

DEPOSIÇÃO DE HIDROXIAPATITA EM AÇO 316L COM ADIÇÃO DE PRATA ATRAVÉS DE OXIDAÇÃO ELETROLÍTICA.

Ana Maria Felix Libório¹ (Libório, A.F.), Bruna Teixeira Costa² (Costa, B.T.), Michelle Cequeira Feitor³ (Feitor, M.C.), Thércio Henrique⁴ de Carvalho Costa (Costa, T.C), Michele Aires⁵, (Aires, M.).

- 1- *Bacharelado em Tecnologia da Informação, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN.*
- 2- *Bacharelado em Engenharia Mecânica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN.*
- 3- *Programa de Pós-graduação em Engenharia Têxtil, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN.*
- 4- *Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN.*
- 5- *Programa de Pós-graduação em Engenharia Têxtil, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN*

*ana.liborio.116@ufrn.edu.br¹,bruna.teixeira.076@ufrn.edu.br²,
michelle.feitor@ufrn.br³,thercioc@gmail.com⁴, michellemaires@gmail.com⁵.*

RESUMO

O aço inoxidável 316L é amplamente utilizado em implantes devido às suas propriedades mecânicas e custo acessível, mas sua alta suscetibilidade à corrosão em ambientes fisiológicos limita sua aplicação, podendo causar inflamações e rejeição. Para melhorar sua biocompatibilidade, este estudo propôs o revestimento do aço com hidroxiapatita, um material com composição semelhante à matriz óssea inorgânica, visando aprimorar a osseointegração. O revestimento foi aplicado por Oxidação Eletrolítica a Plasma (PEO) em tempos de 90 e 180 segundos, utilizando reações anódicas e catódicas. As amostras foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Difração de Raios-X (DRX), ensaios de molhabilidade, dureza e proliferação bacteriana e celular. Os resultados indicaram a formação eficaz do revestimento, com baixa proliferação bacteriana e boa proliferação celular, demonstrando que o tratamento contribui para a biocompatibilidade do aço 316L, reduzindo os riscos de rejeição do implante.

Palavras-chave: PEO, Hidroxiapatita, Oxidação eletrolítica, AISI 316L.

INTRODUÇÃO

É reconhecido que a perda de um órgão ou de uma parte do corpo humano impacta não apenas a funcionalidade física, mas também desencadeia desafios psicológicos e sociais profundos. Com os avanços na medicina e na odontologia, estudos e procedimentos voltados à melhora da qualidade de vida, como a substituição parcial ou total de ossos fraturados por implantes, tornaram-se mais acessíveis. Esse progresso tem impulsionado o desenvolvimento de métodos mais eficientes para a criação dos materiais utilizados nesses procedimentos. A crescente demanda por biomateriais que ofereçam resistência à corrosão e promovam uma integração óssea sólida tem destacado as ligas de aço 316L(2)(5). Essas ligas são amplamente procuradas devido à sua natureza resistente à corrosão. No entanto, mesmo o aço 316L não oferece garantia total contra corrosão, o que pode resultar em falhas ou rupturas dos implantes, levando a dor e infecções graves.

Para mitigar esses problemas, é necessário aplicar revestimentos biocompatíveis na superfície metálica do material, com destaque para os revestimentos cerâmicos, especialmente a hidroxiapatita (HA)(4). Porém, a deposição de hidroxiapatita em aço 316L apresenta alguns desafios. Apesar da boa resistência à corrosão do aço, é necessário superar a barreira de óxido na superfície do material para garantir uma deposição mais eficaz da hidroxiapatita. Além disso, é crucial prevenir o crescimento de micro-organismos no material para tornar seu uso mais eficaz, promovendo alta adesão celular e baixa proliferação bacteriana. Isso favorece a aceitação do implante pelo corpo e reduz a possibilidade de infecções.

A técnica de Oxidação Eletrolítica a Plasma (PEO) desponta como uma solução promissora para a criação de revestimentos cerâmicos de alta densidade e espessura. Além disso, oferece vantagens como simplicidade, baixo custo e a capacidade de formar revestimentos uniformes em geometrias complexas. O método se baseia na eletrólise convencional ou na geração de arco de plasma em uma solução eletrolítica submetida a alta tensão, resultando na formação de revestimentos cerâmicos. Isso possibilita a criação de uma camada bioativa e microporosa nas superfícies dos implantes, com o benefício adicional de ser um tratamento rápido, concluído em questão de minutos.

