

Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

*Recobrimentos cristalinos de hidroxiapatita  
produzidos a temperatura ambiente por  
ablação a laser pulsado de Nd:YAG – 532nm*

**Fabrício Frizera Borghi**

Orientado por Alexandre Mello de Paula Silva

Dissertação apresentada ao Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas como requisito para a obtenção do título de mestre em Ciências Físicas.

Rio de Janeiro  
2 de Maio de 2012

À família, que nasci ou construí,  
pelo apoio e vivência.

# Agradecimentos

A Deus.

Aos meus pais e irmã, pelo apoio incondicional.

Alexandre Mello, pela orientação, discussões e sua experiência.

Especial ao professor Ricardo Galvão, pela acolhida e ensinamentos, e aos professores Hugo Luna e Fábio Borges, pela co-orientação e convivência.

Gustavo Canal, por todas as dicas e indicações.

Ao professor e coordenador da CFC, Ivan dos Santos, e secretários Ricardo e Bete, pelo apoio a toda hora.

A todos do Laboratório de Superfícies, PROVOCs, DTIs, ICs, mestrandos, doutorandos e pós-docs, pela parceria e por me aturarem.

A Rodrigo Felix e todos funcionários da oficina, pelos ensinamentos e excelente trabalho.

Ao professor Alexandre Rossi e todos funcionários/alunos dos Laboratórios de Biocerâmicas e Cultura de Células.

Ao professor André Pinto e todos do LabNano, pelo curso e ajudas diversas.

Aos funcionários da EXP, pelas burocracias e pelo café.

A Armando Takeuchi, pelo apartamento que chamo de casa.

A Maurício Ribeiro e Rodrigo Sacramento, por tudo. Tudo mesmo.

A todos que habitaram nosso sofá, pelas experiências.

Aos amigos do CBPF, por quando o assunto não era o trabalho.

À família do Guanabara Rugby, por tornarem a vida mais viva.

Ao CNPq e a FAPERJ, pelo apoio financeiro.

*Mil vezes a experiência tem mostrado,  
mesmo em pessoas não particularmente dadas à reflexão,  
que a melhor maneira de chegar a uma boa idéia  
é ir deixando discorrer o pensamento  
ao sabor dos seus próprios acasos e inclinações,  
mas vigiando-o com uma atenção que convém parecer distraída,  
como se estivesse a pensar noutra coisa, e de repente  
saltasse em cima do desprevenido achado como um tigre sobre  
presa.*

JOSÉ SARAMAGO

---

## RESUMO

Devido à crescente demanda de implantes dentários e ortopédicos, novas tecnologias vem sendo desenvolvidas para aumentar a estabilidade química e sua aceitação no corpo. Algumas técnicas de deposição de filmes tem sido aplicadas para recobrir metais com cerâmicas bioativas, em sua maioria fosfatos de cálcio (CaP) - constituintes naturais dos ossos humanos, de modo a aumentar a bioatividade dos implantes. A técnica mais utilizada comercialmente para recobrir com biocerâmicas é a Plasma Spray (PS). Porém, algumas desvantagens levaram ao estudo de outras técnicas com pulverização catódica (RF-MS) e ablação a laser (PLD). PLD mostrou ser uma importante candidata para produção destes recobrimentos devido a bons resultados de adesão ao substrato, estequiometria, cristalinidade e rugosidade.

Neste trabalho o 2º harmônico do laser Nd:YAG (532 nm) foi utilizado para produzir recobrimentos cristalinos de hidroxiapatita (HA) sobre silício e titânio a temperatura ambiente. A influência dos parâmetros da técnica foram investigados, como a pressão parcial de oxigênio na câmara de vácuo, a distância entre alvo e substrato e a energia do laser. Para a literatura - onde são normalmente utilizados baixos comprimentos de onda e tratamentos térmicos - este trabalho é novo.

Estrutura, composição e morfologia dos recobrimentos foram analisadas por difratometria de síncrotron raios-x de incidência rasante (GAXRD), espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), microscopia ótica e eletrônica (MEV). Os recobrimentos são compostos de HA apenas, livres de outras fases de CaP's e majoritariamente cristalinos. A taxa de deposição foi 100 vezes maior se comparada com a técnica de MS. Uma alta rugosidade formada de microparticulas sobre um fundo nanométrico foi obtida e a estequiometria do alvo de HA foi mantida nos recobrimentos.

A biocompatibilidade dos recobrimentos foi investigada com experimentos in-vitro com cultura de células ósseas e imersão em fluido corpóreo simulado (SBF). As células ósseas aderiram ao recobrimento mas apresentaram estresse provavelmente devido à alta rugosidade. Durante os testes com SBF, a fase amorfa presente nos recobrimentos se dissolveu e pode ter sido responsável pela precipitação de uma nova camada de HA.

---

# ABSTRACT

Due to a rising demand for dental and orthopedical implants, new technologies are being developed to increase their chemical stability and body acceptance. Among others, some thin films deposition techniques have been applied for coating metals with bioactive ceramics, mainly calcium phosphates (CaP) - natural component of human bone, in order to increase the implant's bioactivity. The most widely used commercial method of bioceramic coatings is Plasma Spray (PS). But, due to some disadvantages leads to the study of others techniques like radio frequency magnetron sputtering (RF-MS) and pulsed laser deposition (PLD). PLD has shown to be a promising bioceramic coating technique due to its good results as high adhesion to the substrates, stoichiometry, crystallinity and surface roughness.

In this work the 2<sup>nd</sup> harmonic of Nd:YAG laser (532 nm) was used to produce crystalline hydroxyapatite (HA) coatings over silicon and titanium substrates at room temperature. The influence of the technique parameters were investigated as the vacuum chamber oxygen partial pressure, the distance between target and substrate and laser beam energy level. The actual available references - where low laser wavelengths and heat treatments are regularly used - this approach wasn't used so far.

The structure, composition and morphology of those coatings were analyzed by synchrotron X-ray diffractometry at grazing angle (GAXRD), Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR), optical and scanning electron microscope (SEM). Coatings were hydroxyapatite free of other CaP phases and mainly crystalline. The deposition rate of this technique was 100 times higher than obtained by MS technique. A high roughness of microparticles over nanometer base was found and the HA target stoichiometry was kept for the coatings.

The biocompatibility behavior of the HA coatings was also investigated with in-vitro experiments with bone cells culture and simulate body fluid (SBF). Bone cells has attached to the coatings but showed some stress behavior probably due to the high roughness. The amorphous phase of coatings seems to be responsible for the dissolution and new HA layer precipitation during the SBF experiments.

---

# CONTEÚDO

<b>1</b>	<b>Introdução</b>	<b>1</b>
1.1	Organização da dissertação . . . . .	4
1.2	Objetivos . . . . .	5
<b>2</b>	<b>Biomateriais, Biocerâmicas e suas aplicações</b>	<b>6</b>
2.1	Biocerâmicas e fosfatos de cálcio . . . . .	8
2.1.1	Mecanismo de adesão celular . . . . .	10
2.2	Recobrimentos e técnicas de deposição . . . . .	11
<b>3</b>	<b>Ablação a Laser</b>	<b>15</b>
3.1	Caracterização do material evaporado . . . . .	23
3.2	O sistema . . . . .	24
3.2.1	Filmes de fosfatos de cálcio produzidos por ablação a laser . . . . .	26
3.2.2	Sistema utilizado . . . . .	28
<b>4</b>	<b>Métodos Experimentais e Materiais Utilizados</b>	<b>30</b>
4.1	Métodos experimentais de Caracterização . . . . .	30
4.1.1	Perfilometria . . . . .	30
4.1.2	Microscopia Ótica Digital . . . . .	31
4.1.3	Absorção de Infravermelho por Transformada de Fourier - FTIR . . . . .	32
4.1.4	Difratometria de Raios-x - DRX . . . . .	35
4.1.5	Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Dispersão de Energia de Raios-X - MEV e EDS . . . . .	42
4.2	Materiais . . . . .	43

