que o carvão mineral não é uma fonte de energia renovável (47).

2.3.2 O Óxido de Grafeno

O grafeno foi descoberto em 2004 por pesquisadores da Universidade de Manchester quando realizavam a limpeza da superfície de uma placa de grafite, desgastando-a aos poucos em uma fita adesiva. Quando analisaram os resíduos do grafite na fita em um microscópio atômico, viram que esses resíduos mantiveram a estrutura cristalina hexagonal do grafite e que possuíam também um peculiar arranjo simétrico de elétrons que aumentava sua condutividade. Por essa descoberta foram agraciados com o Prêmio Nobel de Física no ano de 2010 (48).

Posteriormente verificou-se a possibilidade do uso do óxido de grafeno (GO) em aplicações biológicas. Ele dificilmente entra nas células, apresenta boa biocompatibilidade e tem potencial para ser o substrato para o crescimento celular. No entanto, o óxido de grafeno provoca oxidação excessiva do meio e induz a ligeira diminuição da viabilidade celular em altas doses (49) . Para minimizar este problema deve-se adicionar alguns compostos, como por exemplo a incorporação do pentóxido de nióbio (nióbia) a esse filme.

Um trabalho anterior avaliou a fixação, viabilidade e proliferação dos cementoblastos nos revestimentos que poderiam melhorar o desempenho dos implantes de aço inoxidável, a resistência à corrosão e a resposta biológica (50). Com base neste resultado foi feita a proposta da análise das propriedades da superfície do titânio recoberta com GO e nióbia. A viabilidade da proposta será analisada mediante ensaios de caracterização da superfície, ensaios *in vitro* de adesão, proliferação e diferenciação celular (51).

Alguns estudos também relataram a corrosão do titânio em contato com saliva e flúor (52) (53). Porém, a adição dos compostos GO e nióbia ao Ti poderia efetivamente aumentar a resistência à corrosão do substrato de Ti em saliva acidificada com ou sem adição de flúor (54) , (55).

O grafeno antes de ser descoberto era considerado um material puramente teórico e usado para explicar a formação das outras formas alotrópicas do carbono, pois se acreditava que sua estrutura não seria estável (56).

O carbono no grafeno pode formar uma única camada de átomos com estrutura na forma de favo de mel (hexagonal) ou várias camadas acopladas na estrutura em favo de mel (48).

O grafeno é fabricado a partir da esfoliação química do grafite natural, até restar uma única camada bidimensional, com a espessura de um único átomo de carbono, em um arranjo hexagonal (57). É o material mais fino já conhecido e com resistência mecânica excepcionalmente alta (58). Além disso, apresenta propriedades como flexibilidade, leveza e dureza, o que o torna um material promissor para uma ampla gama de aplicações, incluindo eletrônicas, químicas e eletromecânicas. (57).

2.3.3 A aplicação Biológica do Grafeno

Dados da literatura mostram que substratos revestidos com grafeno e GO (óxido de grafeno) aceleraram a adesão, proliferação e diferenciação das células-tronco mesenquimais (MSC) (59) . As evidências mostram que o GO é promissor como material para fixação de fratura óssea, crescimento e proliferação de células(60). Além das propriedades de crescimento celular, o GO também possui efeito bactericida. Conforme é ilustrado na Figura 7, isso ocorre principalmente devido às bordas "afiadas" das nanofolhas de grafeno, que rompem a membrana da bactéria, permitindo que o conteúdo intracelular vaze para o meio circundante. (61).

A toxicidade do GO para células A549 foi avaliada por vários métodos de citotoxicidade. Verificou que o GO apresenta baixa capacidade de penetração celular e apresenta boa biocompatibilidade. Além disso, o GO apresenta potencial para ser utilizado como substrato para o crescimento celular. No entanto, em altas concentrações, o GO pode provocar “estresse oxidativo” e induzir uma leve diminuição na viabilidade celular. O efeito

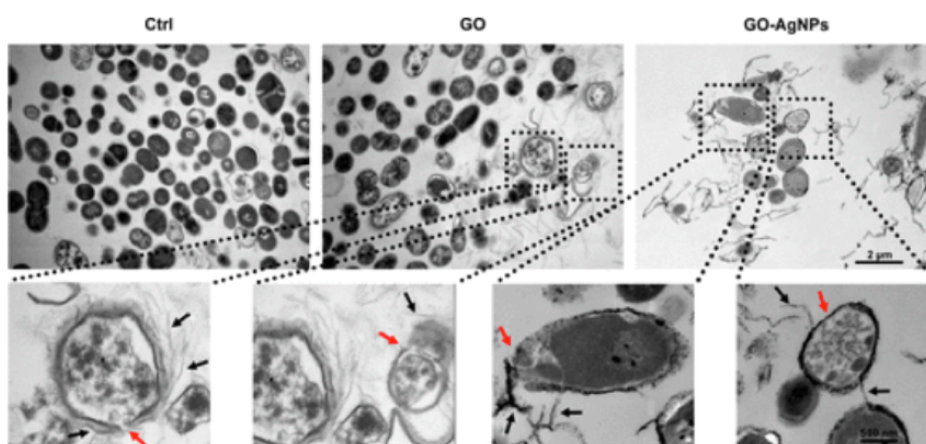


Figura 7 – Imagens de TEM, as folhas de óxido de grafeno rompendo membrana bacteriana em meio a saliva. Setas vermelhas indicam ruptura da membrana e as pretas marcam as folhas de GO. Adaptado de Shi, 2018 (62).

do GO nas células A549 está relacionado com a concentração e o tamanho das partículas (49). Outros estudos têm demonstrado que os materiais revestidos com grafeno não são tóxicos e aumentam a fixação e a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e MSCs(63) (64).

Recentemente, foram realizados estudos para investigar o efeito das nanofolhas de óxido de grafeno (GO) no desenvolvimento de biofilmes contendo *Streptococcus mutans*. Os resultados dessas pesquisas revelaram que as nanofolhas de GO apresentam alta eficácia na inibição da formação de biofilmes bacterianos, principalmente nos estágios iniciais. A eficácia do GO varia de acordo com as concentrações utilizadas, que podem variar de baixas a altas. Após o tratamento com GO, observou-se uma diminuição significativa na proporção de células vivas dentro do biofilme bacteriano. Além disso, a estrutura do biofilme foi afetada negativamente, resultando em sua destruição (65).

2.4 O Nióbio

O Brasil, Segundo o Departamento Nacional de Produção Mineral (DPNM), possui as maiores reservas conhecidas de nióbio, encontrado principalmente nas jazidas de pirocloro, que equivalem a aproximadamente 98% de todo o nióbio do mundo.

O nióbio é usado como elemento de liga dos metais, principalmente em aços para aumentar a resistência mecânica e a maleabilidade. O nióbio também é utilizado na fabricação de vidros especiais, tais como lentes, películas de revestimento e capacitores cerâmicos. Quando usados como materiais anódicos em baterias de íons-lítio, esse metal (na forma de óxido) proporciona alta capacidade volumétrica, além de ser aplicado como supercapacitores híbridos. Outra aplicação relevante do nióbio é na área da catálise, especialmente na indústria química e petrolífera. Os catalisadores a base de nióbio geralmente apresentam boa estabilidade química, acidez e versatilidade, ocupando um papel fundamental em reações catalíticas oxidativas (66). A Figura 8 ilustra alguns produtos que utilizam o nióbio.

O nióbio apresenta excelente resistência a corrosão em meios aquosos devido à formação de um filme de óxidos compacto em sua superfície. No entanto, na presença de substâncias complexas, tais como íons fluoretos, H_2SO_4 ou HCl , pode ocorrer a dissolução da camada de óxido, levando à fragilização por hidrogênio. Além do pentóxido de nióbio (Nb_2O_5), que é o óxido mais comum formado na superfície do nióbio, esse metal também pode formar outros filmes óxidos, como NbO e NbO_2 (67). Em relação às propriedades magnéticas, o nióbio geralmente apresenta um comportamento diamagnético. Além disso, o nióbio é normalmente insolúvel em água (68).

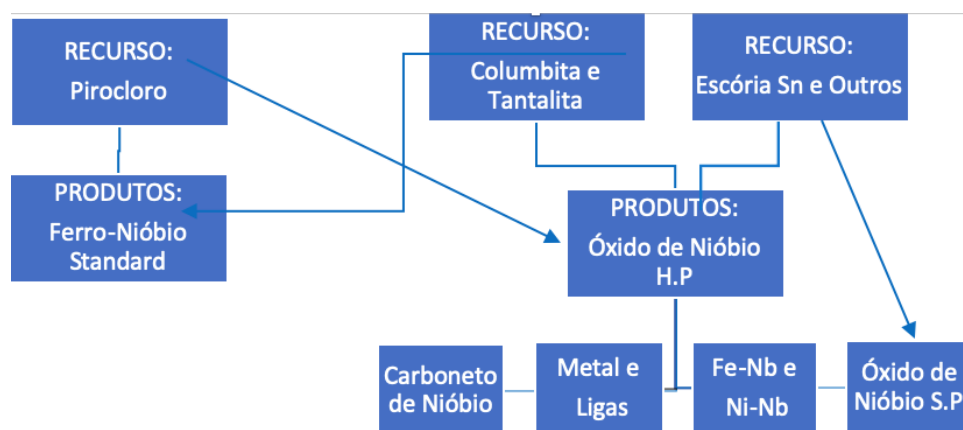


Figura 8 – Produtos derivados do Nióbio. Adaptado de (TAGUSAGAWA,1995) .

2.4.1 O pentóxido de nióbio

O pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) da fase H é a forma mais termodinamicamente estável do sistema nióbio-oxigênio, conforme pode ser observado na Figura 9. Geralmente,

é produzido na forma de pó da cor branca (69).

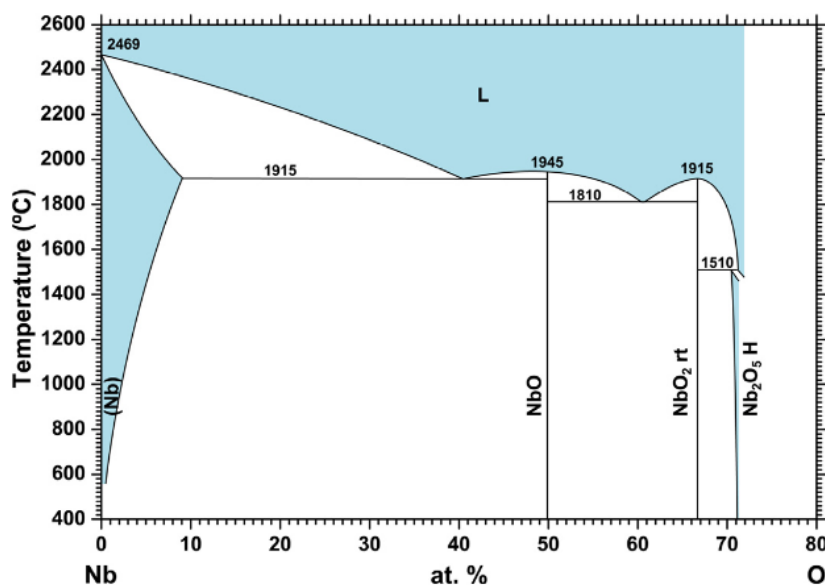


Figura 9 – Diagrama de fases Nb-O

(70)

O Nb sofre oxidação intensa a 390 °C com elevada fragilização. A 350 °C tem-se a reação do nióbio com nitrogênio, a 300 °C ele reage com vapor da água, a 250 °C com hidrogênio, dióxido e monóxido de carbono. A 100 °C o Nb é inerte a vários gases (Figura 9 (67)).

A fase Nb_2O_5 pode existir no estado amorfo ou cristalino em vários tipos polimorfos com diferentes estruturas: T (D2h9, ortorrômbico), B (C2h6, monoclinico), H (C2h1, monoclinica), N (C2h3, monoclinico), Z (C21, monoclinico), R (C2h3, monoclinico), M (D4h17, tetragonal), P (D410, tetragonal) e também TT (pseudohexagonal ou monoclinico). O fato de existirem várias combinações possíveis de ligações octaédricas que podem produzir uma razão O / Nb de 2,5, é apontado como a razão para a multiplicidade de estruturas Nb_2O_5 . A maioria das estruturas polimórficas de Nb_2O_5 são descritas pela combinação de um ou ambos os tipos de ligações entre octaedratos que podem ocorrer por compartilhamento de cantos ou por compartilhamento de bordas (71).

Com relação às respostas biológicas, o aço AISI 316L com revestimento biomimético de Nb_2O_5 é um material adequado para aplicações ortopédicas. O resultado foi associado ao fato que a característica nanoporosa do revestimento aumenta o crescimento de hidroxiapatita (72).

2.4.2 Aplicação Biológica da Nióbia/Pentóxido de Nióbio

A deposição de uma película fina de nióbia pura em uma superfície de liga de titânio aumenta a microdureza de 5,58 GPa para 8,64 GPa (73).

Quanto às propriedades biológicas, o revestimento com nióbia aumenta a viabilidade celular e proliferação após 21 dias de cultura. Além disto, as células apresentam boa adesão e ficam homogeneamente distribuídas na superfície. Resultados de trabalhos realizados anteriormente mostram que a atividade da lactato desidrogenase foi semelhante à superfície de titânio com e sem revestimento de nióbia, indicando um número de células semelhante. Com revestimento de nióbia ocorre um ligeiro aumento na viabilidade celular e um grau mais elevado de diferenciação osteogênica. (74)

2.5 A eletroquímica

2.5.1 Deposição eletroforética

A técnica de deposição eletroforética (EPD) é conhecida como uma das mais versáteis para o processamento de particulados. Essa técnica permite alcançar uma ampla faixa de dimensões, como por exemplo, em termos da espessura de depósitos que podem ser produzidos em comparação a outras técnicas e também devido a sua aplicabilidade com pós nanométricos (75).

A deposição de partículas carregadas positivamente ocorre no eletrodo negativo (cátodo), enquanto as partículas carregadas negativamente se depositam no ânodo. Estes dois processos são referidos como deposição catódica e deposição anódica, respectivamente (75).

A técnica de conformação de cerâmicas por eletroforese, do ponto de vista experimental, pode ser dividida em dois processos distintos. No primeiro processo, as partículas de cerâmica dispersas no líquido (polar ou apolar) se movimentam para o eletrodo que tem sua carga oposta ao aplicar um campo elétrico (76). Para esse processo, a água é mais utilizada como solvente polar, pois requer uma menor corrente elétrica e tem uma forte interação com a superfície dos óxidos devido à característica iônica de interface óxido/solvente (77). No segundo processo, as partículas se aproximam da superfície do eletrodo para coagularem e assim permanecerem depositadas, resultando na formação de um filme ou revestimento (76).

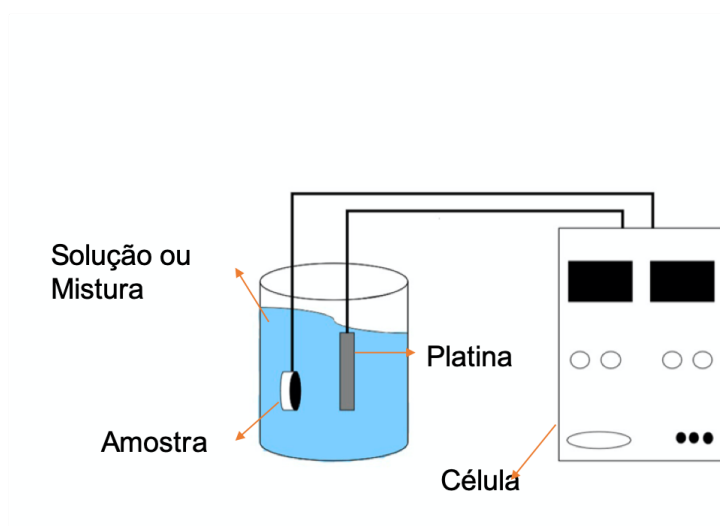


Figura 10 – Desenho esquemático de deposição eletroforética- EPD.

2.5.2 Corrosão

Pode-se definir corrosão, em um aspecto mais amplo, como um processo espontâneo que leva a deterioração de um material, geralmente metálico, por ação química ou eletroquímica do meio ambiente aliada ou não a esforços mecânicos. A deterioração causada pela interação físico-químico entre o material e seu meio operacional representa alterações prejudiciais indesejáveis, sofridas pelo material, tais como desgaste, variações químicas ou modificações estruturais, tornando-o inadequado para uso (78).

A corrosão, na verdade é causada pela ação de um agente oxidante como o oxigênio e hidrogênio que, ao entrar em contato com a superfície do metal, passa a receber elétrons, ocorrendo, assim a reação de redução. Os elétrons consumidos na reação de uma redução, que ocorre no cátodo, são fornecidos pela reação de oxidação do metal que ocorre no ânodo, sendo transferido para o cátodo através do metal, que atua como um eletrodo (material no qual ocorre a transferência de elétrons) (79).

Implantes metálicos para aplicações ósseas submersas em íons eletrólitos no corpo constituem uma célula básica de corrosão. Amplas correntes podem ser induzidas pelo fluxo de íons e elétrons gerados durante reações eletroquímicas que ocorrem entre a corrosão da superfície metálica e eletrólito. Essas correntes são geralmente usadas para medir a taxa de corrosão de um metal; porque eles são diretamente relacionados à liberação de íons metálicos ou, em outras palavras, a degradação do material (80). Sabe-se também que adesão de *Streptococcus mutans* causa corrosão na superfície de ligas de titânio polidas mecanicamente ou eletroquimicamente (81). Por esse fato, é necessário o estudo da corrosão em implantes dentários.

Os ensaios de laboratório utilizam-se pequenos corpos de prova altamente definidos, com composição do meio corrosivo fixada com rigorosa exatidão, isso porque devem ser mantidas as condições do ensaio e, no caso de ensaios acelerados, aumentar a velocidade do processo, com o objetivo de se obter resultados mais rápidos (82) .

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 PRODUÇÃO DE ÓXIDO DE GRAFENO - GO

O óxido de grafeno, foi produzido por via química, utilizando-se o método de Hummers modificado e com base no trabalho de Rouke, 2016.

O método consistiu nas etapas abaixo:

a) Etapa de mistura dos reagentes: 1- O grafite (Sigma-Aldrich 332461) foi utilizado 2,06g;

2- Em um balão de fundo redondo de 2 L o grafite foi adicionado;

3- De forma lenta e intercalada foram adicionados 1,90 g de nitrato de sódio (NaNO_3) e 87,2 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4), toda a mistura foi mantida sob agitação magnética no tempo de 2h e no início apresentou uma cor verde-escura e ao final apresentou coloração marrom-escura.