METODOLOGIA

Para o presente estudo, foram utilizadas 30 amostras de aço 316L, cada uma com aproximadamente 16 mm de diâmetro, preparadas com tratamento metalográfico. O processo metalográfico incluiu lixamento utilizando lixas d'água de granulometria 180, 220, 340, 600, 1200 e 2000, seguido de polimento com alumina de 1 μm .

No preparo da solução eletrolítica, foram utilizados 1 litro de água destilada, 10 g de acetato de cálcio, 1 g de beta-glicerofosfato de cálcio e 3 mL de ácido nítrico. Das 30 amostras, 15 foram submetidas a essa solução, enquanto as outras 15 foram tratadas com a solução contendo 1 g adicional de nitrato de prata. Ambas as soluções foram homogeneizadas por agitação magnética durante aproximadamente 15 minutos.

As amostras foram divididas em quatro subgrupos:

Grupo A: amostras submetidas a tratamentos em potencial anódico.

Grupo B: amostras submetidas a tratamento em potencial catódico.

Grupo C: amostras submetidas a tratamentos em potencial anódico com adição de prata.

Grupo D: amostras submetidas a tratamento catódico com adição de prata.

O tratamento eletrolítico foi realizado em dois tempos distintos, 90 segundos

e 180 segundos(1), para todos os grupos. As amostras de aço 316L foram submetidas ao tratamento no Reator de Oxidação Eletrolítica a Plasma (PEO), resultando na formação de um revestimento de hidroxiapatita. Ao término de cada intervalo de tempo, o reator foi desligado, as amostras foram retiradas, secas e submetidas às análises subsequentes, incluindo testes de proliferação bacteriana e celular.

Para a caracterização das amostras, foram utilizadas várias técnicas analíticas:

Difração de Raios X (DRX) para identificar o substrato.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para analisar as camadas depositadas.

A caracterização da superfície incluiu ensaios de molhabilidade para determinar se a camada depositada era hidrofílica ou hidrofóbica. Além disso, foi realizado o ensaio de dureza Vickers para analisar tanto a composição superficial quanto a dureza da camada formada.

Microrganismos

Para a cultura bacteriana, foi escolhida a linhagem de *Staphylococcus aureus* devido à sua resistência à metilicina (MRSA). A escolha dessa linhagem é relevante devido a sua prevalência em infecções hospitalares e resistência aos antibióticos comuns(3). As bactérias foram semeadas em Ágar Muller Hinton, com as placas bacterianas incubadas a 37°C em uma estufa bacteriológica por um período de 24 horas para permitir que houvesse desenvolvimento bacteriano.

Para a preparação das bactérias, várias colônias foram selecionadas e suspensas em uma solução de cloreto de sódio estéril a 0,9%. Esta suspensão foi utilizada para garantir uma concentração uniforme de bactérias para os testes subsequentes.

Condições de cultura e preparação das amostras

As células pré-osteoblásticas MC3T3 foram cultivadas em frascos de 75 cm³ utilizando meio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) suplementado

com 10% de soro fetal bovino (SFB), penicilina (100 UI/ml) e estreptomicina (100 µg/ml). A incubação ocorreu a 37°C, em uma atmosfera com 5% de CO₂, e o meio de cultura foi trocado a cada 72 horas até que as células atingissem cerca de 70% de confluência. Após o estabelecimento da cultura, alíquotas contendo 5x10⁵ células foram transferidas para placas de 12 poços contendo discos de aço previamente esterilizados por autoclave a 120°C por 30 minutos. Poços sem amostras foram utilizados como controle.

Nos ensaios de proliferação celular, os discos de aço cirúrgicos foram utilizados para semear as células, que foram então colocadas em placas de 12 poços a uma densidade de 5,0 x 10⁴ células/disco, em triplicata. Após 24 horas de incubação, uma solução de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio) preparada com DMEM foi adicionada a cada poço e incubada por 4 horas. Após a remoção do MTT, foi adicionado etanol absoluto e misturado. Amostras do meio de cultura foram transferidas para placas de 96 poços e quantificadas espectrofotometricamente a 570 nm utilizando um leitor de microplacas.