4.2.1	Alvos . . . . .	43
4.2.2	Substratos . . . . .	45
4.2.3	Testes In Vitro . . . . .	47
<b>5</b>	<b>Resultados</b>	<b>49</b>
5.1	Taxa de ablação e fluência mínima . . . . .	49
5.2	Taxa de deposição . . . . .	52
5.3	Morfologia, composição e estrutura . . . . .	55
5.3.1	Componentes da pluma e tempo de formação dos recobrimentos . . . . .	55
5.3.2	Efeito do tratamento térmico . . . . .	57
5.3.3	Efeito da pressão parcial de gás oxigênio . . . . .	63
5.3.4	Testes com Fluido Corpóreo Simulado (SBF) . . . . .	67
5.3.5	Testes com cultura de células ósseas - preliminares . . . . .	68
<b>6</b>	<b>Conclusões e Sugestões</b>	<b>72</b>
6.1	Conclusões . . . . .	72
6.2	Sugestões de trabalhos futuros . . . . .	74
<b>A</b>	<b>Tabelas e Fichas</b>	<b>75</b>

---

## LISTA DE FIGURAS

2.1	Exemplos de biomateriais . . . . .	8
2.2	Estrutura cristalina da Hidroxiapatita [6] no plano ac . . . . .	11
2.3	Comportamento de biocerâmicas em meio biológico, mecanismo de adesão celular - adaptada de [33] . . . . .	12
3.1	Processo simplificado de ablação a laser . . . . .	15
3.2	Expansão do material evaporado no processo de ablação sobre diferentes condições de pressão e sua evolução temporal . . . . .	16
3.3	Relação de penetração do laser com o comprimento de onda e a geração de particulados . . . . .	17
3.4	Condição de congruência . . . . .	18
3.5	Processo de ablação descrito por Von Allmen . . . . .	19
3.6	Geração de particulados: aquecimento interno (A) e esfoliação (B) . . . . .	21
3.7	Sistema de deposição por ablação a laser . . . . .	24
3.8	Nova câmara de ablação projetada . . . . .	26
3.9	Câmara de ablação a laser utilizada e detalhe interno durante a deposição . . . . .	28
4.1	Equipamento de perfilometria Dektak 150 e ponta stylus . . . . .	31
4.2	Imagem do programa de medidas do perfilômetro com as regiões de medida M (verde) e referência R (vermelho) . . . . .	32
4.3	Representação do filme após utilizar uma máscara durante a deposição . . . . .	32
4.4	Foto do microscópio ótico digital e seu módulo de controle . . . . .	33
4.5	Fotografia digital do furo realizado por cinco disparos consecutivos do laser no alvo e a medida de área . . . . .	34

4.6	Perfil tridimensional do furo realizado por cinco disparos consecutivos do laser no alvo obtidos por microscopia digital . . . . .	34
4.7	Ligações covalentes lineares e não lineares . . . . .	35
4.8	Transições eletrônicas e dipolares e respectivas energias . . . . .	36
4.9	Transições eletrônicas e dipolares e respectivas energias . . . . .	37
4.10	Esquema de um equipamento de FTIR. O esquema do interferômetro de Michelson, a foto do equipamento e o detalhe do prisma . . . . .	38
4.11	Tubo de geração de raios-x e o espectro do cobre . . . . .	39
4.12	Anel onde circula o feixe de elétrons do LNLS e a saída pra linha XRD1 . . . . .	40
4.13	Planos de átomos da rede cristalina irradiados por raios-x - formulação de Bragg . . . . .	40
4.14	Centros de dispersão de raios-x - formulação de Von Laue . . . . .	41
4.15	Relação de equivalência entre as formulações de Bragg e Von Laue . . . . .	41
4.16	Esquema do microscópio eletrônico de varredura e a interação dos elétrons com a amostra . . . . .	43
4.17	Difratogramas de raios-x do pó e do alvo de HA . . . . .	45
4.18	Espectros de absorção de infravermelho do pó e do alvo de HA . . . . .	46
4.19	Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos substratos de titânio antes e após o jateamento com microesferas de vidro . . . . .	47
5.1	Imagens de microscopia digital dos furos realizados por 5 disparos de laser com energias de 50, 100, 150 e 190 mJ, nesta ordem. Escala $50\mu\text{m}$ . . . . .	50
5.2	Imagem de microscopia digital do furo realizado após 5 disparos com 190 mJ de energia onde é realizada a medida de área. Escala $50\mu\text{m}$ . . . . .	50
5.3	Perfil tridimensional do furo realizado após 5 disparos com 190 mJ de energia obtida por microscopia ótico digital. Escala vertical - $50\mu\text{m}$ . . . . .	51
5.4	Comportamento da quantidade de material ablacionado pela fluência e a energia limite de ablação . . . . .	51
5.5	Ajuste da medida de perfilometria, suavização e ajuste parabólico . . . . .	52
5.6	Perfil de espessura dos filmes produzidos com 150 e 200 mJ de energia a diferentes distâncias do alvo . . . . .	53
5.7	Valores de espessura máxima para as energias 150 e 200 mJ nas diferentes distâncias . . . . .	53
5.8	Distribuição da pluma com a variação da energia do feixe de laser e distância entre alvo e substrato . . . . .	54
5.9	Evolução temporal da espessura e rugosidade, medidas por perfilometria, de recobrimentos produzidos com 200 mJ de energia a 4 cm do alvo . . . . .	55

5.10	Imagens de microscopia eletrônica de varredura de filmes produzidos com 5, 10, 20 e 40 segundos sobre silício . . . . .	56
5.11	Formação dos filmes . . . . .	57
5.12	Evolução temporal do tamanho de partículas obtida das imagens de microscopia eletrônica . . . . .	58
5.13	Evolução temporal do número de partículas e área coberta . . . . .	59
5.14	Microscopia eletrônica de varredura dos filmes produzidos a 3E-5 mbar e 3 cm de distância, antes e após o tratamento térmico a 450°C ampliados x1000	60
5.15	Microscopia eletrônica de varredura dos filmes produzidos a 3E-5 mbar e 3 cm de distância, antes e após o tratamento térmico a 450°C ampliados x5000	60
5.16	Espectro de FTIR dos filmes produzidos a $3.10^{-5}$ mbar e 3 cm do alvo, antes e depois do tratamento térmico . . . . .	61
5.17	Difratograma de raios-x dos filmes produzidos a $3.10^{-5}$ mbar e 3 cm do alvo, antes (B) e após (A) o tratamento térmico . . . . .	62
5.18	Microscopia dos filmes produzidos a 3 cm de distância sob pressões de $3.10^{-5}$ , $2.10^{-4}$ e $2.10^{-2}$ mbar de gás oxigênio . . . . .	63
5.19	Espectro de FTIR dos filmes produzido a $3.10^{-5}$ (A) e $2.10^{-4}$ (B) mbar de gás oxigênio e 3 cm do alvo . . . . .	64
5.20	Razão Ca/P para amostras produzidas sob diferentes condições de pressões de gás oxigênio . . . . .	65
5.21	Espectro de FTIR dos filmes produzidos sob diferentes pressões de gás oxigênio e 3,5 cm do alvo . . . . .	66
5.22	Difração de raios-x dos filmes produzido sob diferentes pressões de gás oxigênio e 3,5 cm do alvo . . . . .	66
5.23	Difratograma de raios-x de recobrimentos sobre titânio produzidos a $3.10^{-5}$ mbar imersos por 3 dias em água deionizada e SBF . . . . .	67
5.24	Difratograma de raios-x de recobrimentos sobre titânio produzidos a $3.10^{-5}$ mbar imersos por 3 e 5 dias em água deionizada . . . . .	68
5.25	Difratograma de raios-x de recobrimentos sobre titânio produzidos a $3.10^{-5}$ mbar, tratados termicamente e imersos por 3 e 5 dias em SBF . . . . .	69
5.26	Imagens de microscopia eletrônica da lamínula de controle, do titânio e dos recobrimentos com as células aderidas . . . . .	70
5.27	Representação da morfologia do substrato de titânio puro e com o recobrimento de HA . . . . .	70
5.28	Imagens de microscopia eletrônica dos recobrimentos com uma célula e seu detalhe . . . . .	71

A.1	Tabela dos lasers a gás existentes . . . . .	75
A.2	Tabela dos lasers de estado sólido existentes . . . . .	76
A.3	Espectro Eletromagnético . . . . .	76
A.4	Ficha padrão ICCD do sistema hexagonal da HA para $\lambda = 1,377 \text{ \AA}$ . . . .	77
A.5	Ficha padrão ICCD do sistema hexagonal da HA para $\lambda = 1,541 \text{ \AA}$ . . . .	77

---

---

# CAPÍTULO 1

---

## INTRODUÇÃO

Ciência dos Materiais - como hoje é conhecida a área de estudo no qual este trabalho se encontra - talvez seja a mais promissora e dinâmica área de pesquisa existente, infinitas são as possibilidades de produção e aplicação estudadas. Os materiais são trabalhados em composição ou estrutura para que as propriedades almejadas sejam alcançadas, visando uma possível aplicação. Dentre todas as classes de materiais existentes e suas propriedades, este trabalho será focado em materiais com aplicação biológica, chamados biomateriais, especialmente sua funcionalização como implantes dentários e ortopédicos.