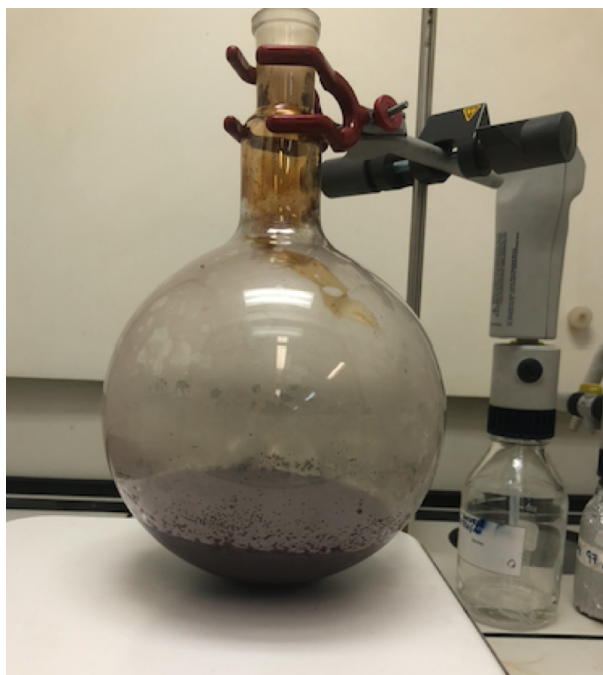


Figura 11 – Aspecto marrom-escuro após a primeira etapa de sintetização do GO

b) Etapa de oxidação: 1- Fracionado em 12 partes iguais o total de 11,3 g de permanganato de potássio (KMnO_4);

2- Adicionado cada fração do permanganato de potássio (KMnO_4) da cada 10 min, totalizando 2h; A agitação magnética sempre constante e resfriado por gelo todo o sistema. Pois, essa etapa é altamente exotérmica.

3- Após toda mistura ser realizada o gelo foi removido e agitação magnética mantida por mais 24h;

4- Essa oxidação se deu por mais 7 dias, finalizando com aspecto com alta viscosidade.

5- Esfoliação foi realizada a adição, da solução de ácido sulfúrico a 5 por cento (14,5 ml de H₂SO₄ e 260 ml de água deionizada) sob agitação magnética, através de gotejamento, por 1 h. Para evitar aquecimento, a mistura foi resfriada com gelo, e a agitação permaneceu durante 3 h.

6- Finalizando a etapa de oxidação, 7,50 g da solução de H₂O₂ a 30 volumes foi gotejada durante 2h, e ao final a solução estava apresentando a cor castanha.

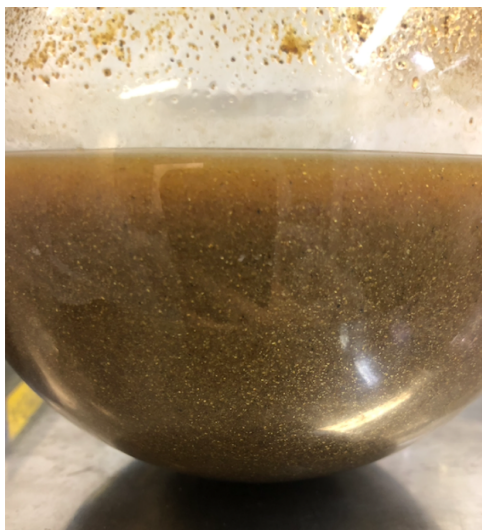


Figura 12 – Aspecto castanho após a etapa de oxidação do GO

c) Etapa de esfoliação e lavagem:

1- A adição da solução de H₂SO₄ a 3% e H₂O₂ a 0,5 % (7,90 ml de H₂SO₄, 3,90 ml de H₂O₂ e 238 ml de água deionizada). Por cerca de 16 h a agitação magnética foi mantida;

2- A lavagem foi iniciada com 5 tubos de 100 ml, utilizando uma centrífuga com desaceleração, do LATEB- Fiocruz. A primeira lavagem foi realizada a centrifugação a 5000 rpm durante 30 min, e o sobrenadante foi descartado.

3- Adicionado solução de H₂SO₄ a 3 % e H₂O₂ a 0,5 %, foram realizadas mais 10 centrifugações e após cada centrifugação, foi descartando-se o sobrenadante.

4- Lavagem com água deionizada foi realizada, 2h a 5000 rpm e mais 2 lavagens foram realizadas e descartado o sobrenadante e todo e qualquer material contaminante.

d) Etapa filtragem:

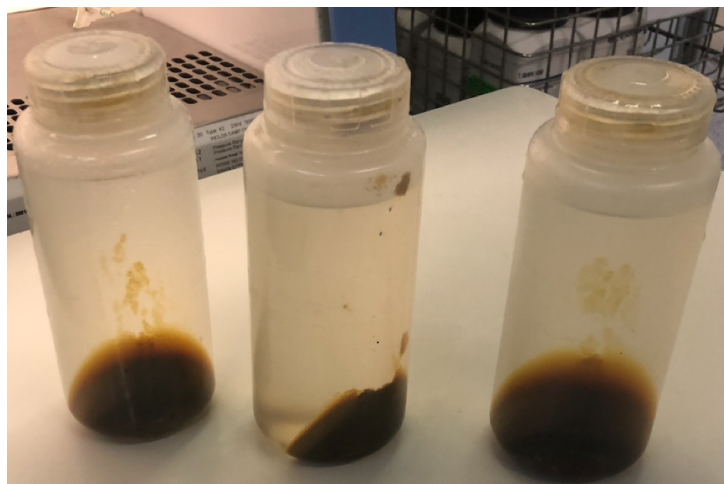


Figura 13 – óxido e grafeno lavado

1- Todo material foi filtrado com filtro de tela polimerica e com a utilização de bomba a vácuo, dentro de capela, garantido a esterilidade de todo material. A solução do GO aquosa apresentaram pH 4.



Figura 14 – óxido e grafeno sintetizado

3.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

No presente trabalho foram usadas barras de titânio comercialmente puro grau 4 (Ti cp ASTM G4) com diâmetro de 8,0 mm fornecidas pela empresa Conexão Sistema e Prótese (Arujá, SP).

Preparação das amostras: As amostras foram preparadas em 8 etapas, a seguir descritas.

1. As amostras foram seccionadas na cortadora metalográfica Struers, modelo Miniton.
2. Embutimento em resina acrílica e conexão com um fio rígido de cobre. 15);

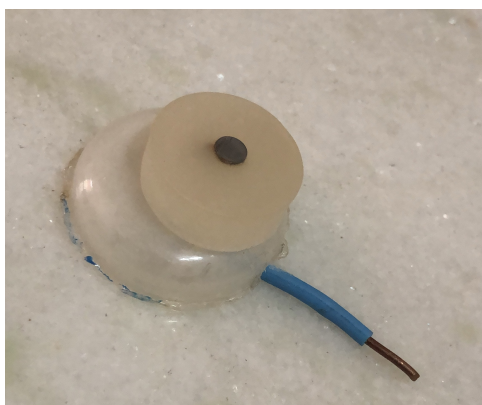


Figura 15 – Amostra conectada ao fio de cobre e embutida

3. Preparação da superfície com com lixas de granulação 80, 100, 320,500,1000, 1200 em lixadeira metalográfica AROTEC, Modelo AROPOL-VV;
4. Lavagens consecutivas em cuba ultrassônica Cristófoli com água destilada por 10 minutos, com acetona 6 minutos e em água destilada por 10 minutos;
5. Secagem na temperatura ambiente;
6. Imersão preparação da superfície com ataque ácido, em solução de ácido sulfúrico, clorídrico e água destilada;
7. Lavagens consecutivas em cuba ultrassônica Cristófoli com água destilada por 10 minutos, com acetona 6 minutos e em água destilada por 10 minutos;
8. Secagem em estufa a 100 °C por 30 min;

Amostra preparada para a etapa de deposição eletroforética, conforme micrografia 16.

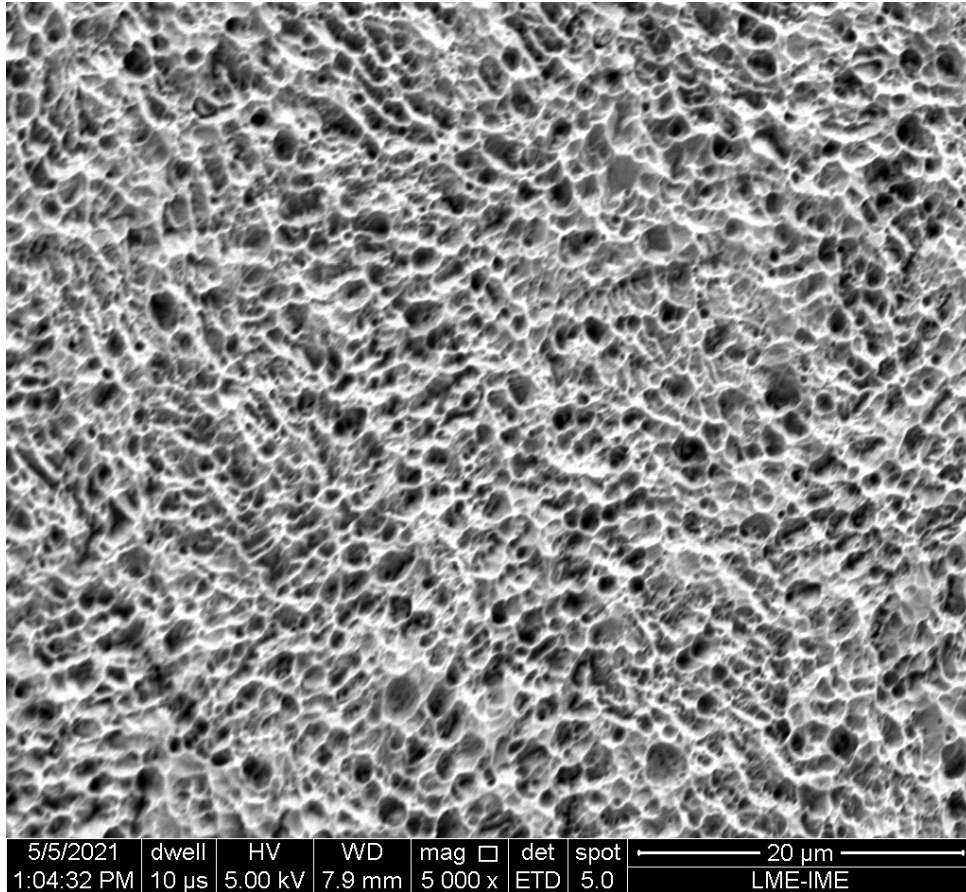


Figura 16 – Micrografia da superfície da amostra após preparação

3.2.1 Eletrodeposição do Óxido de Grafeno (GO)

As amostras foram divididas em 4 grupos com base na deposição ou não do revestimento, a saber:

- Ti cp: Amostras de Ti cp grau 4 sem revestimento
- TiNb :Amostras com filme de nióbia
- TiGO :amostras com filme de óxido de grafeno
- NBGO :mostras com filme de óxido de grafeno e nióbia.

A deposição eletroforética do GO em uma solução aquosa de óxido de grafeno(GO) com concentração de 1,0 *mg/ml*. Na deposição o catodo de trabalho foi a amostra de Ti cp e o anodo uma placa de platina. A deposição foi com agitação magnética constante. Foi aplicada a corrente foi 10A durante 10 minutos. Mostra-se na Figura 17 o esquema da célula, tanto para deposição do GO, quanto para deposição da nióbia.



Figura 17 – Sistema de deposição do GO.

3.2.2 Eletrodeposição da Nióbia

A eletrodeposição da nióbia foi realizada com uma solução de Nb_2O_5 em água destilada com concentração de 44 mg/ml . O procedimento de deposição seguiu uma abordagem semelhante à utilizada para a deposição de GO, com a diferença de que a voltagem aplicada foi de 12V ao longo de um período de 10 minutos. (Figura 18).



Figura 18 – Sistema de deposição do Nióbia.

3.3 Caracterizações da Superfície

Após o preparo das amostras, elas foram caracterizadas seguindo o fluxograma apresentado na 19.

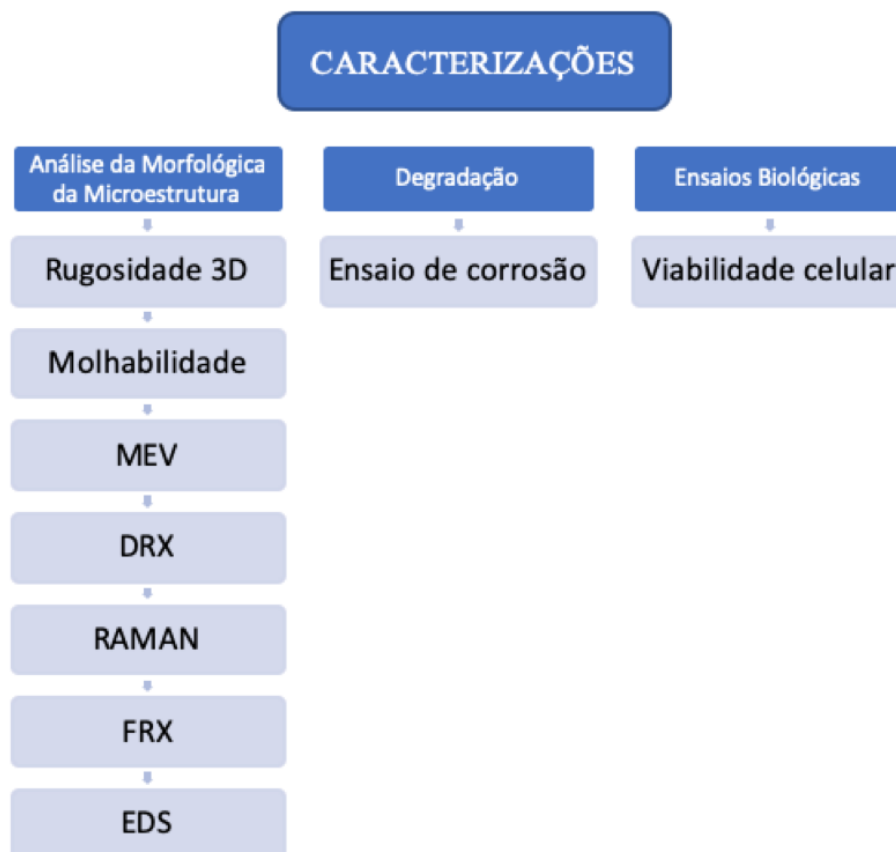


Figura 19 – Fluxograma das caracterizações das amostras com revestimento.

3.3.1 Rugosidade

Entre os parâmetros que caracterizam a rugosidade da superfície foram quantificados o valor médio da rugosidade superficial (R_a) das amostras de Ti cp antes e do Ti cp após os tratamentos de superfícies.

A análise da rugosidade foi realizada com o rugosímetro por interferometria óptica Zygo NewView 7100 (Zygo Corporation, Connecticut, Estados Unidos), disponível no Laboratório de Biomateriais do Instituto Militar de Engenharia.

3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura- MEV

As morfologias das superfícies foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura com uso do MEV modelo Quanta FEG disponível no Laboratório de Microscopia

Eletrônica do IME.

3.3.3 Espectroscopia de Raman

A caracterização das amostras com revestimentos foi realizada no óxido de grafeno antes da deposição e após a deposição. Identificando através do Raman os tipos de ligações e informações sobre o grau de desordem da rede cristalina em duas bandas principais: a banda D e a banda G.

A análise das bandas se deu da seguinte forma:

A banda D : Essa banda resulta de imperfeições das estruturas, ou defeitos, criadas pela incorporação de grupos oxigenados no plano de carbono. Além de ser uma evidência da formação de carbonos com hibridização $2sp^3$;A intensidade da banda D baixa proporcionalmente a diminuição das imperfeições (83) .

A banda G : É associada à vibração no plano de átomos de carbono com hibridização $2sp^2$ devido aos modos de vibrações presentes nas ligações C=C, esta é uma característica de todos os materiais derivados do carbono. Essa hibridização, reflete a qualidade da rede gráfica do material (83).

3.3.4 Molhabilidade

As medidas do ângulo de contato foram realizadas com água deionizada, com emprego da técnica da gota séssil contendo aproximadamente $8 \mu L$. Serão realizadas nas amostras como recebida e após o tratamento de superfície. O equipamento utilizado foi o goniômetro FTA 100 (First Ten Angstroms, Portsmouth, VG, EUA) disponível no Laboratório de Biomateriais do IME.

3.3.5 Resistência à corrosão

A resistência à corrosão foi quantificada em amostras com e sem revestimentos para verificar a possível influência na liberação de íons para o organismo. Para análise eletroquímica, foi utilizada uma das medidas que é o Potencial de circuito aberto (OCP), essa medida é necessária para avaliar o potencial de equilíbrio entre a superfície do material e a solução. Pois, quando um material, em contato em uma solução, tende a imediatamente iniciar um processo de formação de íons dentro dessa solução e a dos elétrons do material. A superfície desse metal tende a um carregamento elétrico e, conseqüentemente gerando um campo elétrico dentro da solução. No entanto, os íons carregados positivamente ficam ao entorno da interface metal-solução. Após, uma dupla camada é formada, fazendo com que, após um determinado tempo ocorra um estado estacionário. Estado estacionário este, que é medido pelo potencial de equilíbrio

O ensaio de corrosão foram realizados com o equipamento Potenciostato PGS-TAT204 com módulo FRA32M da Metrohm, disponível no Laboratório de Biomateriais do IME. Foi utilizada uma solução de NaCl 0,9 % e o potencial foi monitorado durante 3600 s. Observe a Figura 20 ilustrando o sistema.