A análise dos resultados foi realizada com uma combinação de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e difração de raios X (DRX). A MEV permitiu a observação de um filme de alta qualidade depositado na amostra tratada com potencial anódico e adição de prata à solução eletrolítica durante 90 segundos. A Fig. 1 mostra pontos de concentração de prata associados à hidroxiapatita depositada, confirmados pela análise de DRX. Os picos de óxido de prata identificados na Fig. 2 para as amostras tratadas com nitrato de prata na solução eletrolítica corroboram a eficácia da deposição de hidroxiapatita com a adição de prata ao substrato.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Utilizamos os ensaios de molhabilidade para examinar os ângulos de contato formados com o revestimento depositado pelo tratamento, o que permitiu que os filmes hidrofóbicos ou hidrofílicos fossem classificados. Se olhar do contexto biológico nota-se o quão crucial é esta análise, já que a adesão do corpo ao material implantado é favorecida por ângulos de contato menores. Gráficos foram gerados para representar os resultados dos ensaios.

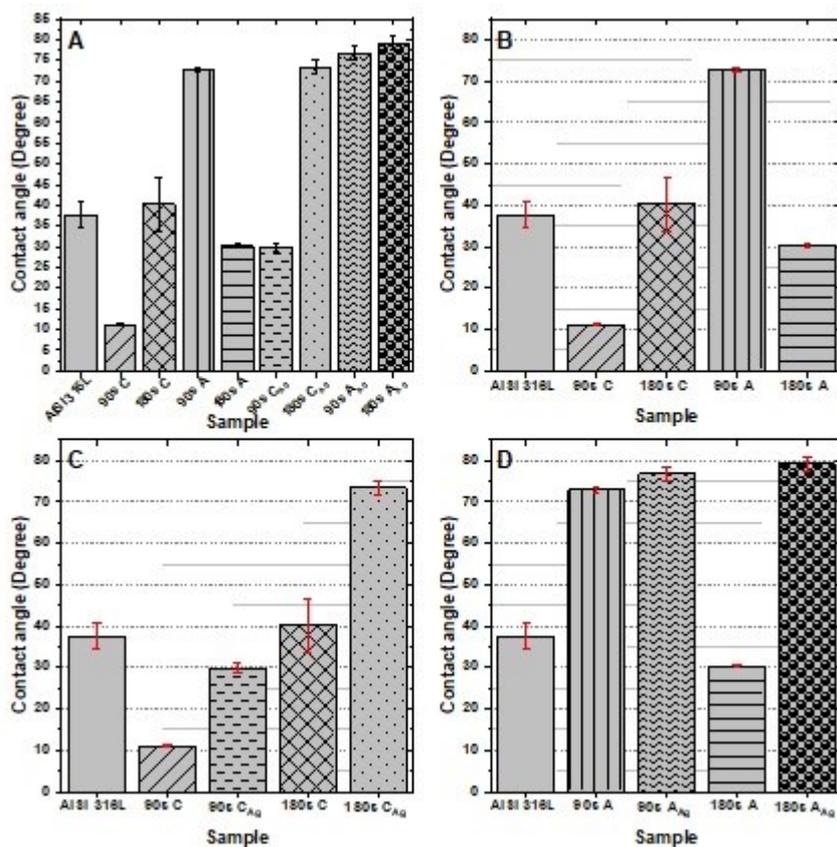
De forma mais crítica, analisamos de forma separada as amostras anódicas e catódicas, o que acabou possibilitando comparações mais detalhadas e abrangentes. Analisando o Gráfico B, observamos que, para as amostras catódicas, haver um aumento do tempo de tratamento acabou resultando em um aumento do ângulo de contato, o que indica uma redução na molhabilidade do material. Porém, nas amostras anódicas, ocorreu o contrário, o que já era esperado devido ao potencial eletrolítico aplicado na amostra em questão. Com o aumento do tempo de tratamento, o ângulo de contato diminuiu, resultando em uma maior molhabilidade.