A motivação por trás de tal estudo está no crescente número de traumas, causados por doenças relacionadas a idade ou por acidentes, que necessitam de cirurgias para reconstrução óssea. Uma solução usual está em materiais que simplesmente substituem a parte óssea danificada, de forma que esse implante não sofra rejeição. [1]

Certos metais possuem propriedades para serem utilizados diretamente como implantes, puros ou levemente dopados, como por exemplo o titânio e suas ligas. Estes se destacam dos demais metais pois não induzem resposta nociva do organismo, por isso são chamados de bioinertes, além de apresentarem boas propriedades mecânicas como tenacidade e baixa densidade, ou seja, resistência e leveza. Entretanto, possuem limitada atividade superficial e alguns procedimentos foram e são estudados para que os implantes de titânio gerem respostas mais satisfatórias, por exemplo mudanças na morfologia superficial com ataques ácidos, jateamento com microesferas de vidro e eletroerosão. [1-3]

Por outro lado, existem materiais que produzem uma resposta biológica altamente satisfatória, participam do metabolismo do ambiente no qual são inseridos e contribuem para o crescimento ósseo. Nesta classe de materiais, destacam-se os fosfatos de cálcio,

constituintes fundamentais do tecido ósseo humano, cerâmicas que possuem alta bioatividade superficial. Porém estas cerâmicas são naturalmente frágeis e por esse motivo não podem ser utilizados diretamente em reconstruções onde haja carga aplicada, como implantes de grandes ossos, mas somente em enxertos ou na substituição de pequenos ossos. [1,4–6]

Devida a alta reatividade superficial, outras aplicações destas cerâmicas podem ser citadas como catalisadores na indústria de combustíveis, dosímetros e absorvedores ambientais de metais pesados para tratamento de solos e fontes d'água. [5] Novas aplicações surgem a todo tempo, como a liberação controlada de fármacos. [7]

Uma solução encontrada para estes dois tipos de biomateriais, metais e cerâmicas, foi utilizá-los em conjunto. Ao recobrir os implantes metálicos com as biocerâmicas, uma nova classe de implantes híbridos surge, unindo as propriedades mecânicas dos primeiros com a propriedades biológicas dos segundos. Essa combinação torna os implantes metálicos superficialmente ativos em relação ao meio biológico, diminuindo o risco de rejeição. [1,4]

Até a década passada o único método comercial de produção destes recobrimentos era o Plasma Spray (PS). Os recobrimentos produzidos utilizando esta técnica, apesar de exibirem boa biocompatibilidade, apresentam desvantagens sobre a estabilidade em longo prazo. Dentre elas está a produção de filmes amorfos, baixa homogeneidade e a possibilidade de gerar fosfatos de cálcio nocivos devido às altas temperaturas intrínscas do processo. Outras técnicas foram então testadas como, por exemplo, pulverização catódica ("magnetron sputtering deposition" MS) [5,6] ablação a laser ("pulsed laser deposition" PLD) [8–10], método de mistura dinâmica, sol-gel, biomimético, eletroforética, pressão isostática e eletroquímica. [1,4]

Dentre as técnicas citadas, buscando a homogeneidade, estabilidade e aderência, a técnica de sputtering mostrou bons resultados. Operando em baixas temperaturas, a técnica produz filmes densos e a estequiometria pode ser controlada pelo ambiente reativo. Entretanto, algumas outras limitações são encontradas no sentido de produzir recobrimentos espessos e cristalinos, devido às baixas taxa de deposição. [5,6] Outra possível técnica se mostrou ainda mais convidativa, a ablação a laser, com a possibilidade de sobrepor todas as dificuldades das anteriores. [8–15]

A técnica consiste em evaporar o material desejado (alvo) utilizando a energia de um laser e depositá-lo num anteparo (substrato). É possível controlar todas variáveis envolvidas no processo de ablação como fluência (energia por área) e comprimento de onda do laser, distância entre alvo e substrato, temperatura do substrato e pressão parcial de gases dentro da câmara. Controlando todos estes fatores é possível produzir filmes cristalinos, estequiométricos, aderentes ao metal, com uma alta taxa de deposição e rugosidade con-

trolada.

Ao produzir filmes de fosfatos de cálcio, os trabalhos encontrados na literatura utilizam o comprimento de onda do laser na faixa de ultravioleta ( $<400$  nm) com a intenção de diminuir a rugosidade, com menor quantidade de particulados. [9–11] Nesta faixa ocorre também uma maior absorção da energia do laser devido às propriedades óticas dos fosfatos de cálcio. Porém, com essa escolha as taxas de ablação diminuem e o filme formado raramente possui fase cristalina, sendo necessário manter o substrato aquecido ou realizar um tratamento térmico posterior. Poucos trabalhos estudaram a influência direta do comprimento de onda sobre as características de recobrimentos de fosfatos de cálcio [12, 13]. Nos trabalhos citados, independente do comprimento de onda utilizado, o substrato permanece aquecido ou o material é recozido logo após sua produção, tornando complicada a associação das características dos recobrimentos com os parâmetros da deposição.

Neste trabalho foi utilizado o comprimento de onda de 532 nm (verde) para produzir recobrimentos cristalino/amorfos e rugosos de hidroxiapatita em substratos de silício e titânio. As deposições foram realizadas a temperatura ambiente e sem a adição de vapores d'água. Os componentes que formam os recobrimentos são relacionados com as condições de deposição. Alguns tratamentos térmicos posteriores foram realizados a fim de cristalizar o recobrimento por completo e relacionar a mesma com as propriedades biológicas. As mesmas foram testadas *in vitro*, utilizando fluido corporal simulado (SBF) e cultura de células ósseas.

Além dos resultados experimentais, um dos objetivos deste trabalho foi a ampliação das técnicas de produção de filmes finos no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF) com o desenvolvimento da técnica de ablação a laser pulsado (PLD). Para alcançar este objetivo, foi construída uma instrumentação, a técnica foi estudada e seus parâmetros de produção foram analisados em relação às propriedades dos recobrimentos produzidos. Este é o primeiro trabalho realizado no CBPF com a técnica de PLD.

## 1.1 Organização da dissertação

Neste capítulo de introdução será ainda apresentado como se organizou o restante da dissertação e os objetivos do trabalho. Antes de apresentar os resultados (capítulo 5) e como os mesmos foram obtidos (capítulo 4) nos dois capítulos seguintes, 2 e 3, será apresentada uma revisão sobre biomateriais e a técnica de ablação a laser, respectivamente.

No segundo capítulo serão apresentados os biomateriais - história, definição e as principais propriedades das biocerâmicas - necessárias para compreensão de sua importância e de como foram utilizadas no decorrer deste trabalho. Uma atenção especial será dada aos fosfatos de cálcio, especialmente a hidroxiapatita. Além disso, será mostrado como usualmente são produzidos os recobrimentos, algumas técnicas de deposição incluindo suas vantagens e desvantagens, e quais as características desejadas para um recobrimento a ser utilizado em aplicações médicas.