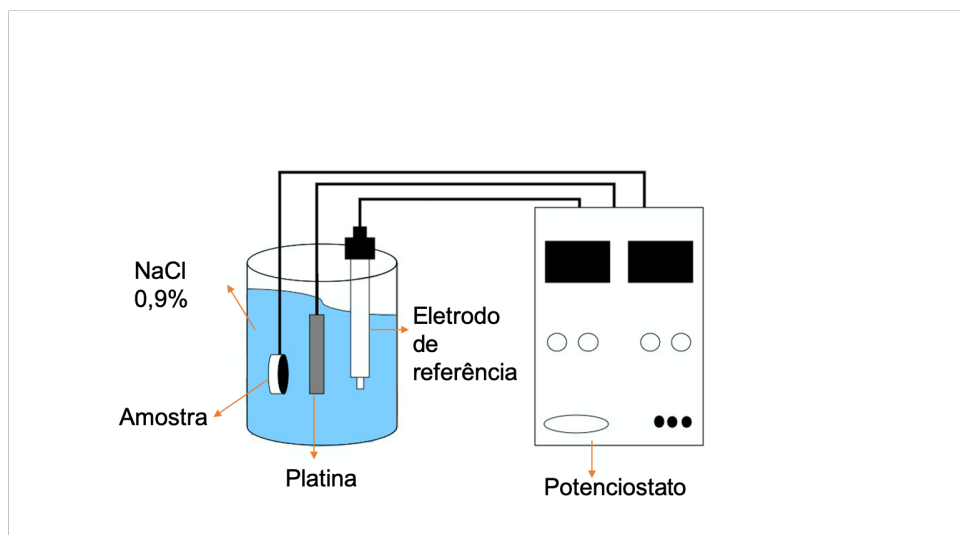


Figura 20 – Desenho esquemático para análise de corrosão.

3.3.6 Difração de Raios X

O equipamento utilizado foi o difratômetro da PANalytical X'Pert PRO com detector PIXcel disponível no Laboratório de Difração de raios X do IME. Os parâmetros utilizados na análise foram:

a) Fonte de radiação Co $\lambda = 1,789010$ b) Filtro Fe Corrente do tubo 40mA soller slit 0,04 rad Step Size 0,0295 c) Anti-scatter slit 1 d) Divergence slit 1/2 ° e) Voltagem do tubo 40kV f) Contagem por segundo (cps) 299,370 g) Faixa de varredura (2θ) 20,00 - 120,00

A caracterização por DRX foi empregada para identificar a presença de pentóxido de nióbio.

3.3.7 Fluorescência de Raios X

A análise da composição química da superfície foi realizada pela técnica de espectroscopia por Fluorescência de Raios X (FRX), utilizando um espectrômetro da marca PANalytical (Zetium, Holanda) com o auxílio do software Epsilon 3 Omnian versão 1.6.A (8.35) disponível no Laboratório de Biomateriais do IME.

3.3.8 Espectroscopia de raios X por energia dispersiva - EDS

É uma caracterização química/análise elementar de materiais, que nos permitiu avaliar os elementos presentes em cada amostra, foi utilizado o MEV modelo Quanta FEG disponível no Laboratório de Microscopia Eletrônica do IME. A caracterização teve por objetivo obter a análise quantitativa da composição química dos corpos de prova de Ti cp grau 4 na forma como foram recebidos e após os revestimento da superfície.

3.3.9 Viabilidade Celular

O ensaio de viabilidade bacteriana foi realizado na Divisão de Biologia Celular e Molecular da Faculdade São Leopoldo Mandic (Campinas, SP). Esse ensaio neste trabalho, se destina a quantificação de crescimento e viabilidade celular. (84)

Foi utilizada uma cepa padrão ATCC (American Type Culture Collection, EUA) de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

1-As culturas de uma única colônia foram cultivadas em caldo de infusão de cérebro e coração estéril (BHI; Himedia, Indian) a 37 ° C por 18 h, sob condições microaerófilas. Em seguida, centrifugada a 2200 rpm a 18 ° C por 5 min e a densidade óptica das suspensões foi ajustada para 1,0 a 540 nm, o que correspondeu a uma concentração microbiana de 12×10^8 células/ml.

2-Cultivo das bactérias nas amostras de GO e NBGO foram incubação por 4 h a 37°C; Após a incubação, foram enxaguadas com 0,9% de solução salina estéril; Utilização do kit BacLight Live/Dead (Molecular Probe, OR, EUA).

3-Para análise de viabilidade bacteriana, utilizou-se o teste live/ dead foi preparada diluindo 1 µl de SYTO 9 e 1 µl de iodeto de propídio em 3 ml de água destilada. 70 µl do reagente foi distribuída em cada superfície e as amostras foram incubadas no escuro por 15 minutos à temperatura ambiente.

4- Uma lâmina de vidro coberta com óleo foi posicionada na superfície e armazenada em uma câmara escura a 4°C até o processamento posterior;

5-Para avaliação das amostras, foi utilizado um microscópio de fluorescência (Zeiss, Alemanha) com ampliação de 200X. A excitação / comprimentos de onda de emissão do SYTO 9 foi de 480 / 500 nm e do iodeto de propídio foi de 490 / 635 nm (85).

Para análise estatística, ou seja, quantificar a quantidade de bactérias vivas e mortas, o método utilizado foi:

- 1- O corte das Imagens no mesmo número de pixels: site Resize Pixel
- 2- Quantidade de Pixels para cada imagem foi padronizada em 1488 x 871 pixels
- 3- Conversão Pixels para Unidade de área (cm², mm², µm²): site translatorscafe.com
- 4- Área Total (cm²) de cada imagem baseada nos pixels: 907,29 cm²
- 5- Análise: software Image J® onde, foi quantificado a quantidade de pixel de cor verde (c0) são bactérias vivas e a quantidade de pixel de cor vermelha são de bactérias mortas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Difração de Raios X

Na Figura 21 é apresentado o difratograma de difração de raios-X da nióbia na condição em que foi recebida. A análise do difratograma (Figura 21) confirma a presença dos picos característicos do pentóxido de nióbio (Nb_2O_5), conforme referenciado na ficha PDF 00-037-1468. Esses picos correspondem às posições e intensidades esperadas para essa fase cristalina específica. Portanto, a partir do difratograma, podemos confirmar a presença da fase de pentóxido de nióbio com estrutura monoclinica, na amostra.

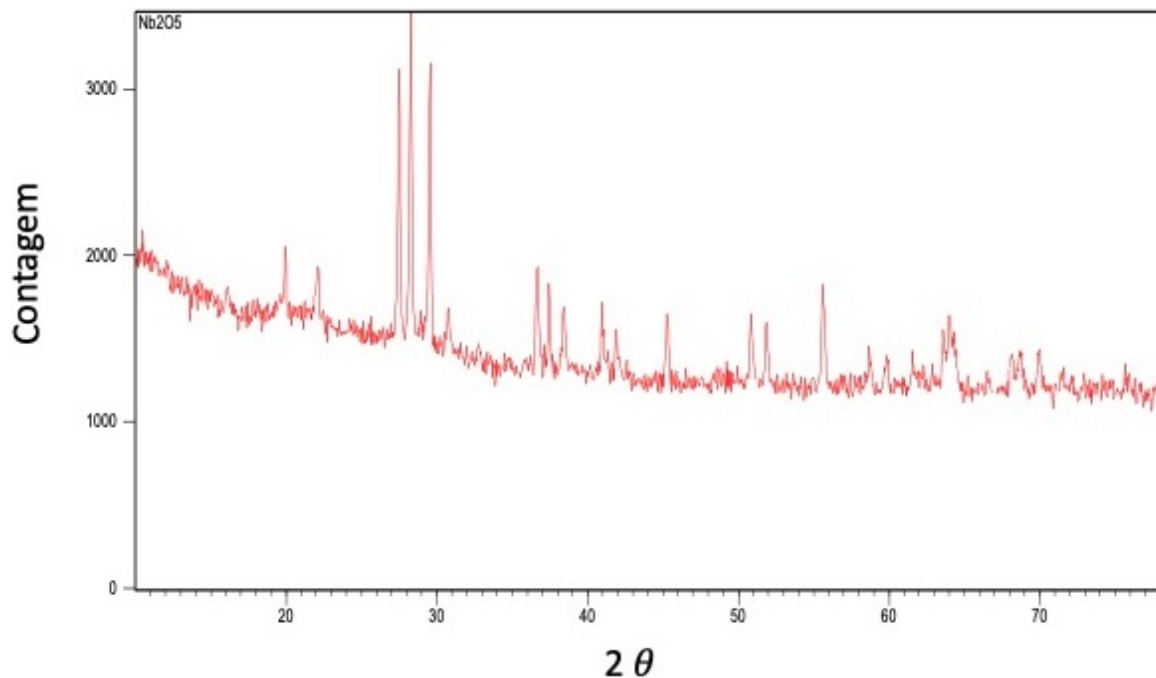


Figura 21 – Difratograma de raios-X da amostra com revestimento de nióbia.

4.2 Espectroscopia Raman

Na caracterização do óxido de grafeno, é possível identificar as características estruturais do revestimento e avaliar a qualidade do óxido de grafeno através das bandas D (1200 a 1400 cm^{-1}) e G (1500 a 1600 cm^{-1}). A banda D indica a desordem da estrutura hexagonal pelas vibrações C-C com hibridização sp . Por outro lado, a banda G correspondente aos domínios de carbono sp^2 , sendo uma das bandas características para identificar a estrutura do grafeno. (86)

Na Figura 22, é apresentado o espectro obtido do óxido de grafeno utilizado para a deposição na superfície do Ti cp. Nesse espectro, podemos observar que a banda D está localizada em 1360 cm^{-1} e a banda G em 1595 cm^{-1} .

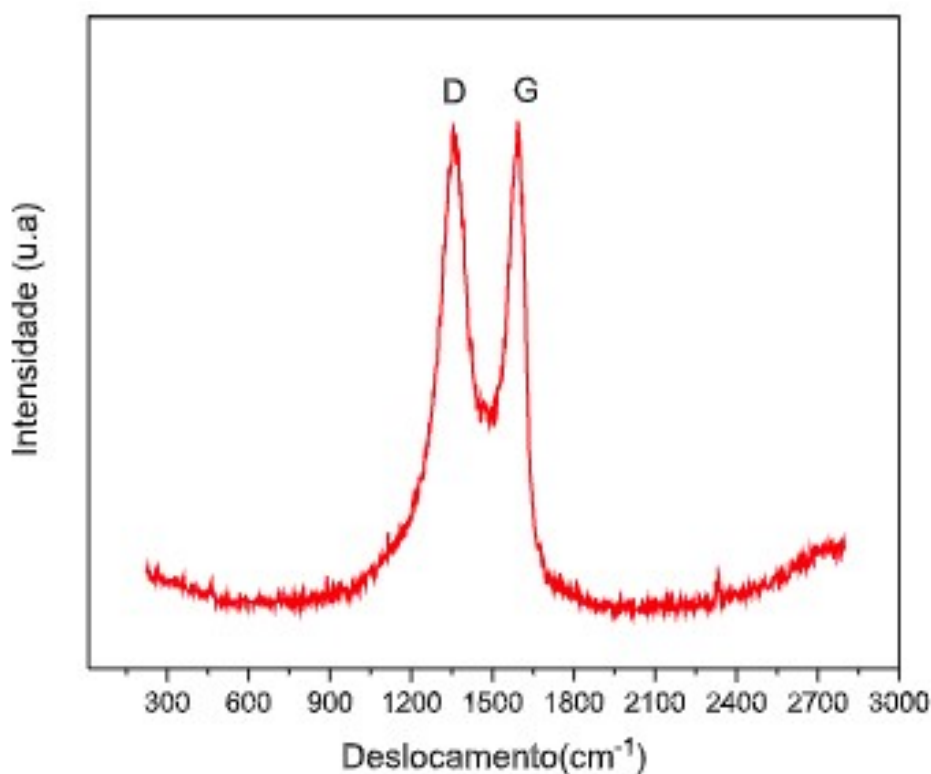


Figura 22 – Espectro de Raman do óxido de grafeno.

4.3 Espectroscopia de raios X por energia dispersiva-EDS

A Figura 23 representa os espectros obtidos na análise química semiquantitativa com EDS. Na Figura 23a, observamos apenas a presença de Titânio comercialmente puro. Já na Figura 23b temos o espectro do Titânio comercialmente puro após a deposição de óxido de grafeno. Na Figura 23c temos o espectro do titânio comercialmente puro após a deposição de pentóxido de nióbio (Nb_2O_5). Por fim, na Figura 23d, podemos observar a presença de Nb, C e Ti. Esses resultados corroboram com a análise e demonstram a presença dos elementos e compostos desejados nos revestimentos.

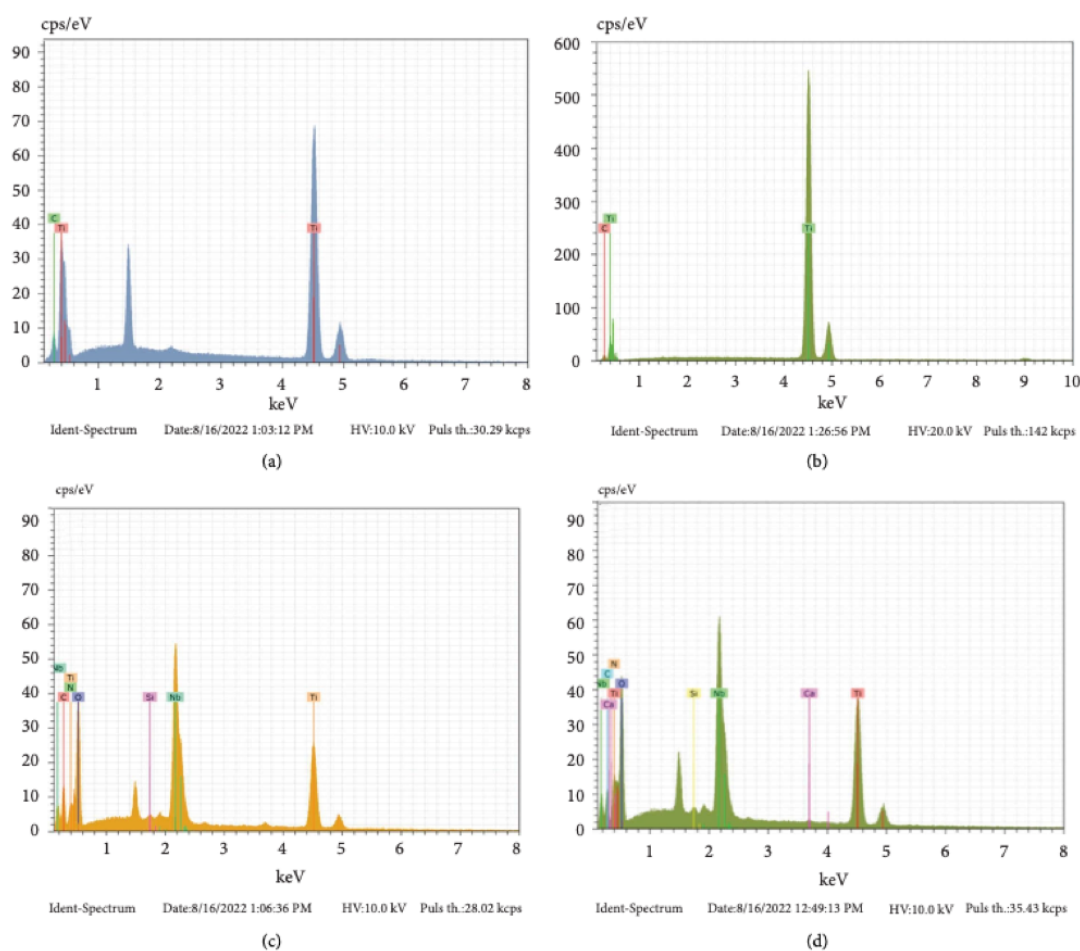


Figura 23 – Espectros EDS da análise da composição química da superfície de Ti antes e depois do revestimento de óxido de grafeno e pentóxido de nióbio. (a) Ti cp antes do revestimento. (b) TiGO (c) TiNb. (d)NBGO.

4.4 Rugosidade

Os parâmetros de rugosidade foram quantificados nas amostras de Ti cp grau 4 antes e após o tratamento de recobrimento com óxido de grafeno (TiGO), nióbia (TiNb) e nióbia com óxido de grafeno (NBGO). A Figura 24 representa a morfologias das diferentes amostras. Os parâmetros Ra, RMS e RZ foram determinados e quantificados. O Software PRISMA 9 foi utilizado para realizar os testes estatísticos, incluindo a análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey.

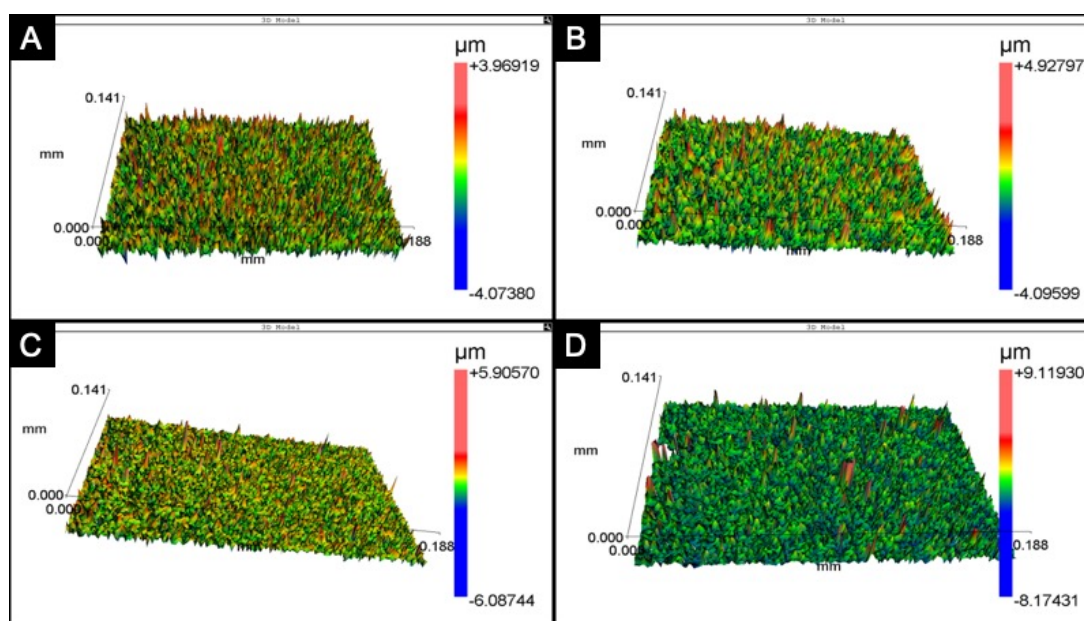


Figura 24 – Morfologia das superfícies das amostras obtidas por interferometria. A) Ti cp. B) amostra revestida com óxido de grafeno (TiGO). C) amostra revestida com nióbia (TiNb). D) amostra revestida com NBGO. A escala de cores indica a presença das irregularidades na superfície na forma de picos e vales. A cor verde indica a presença de cavidades na superfície e a cor vermelha indica a presença de saliências.

No presente trabalho, o parâmetro Ra foi escolhido como uma medida para quantificar as rugosidades com base em dados da literatura. O Ra é amplamente utilizado para caracterizar a rugosidade das superfícies dos materiais e é aplicável em diversos processos de fabricação. No entanto, é importante destacar algumas desvantagens associadas ao uso exclusivo do Ra. Este parâmetro quantifica apenas a média da rugosidade, não faz distinção entre picos e vales e não fornece informações sobre a forma das irregularidades.