Já no Gráfico C, observou-se que o ângulo de contato aumentou com o aumento do tempo de tratamento. No entanto, ao adicionar prata à solução eletrolítica, os ângulos aumentaram de forma significativa. Mas, se observamos o que é mostrados no Gráfico D para as amostras anódicas que não tiveram a

adição de prata, a molhabilidade aumentou com o tempo de tratamento. Entretanto, quando foram feitas as análises dos resultados das amostras com prata, observou-se um aumento nos ângulos de contato devido ao aumento do tempo do tratamento, principalmente devido à presença da prata, que contribui para esse efeito.

Desta forma, conclui-se que analisando todas as amostras neste trabalho, pode-se notar que estas tiveram potencial hidrofílico.

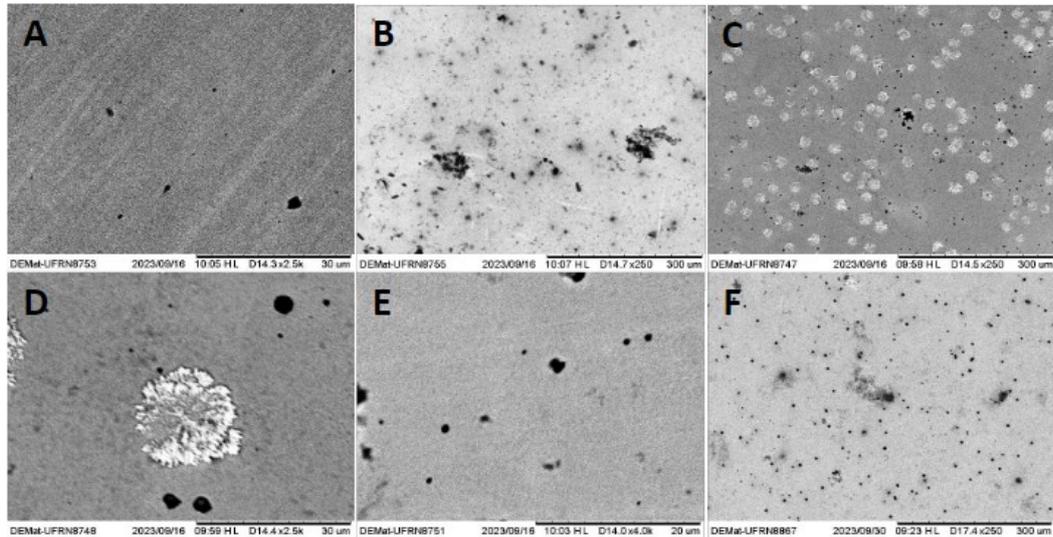
Figura 1. A- tratamento em aço 316L em 90 e 180 segundos, com e sem adição de prata; B- tratamento anódico e catódico nos tempos de 90 e 180 segundos, sem adição de prata; C- Tratamento catódico com e sem adição de prata, tratado em 90 e 180 segundos; D - Tratamento anódico com e sem adição de prata, tratado em 90 e 180 segundos.



As análises de MEV e DRX foram fundamentais. Através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) identificou-se que houve uma superioridade no filme com prata em relação ao sem prata, no potencial catódico em 90 segundos, como mostrado na imagem C da Fig. 1.

Figura 2. A – Amostra de controle sem tratamento, B – Amostra sem adição de prata em 90 segundos, C – Amostra com adição de prata em 90 segundos, D – Amostra com adição de prata em 90 segundo, com zoom na

deposição de prata, E - Amostra sem adição de prata em 180 segundos, F - Amostra com adição de prata em 180 segundos.



Em todas é possível observar os focos de adição de prata adicionados ao revestimento.

Figura 3. Crescimento de células. A- tratamento em aço 316L em 90 e 180 segundos, com e sem adição de prata em potencial anódico e catódico; B- tratamento anódico e catódico nos tempos de 90 e 180 segundos sem adição de prata; C- Tratamento catódico com e sem adição de prata, tratado em 90 e 180 segundos; D -Tratamento anódico com e sem adição de prata, tratado em 90 e 180 segundos.