Dentre as técnicas descritas no capítulo 2, à ablação a laser foi dedicado um capítulo inteiro de discussão. A técnica será situada no cenário geral de aplicação de laser e no cenário das técnicas de deposição, como evoluiu desde a invenção do L.A.S.E.R., quais suas vantagens e desvantagens, especialmente a geração de particulados. Por fim o sistema de deposição e sua instrumentação será discutido, assim como as variáveis do processo e suas influências nos resultados. O sistema utilizado neste trabalho será apresentado.

No capítulo 4 será apresentada uma breve introdução às técnicas utilizadas para caracterização dos recobrimentos: perfilometria, microscopia ótica, microscopia eletrônica de varredura, absorção de infravermelho e difratometria de raios-x. Utilizadas para obter a taxa de ablação e deposição, rugosidade, composição superficial, morfologia e estrutura. Em seguida, os materiais que foram utilizados: alvos, substratos e suas respectivas produção e limpeza. A caracterização do alvo, para devida comparação das propriedades dos recobrimentos, também será mostrada.

No capítulo 5, os resultados serão mostrados e discutidos. As propriedades citadas serão relacionadas com os parâmetros de deposição: energia, tempo, distância e pressão parcial de  $O_2$ . Inicialmente serão analisados os recobrimentos produzidos em substratos de silício e em seguida os testes *in vitro* com líquido corpóreo simulado (SBF) e células ósseas, em substratos metálicos recobertos. Por fim, as conclusões são apresentadas e são sugeridos possíveis trabalhos a serem desenvolvidos a partir deste.

## 1.2 Objetivos

- Desenvolver uma instrumentação para a produção de filmes de hidroxiapatita (HA) por ablação a laser pulsado (PLD) em substratos de silício e titânio;
- Caracterizar recobrimentos de HA produzidos nos sistema de PLD desenvolvido:
  - ↔ sobre silício, visando facilitar os teste experimentais e avaliar suas propriedades
  - ↔ sobre titânio, para avaliar a bioatividade em testes *in vitro* com fluido biológico simulados e cultura de células ósseas
- Relacionar as propriedades dos filmes produzidos, *e.g.* morfologia, composição, estrutura, com os parâmetros da técnica:
  - ↔ principalmente com o comprimento de onda visível, bem como o tempo de deposição do filme, distância entre alvo e substrato e pressão da câmara
- Projetar a próxima câmara de ablação para o Laboratório de Plasma Aplicado (LaPA), com maior versatilidade e capacidade de produzir filmes com multicamadas

---

---

## CAPÍTULO 2

---

# BIOMATERIAIS, BIOCERÂMICAS E SUAS APLICAÇÕES

Por ser tão extensa e complexa, a área de biomateriais deve ser abordada de uma forma multidisciplinar. São necessárias biologia, química, medicina, física e engenharia de materiais, juntas e sem distinção de importância, para compreensão, fabricação e utilização desses materiais. Ao aplicá-los, diferentes pontos de vista são necessários para alcançar uma interação positiva entre o biomaterial e o meio no qual está introduzido, tal que ali permaneça sem ser danificado ou danificá-lo.

Este capítulo tem como objetivo principal reunir as informações para a compreensão dos biomateriais, especialmente as biocerâmicas, construindo o conhecimento necessário para compreender o trabalho que se segue. Após definí-los, serão abordados a motivação em utilizá-los, quais suas características químicas e físicas, como são produzidos e onde são empregados. As cerâmicas - sendo o foco deste trabalho - serão abordadas com mais cuidado.

Naturalmente pode-se imaginar que o nome "biomateriais" foi escolhido por sua aplicabilidade em meios biológicos. Diferente dos materiais biológicos, produzidos espontaneamente na natureza e com uma função biológica bem estabelecida, os biomateriais são desenvolvidos de acordo com sua utilidade final. Inúmeras definições são encontradas, porém será adotado que biomateriais são materiais sintéticos ou naturais utilizados para substituir ou funcionalizar um sistema biológico em contato direto com o mesmo. [16] Em geral, seja por meio de reação, substituição, extensão ou funcionalização de um tecido ou órgão tais materiais são retirados da natureza ou fabricados em laboratório afim de

realizar uma interface com o meio biológico.

Podem ser divididos de acordo com sua aceitação no meio biológico, não biocompatíveis ou biocompatíveis. Os não biocompatíveis são materiais naturalmente tóxicos, como por exemplo os íons de cádmio e vanádio, ou outros que produzam uma resposta imunológica (antígenos) com o tempo, como alergia e inflamação, podendo se tornar graves patologias. Os biocompatíveis são ainda separados pela sua atividade no meio: bioinertes, bioativos e bioabsorvíveis. Estes cumprem a definição e suas funções como biomateriais, porém os primeiros não geram qualquer resposta biológica, boa ou ruim. Exemplos comuns são os metais zircônio, nióbio, titânio, Co-Cr e alguns polímeros como o polimetilacrilato [2] que podem então ser inseridos em um meio biológico sem que o mesmo modifique sua atividade. Entretanto, estes materiais bioinertes podem promover o crescimento de uma camada de tecido fibroso que serve de isolamento com o meio. [4]

Quando o meio biológico responde ao material inserido estes materiais são chamados de bioativos, como algumas cerâmicas utilizadas em ortopedia e ortodontia que promovem reações diretas com o meio biológico e podem ser inclusive absorvidas pelo mesmo, funcionando como uma fonte de material. [1, 17, 18]

Inúmeros exemplos que obedecem a definição de biomateriais podem ser citados como dispositivos médicos, implantes dentários (ortodontia), lentes de contato, próteses (ortopedia), enxertos, stents, cateteres, tubos de circulação extra-corpórea, cerâmicas e vidros processados de diferentes formas: blocos densos e porosos, pó, partículas, granulos, recobrimentos, fórmulas injetáveis e cimentos. Podem ser citadas também aplicações mais recentes como sensores de humidade e de gases [19, 20] ou sistemas de liberação de drogas [21]. Alguns exemplos foram retratados na figura 2.1. Nas últimas décadas a maior aplicação de tais materiais foram em ferramentas médicas para tratamento de fraturas e reconstrução óssea, resolvendo problemas naturalmente relacionados à idade. [1, 4, 6]

A motivação em utilizar estes materiais, como pode ser visto em todos os exemplos, está na área de saúde diretamente ligada à qualidade de vida dos seres humanos. No cenário brasileiro, em um relatório digital, foi levantado em [7] que os biomateriais, principalmente aplicados à odontologia, são de extrema importância, não coberta pelo Sistema Único de Saúde. Em relato "O estágio atual das pesquisas no Brasil indica que a competitividade poderá ser mantida, se houver investimentos suficientes nesta área e incentivo à inovação e à transferência de tecnologia."



Figura 2.1: Exemplos de biomateriais

## 2.1 Biocerâmicas e fosfatos de cálcio

Antes mesmo da medicina moderna, alguns povos já utilizavam técnicas de substituição óssea durante rituais espirituais, onde eram utilizados metais, madeiras e tecidos. [22] Além da falta de higiene das operações, a toxicidade desses materiais não era conhecida, ocasionando infecções e respostas imunológicas.

De todos os materiais possíveis para reconstrução óssea, as biocerâmicas a base de fosfatos de cálcio são consideradas uma excelente opção pois possuem a capacidade de serem absorvidas pelo organismo e participar do metabolismo, sendo fonte de materiais para o tecido do hospedeiro. [4] Durante sua absorção, o material é também substituído e serve de base para o novo osso, se adaptando completamente ao meio inserido.

As biocerâmicas devem possuir a propriedade de se ligar diretamente ao tecido ósseo a nível molecular, promovendo a osseointegração. [23] Além disso, a alta reatividade superficial auxilia na adesão celular. [24] Quando produzidas de forma porosa, esses materiais são mais solúveis e possuem maior área superficial, possibilitando mais ligações com as células do tecido ósseo [25]. Por promoverem tais mudanças, tais materiais são chamados de bioativos [4, 6, 25], diferente dos metais utilizados em implantes (e.g. titânio e suas ligas), que são apenas bioinertes.