Portanto, neste estudo, complementamos as medidas de rugosidade utilizando os parâmetros RZ e RMS. O parâmetro RZ corresponde à média aritmética das cinco medidas de rugosidade parcial entre duas linhas que tangenciam o pico mais pronunciado e o vale mais profundo em cada amostragem. Já o parâmetro RMS corresponde à raiz quadrada da média dos quadrados das ordenadas, ou seja, representa o desvio médio quadrático.

A inclusão desses parâmetros adicionais nos permitiu analisar de forma mais abrangente a influência dos recobrimentos na rugosidade superficial. Essas características de rugosidade são relevantes, uma vez que desempenham um papel direto na adsorção de proteínas e adesão celular.

A topografia da superfície do implante pode ser classificada em diferentes categorias, dependendo do valor do parâmetro de rugosidade Ra. Essas categorias incluem superfícies lisas ($Ra < 0,5 \mu\text{m}$), minimamente rugosas ($Ra 0,5\text{--}1,0 \mu\text{m}$), moderadamente rugosas ($Ra 1,0\text{--}2,0 \mu\text{m}$) e altamente rugosas ($Ra > 2,0 \mu\text{m}$). (87) No caso de implantes osseointegráveis tratados com ácido, os valores adequados de Ra para a superfície variam entre 0,54 e 1,97 μm . Para superfícies jateadas, os valores de Ra variam na faixa de 0,84 a 2,12 μm . Já para superfícies oxidadas, os valores geralmente são acima de 2,0 μm (88).

A rugosidade influencia positivamente a adesão, proliferação e diferenciação celular. Os padrões de expressão e adesão das moléculas variam de acordo com o tipo de resposta e as características micrométricas da superfície. (89).

A interação entre as células e a superfície do implante é influenciada pela topografia em níveis macroscópicos e pela rugosidade em nível microscópico. Aumentar a área superficial do implante proporciona mais pontos de ligação para as células, facilitando o crescimento dos tecidos e aumentando a estabilidade mecânica. No entanto, é importante controlar o nível de rugosidade, pois as células precisam de pontos de ancoragem na superfície do implante para iniciar a proliferação e garantir a fixação biológica. Se a superfície apresentar uma rugosidade muito menor do que o tamanho das células, pode haver falta de sítios de fixação. Por outro lado, se o implante tiver um grande número de picos ou vales de pequenas dimensões, a superfície pode se tornar lisa, o que também dificulta a fixação das células. (90) .

Superfícies com rugosidade inferior a 2 μm podem contribuir para osseointegração e fixação do implante. Portanto, no contexto da rugosidade micrométrica, as superfícies obtidas no presente estudo seriam favoráveis para promover a osseointegração do implante, facilitando a conexão biológica entre o osso e o implante. (91).

A adesão das células às superfícies é um processo complexo que envolve vários fatores, incluindo afinidade química e rugosidade da superfície. Em relação à rugosidade, é observado que em superfícies de titânio com irregularidades cujas dimensões são maiores do que o tamanho da própria célula, ocorre uma menor adesão celular. Isso se deve à dificuldade da célula em estabelecer uma área de contato suficiente com o substrato. (92) .

Além da rugosidade, outras propriedades da superfície do titânio também desempenham um papel importante na interação com as células. A composição química da superfície, a energia da superfície e a molhabilidade também podem afetar a adesão celular, promover alterações morfológicas, assim como influenciar na proliferação e diferenciação

celular (93).

É importante ressaltar que a rugosidade predominante em implantes dentários comerciais é caracterizada por uma superfície isotrópica e moderadamente rugosa. (94).

Quando a rugosidade da superfície é significativamente baixa, a presença de grupos polares tende a aumentar a molhabilidade. Por outro lado, grupos hidrofóbicos ou não polares tendem a diminuir a molhabilidade da superfície (95) .

Tabela 3 – Dados das análises estatísticas Anova e Tukey do parâmetro Ra.

ANOVA Ra				
Grupo	Média	Desv. Padrão	F	F crítico
Nióbia (TiNb)	0,4442	0,0362	15,7902	3,2389
Óxido de grafeno (TiGO)	0,4704	0,0438		
Ti cp	0,5296	0,0635		
NBGO	0,6394	0,0475		
TUKEY Ra				
Grupos			p-Valor	Significância
Nióbia(TiNb) vs Óxido de Grafeno(TiGO)			0,8304	Não
Nióbia (TiNb) vs Ti cp			0,0596	Não
Óxido de Grafeno (TiGO) vs Ti cp			0,2595	Não
NBGO vs Niobia(TiNb))			6,6026x105	Sim
NBGO vs Óxido de grafeno (TiGO)			0,0003	Sim
NBGO vs Ti cp			0,0126	Sim

Conforme mencionado por (90), os implantes sem tratamento de superfície, ou seja, usinados, possuem uma rugosidade média $Ra = 0,32 + 0,03\mu m$. Esses implantes têm um torque de remoção de (62,08 $N.cm$) o qual é menor em comparação com os implantes que receberam tratamento ácido ou jateamento. A variação da rugosidade provocada pelo ataque ácido influenciou na resistência da interface osso-implante. Para a remoção dos implantes com maior rugosidade foi necessário aplicar um torque médio de 66,56 $N.cm$, enquanto os implantes com uma rugosidade média de $Ra = 0,51 \mu m$ requereram um torque de 76,45 $N.cm$ (90) . Estes resultados mostram que osteoblastos apresentam uma boa afinidade por superfícies com rugosidade média (Ra) próximas a 0,5 μm (96). Os resultados apresentados nas Tabelas 3 a 5 demonstram que os resultados alcançados no presente estudo foram satisfatórios para todos os grupos analisados. É importante ressaltar que o grupo NBGO (Nióbio e Óxido de Grafeno) apresentou uma rugosidade superior em comparação aos demais grupos.

No presente estudo, os quatro diferentes tipos de superfície avaliados apresentaram valores de rugosidade (parâmetro Ra) consistentes com os encontrados na literatura. As amostras do grupo sem revestimento apresentaram uma rugosidade média de $Ra = 0,52 \pm 0,06 \mu m$, enquanto as amostras com revestimento de nióbia apresentaram $Ra = 0,44 \pm 0,03 \mu m$ e as com óxido de grafeno (GO) $Ra = 0,47 \pm 0,04 \mu m$. As análises estatísticas não

Tabela 4 – Dados das análises estatísticas Anova e Tukey do parâmetro Rz.

ANOVA Rz				
Grupos	Média	Desv. Padrão	F	F Crítico
Nióbia (TiNb)	10,6060	0,9802	113,8981	3,2389
Óxido de grafeno (TiGO)	7,5140	0,7124		
Ti cp	6,8820	0,6075		
NBGO	17,6420	1,5592		
TUKEY Rz				
Grupos	p-valor		Significância	
Nióbia (TiNb) vs Óxido de Grafeno(TiGO)	8,8348		Sim	
Nióbia (TiNb) vs Ti cp	10,6406		Sim	
Óxido de Grafeno (TiGO) vs Ti cp	1,8058		Não	
NBGO vs Nióbia (TiNb)	0,0011		Sim	
NBGO vs Óxido de Grafeno (TiGO)	0,0002		Sim	
NBGO vs Ti cp	0,7695		Sim	

Tabela 5 – Dados das análises estatísticas Anova e Tukey do parâmetro RMS.

ANOVA RMS				
Grupos	Média	Desv. Padrão	F	F Crítico
Nióbia (TiNb)	0,6224	0,0623	23,4384	3,2389
Óxido de grafeno (TiGO)	0,6386	0,0807		
Ti cp	0,6716	0,0811		
NBGO	1,0694	0,1481		
TUKEY RMS				
Grupos	p-valor		Significância	
Nióbia(TiNb) vs Óxido de Grafeno(TiGO)	3,2974E-5		Não	
Nióbia (TiNb) vs Ti cp	3,7895E-5		Não	
Óxido de Grafeno(TiGO) vs Ti cp	6,2045E-5		Não	
TiNbGO vs Nióbia (TiNb)	0,9937		Sim	
NBGO vs Óxido de Grafeno(TiGO)	0,8586		Sim	
NBGO vs Ti cp	0,9509		Sim	

revelaram diferenças significativas entre três dos quatro grupos estudados. No entanto, o grupo NBGO apresentou uma rugosidade média de $Ra = 0,64 \pm 0,47 \mu m$, que foi maior e estatisticamente diferente dos outros grupos. As amostras do grupo NBGO foram classificadas como tendo uma rugosidade moderada.

O grupo NBGO apresentou valor de $Rz = 17,64 \pm 1,55 \mu m$, conforme é mostrado na Tabela 4. Estes valores de pico mais altos provavelmente influenciam na molhabilidade. Os outros grupos apresentaram diferenças entre si, com exceção do grupo GO vs Ti cp.

Considerando que RMS é o desvio padrão da média de Ra, pode-se afirmar que os valores de Ra e RMS são complementares. A comparação dos valores de RMS entre os grupos, conforme mostra a Tabela 5, corroboram com o resultado de Ra, ou seja, todos os grupos apresentaram diferença significativa em relação às amostras NBGO e não se observa diferença significativa entre os demais grupos. Os dados dos parâmetro da rugosidade são mostrados na Figura 25.

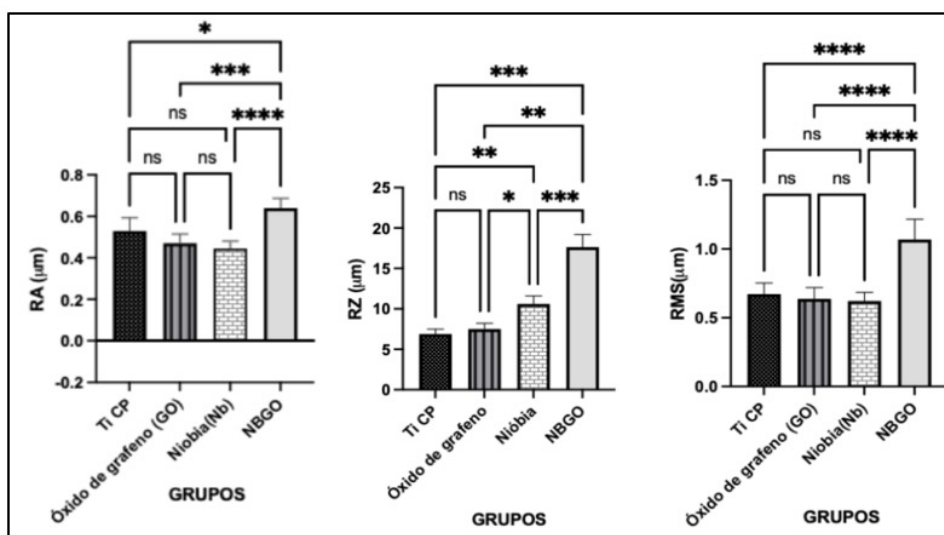


Figura 25 – Comparação da análise de Anova e de Tukey para os parâmetros Ra, Rz e RMS de rugosidade.

4.5 Molhabilidade

No ensaio de molhabilidade foi utilizada água deionizada para medir o ângulo de contato e a energia de superfície no substrato de Titânio comercialmente puro (Ti cp). Mostra-se na Figura 26 as imagens representativas das gotas d'água depositadas nas superfícies analisadas.

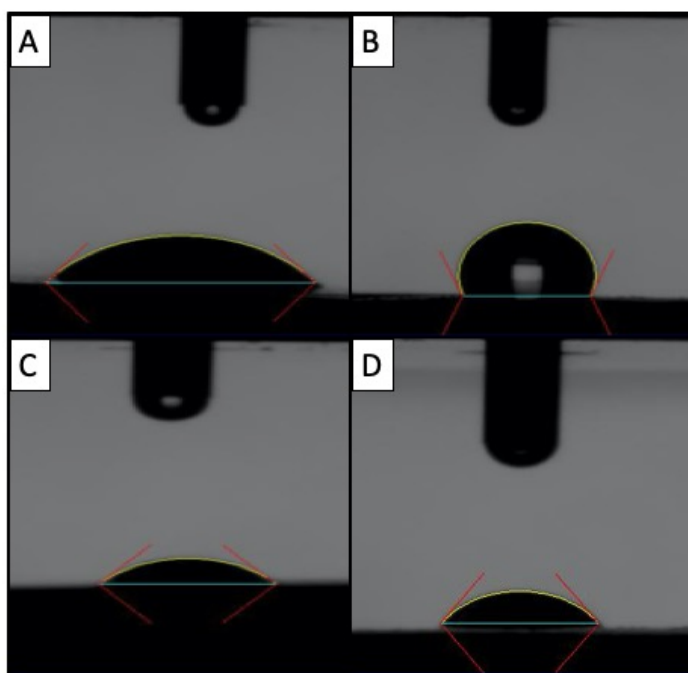


Figura 26 – A) Óxido de grafeno; B) Nióbia; C) Nióbia com Óxido de grafeno (NBGO); D) Titânio comercialmente puro (Ti cp).

O óxido de grafeno, obtido pela oxidação de flocos de grafite, possui características de hidroflicidade, dispersibilidade e compatibilidade com diversas matrizes poliméricas (97), (98). Já o titânio, por si só, é normalmente hidrofílico, ou seja, o ângulo de contato com uma gota d'água na superfície está abaixo de 90 graus. No entanto, a maioria das superfícies de implantes comerciais comuns são hidrofóbicas (99). Além da rugosidade, a molhabilidade também desempenha um papel crucial no estudo da modificação de superfícies, sendo considerada um parâmetro de controle importante para explicar os diferentes comportamentos celulares. Por exemplo, a análise de superfícies lisas e rugosas leva em consideração a influência da química da composição e da morfologia das superfícies super-hidrofóbicas no comportamento celular. (100). É possível estimar a relação entre a tensão superficial e o ângulo de contato da gota d'água com a de titânio. Existe uma relação inversamente proporcional entre as duas propriedades independentemente se as amostras possuem tamanho de grão micrométrico (Ti G4) ou sub-micrométrico (Ti Hard) (101).

Os valores apresentados de grão de molhabilidade, nesse trabalho, são considerados

adequados, uma vez que a energia superficial do titânio é influenciada pela composição química. Com base nos resultados mostrados na Tabela 6, pode-se observar que as amostras com óxido de grafeno apresentaram maior energia de superfície ($51,61 \pm 9,33$) em comparação ao Ti cp ($46,10 \pm 4,49$) e ao NBGO ($40,80 \pm 6,38$).

Tabela 6 – Parâmetros de energia de superfície.

ANOVA				
Grupos	Média	Desv. Padrão	F	F Crítico
Nióbia (TiNb)	-12,9491	13,4785	32,5020	4,0662
Óxido de grafeno (TiGO)	51,6100	9,3385		
Ti cp	46,1000	4,4952		
NBGO	40,8033	6,3809		
TUKEY				
Grupos	p-valor		Significância	
Nióbia (TiNb) vs Óxido de Grafeno(TiGO)	0,0001		Sim	
Nióbia (TiNb) vs Ti cp	0,0002		Sim	
Óxido de Grafeno vs Ti cp	0,8771		Não	
NBGO vs Nióbia (TiNb)	0,0004		Sim	
NBGO vs Óxido de Grafeno(TiGO)	0,5023		Não	
NBGO vs Ti cp	0,8887		Não	

A superfície pode influenciar a proliferação das células. Na fase inicial de contato do biomaterial com o organismo, ocorrem interações físicas e ligações químicas entre as células e as superfícies, seja por meio de forças diretas ou indiretamente através de uma alteração na adsorção de moléculas de condicionamento, como proteínas. (102). A ligação e expansão das células são significativamente maiores em superfícies hidrofílicas do que em superfícies hidrofóbicas, e as superfícies moderadamente hidrofílicas promovem um nível mais alto de ligação celular (103). O Ti com superfície super-hidrofílica (ângulo de contato $<5^\circ$), e osseointegram em menor tempo que o Ti com superfície hidrofóbica (ângulo de contato $>9^\circ$) (104). Os dados da literatura mostram que os implantes com alta energia de superfície possuem camadas de proteínas com uma espessura maior do que os com baixa energia (105).

A adesão e propagação celular ocorrem de forma otimizada em superfícies com molhabilidade moderada, caracterizada por ângulos de contato entre $50-80^\circ$. Por outro lado, a fixação e proliferação de células osteoblásticas aumentam com o aumento da molhabilidade da superfície. (106). É observado um aumento na taxa de osseointegração dos implantes, medido pelo parâmetro BIC (Bone Implant Contact), em superfícies SLActive, que são hidrofílicas, com uma taxa de 48,3%, em comparação com as superfícies hidrofóbicas de implantes SLA, que apresentam uma taxa de 32,4%. (107).

Os resultados apresentados na Tabela 7 indicam um comportamento hidrofílico

Tabela 7 – Parâmetros ângulo de contato.

ANOVA				
Grupos	Média	Desv. Padrão	F	F Crítico
Nióbia (Nb)	100,3533	10,8595	26,6502	4,0662
Óxido de grafeno (TiGO)	44,3267	10,7100		
Ti cp	50,7367	4,6171		
NBGO	55,8633	6,1647		
TUKEY				
Grupos	p-valor	Significância		
Nióbia (TiNb) vs Óxido de Grafeno(TiGO)	0,0002	Sim		
Nióbia (TiNb) vs Ti cp	0,0005	Sim		
Óxido de Grafeno (TiGO) vs Ti cp	0,7960	Não		
NBGO vs Nióbia (TiNb)	0,0010	Sim		
NBGO vs Óxido de Grafeno(TiGO)	0,4043	Não		
NBGO vs Ti cp	0,8805	Não		

para a superfície das amostras que apresentam ângulo de contato na faixa de $44,32 \pm 10$ (óxido de grafeno), $50,73 \pm 4,6$ (Ti cp) e $55,86 \pm 6,1$ (NBGO). Para as amostras de nióbia, o ângulo de contato foi de $100,35 \pm 10,85$. valores que classificam a superfície como hidrofóbica. Com base na análise comparativa do teste Tukey, pode-se observar que não houve diferença estatística significativa entre os grupos hidrofílicos (GO, Ti cp e NBGO) e ocorreu diferença significativa com as amostras do grupo da Nb.