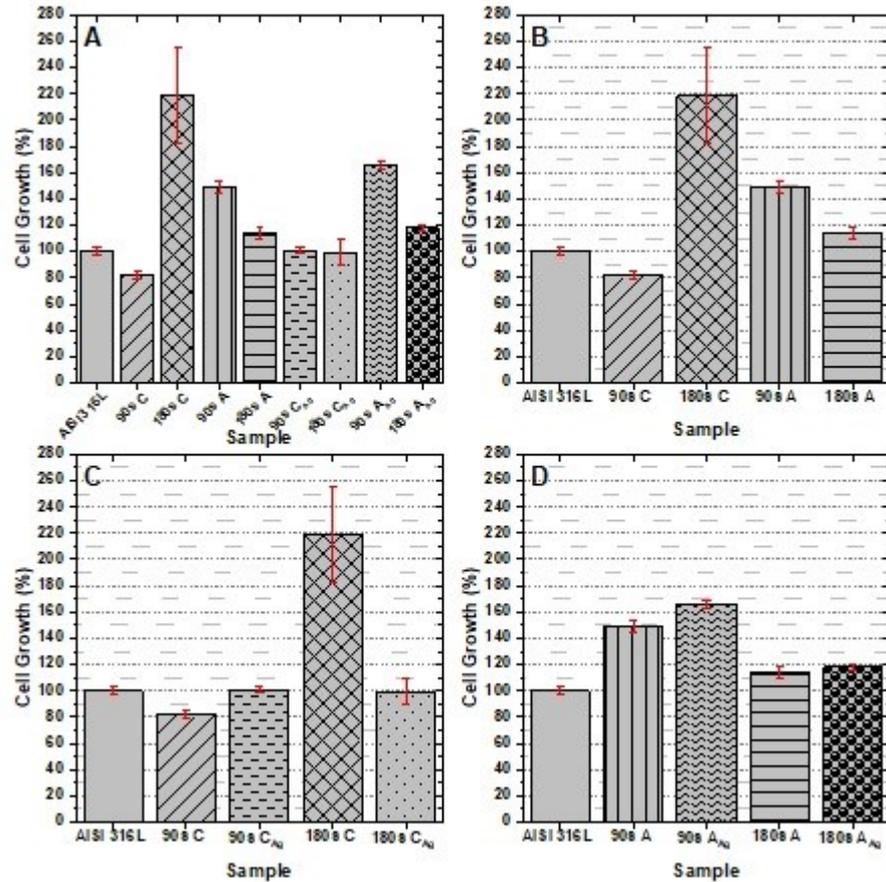
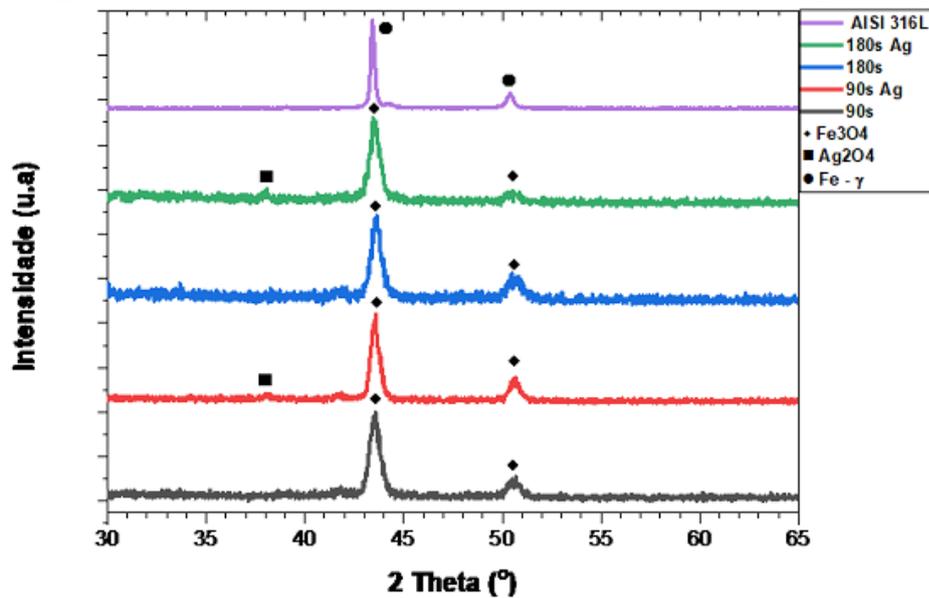


Figura 4. Difração de Raio X(DRX) mostrando a deposição de prata.