Historicamente, os primeiros testes utilizando biocerâmicas em animais ocorreram em 1920. [26] Muito tempo depois, 1969, produziu-se apatita cristalina e possíveis aplica-

ções em biomedicina foram apontadas. No ano seguinte ocorreram as primeiras utilizações no ramo da ortodontia, como enxerto e substituição da raiz. Porém o termo "biocerâmica" surgiu apenas em 1971. [27] A área continuou progredindo e em 1988 foi realizado o primeiro congresso internacional da área, no Japão. A partir dos anos 80, algumas biocerâmicas começaram a ser comercializadas, aumentando a visibilidade desta área de pesquisa, que ainda cresce. [4]

As biocerâmicas mais utilizadas são formadas pelos fosfatos de cálcio e essa escolha se dá porque são quimicamente semelhantes ao osso humano [5, 28, 29], alguns são inclusive constituintes minerais naturais do nosso tecido ósseo. Na tabela 2.1 é apresentada uma compilação das características de alguns dos fosfatos de cálcio mais conhecidos e utilizados. De tal aspecto espera-se que os mesmos sejam naturalmente aceitos pelo organismo, apesar de nenhum material ser completamente compatível. Casos de inflamações foram encontrados ao utilizar fosfatos de cálcio, porém os motivos foram diversos [30], sendo consenso que se a razão Ca/P está entre 1 e 1,7 o material é não tóxico, não gera tecido fibroso nem inflamação. [4]

Partindo da fórmula básica apresentada, inúmeros fosfatos de cálcio podem ser produzidos, pois os sítios dos grupos cálcio e fosfato podem ser substituídos facilmente por um radical de valência equivalente. Por exemplo,  $\text{Ca}^{2+}$  por  $\text{Pd}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  por  $\text{VO}_4^{3-}$ . Com estas substituições é possível manipular a solubilidade, estrutura, densidade entre outras propriedades [5, 6], daí fica claro que a escolha do fosfato de cálcio a ser utilizado depende da aplicação desejada para o mesmo. Os fosfatos de cálcio mais utilizados são a hidroxiapatita (HA),  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , utilizada inclusive neste trabalho, e duas fases do trifosfato de cálcio (TCP),  $\alpha$  e  $\beta$ .

A HA é naturalmente a mais escolhida por demonstrar maior estabilidade quando inserida em meios biológicos, sendo menos solúvel que os demais fosfatos de cálcio. [5, 6] A menor solubilidade permite maior tempo de vida - que é o tempo que o material demora para ser absorvido - um importante fator para algumas aplicações. A HA possui densidade teórica  $3,16 \text{ g/cm}^3$ , é formada por uma célula hexagonal monoclinica  $\text{P6}_3/\text{m}$ , com parâmetros de rede  $a = 0,943 \text{ nm}$  e  $c = 0,668 \text{ nm}$ . [31] E dependendo da utilização desejada ainda é possível controlar a solubilidade da HA com a substituição iônica, por exemplo  $\text{CO}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  aumentam a solubilidade e  $\text{F}^{1-}$  a diminui. [6] Outra forma de controlá-la é através da produção, pois se é produzida densa e cristalina a HA é bionerte (5-7 anos sem mudança) e se é produzida de forma porosa é bioabsorvível (1 ano).

Outros fosfatos de cálcio mais solúveis são utilizados para aplicações onde a absorção é mais importante que o tempo de vida, como por exemplo cimentos e concretos. Tal aplicação apresenta vantagens na reconstrução óssea pois promove menor invasão cirur-

Razão Ca/P	Composto Nome (sigla)	Fórmula	Solubilidade (25°C, g/L)	Faixa de pH solúvel (25°C)
0,5	Monocálcio fosfato monohidratado (MSPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	18	0 - 2
0,5	Monocálcio anidro fosfato (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	17	estável (T < 100°C)
1,0	Dicálcio fosfato dihidratado (DCPD) brushita mineral	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,088	2,0 - 6,0
1,0	Dicálcio anidro fosfato (DCPA) monetita mineral	$\text{CaHPO}_4$	0,048	estável (T < 100°C)
1,0	Pirofosfato de cálcio (PYR)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	—	—
1,33	Octacálcio fosfato (OCP)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,0081	5,5 - 7,0
1,5	$\alpha$ -Tricálciofosfato ( $\alpha$ -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	0,0025	$\infty$
1,5	$\beta$ -Tricálciofosfato ( $\beta$ -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	0,0005	$\infty$
1,2 - 2,2	Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$ n=3-4,5 ; 15-20% $\text{H}_2\text{O}$	—	5 - 12 (metaestável)
1,5 - 1,7	Hidroxiapatita deficiente em cálcio (CDHA)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ (0 < x < 1)	0,0094	6,5 - 9,5
1,67	Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	0,0003	9,5 - 12
1,67	Fluorapatita (FHA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	0,0002	7 - 12
2,0	Tetracálcio fosfato (TTCP)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	0,0007	$\infty$

Tabela 2.1: Fosfatos de cálcio existentes de acordo com a razão Ca/P e algumas propriedades [5, 6, 29]

gica, sendo injetáveis e moldáveis à região desejada. [32] A sequência de solubilidade dos fosfatos de cálcio pode ser encontrada em [4].

### 2.1.1 Mecanismo de adesão celular

Além de saber que as biocerâmicas são absorvidas e promovem osseointegração/indução, é importante entender como se dá o processo de adesão celular nesse materiais, para enfim aplicá-los. O mecanismo específico para biocerâmicas aceito é o descrito por P. Duchyene [33], apresentado na figura 2.3.

A figura 2.3 representa o comportamento de biocerâmicas em meio biológico [4]:

1. a cerâmica é dissolvida;
2. ocorre a precipitação da solução;
3. na interface entre a cerâmica e o meio acontecem trocas iônicas e inicia a estruturação;
4. interdifusão da camada superficial na cerâmica;
5. a parte dissolvida participa da atividade celular;
6. deposição de apatita mineral (a) ou orgânica (b) sem integração com a superfície da cerâmica;

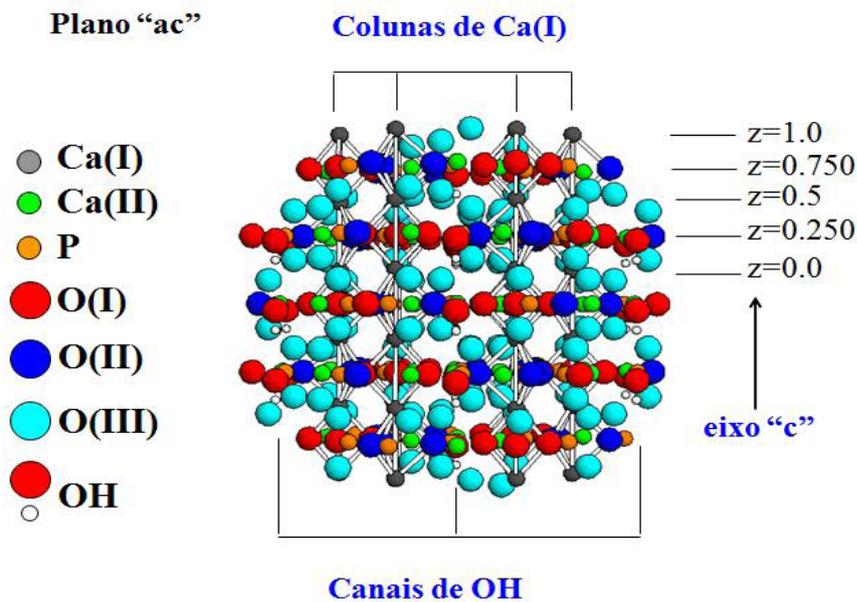


Figura 2.2: Estrutura cristalina da Hidroxiapatita [6] no plano ac

7. deposição com integração com a cerâmica;
8. reconhecimento do biomaterial e locomoção das células em direção à cerâmica (quimiotaxia);
9. adesão celular e proliferação;
10. diferenciação celular;
11. formação da matriz extra-celular.