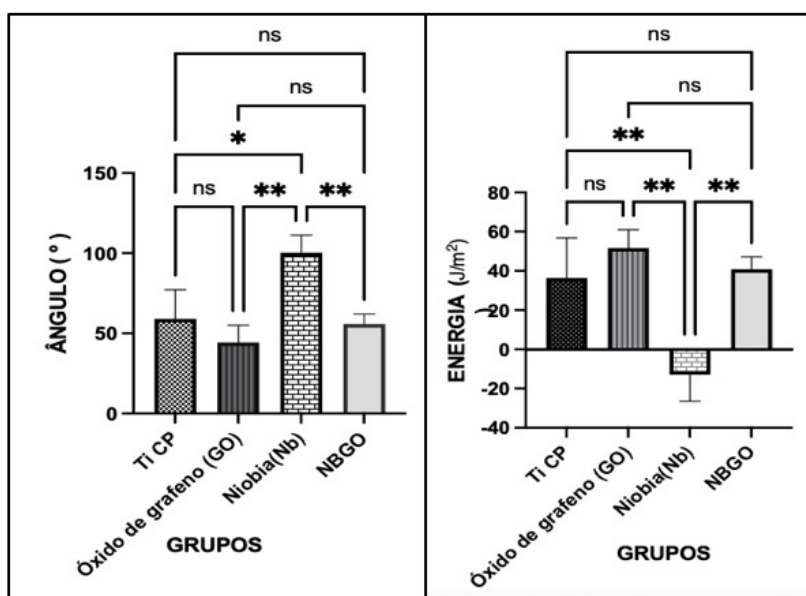


Figura 27 – Comparação de análise Anova e Tukey para parâmetros ângulo de contato e energia de superfície.

Classificar as superfícies como hidrofílica ou hidrofóbica não é suficiente para

determinar uma boa relação do material com o meio celular e analisar a possibilidade de osseointegração do implante (108) . A avaliação da molhabilidade deve levar em consideração a rugosidade, pois existe uma correlação da influência entre os parâmetros da rugosidade e molhabilidade. Os parâmetros Ra, PV e Rms são os que exercem maior influência no ângulo de contato e na energia da superfície, o ângulo de contato aumenta com o aumento dos parâmetros que caracterizam a rugosidade de forma não linear (101).

4.6 Corrosão

Na avaliação da adesão do revestimento e da resistência à corrosão das amostras, foi monitorado o potencial de circuito aberto (OCP) ao longo de um período de 3600 segundos. O OCP representa o potencial de equilíbrio entre a superfície da amostra e a solução em que está imersa. Além disso, também foi realizada uma medida da curva de polarização potenciodinâmica. A Figura 28 mostra o OCP para o Ti cp, NBGO, TiGO e TiNb em uma solução fisiológica contendo 0,9 % de NaCl. Observa-se que o potencial do Ti cp está em torno de -0,200mV. O deslocamento do potencial para valores positivos após o revestimento com GO indica um possível aumento na resistência à corrosão das amostras. Esse resultado é consistente com os resultados observados por Ding e Li em 2018 em suas análises (109). Por outro lado, o óxido de nióbio apresentou comportamento inverso, pois há deslocamento do potencial para valores mais negativos, indicando uma diminuição na resistência à corrosão.

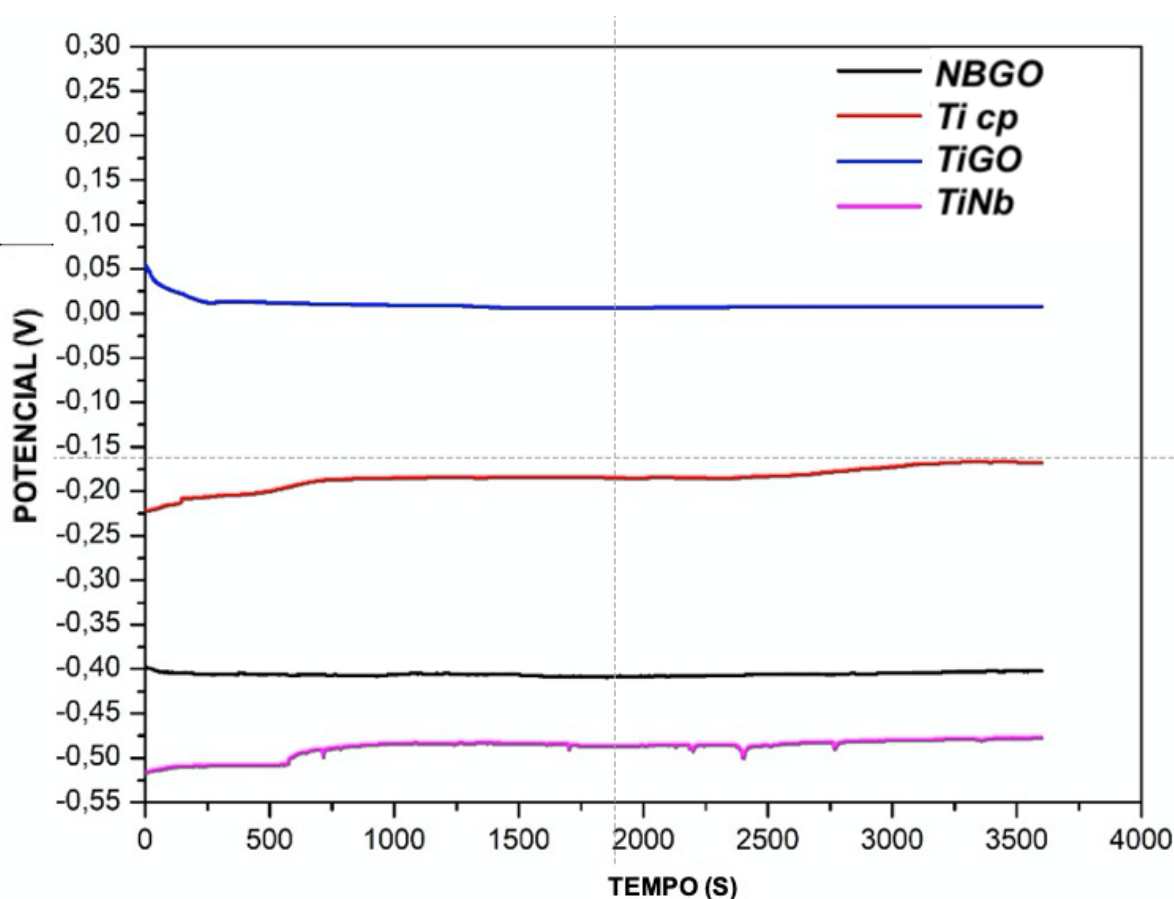


Figura 28 – Medidas do potencial de circuito aberto para Ti cp, TiGO, TiNb e NBGO em solução fisiológica contendo 0,9 % de NaCl.

A Figura 28 mostra as curvas de polarização potenciodinâmica anódica para

amostras revestidas e não revestidas. A Tabela 4 mostra os valores de potencial de circuito aberto, potencial de corrosão e densidade de corrente. Observa-se que as duas condições com presença de nióbio foram as que apresentaram maior valor de corrente e potencial de corrosão, o que corrobora o que foi observado no gráfico do potencial de circuito aberto.

A Figura 29 das curvas de polarização demonstra que todas as curvas exibem uma região passiva. Um aumento na densidade de corrente na região anódica indica um aumento na taxa de corrosão do titânio quando há a presença de nióbio na superfície. Esse aumento pode ser atribuído à formação de um filme descontínuo na superfície, que leva a uma maior liberação de íons e, conseqüentemente, a um aumento no processo de corrosão. No entanto, quando um filme de grafeno é depositado sobre a superfície do titânio, é possível observar um significativo aumento na sua resistência à corrosão. Esse comportamento promissor pode ser atribuído à formação de uma camada protetora de grafeno, que atua como uma barreira efetiva contra a oxidação do titânio. Vários estudos têm relatado esse efeito protetor do grafeno em diferentes ligas metálicas, como ligas de cobre e aço (109). A presença de defeitos no filme diminui a resistência à corrosão. Essa diminuição da resistência à corrosão após a deposição de Nb_2O_5 pode estar associada à menor estabilidade do óxido de nióbio em relação ao óxido de titânio, o que pode ser comprovado pelo diagrama de Ellingham, Chase Jr. Além disso, pode ocorrer aumento na quantidade de Nb_2O_5 liberados, isso pelo fato o aumento de corrente está associado ao óxido de nióbio que está fracamente aderido na superfície metálica e do óxido de grafeno tem maior estabilidade. No entanto, esse aumento na liberação de Nb_2O_5 é um efeito desejado, pois pode auxiliar na osseointegração, aumentando a viabilidade celular e a proliferação de osteoblastos (54).

Na Tabela 30, são apresentados os valores de OCP (Potencial de Circuito Aberto), Potencial de Corrosão e Densidade de Corrente. Conforme mencionado anteriormente, foi observada uma diferença significativa nos valores finais de OCP, sendo que a condição NBGO apresentou o valor mais negativo. No entanto, em relação ao E_{corr} (Potencial de Corrosão), não foi observada uma diferença significativa entre as condições TiNb e NBGO. Quanto à i_{cor} (Densidade de Corrente), foi constatada uma diferença, com um valor de corrente mais alto para a condição NBGO.

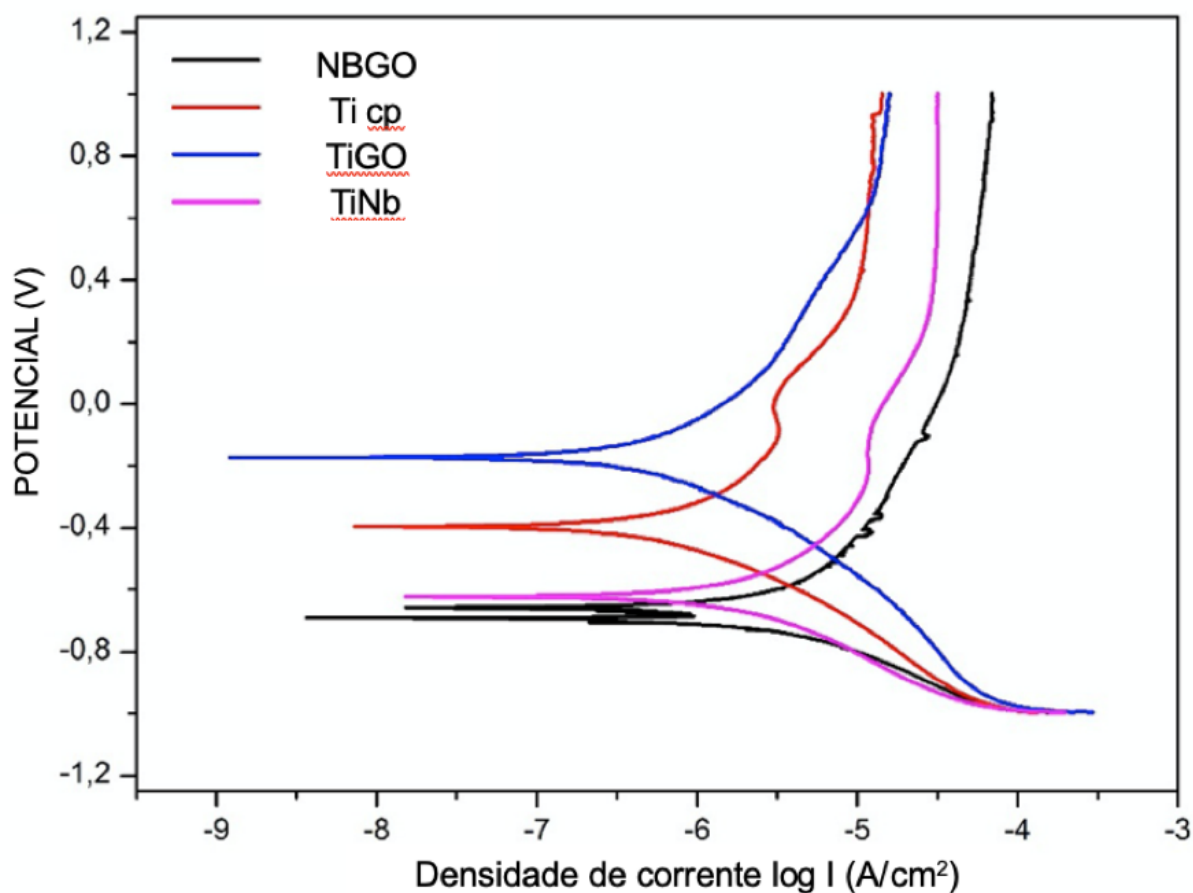


Figura 29 – Curva de polarização para Ti cp, TiGO, TiNb e NbGO em uma solução fisiológica contendo 0,9% de NaCl.

	OCP	E_{corr} (V)	i_{corr} (A/cm ²)
Ti cp	-0.167 ± 0.01	-0.400 ± 0.02	$5.46 \times 10^{-7} \pm 1.5 \times 10^{-7}$
Ti Nb	-0.493 ± 0.04	$-0.623 \pm 0,05$	$1.48 \times 10^{-6} \pm 0.1 \times 10^{-6}$
TiGO	0.007 ± 0.003	-0.160 ± 0.01	$3.04 \times 10^{-7} \pm 0.2 \times 10^{-7}$
NBGO	-0.643 ± 0.05	-0.667 ± 0.04	$2.13 \times 10^{-6} \pm 0.1 \times 10^{-6}$

Figura 30 – Potencial de Circuito Aberto (OCP), potencial de corrosão (E_{corr}) e densidade de corrente (i_{corr}).

4.7 Microscopia Eletrônica de Varredura

Nas Figuras 31 a 38, são apresentadas as morfologias das amostras estudadas. A micrografia da amostra de Titânio Cp (Figura 31) é utilizada como grupo controle, permitindo a comparação das superfícies nas micrografias.

Na Figura 32, é possível observar que, após o revestimento de nióbia, as microcavidades

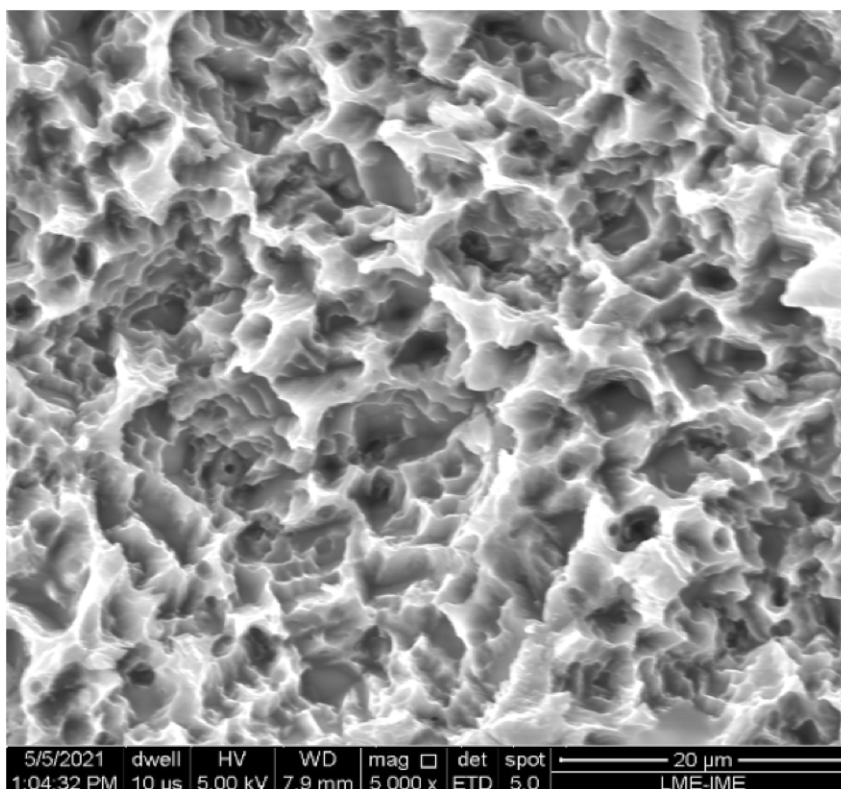


Figura 31 – Micrografia do Ti cp (grupo controle) com ataque ácido.

da superfície apresentam um formato mais fechado e circular.

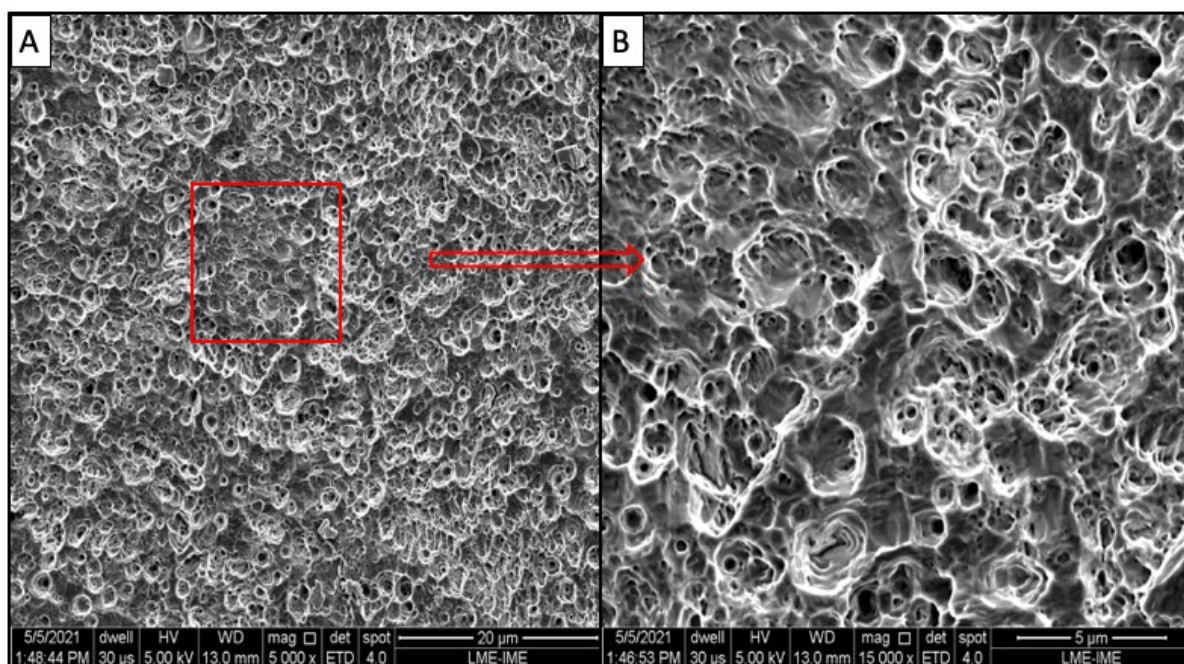


Figura 32 – Micrografia da superfície com deposição de Niobia (Nb).