Já os testes de proliferação bacteriana, apresentados na Fig.3, já demonstram que tanto as amostras tratadas em potencial anódico quanto em potencial catódico houveram baixas proliferações bacterianas, o que era o esperado para o tratamento. Porém, algo a ser observado nestes testes foi que

em potenciais destintos as amostras sem deposição de prata apresentaram uma menor taxa de proliferação bacteriana quando são comparadas as que houveram a adição de prata na solução. Com relação ao desenvolvimento das células, foi observado também um aumento nas amostras, o que apresentou o resultado desejado.

CONCLUSÃO

Concluiu-se com base nos experimentos e análises feitas, que o presente estudo apresentou os resultados esperados, ao depositar prata nas amostras de aço 316L. Destacando as amostras tratadas em potencial anódico na adesão de prata em tratamento de 90 segundos, onde apresentaram bom crescimento celular e baixa proliferação bacteriana e ângulo elevado de contato.

A deposição de hidroxiapatita também foi confirmada através das análises, o que há grande relevância já que ela é responsável pela redução do tempo para regeneração óssea.

Apesar do intuito deste trabalho também ser diminuir a proliferação bacteriana com o acréscimo de prata na solução, podemos ver que nas amostras sem prata a proliferação de bactérias foi menor. Mas, ainda assim, todas as amostras utilizadas neste experimento houve baixa proliferação bacteriana, o que atingiu os objetivos.

AGRADECIMENTOS

Deixo os agradecimentos a Universidade Federal do Rio Grande do Norte, aos meus colegas de laboratório e aos órgãos de apoio, CNPq e CAPES pelo auxílio financeiro e ao Instituto Metrópole Digital (IMD).

REFERÊNCIAS

(1) Adeleke, S. A., Ramesh, S., Bushroa, A. R., Ching, Y. C., Sopyan, I., Maleque, M. A., Krishnasamy, S., Chandran, H., Misran, H., & Sutharsini, U. (2018). The properties of hydroxyapatite ceramic coatings produced by plasma electrolytic oxidation. *Ceramics International*, 44(2), 1802–1811

(2) DIAS, Vanessa M.; DE SOUSA, Eliandra; CARDOSO, Kátia R. DEPOSIÇÃO DE HIDROXIAPATITA EM AÇO INOXIDÁVEL. (https://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2010/anais/arquivos/0010_0463_01.pdf)

(3) Khatoon Z, McTiernan CD, Suuronen EJ, Mah TF, Alarcon EI. Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. *Heliyon*, volume 4, edição 12, 2018.

(4) TROMMER, R. M.; SANTOS, L. A.; BERGMANN, C. P. Avaliação das Propriedades Mecânicas de Recobrimento de Hidroxiapatita Obtidos com a Técnica de DQVAC. In: 51º Congresso Brasileiro de Cerâmica, Salvador/Bahia–Brasil. 2007.

(5) Thanh, D. T. M., Nam, P. T., Phuong, N. T., Que, L. X., Anh, N. van, Hoang, T., & Lam, T. D. Controlling the electrodeposition, morphology and structure of hydroxyapatite coating on 316L stainless steel. *Materials Science and Engineering: C*, v.4, p.2037–2045, 2013.

DEPOSITION OF HYDROXYAPATITE ON 316L STEEL WITH SILVER ADDITION

ABSTRACT

Stainless steel 316L is widely used in implants due to its mechanical properties and affordable cost, but its high susceptibility to corrosion in physiological environments limits its application, potentially causing inflammation and rejection. To enhance its biocompatibility, this study proposed coating the steel with hydroxyapatite, a material with a composition similar to inorganic bone matrix, aiming to improve osseointegration. The coating was applied via Plasma Electrolytic Oxidation (PEO) for 90 and 180 seconds, using anodic and cathodic reactions. The samples were analyzed through Scanning Electron Microscopy (SEM), X-ray Diffraction (XRD), wettability tests, hardness tests, and bacterial and cellular proliferation assays. The results indicated effective coating formation, with low bacterial proliferation and adequate cellular growth, demonstrating that the treatment enhances the biocompatibility of 316L steel, reducing the risks of implant rejection.

KEYWORDS: PEO, Hydroxyapatite, Electrolytic Oxidation, AISI 316L.