## 2.2 Recobrimentos e técnicas de deposição

Apesar de todas as qualidades citadas, as biocerâmicas são mecanicamente frágeis, possuem baixa resistência a fratura, restringindo sua aplicação para aquelas onde não há carga aplicada (enxertos e pequenos ossos) e impossibilita seu uso direto como implantes ou ferramentas médicas. Algumas propriedades mecânicas são listadas na tabela 2.2.

Se comparado ao osso, o valor do módulo de Young é bem próximo, porém a resistência mecânica é 3 vezes menor.

É possível controlar a fragilidade com o tamanho de grão e a porosidade durante o processo de síntese. [34] Neste processo, o tempo e a temperatura são os fatores mais im-

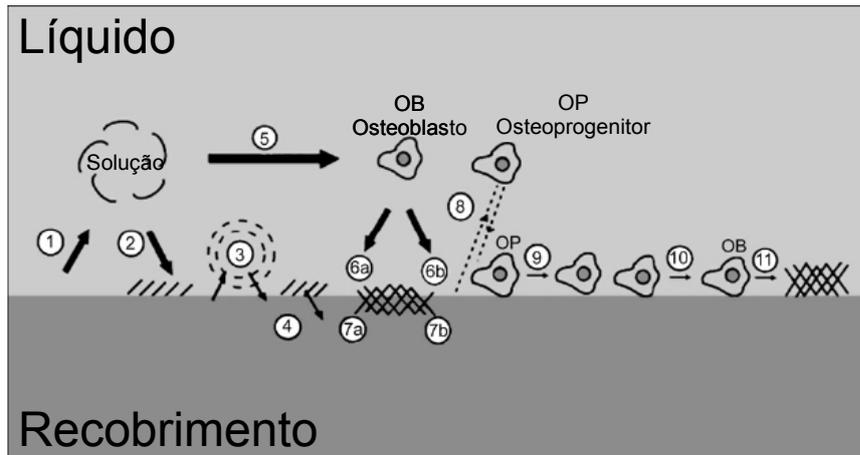


Figura 2.3: Comportamento de biocerâmicas em meio biológico, mecanismo de adesão celular - adaptada de [33]

Propriedade	Fosfatos de cálcio	Titânio
Resistência mecânica (MPa)	100	340
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	3,15	4,51
Módulo de Young (GPa)	35 a 120	115
Resistência a dobra (MPa)	38 a 250	—
Resistência a compressão (MPa)	120 a 190	—
Resistência a tensão (MPa)	38 a 300	—
Coef. de expansão térmica (10 <sup>-6</sup> K)	11	10
Ponto de fusão (°C)	1660	1668

Tabela 2.2: Propriedades mecânicas dos fosfatos de cálcio e do titânio, adaptada de [4,15]

portantes pois controlam não só a porosidade e o tamanho de grãos como a densidade. [5,6] Utilizando temperaturas de síntese entre 1000 e 1200°C, é possível alcançar a densidade teórica de alguns fosfatos de cálcio, tal que acima de 1250°C o material fica instável e ocorre o surgimento de fases indesejadas. [5, 6, 35]. Entretanto, mesmo modificando sua produção não é possível atingir as propriedades dos ossos ou dos metais.

Nas últimas duas décadas, a alternativa encontrada para utilizar as biocerâmicas onde há carga aplicada é produzir recobrimentos sobre metais, [1, 5, 8, 29] desde implantes dentários até grandes partes como a cabeça do fêmur. Juntando desta forma as propriedades mecânicas dos metais com a bioatividade das cerâmicas, aumentando assim a biocompatibilidade e o tempo de vida dos mesmos, com menos chance de rejeição. A biocerâmica funciona como isolamento entre metal e o osso, não permitindo a liberação de óxidos nocivos [2, 3] e ao mesmo tempo aumentando a adesão óssea. [1, 4]

Diversas técnicas já foram testadas para produzir estes recobrimentos e são apresentadas na tabela 2.3 com faixa de espessura típica, vantagens e desvantagens. Vale lembrar que a atividade em meio biológico é altamente dinâmica, tanto na escala de tempo (de

segundos a anos) e de interações (de atômica a celular). Conhecendo as propriedades das biocerâmicas e o mecanismo de adesão é possível produzir os recobrimentos com as características desejadas para a aplicação. A seguir são apresentadas as propriedades mais relevantes dos recobrimentos e como atuam no meio biológico. [1, 4, 17, 33]

**Espessura.** Define o tamanho da camada de separação entre o metal e o meio biológico. Porém seu aumento ( $> 150$  nm) causa perda de adesão e maior chance de quebra, podendo descolar do metal e diminuir o tempo de vida do revestimento.

**Cristalinidade.** A estrutura cristalina é mais estável devido sua organização de menor energia, diminui diretamente a solubilidade. Muda o tempo de vida e diminui a quantidade de material disponível para o meio. Pode ser atingida através de tratamento térmico, porém é necessário cuidado com a estabilidade das cerâmicas. Além disso, a diferença de dilatação térmica entre o metal e o recobrimento pode causar fratura nos mesmos.

**Pureza.** É fundamental que o recobrimento possua apenas as fases desejadas, principalmente por causa da toxicidade de algumas tal como o óxido de cálcio (CaO). Além disso, outras propriedades podem danificar o recobrimento, como por exemplo a solubilidade, que é diferente para cada fase.

**Morfologia.** Modifica a área superficial do recobrimento, influenciando a quantidade de contato celular e a solubilidade. Se controlada, é uma importante característica, exemplificada pela rugosidade e porosidade.

**Adesão.** O quanto o recobrimento está ligado ao metal é um fator que regula o tempo de vida do implante.

As técnicas mais utilizadas até então para a produção desses recobrimentos são o plasma spray, mais antiga, e o magnetron sputtering. A primeira possui a maior taxa de deposição, porém os recobrimentos possuem baixa cristalinidade e alta rugosidade. A estequiometria não é mantida e a alta temperatura do plasma envolvido decompõe a HA em outras fases como TCP e TTCP. A segunda produz em geral filmes amorfos, mais solúveis e necessita de tratamentos térmicos para alcançar a cristalinidade, neste processo surgem trincas e diminuem a adesão dos filmes. Outras formas de produzir recobrimentos cristalinos pela RF-MS foi estudada por A. Mello [5] e E. López [6], com a mudança da geometria do sistema.

Entretanto, como pode ser visto na tabela 2.3, a ablação a laser é uma técnica que possui grande versatilidade e pode contornar os problemas das duas técnicas anteriores, sendo uma boa escolha na produção dos recobrimentos biocerâmicos. Com ela é possível produzir filmes cristalinos e ao mesmo tempo manter a estequiometria, de acordo com a escolha dos parâmetros. A técnica, uma revisão bibliográfica e os parâmetros utilizados

Técnica	Espessura Típica	Vantagens	Desvantagens
Plasma Spray	30 - 200 $\mu$ m	Alta taxa de deposição; baixo custo.	Alta temperatura; filmes amorfos.
Sputtering	0,5 - 3 $\mu$ m	Filmes uniformes em substratos planos; filmes densos.	Alto custo; demanda tempo; filmes amorfos.
Ablação a Laser (PLD)	0,05 - 3 $\mu$ m	Filmes amorfos, cristalinos, densos e/ou porosos; mantém a estequiometria.	particulados; técnica relativamente nova.
Método de mistura dinâmica	0,05 - 1,3 $\mu$ m	Alta força de adesão	Alto custo; filmes amorfos.
Sol-Gel	< 1 $\mu$ m	Deposição em qualquer forma; baixa temperatura; barata para filmes finos.	Requer atmosfera controlada; precursores caros.
Eletroforética	0,1 a 2mm	Filmes uniformes; alta taxa de deposição; deposição em qualquer forma.	Filmes com rachaduras; alta temperatura.
Biomimético	< 30 $\mu$ m	Deposição em qualquer forma; baixa temperatura; forma apatita biológica.	Técnica demorada; requer reabastecimento e controle contínuo de pH do SBF.
Pressão isostática a quente	0,2 - 2 $\mu$ m	Filmes densos	Forma bem definida; alta temperatura e alto custo; diferente expansão térmica.
Eletroquímica	0,05 - 0,5mm	Filmes uniforme de baixo custo; alta taxa de deposição; deposição em qualquer forma.	Baixa adesão

Tabela 2.3: Tabela de técnicas utilizadas para recobrimentos [1,4]

neste trabalho serão discutidos no próximo capítulo.