Pode-se observar nas micrografias 33, 36 e 37 e na micrografia em maior magnificação

a figura 34 a presença na superfície de uma camada na forma de folhas, com rugas e dobras. Esta morfologia ocorre devido às interações entre grupos funcionais oxigenados epóxi, hidroxil e carbonil presentes entre as folhas (110) Também é observado um aspecto translúcido, indicando que o GO tem uma menor espessura.

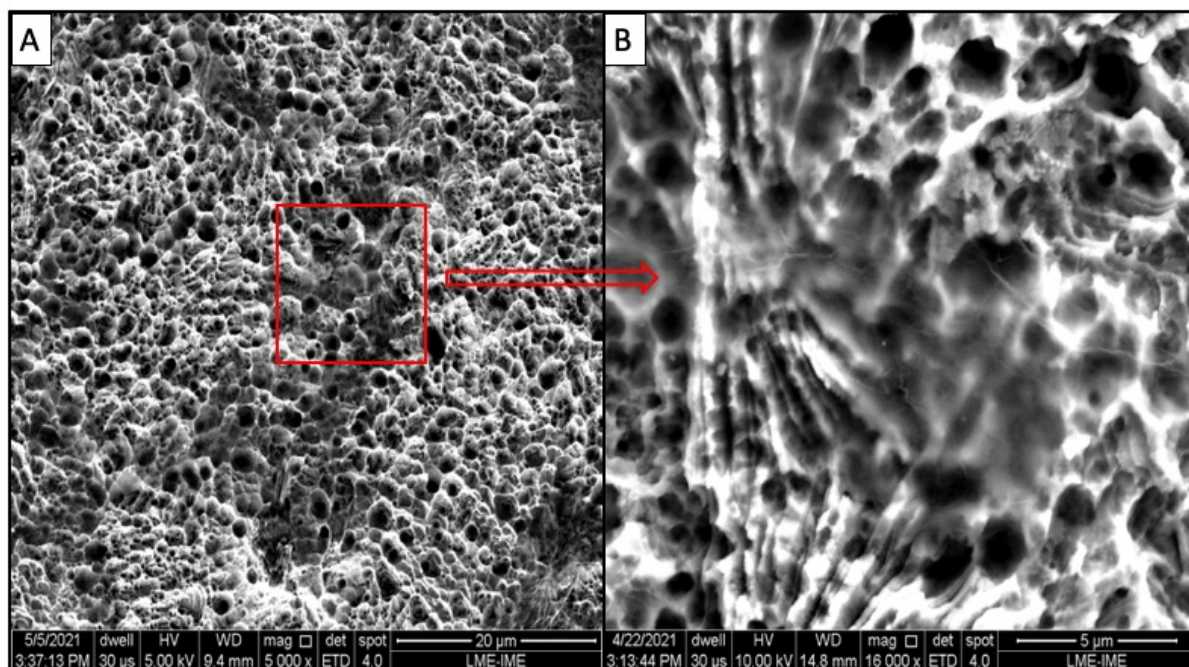


Figura 33 – Morfologia da superfície do Ti cp com deposição de Óxido de grafeno.

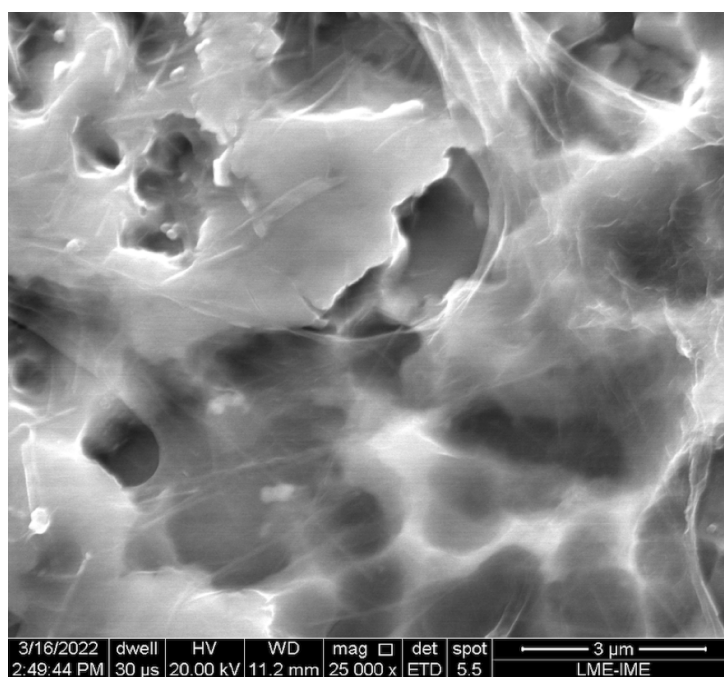


Figura 34 – Morfologia da superfície do Ti cp com deposição de Óxido de grafeno em 25.000 de magnificação.

Observa-se nas Figuras 35 A e B, 36 A e B e 37, ao aspecto de folhas, com rugas na superfície e partículas de nióbia na superfície tanto do óxido de grafeno, quanto do substrato 38.

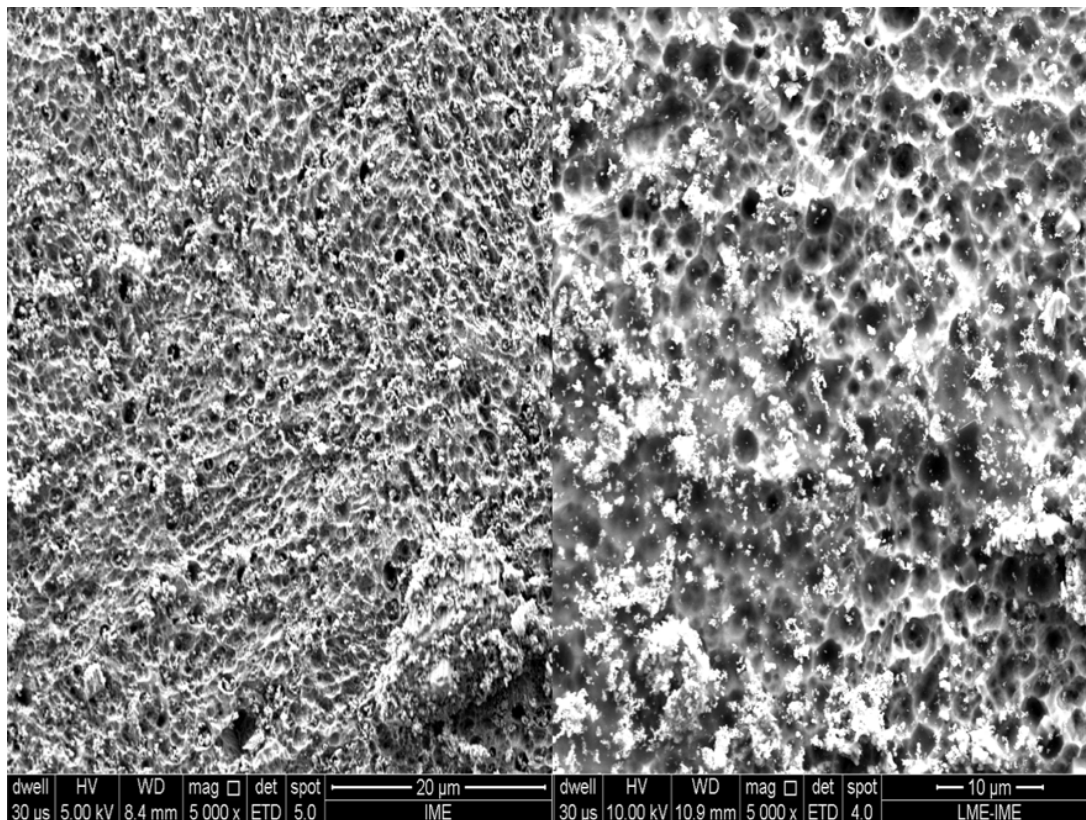


Figura 35 – Morfologia da superfície da amostra recoberta com NBGO

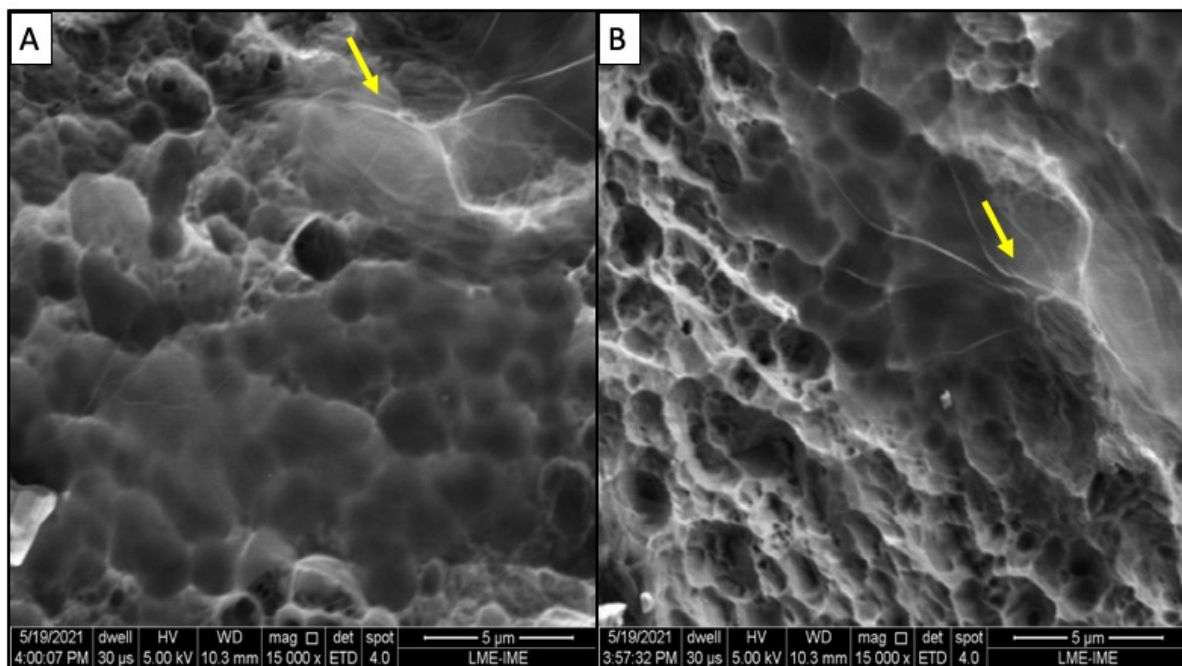


Figura 36 – Morfologia da superfície da amostra recoberta com NBGO com aumento de 15.000 vezes.

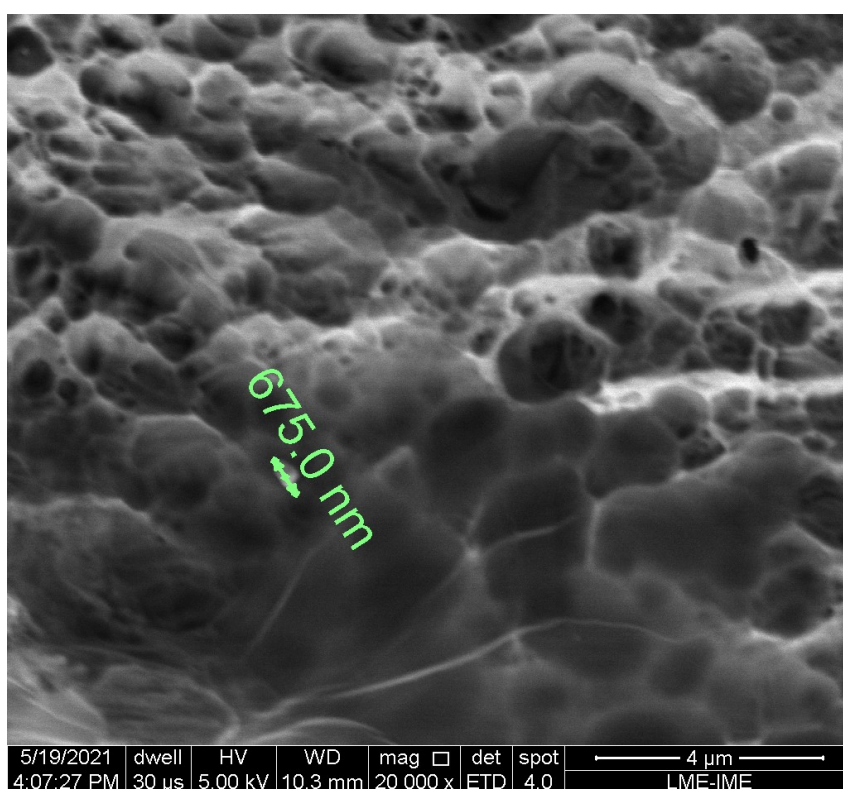


Figura 37 – Morfologia da superfície da amostra recoberta com NBGO. Mostra-se o tamanho da partícula de nióbia na folha de óxido de grafeno.

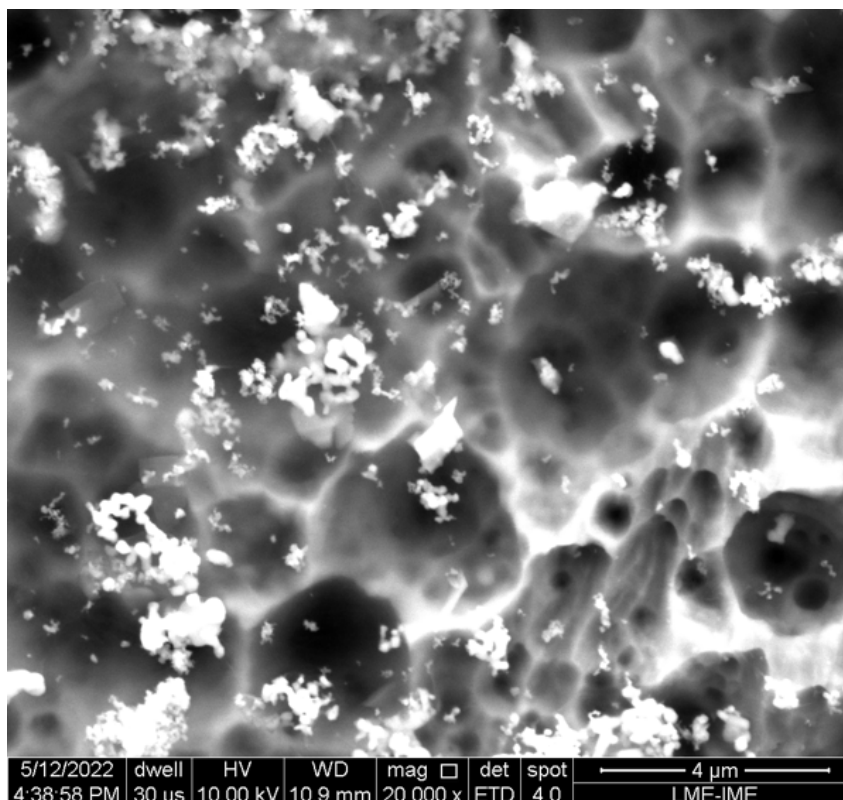


Figura 38 – Morfologia da superfície da amostra recoberta com NBGO com 20.000 de magnificação.

4.8 Viabilidade Bacteriana

Os parâmetros de viabilidade bacteriana foram quantificados nas amostras de Titânio grau 4 após o tratamento de recobrimento com óxido de grafeno (TiGO) e nióbia com óxido de grafeno (NBGO). As morfologias das amostras são apresentadas nas Figuras 39. Para o ensaio de viabilidade bacteriana, utilizou-se a bactéria *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) e as quantificações foram realizadas por meio do software Image J®.

Nas micrografias da Figura 39, podem ser observadas cores diferentes, que correspondem aos diferentes reagentes utilizados e à condição de vitalidade das bactérias. A cor verde representa as bactérias vivas, sendo o reagente utilizado o Syto9. Por outro lado, a cor vermelha indica as bactérias mortas. Onde UA refere-se ao percentual de bactérias que ficaram aderidas na superfície.

Os resultados da análise mostraram que nas amostras revestidas com óxido de grafeno (GO), a porcentagem de bactérias vivas foi de 2,530% e a porcentagem de bactérias mortas foi de 4,007%. Já nas amostras revestidas com óxido de grafeno e nióbia (NBGO), a porcentagem de bactérias vivas foi de 2,200% e a porcentagem de bactérias mortas foi de 5,929%, mais que o dobro em relação às amostras com apenas óxido de grafeno. Isso indica que o revestimento de óxido de grafeno e óxido de grafeno com nióbia é bastante efetivo contra a bactéria *S. mutans*, como pode ser observado na Tabela 8.

É importante ressaltar que *S. mutans* é uma das espécies mais prevalentes no biofilme oral e possui alta capacidade de adesão. Além disso, as forças de adesão de *S. mutans* aumentam com o tempo em que estão em contato com uma superfície, o que fortalece a ligação entre a bactéria e essa superfície (111).

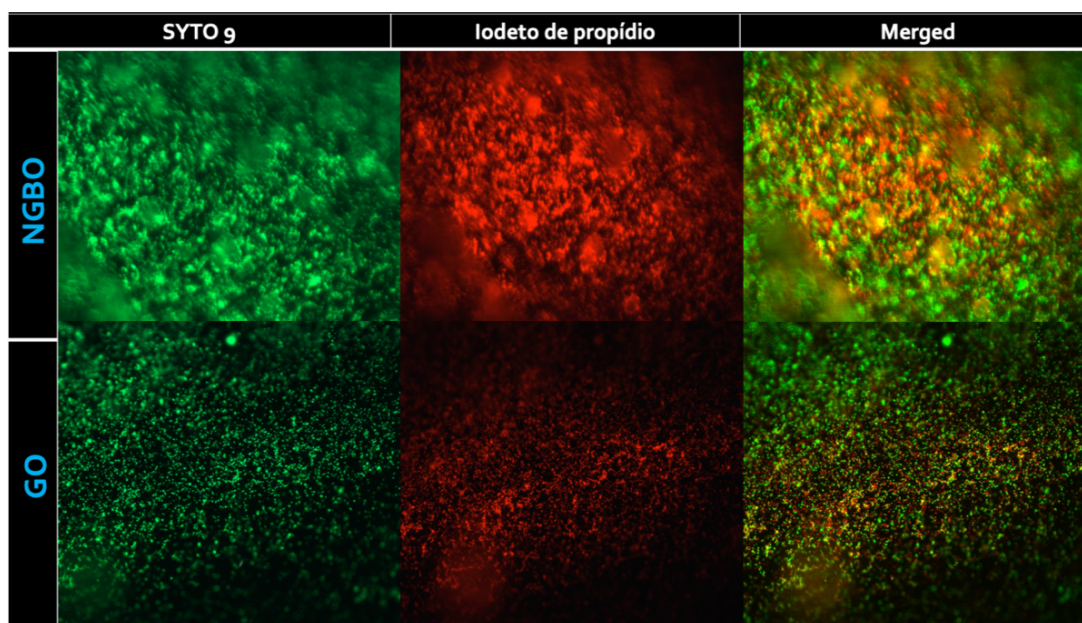


Figura 39 – Imagem de microscopia óptica do ensaio de viabilidade bacteriana. Syto9 - Coloração verde: Bactérias vivas, Iodeto de propídio- Coloração vermelha: Bactérias mortas e Merged- verde e vermelha: Bactérias vivas e mortas.

Tabela 8 – Resultado do teste de viabilidade Bacteriana.

Amostras	UA	Pixel
NBGO- c0	2,100	1488x871
NBGO- c1	5,929	1488x871
GO- c0	2,530	1488x871
GO- c1	4,007	1488x871

Em um estudo com adesivo contendo Nióbia (Nb_2O_5) na sua formulação. Promoveu a inibição do crescimento total de *Streptococcus* e *S. mutans*, corroborando com resultado (112) outro material (SS 316L) revestido com Nb_2O_5 foi eficaz na inibição da adesão bacteriana de *S. aureus* e *E. coli* identificada pelo teste de viabilidade bacteriana (13).

Em relação a proliferação celular e a variabilidade de células SaOS₂ semelhantes a osteoblastos nas amostras de disco composto após cultura celular por 7 dias. Pode-se observar que todos os compósitos *Ti – Nb₂O₅* exibiram uma proliferação e variabilidade celular semelhante ou comparável em comparação com o titânio puro, o que indicou que o *Ti-(Nb₂O₅)*. Ou seja, o compósito *Ti-(Nb₂O₅)* apresenta excelente biocompatibilidade e adesão celular em células semelhantes a osteoblastos humanos cresceram e se espalharam de forma saudável na superfície do compósito *Ti-(Nb₂O₅)* (113).

A síntese pelo método de Hummers modificado, foi efetiva para produção de GO e rGO (óxido de grafeno reduzido) e somente o GO apresentou atividade antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans* e *Pseudomonas aeruginosa* (114). Sua ação envolve principalmente as bordas "afiadas" das nanofolhas de grafeno que rompem a membrana da bactéria, fazendo com que a matriz intracelular escoe para o meio, e mostrou-se efetivo contra *S.mutans* e *E.coli* (113). Outro mecanismo de ação, envolve causar o estresse oxidativo (ROS) em microorganismos que reajam negativamente ao oxigênio, assim desordenando o metabolismo e inativando-a. A outras propriedades do GO, além do efeito bactericida, é que ele também atua no crescimento celular (115, 116).

Pode-se observar que as bactérias de biofilmes orais utilizando o ensaio de viabilidade bacteriana de coloração fluorescente (verde e vermelha) viva/morta. No início o biofilme bacteriano, apresentou proporção de bactérias viáveis (de cor verde) diminuiu com o aumento da concentração de GO (0, 20 e 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Além disso, verificamos que o biofilme perdeu muito de sua densidade após o tratamento com GO. Observou-se também que, a estrutura dos biofilmes degradou após o tratamento com óxido de grafeno na concentração de 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ no tempo de 2 e 4h (65).

Limitar a adesão microbiana inicial às superfícies do implante é fundamental para se defender contra infecções precoces. Durante a cirurgia e por alguns dias depois, os pacientes recebem antibióticos sistêmicos para lidar com as preocupações de infecção pós-operatória. No entanto, muitos tipos de bactérias desenvolveram resistência a vários antibióticos, tornando atraentes estratégias alternativas e redundantes para proteger ainda mais os pacientes. Estratégias para limitar a adesão bacteriana são uma maneira de abordar a infecção precoce. Outra solução são as superfícies bactericidas que podem matar ativamente as bactérias quando elas entram em contato com a superfície do implante (5).

5 CONCLUSÃO

A presente pesquisa destaca a importância da modificação de superfície como uma estratégia promissora para aprimorar a eficácia e a longevidade de implantes odontológicos. Através da modificação da superfície do titânio comercialmente puro (Ti cp) com revestimentos de óxido de grafeno e nióbia (NBGO), foi possível demonstrar uma série de efeitos benéficos.

A redução da energia de superfície nas amostras de Ti cp revestidas com óxido de grafeno (TiGO) são adequados para a adesão de proteínas e células, contribuindo para a osseointegração e a estabilidade do implante.

As análises de rugosidade reforçam a importância desses revestimentos na alteração das propriedades superficiais, embora não tenham demonstrado diferenças significativas nos grupos revestidos com NBGO. A polarização potenciodinâmica anódica revelou os efeitos positivos do óxido de grafeno na resistência à corrosão, enquanto a liberação de Nb_2O_5 pode favorecer a osseointegração, o que pode levar à maior viabilidade celular e proliferação de osteoblastos.

A constatação de efeitos bactericidas tanto no grupo NBGO quanto no grupo TiGO oferece perspectivas promissoras no combate à adesão bacteriana, sendo ambos os revestimentos candidatos viáveis para diminuir a incidência de infecções, como a peri-implantite.

Diante dos resultados promissores apresentados, esta pesquisa abre portas para futuras investigações, a fim de explorar mais a fundo os mecanismos subjacentes das interações entre o revestimento modificado e os tecidos biológicos, bem como a otimização das condições de deposição e suas influências na funcionalidade dos implantes. Em última análise, espera-se que essas descobertas contribuam para o avanço das tecnologias de implantes e, conseqüentemente, para a qualidade de vida dos pacientes que dependem dessas soluções inovadoras.

REFERÊNCIAS

- 1 KOMASA, S.; TAGUCHI, Y.; NISHIDA, H.; TANAKA, M.; KAWAZOE, T. Bioactivity of nanostructure on titanium surface modified by chemical processing at room temperature. *Journal of Prosthodontic Research*, Japan Prosthodontic Society, v. 56, n. 3, p. 170–177, 2012.
- 2 ELIAS, C. N.; FERNANDES, D. J.; GALIZA, J. A.; MONTEIRO, E. dos S.; ALMEIDA, A. C. C. de. Dental application. In: *Nanocrystalline Titanium*. [S.l.]: Elsevier, 2019. p. 237–253.
- 3 ELIAS, C. N.; FERNANDES, D. J.; SOUZA, F. M. de; MONTEIRO, E. dos S.; BIASI, R. S. de. Mechanical and clinical properties of titanium and titanium-based alloys (ti g2, ti g4 cold worked nanostructured and ti g5) for biomedical applications. *Journal of Materials Research and Technology*, v. 8, n. 1, p. 1060–1069, 2019. ISSN 2238-7854. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2238785418302813>>.
- 4 BRANDÃO, M. L. d.; ESPOSTI, T. B. D.; BISOGNIN, E. D.; HARARI, N. D.; JR, G. M. V.; CONZ, M. B. Superfície dos implantes osseointegrados x resposta biológica. *Implantnews*, p. 95–101, 2010.
- 5 EQUILIBRANDO funções osteoblásticas e adesão bacteriana em superfícies de titânio funcionalizadas. v. 33.
- 6 ELIAS, C. N.; MEYERS, M. A.; VALIEV, R. Z.; MONTEIRO, S. N. Ultrafine grained titanium for biomedical applications: An overview of performance. *Journal of Materials Research and Technology*, Elsevier, v. 2, n. 4, p. 340–350, 2013.
- 7 CHEMICAL Element.com - Titanium. 2021. <<http://www.chemicalelements.com/elements/ti.html>>. Acessado em 4 de abril, 2021.
- 8 FROES, F. Titanium products and applications. *JOM*, Springer, v. 39, n. 3, p. 12–14, 1987.
- 9 JR, C. *Ciência e engenharia de materiais – uma introdução*. 9. ed. Rio de Janeiro: [s.n.], 1993. Acesso em: 21 ago 2013.
- 10 NI, J.; LING, H.; ZHANG, S.; WANG, Z.; PENG, Z.; BENYSHEK, C.; ZAN, R.; MIRI, A.; LI, Z.; ZHANG, X.; LEE, J.; LEE, K.-J.; KIM, H.-J.; TEBON, P.; HOFFMAN, T.; DOKMECI, M.; ASHAMMAKHI, N.; LI, X.; KHADEMOSSEINI, A. Three-dimensional printing of metals for biomedical applications. *Materials Today Bio*, v. 3, p. 100024, 2019. ISSN 2590-0064. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S259000641930050X>>.
- 11 KUSHWAHA, M.; PAN, X.; HOLLOWAY, J. A.; DENRY, I. L. Differentiation of human mesenchymal stem cells on niobium-doped fluorapatite glass-ceramics. *Dental Materials*, Elsevier, v. 28, n. 3, p. 252–260, 2012.
- 12 NIINOMI, M. Fatigue characteristics of metallic biomaterials. *International Journal of Fatigue*, Elsevier, v. 29, n. 6, p. 992–1000, 2007.

- 13 SUTHA, S.; KAVITHA, K.; KARUNAKARAN, G.; RAJENDRAN, V. In-vitro bioactivity, biocorrosion and antibacterial activity of silicon integrated hydroxyapatite/chitosan composite coating on 316 l stainless steel implants. *Materials Science and Engineering: C*, Elsevier, v. 33, n. 7, p. 4046–4054, 2013.
- 14 BRUNETTE, D.; TENGVALL, P.; TEXTOR, M.; THOMSEN, P. Proteins at titanium interfaces. *Titanium in Medicine: Material Science, Surface Science, Engineering, Biological Responses and Medical Applications*, Springer Berlin, Germany, p. 457–483, 2001.
- 15 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. *ASTM F67-13*: Standard specification for unalloyed titanium, for surgical implant applications (uns r50250, uns r50400, uns r50550, uns r50700). West Conshohocken, PA, 2017. 6 p.
- 16 NELSON, N. L. R. X. C. e Torelly; Guilherme Monteiro e E. C. Análise da tensão óssea e estabilidade primária de um implante dentário usando medições de tensão e torque. *The Saudi Dental Journal*.
- 17 MORENT, R.; GEYTER, N. D.; DESMET, T.; DUBRUEL, P.; LEYS, C. Plasma surface modification of biodegradable polymers: a review. *Plasma processes and polymers*, Wiley Online Library, v. 8, n. 3, p. 171–190, 2011.
- 18 FRANZ, S.; RAMMELT, S.; SCHARNWEBER, D.; SIMON, J. C. Immune responses to implants—a review of the implications for the design of immunomodulatory biomaterials. *Biomaterials*, Elsevier, v. 32, n. 28, p. 6692–6709, 2011.
- 19 ANSELME, K.; BIGERELLE, M. Topography effects of pure titanium substrates on human osteoblast long-term adhesion. *Acta biomaterialia*, Elsevier, v. 1, n. 2, p. 211–222, 2005.
- 20 BADYLAK, S. F.; FREYTES, D. O.; GILBERT, T. W. Extracellular matrix as a biological scaffold material: structure and function. *Acta biomaterialia*, Elsevier, v. 5, n. 1, p. 1–13, 2009.
- 21 GUÉHENNEC, L. L.; SOUEIDAN, A.; LAYROLLE, P.; AMOURIQ, Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dental materials*, Elsevier, v. 23, n. 7, p. 844–854, 2007.
- 22 PARK, I. S.; YANG, E. J.; BAE, T. S. Effect of cyclic precalcification of nanotubular tio2 layer on the bioactivity of titanium implant. *BioMed research international*, Hindawi, v. 2013, 2013.
- 23 STADLINGER, B.; LODE, A. T.; ECKELT, U.; RANGE, U.; SCHLOTTIG, F.; HEFTI, T.; MAI, R. Surface-conditioned dental implants: an animal study on bone formation. *Journal of clinical periodontology*, Wiley Online Library, v. 36, n. 10, p. 882–891, 2009.
- 24 LAMOLLE, S. F.; MONJO, M.; RUBERT, M.; HAUGEN, H. J.; LYNGSTADAAS, S. P.; ELLINGSEN, J. E. The effect of hydrofluoric acid treatment of titanium surface on nanostructural and chemical changes and the growth of mc3t3-e1 cells. *Biomaterials*, Elsevier, v. 30, n. 5, p. 736–742, 2009.

- 25 ISAAC, J.; GALTAYRIES, A.; KIZUKI, T.; KOKUBO, T.; BERDA, A.; SAUTIER, J.-M. Bioengineered titanium surfaces affect the gene-expression and phenotypic response of osteoprogenitor cells derived from mouse calvarial bones. *European cells & materials*, v. 20, p. 178–196, 2010.
- 26 HA, S.-W.; GISEP, A.; MAYER, J.; WINTERMANTEL, E.; GRUNER, H.; WIELAND, M. Topographical characterization and microstructural interface analysis of vacuum-plasma-sprayed titanium and hydroxyapatite coatings on carbon fibre-reinforced poly (etheretherketone). *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Springer, v. 8, n. 12, p. 891–896, 1997.
- 27 DHIR, S. Biofilm and dental implant: The microbial link. *Journal of Indian Society of Periodontology*, Wolters Kluwer–Medknow Publications, v. 17, n. 1, p. 5, 2013.
- 28 SAMARANAYAKE, L. *Essential microbiology for dentistry-E-Book*. [S.l.]: Elsevier Health Sciences, 2018.
- 29 MORAIS, F. V. Insucessos em implantodontia: revisão de literatura. Universidade de Taubaté, 2018.
- 30 MELO, I. et al. O insucesso na perda precoce de implantes dentários. *Revista Cathedral*, v. 3, n. 1, p. 48–56, 2021.
- 31 ZHANG, S.; LIN, L.; HUANG, X.; LU, Y.-G.; ZHENG, D.-L.; FENG, Y. Antimicrobial properties of metal nanoparticles and their oxide materials and their applications in oral biology. *Journal of Nanomaterials*, Hindawi, v. 2022, 2022.
- 32 ZAVANELLI, R. A.; GUILHERME, A. S.; CASTRO, A. T. d.; FERNANDES, J. M. A.; PEREIRA, R. E.; GARCIA, R. R. Fatores locais e sistêmicos relacionados aos pacientes que podem afetar a osseointegração. *RGO. Revista Gaúcha de Odontologia (Online)*, Mundi Brasil Gráfica e Editora Ltda., v. 59, p. 133–146, 2011.
- 33 PLACA dentária: significado biológico de um biofilme e estilo de vida comunitário. *Revista de periodontologia clínica*, Wiley Online Library, v. 32.
- 34 HUMPHREY, S. Implant maintenance. *Dental Clinics*, Elsevier, v. 50, n. 3, p. 463–478, 2006.
- 35 T, L. J. K. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. 5. ed. Rio de Janeiro: [s.n.], 2010. Acesso em: 21 ago 2010.
- 36 KARRING, T. B. T. L. J. *Tratamento das Lesões Peri-implantares. Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. 5. ed. Rio de Janeiro: [s.n.], 2010. Acesso em: 21 ago 2010.
- 37 SOCRANSKY, S.; HAFFAJEE, A.; CUGINI, M.; SMITH, C.; JR, R. K. Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of clinical periodontology*, Wiley Online Library, v. 25, n. 2, p. 134–144, 1998.
- 38 FATORES relacionados ao cumprimento das consultas de tratamento da doença periodontal: Uma revisão da literatura. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry, Medicina Oral SL*, v. 14.

- 39 JÚNIOR, S.; FERREIRA, J.; LEMOS, C. A. A.; BATISTA, V. E. d. S.; MELLO, C. C.; ALMEIDA, D. A. d. F.; LOPES, L. F. d. T. P.; VERRI, F. R.; PELLIZZER, E. P. Manutenção em próteses implantossuportadas: higiene oral. *Revista Odontológica de Araçatuba*, p. 56–64, 2013.
- 40 NETO, A. C.; GUINEA, F.; PERES, N. M.; NOVOSELOV, K. S.; GEIM, A. K. The electronic properties of graphene. *Reviews of modern physics*, APS, v. 81, n. 1, p. 109, 2009.
- 41 ANDREW, W. (Ed.). *Manual de carbono, grafite, diamantes e fulerenos: processamento, propriedades e aplicações*. [S.l.: s.n.], 2012.
- 42 JESUS, K. A. D.; FREIRE, E.; GUIMARÃES, M. Grafeno: aplicações e tendências tecnológicas. *Dep. Process. Orgânicos*, v. 737, p. 14–19, 2012.
- 43 GEORGAKILAS, V.; PERMAN, J. A.; TUCEK, J.; ZBORIL, R. Broad family of carbon nanoallotropes: classification, chemistry, and applications of fullerenes, carbon dots, nanotubes, graphene, nanodiamonds, and combined superstructures. *Chemical reviews*, ACS Publications, v. 115, n. 11, p. 4744–4822, 2015.
- 44 SANTOS, D. F. d. Caracterização das ocorrências de grafita nos paragnaises e quartzitos da porção nordeste do cráton são francisco, sul do estado de sergipe. DGEOL-Departamento de Geologia–São Cristóvão-Presencial, 2018.
- 45 R.L., H. P. . B. *Industrial minerals geology and world deposit*. [S.l.: s.n.], 1990. ISBN 0947671285.
- 46 EVANS, A. M. *Ore geology and industrial minerals: an introduction*. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2009.
- 47 SAMPAIO, J. A.; BRAGA, P. F. A.; DUTRA, A. J. B. Grafita. In: . [S.l.]: CETEM, 2008.
- 48 NOVOSELOV, K. S.; GEIM, A. K.; MOROZOV, S. V.; JIANG, D.; ZHANG, Y.; DUBONOS, S. V.; GRIGORIEVA, I. V.; FIRSOV, A. A. Electric field effect in atomically thin carbon films. *science*, American Association for the Advancement of Science, v. 306, n. 5696, p. 666–669, 2004.
- 49 CHANG, Y.; YANG, S.-T.; LIU, J.-H.; DONG, E.; WANG, Y.; CAO, A.; LIU, Y.; WANG, H. In vitro toxicity evaluation of graphene oxide on a549 cells. *Toxicology letters*, Elsevier, v. 200, n. 3, p. 201–210, 2011.
- 50 RAMÍREZ, G.; RODIL, S.; ARZATE, H.; MUHL, S.; OLAYA, J. Niobium based coatings for dental implants. *Applied Surface Science*, Elsevier, v. 257, n. 7, p. 2555–2559, 2011.
- 51 EISENBARTH, E.; VELTEN, D.; MÜLLER, M.; THULL, R.; BREME, J. Nanostructured niobium oxide coatings influence osteoblast adhesion. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, Wiley Online Library, v. 79, n. 1, p. 166–175, 2006.