---

---

## CAPÍTULO 3

---

### ABLAÇÃO A LASER

No cenário geral de aplicações dos lasers, a técnica de ablação é um pequeno, porém importante ramo. Como técnica de deposição física, a ablação a laser é considerada por muitos a mais simples e versátil. Mas em contraste com a simplicidade técnica, a deposição por laser pulsado é um fenômeno físico bastante complexo. Nesta técnica os filmes são obtidos a partir da evaporação de um material sólido (alvo) utilizando a energia fornecida por um feixe de laser (figura 3.1).

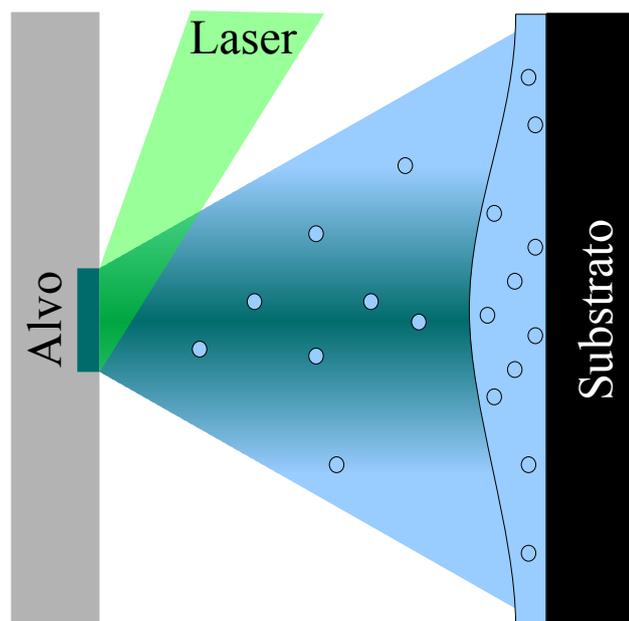


Figura 3.1: Processo simplificado de ablação a laser

Primeiro, é escolhido o laser a ser utilizado - comprimento de onda ( $\lambda$ ), energia e frequência (caso seja pulsado). O feixe do laser é conduzido até a câmara de ablação e focado sobre o alvo. A cada pulso, a energia fornecida pelo laser é absorvida e o material do alvo sofre fusão, evaporação, seguida de uma expansão, dependente do gás presente no interior da câmara (figura 3.2). A energia envolvida no processo é suficiente para fundir o sólido, evaporá-lo, quebrar as ligações existentes entre seus átomos e ionizá-los, formando uma pluma de plasma. Além da pluma, o material evaporado é formado também por partículas do material. O material retirado do alvo é então depositado sobre um substrato, formando um filme.

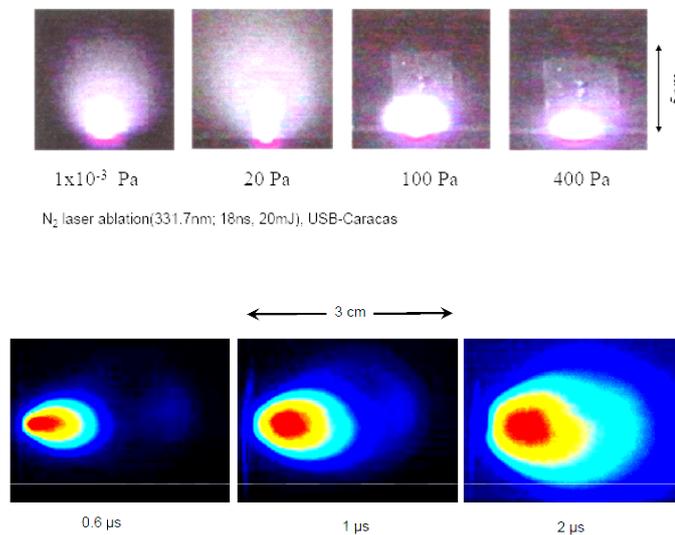


Figura 3.2: Expansão do material evaporado no processo de ablação sobre diferentes condições de pressão e sua evolução temporal

A evolução da técnica de PLD se deu em sua maioria de forma empírica, havendo poucos acertos nos modelos teóricos devido a complexidade da interação laser-matéria. Esta evolução pode ser separada em períodos onde ocorreram melhorias na tecnologia de laser e outros onde novos materiais ou materiais estratégicos foram depositados com propriedades melhores que os depositados por outras técnicas. [36]

A partir de 1963, poucos anos após o surgimento da teoria do laser e sua construção, as pesquisas se concentraram em entender como os fótons do laser interagem com os materiais em suas diferentes fases, sólida, líquida e gasosa. A partir de uma certa energia foi observado que os sólidos eram evaporados de forma controlada e daí surgiu, em 1965

com Smith and Turner, [37] a aplicação da evaporação a laser como uma técnica de deposição.

A simplicidade da técnica foi um grande atrativo para a pesquisa, bem como sua possibilidade de produzir filmes estequiométricos. Utilizando um sistema ainda rudimentar, Smith and Turner produziram filmes de materiais semicondutores, dielétricos e organometálicos. Porém, o laser utilizado neste trabalho era gerado por um monocristal de rubí que fornecia pouca energia, possuía um pulso muito longo e levou a resultados pouco satisfatórios sobre a estequiometria.

No final da década de 60 - em 1969 - foram construídos os primeiros laser de  $\text{CO}_2$  e Nd:Glass, ambos com comprimentos de onda na faixa de infravermelho,  $\lambda = 1.06 \mu\text{m}$ . Tais lasers possuíam uma energia maior, sendo possível melhorar as propriedades dos filmes produzidos. Porém outros problemas apareceram. Com maior comprimento de onda, maior era a penetração da energia e assim é gerado maior número de particulados (figura 3.3), alterando com isso a morfologia dos filmes produzidos. Em sua maioria, os estudos que surgiram em seguida foram experimentais, sobre o tamanho e carga dos componentes da pluma de ablação e poucos resultados teóricos foram utilizados.

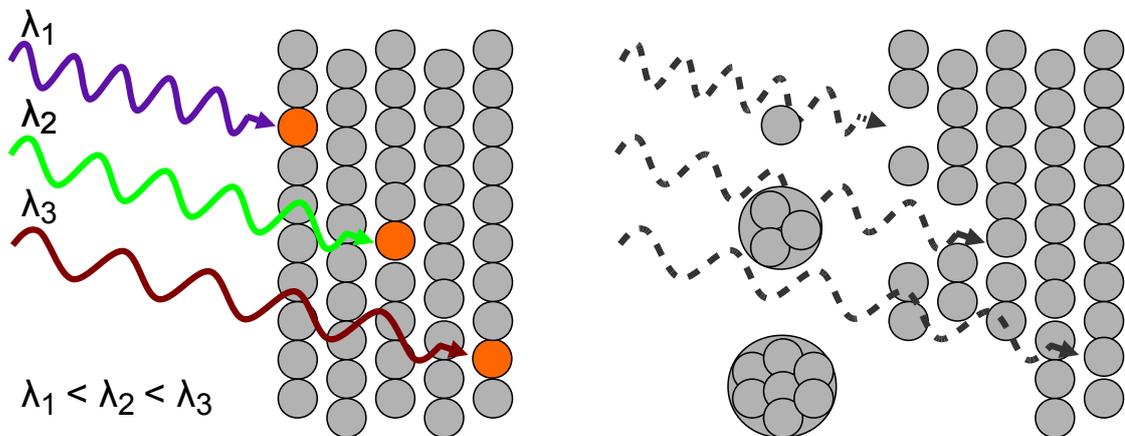


Figura 3.3: Relação de penetração do laser com o comprimento de onda e a geração de particulados

Ainda que esse novos lasers possuíssem maior energia, o tempo de pulso onde a energia se distribuía era grande, na escala de  $\mu\text{s}$ , e este problema foi solucionado apenas na década seguinte com a técnica de "Q-switch". A teoria e utilização desta técnica foi proposta em 1953, implementada por volta de 1960, mas passou a ser utilizada a partir dos anos 70. A

melhoria permitiu distribuir a energia em menos tempo, diminuindo o tempo de interação entre o feixe de laser e o alvo.