- 52 NAKAGAWA, M.; MATSUYA, S.; UDOH, K. Effects of fluoride and dissolved oxygen concentrations on the corrosion behavior of pure titanium and titanium alloys. *Dental materials journal*, The Japanese Society for Dental Materials and Devices, v. 21, n. 2, p. 83–92, 2002.
- 53 TSCHERNITSCHKEK, H.; BORCHERS, L.; GEURTSSEN, W. Nonalloyed titanium as a bioinert metal—a review. *Quintessence international*, v. 36, n. 7, 2005.
- 54 BAI, Y.; DENG, Y.; ZHENG, Y.; LI, Y.; ZHANG, R.; LV, Y.; ZHAO, Q.; WEI, S. Characterization, corrosion behavior, cellular response and in vivo bone tissue compatibility of titanium–niobium alloy with low young’s modulus. *Materials Science and Engineering: C*, Elsevier, v. 59, p. 565–576, 2016.
- 55 GOSTIN, P. F.; HELTH, A.; VOSS, A.; SUEPTITZ, R.; CALIN, M.; ECKERT, J.; GEBERT, A. Surface treatment, corrosion behavior, and apatite-forming ability of ti-45nb implant alloy. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, Wiley Online Library, v. 101, n. 2, p. 269–278, 2013.
- 56 GEIM, A. K.; NOVOSELOV, K. S. The rise of graphene. In: *Nanoscience and technology: a collection of reviews from nature journals*. [S.l.]: World Scientific, 2010. p. 11–19.
- 57 MINA, A. N.; AWADALLAH, A. A.; PHILLIPS, A. H.; AHMED, R. R. Simulation of the band structure of graphene and carbon nanotube. In: IOP PUBLISHING. *Journal of Physics: Conference Series*. [S.l.], 2012. v. 343, n. 1, p. 012076.
- 58 CHEN, D.; TANG, L.; LI, J. Graphene-based materials in electrochemistry. *Chemical Society Reviews*, Royal Society of Chemistry, v. 39, n. 8, p. 3157–3180, 2010.
- 59 LEE, W. C.; LIM, C. H. Y.; SHI, H.; TANG, L. A.; WANG, Y.; LIM, C. T.; LOH, K. P. Origin of enhanced stem cell growth and differentiation on graphene and graphene oxide. *ACS nano*, ACS Publications, v. 5, n. 9, p. 7334–7341, 2011.
- 60 RUIZ, O. N.; FERNANDO, K. S.; WANG, B.; BROWN, N. A.; LUO, P. G.; MCNAMARA, N. D.; VANGSNESS, M.; SUN, Y.-P.; BUNKER, C. E. Graphene oxide: a nonspecific enhancer of cellular growth. *ACS nano*, ACS Publications, v. 5, n. 10, p. 8100–8107, 2011.
- 61 LI, J.; WANG, G.; ZHU, H.; ZHANG, M.; ZHENG, X.; DI, Z.; LIU, X.; WANG, X. Antibacterial activity of large-area monolayer graphene film manipulated by charge transfer. *Scientific reports*, Nature Publishing Group, v. 4, n. 1, p. 1–8, 2014.
- 62 IMPACT of graphene exposure on microbial activity and community ecosystem in saliva. *ACS Applied Bio Materials*, Publicações ACS, v. 2, 2018.
- 63 KALBACOVA, M.; REZEK, B.; BARESOVA, V.; WOLF-BRANDSTETTER, C.; KROMKA, A. Nanoscale topography of nanocrystalline diamonds promotes differentiation of osteoblasts. *Acta biomaterialia*, Elsevier, v. 5, n. 8, p. 3076–3085, 2009.
- 64 NAYAK, T. R.; ANDERSEN, H.; MAKAM, V. S.; KHAW, C.; BAE, S.; XU, X.; EE, P.-L. R.; AHN, J.-H.; HONG, B. H.; PASTORIN, G. et al. Graphene for controlled and accelerated osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *ACS nano*, ACS Publications, v. 5, n. 6, p. 4670–4678, 2011.

- 65 O efeito de inibição de nanofolhas de óxido de grafeno no desenvolvimento de biofilmes de *Streptococcus mutans*. *Caracterização de sistemas de partículas & de partículas*, Wiley Online Library, v. 34.
- 66 BRUZIQUESI, C. G.; BALENA, J. G.; PEREIRA, M. C.; SILVA, A. C.; OLIVEIRA, L. C. Nióbio: um elemento químico estratégico para o Brasil. *Química Nova*, SciELO Brasil, v. 42, p. 1184–1188, 2020.
- 67 QUELHAS, K. A. d. S. *Estudo da corrosão do nióbio em meio metanólico*. Tese (Doutorado) — Tese (Engenharia Metalúrgica e de Materiais). Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.
- 68 LOPES, O. F.; MENDONÇA, V. R. d.; SILVA, F. B.; PARIS, E. C.; RIBEIRO, C. Óxidos de nióbio: uma visão sobre a síntese do Nb₂O₅ e sua aplicação em fotocatalise heterogênea. *Química Nova*, SciELO Brasil, v. 38, n. 1, p. 106–117, 2015.
- 69 NICO, C.; MONTEIRO, T.; GRAÇA, M. P. Niobium oxides and niobates physical properties: Review and prospects. *Progress in Materials Science*, Elsevier, v. 80, p. 1–37, 2016.
- 70 CAHN, R. W. Binary alloy phase diagrams—second edition. T. B. Massalski, editor-in-chief; H. Okamoto, P. R. Subramanian, L. Kacprzak, editors. ASM International, Materials Park, Ohio, USA. December 1990. xxii, 3589 pp., 3 vol., hard-back. \$995.00 the set. *Advanced Materials*, v. 3, n. 12, p. 628–629, 1991. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adma.19910031215>>.
- 71 SCHÄFER, H.; AGUADO, A.; SEZER, U. *Angew. chem.* 1971.
- 72 PAULINE, S. A.; RAJENDRAN, N. Biomimetic novel nanoporous niobium oxide coating for orthopaedic applications. *Applied Surface Science*, Elsevier, v. 290, p. 448–457, 2014.
- 73 MAZUR, M.; KALISZ, M.; WOJCIESZAK, D.; GROBELNY, M.; MAZUR, P.; KACZMAREK, D.; DOMARADZKI, J. Determination of structural, mechanical and corrosion properties of Nb₂O₅ and (Nb_{1-x}Y_x)₂O₅ thin films deposited on Ti6Al4V alloy substrates for dental implant applications. *Materials Science and Engineering: C*, Elsevier, v. 47, p. 211–221, 2015.
- 74 UREÑA, J.; TSIPAS, S.; JIMÉNEZ-MORALES, A.; GORDO, E.; DETSCH, R.; BOCCACCINI, A. Cellular behaviour of bone marrow stromal cells on modified Ti-Nb surfaces. *Materials & Design*, Elsevier, v. 140, p. 452–459, 2018.
- 75 BOCCACCINI, A. R.; ROETHER, J. A.; THOMAS, B. J.; SHAFFER, M. S.; CHAVEZ, E.; STOLL, E.; MINAY, E. J. The electrophoretic deposition of inorganic nanoscaled materials—a review. *Journal of the Ceramic Society of Japan*, The Ceramic Society of Japan, v. 114, n. 1325, p. 1–14, 2006.
- 76 HEISE, S.; RIVERA, L. R.; BOCCACCINI, A. R. Bioactive glass containing coatings by electrophoretic deposition: development and applications. In: *Biomedical, Therapeutic and Clinical Applications of Bioactive Glasses*. [S.l.]: Elsevier, 2019. p. 3–33.
- 77 GALEGO, E.; SERNA, M.; SILVA, P.; BIGIO, J.; FARIA, R. et al. Estudo de adsorção de eosin y por eletroforese em Zn nanoestruturado.

- 78 GENTIL, V. *Corrosão*. 5. ed. Rio de Janeiro: [s.n.], 2007.
- 79 RIBEIRO, D. V. *Corrosão em estruturas de concreto armado: Teoria, controle, métodos de análise*. 1. ed. Rio de Janeiro: [s.n.], 2014.
- 80 DALLEPIANE, F. G.; SILVA, A. da; PAZ, J. D.; DIAS, B. K.; TRENTIN, M. S. Influência da corrosão na resistência à fratura de mini-implantes ortodônticos de titânio e aço inoxidável: Uma revisão da literatura. *Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences*, v. 5, n. 2, p. 31–47, 2023.
- 81 XIAO-TING, S.; LI, L.; KANG-NAN, M.; YAN-ZHEN, Z.; BO-GUI, L. Study of the correlation between streptococcus mutans' adhesion and surface corrosion in casting titanium and ti alloy. *Shanghai Journal of Stomatology*, 2008.
- 82 CHIQUITO, M. A. Comparação de desempenho de aços de baixa liga frente à corrosão atmosférica e corrosão eletroquímica. Universidade Federal de Minas Gerais, 2013.
- 83 OLIVEIRA, A.; PEREIRA, A.; BETTIO, G.; TARLEY, C. Síntese, estudo e caracterização estrutural da redução térmica e com hidrazina do óxido de grafeno por espectroscopia raman e espectroscopia de infravermelho. *Rev. Virtual Quim*, v. 11, n. 3, p. 866–877, 2019.
- 84 ENSAIO colorimétrico rápido para crescimento e sobrevivência celular: aplicação a ensaios de proliferação e citotoxicidade. *Diário de métodos imunológicos*, v. 65.
- 85 LEMOS, A. B.; ELIAS, C. N.; BASTOS, R. R.; MARTINEZ, E. F. Nanometric deposition of fluoride ions on titanium alloys and its influence on in vitro bacterial adhesion and viability. *Materials Research*, SciELO Brasil, v. 24, 2021.
- 86 SHEN, J.; HU, Y.; SHI, M.; LI, N.; MA, H.; YE, M. One step synthesis of graphene oxide-magnetic nanoparticle composite. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 114, n. 3, p. 1498–1503, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jp909756r>>.
- 87 ALBREKTSSON, T.; WENNERBERG, A. Oral implant surfaces: Part 1—review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *International Journal of Prosthodontics*, v. 17, n. 5, 2004.
- 88 GEHRKE, S. A.; LIMA, J. H. Cavalcanti de; RODRIGUEZ, F.; CALVO-GUIRADO, J. L.; JÚNIOR, J. A.; PÉREZ-DÍAZ, L.; MAZÓN, P.; ARAGONESES, J. M.; AZA, P. N. D. Microgrooves and microrugosities in titanium implant surfaces: An in vitro and in vivo evaluation. *Materials*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 12, n. 8, p. 1287, 2019.
- 89 PFEIFFER, F.; HERZOG, B.; KERN, D.; SCHEIDELER, L.; GEIS-GERSTORFER, J.; WOLBURG, H. Cell reactions to microstructured implant surfaces. *Microelectronic engineering*, Elsevier, v. 67, p. 913–922, 2003.
- 90 ELIAS, C. N.; LIMA, J. H. C.; PRADO, M. H. S. Importância da qualidade da superfície dos implantes osseointegráveis na biofixação. *Rev. bras. implantodontia*, p. 13–7, 2000.
- 91 DELIGIANNI, D. D.; KATSALA, N.; LADAS, S.; SOTIROPOULOU, D.; AMEDEE, J.; MISSIRLIS, Y. Effect of surface roughness of the titanium alloy ti-6al-4v on human bone marrow cell response and on protein adsorption. *Biomaterials*, Elsevier, v. 22, n. 11, p. 1241–1251, 2001.

- 92 MANHABOSCO, T. M. Tribocorrosão da liga ti6a14v, liga nitretada, ti6a14v revestida por filmes diamond-like carbon (dlc) e obtenção eletroquímica de filmes dlc. 2009.
- 93 ZHU, X.; CHEN, J.; SCHEIDELER, L.; REICHL, R.; GEIS-GERSTORFER, J. Effects of topography and composition of titanium surface oxides on osteoblast responses. *Biomaterials*, Elsevier, v. 25, n. 18, p. 4087–4103, 2004.
- 94 ALBREKTSSON, T.; WENNERBERG, A. On osseointegration in relation to implant surfaces. *Clinical implant dentistry and related research*, Wiley Online Library, v. 21, p. 4–7, 2019.
- 95 HASAN, A.; PANDEY, L. M. Kinetic studies of attachment and re-orientation of octyl-triethoxysilane for formation of self-assembled monolayer on a silica substrate. *Materials Science and Engineering: C*, Elsevier, v. 68, p. 423–429, 2016.
- 96 DINIZ, M. G.; SADER, M. S.; SOARES, G. d. A. Superfície de titânio modificada por jateamento mecânico e/ou tratamento ácido. *Rev. bras. odontol*, p. 135–8, 2001.
- 97 EDWARDS, R. S.; COLEMAN, K. S. Graphene synthesis: relationship to applications. *Nanoscale*, The Royal Society of Chemistry, v. 5, p. 38–51, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C2NR32629A>>.
- 98 NANDA, S. S.; PAPAETHYMIU, G. C.; YI, D. K. Functionalization of graphene oxide and its biomedical applications. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, Taylor & Francis, v. 40, n. 5, p. 291–315, 2015.
- 99 GITTENS, R. A.; SCHEIDELER, L.; RUPP, F.; HYZY, S. L.; GEIS-GERSTORFER, J.; SCHWARTZ, Z.; BOYAN, B. D. A review on the wettability of dental implant surfaces ii: Biological and clinical aspects. *Acta biomaterialia*, Elsevier, v. 10, n. 7, p. 2907–2918, 2014.
- 100 LOURENÇO, B. N.; MARCHIOLI, G.; SONG, W.; REIS, R. L.; BLITTERSWIJK, C. A. van; KARPERIEN, M.; APELDOORN, A. van; MANO, J. F. Wettability influences cell behavior on superhydrophobic surfaces with different topographies. *Biointerphases*, Springer, v. 7, n. 1-4, p. 1–11, 2012.
- 101 LEITE, G. B.; FONSECA, Y. R.; GOMES, A. V.; ELIAS, C. N. Relationship between 3d surface roughness parameters and wettability in titanium with micrometric and sub-micrometric grains sizes. *MATERIA-RIO DE JANEIRO, UNIV FED RIO DE JANEIRO, LAB HIDROGENIO CIDADE UNIV, ILHA DO FUNDÃO, BLOCO I ...*, v. 25, n. 2, 2020.
- 102 AKASAKA, T.; YOKOYAMA, A.; MATSUOKA, M.; HASHIMOTO, T.; WATARI, F. Thin films of single-walled carbon nanotubes promote human osteoblastic cells (saos-2) proliferation in low serum concentrations. *Materials Science and Engineering: C*, Elsevier, v. 30, n. 3, p. 391–399, 2010.
- 103 WEBB, K.; HLADY, V.; TRESCO, P. A. Relative importance of surface wettability and charged functional groups on nih 3t3 fibroblast attachment, spreading, and cytoskeletal organization. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials*, Wiley Online Library, v. 41, n. 3, p. 422–430, 1998.

- 104 SARTORETTO, S. C.; ALVES, A. T. N. N.; RESENDE, R. F. B.; CALASANS-MAIA, J.; GRANJEIRO, J. M.; CALASANS-MAIA, M. D. Early osseointegration driven by the surface chemistry and wettability of dental implants. *Journal of applied oral science*, SciELO Brasil, v. 23, n. 3, p. 279–287, 2015.
- 105 BAIER, R. E.; MEYER, A. E. Implant surface preparation. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, v. 3, n. 1, 1988.
- 106 YANG, S. Y.; KIM, E.-S.; JEON, G.; CHOI, K. Y.; KIM, J. K. Enhanced adhesion of osteoblastic cells on polystyrene films by independent control of surface topography and wettability. *Materials Science and Engineering: C*, Elsevier, v. 33, n. 3, p. 1689–1695, 2013.
- 107 LANG, N. P.; SALVI, G. E.; HUYNH-BA, G.; IVANOVSKI, S.; DONOS, N.; BOSSHARDT, D. D. Early osseointegration to hydrophilic and hydrophobic implant surfaces in humans. *Clinical oral implants research*, Wiley Online Library, v. 22, n. 4, p. 349–356, 2011.
- 108 DUBIEL, E. A.; MARTIN, Y.; VERMETTE, P. Bridging the gap between physico-chemistry and interpretation prevalent in cell- surface interactions. *Chemical reviews*, ACS Publications, v. 111, n. 4, p. 2900–2936, 2011.
- 109 UMA breve revisão de filmes e revestimentos de proteção contra corrosão baseados em grafeno e óxido de grafeno. *Diário de Ligas e Compostos*, v. 764.
- 110 GENG, Y.; WANG, S. J.; KIM, J.-K. Preparation of graphite nanoplatelets and graphene sheets. *Journal of colloid and interface science*, Elsevier, v. 336, n. 2, p. 592–598, 2009.
- 111 EFEITO antibacteriano e remineralizante in vitro de adesivo contendo triazina e vidro invertido pentóxido de nióbio fosfato. v. 21.
- 112 ALTMANN, A. S. P.; COLLARES, F. M.; OGLIARI, F. A.; SAMUEL, S. M. W. Effect of methacrylated-based antibacterial monomer on orthodontic adhesive system properties. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, Elsevier, v. 147, n. 4, p. S82–S87, 2015.
- 113 LI, Y.; MUNIR, K. S.; LIN, J.; WEN, C. Titanium-niobium pentoxide composites for biomedical applications. *Bioactive Materials*, Elsevier, v. 1, n. 2, p. 127–131, 2016.
- 114 SAHM, B. D.; FERREIRA, I.; UCHÔA, J. V.; FILHO, P. N. L. et al. Síntese, caracterização e concentração inibitória mínima do óxido de grafeno e óxido de grafeno reduzido. *Revista de Odontologia da UNESP*, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Faculdade de . . . , v. 51, n. Especial, p. 0–0, 2023.
- 115 LIU, S.; ZENG, T. H.; HOFMANN, M.; BURCOMBE, E.; WEI, J.; JIANG, R.; KONG, J.; CHEN, Y. Antibacterial activity of graphite, graphite oxide, graphene oxide, and reduced graphene oxide: membrane and oxidative stress. *ACS nano*, ACS Publications, v. 5, n. 9, p. 6971–6980, 2011.
- 116 GURUNATHAN, S.; HAN, J. W.; DAYEM, A. A.; EPPAKAYALA, V.; KIM, J.-H. Oxidative stress-mediated antibacterial activity of graphene oxide and reduced graphene oxide in pseudomonas aeruginosa. *International journal of nanomedicine*, Taylor & Francis, p. 5901–5914, 2012.