Com menor tempo, a condição de congruência - quando todos os elementos do material sofrem evaporação simultaneamente, garantindo que a estequiometria seja mantida - é satisfeita. Dada a expressão:

$$L = 2\sqrt{D\tau} \quad (3.1)$$

Onde  $D$  é o coeficiente de difusão térmica e  $\tau$  o tempo de interação. A condição impõe que se  $L$ , o chamado comprimento de difusão, for menor que a profundidade de material retirado ( $C$ ), ocorre a ablação congruente (figura 3.4).

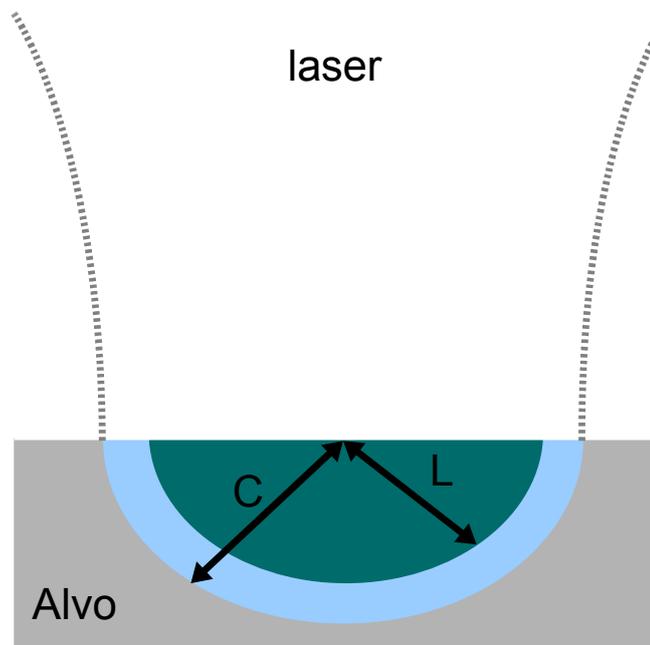


Figura 3.4: Condição de congruência

Além dessa condição, em 1976, Von Allmen [38] utilizou algumas teorias fenomenológicas para explicar o processo de interação entre o laser e como se dava a absorção de energia e a evaporação do material. Foi deduzido por Paek [39] o chamado fator adimensional  $B$ , escrito:

$$B = \frac{K\alpha H_v}{I(1-R)C_p} \quad (3.2)$$

Onde  $K$  é a condutividade térmica,  $\alpha$  é o coeficiente de absorção,  $H_v$  é o calor de vaporização,  $R$  é a refletividade do material,  $C_p$  é o calor específico e  $I$  é a fluência do

laser. De tal forma que para  $B$  maior que 1, o processo de vaporização prevalece e se  $B$  for muito menor que 1, favorece o surgimento dos particulados.

No mesmo trabalho sobre as absorções, Von Allmen propôs o processo de ablação a laser, como na figura 3.5, na seguinte sequência:

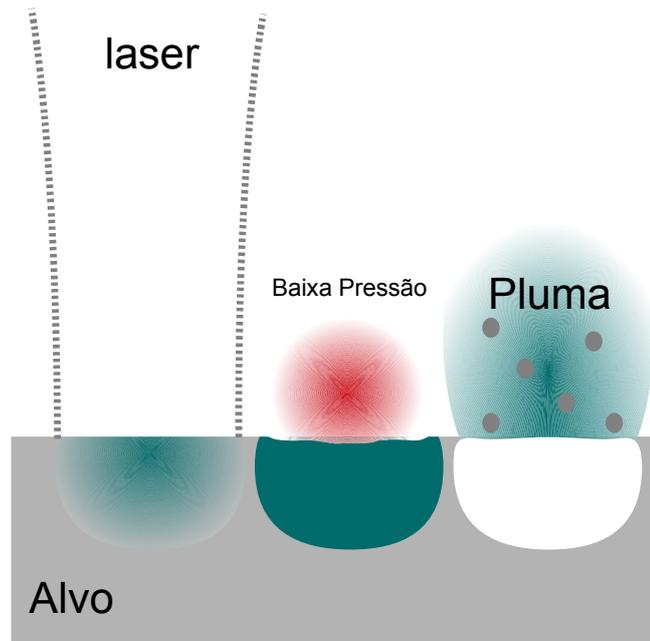


Figura 3.5: Processo de ablação descrito por Von Allmen

1. ocorre a absorção da energia pela superfície do material (processo primário)
2. ocorre a fusão da superfície
3. devido à redução de pressão próximo a superfície, o material é evaporado, levando consigo também alguns particulados (processo secundário)

O primeiro item pode ser subdividido. Considerando que toda a energia dos fótons transferidas para o material, três absorções são as mais importantes:

1. por portadores livres do material do alvo
2. por elétrons e fónons da rede cristalina do alvo
3. pela pluma de plasma

Cada uma destas absorções é ainda mais evidentes em certos materiais. A primeira ocorre preferencialmente em materiais metálicos, que possuem maior quantidade de portadores livres. A segunda é mais comum aos materiais isolantes, onde a energia absorvida se distribui pela rede. Por fim existe a absorção pela pluma de plasma, quando o pulso de laser é longo o suficiente para evaporar o material e ainda ser absorvido pelo mesmo. Esta absorção pode ser reduzida diminuindo o tempo de pulso do laser.

Levando-se em conta as absorções citadas, são descritos a seguir de forma simplificada os processos primários que ocorrem na interação laser-alvo [36]:

**Colisional.** Diferente dos processos de sputtering onde são considerados choques entre partículas, este processo não ocorre entre o laser e o alvo.

**Térmico.** Com a chegada do pulso de laser e a absorção da energia, ocorre a evaporação do alvo aquecido. Este é o mecanismo mais provável quando se trata da ablação a laser. O processo térmico é definido pela temperatura de fusão do material tal que, abaixo da mesma o processo é apenas de evaporação (ou sublimação) e acima ocorre evaporação e geração de particulados. Ocorre a cada pulso do laser.

**Eletrônico.** Devido à absorção da energia do laser, os elétrons podem ser excitados a outros níveis de energia ou até mesmo ionizados. Este processo é muito provável na ablação, devido à alta quantidade de energia fornecida pelo laser. Gera a transformação do material de um sólido altamente ligado para um gás denso e ionizado - pluma de plasma.

**Esfoliação.** Tal processo assume que o alvo possui imperfeições e, devido a expansões térmicas bruscas, se quebra e é ejetado.

**Hidrodinâmico.** Este mecanismo é exclusivo da ablação a laser e é um dos responsáveis pela formação e emissão de particulados. É comumente observado em metais e polímeros e difere do processo térmico pois a energia fornecida não precisa atingir o ponto de fusão do material. Além disso, as partículas são emitidas após inúmeros pulsos do laser, de forma que são lentamente formados antes de serem emitidos.

O último passo do processo descrito sugere uma possível explicação para o surgimento dos particulados, que desde o primeiro experimento realizado tem sido um dos maiores problemas da técnica, principalmente para filmes de aplicações ópticas e eletrônicas. Porém, além da explicação de Von Allmen, a formação destes particulados pode ser explicada ainda de três outras formas: processo hidrodinâmico secundário, aquecimento de camadas internas ou emissão por esfoliação, [40] podendo ser resultantes de um ou todos os efeitos combinados.

O primeiro processo ocorre lentamente, após uma sequência de pulsos de laser, desta forma os particulados se formam na superfície do alvo lentamente até serem expelidos

devido à onda de pressão formada logo sobre o alvo. O segundo se dá quando o tempo de transmissão de energia é mais rápido que a evaporação do material ou o comprimento de onda do laser é grande, gerando aquecimento de camadas internas. Assim que a camada interna se funde e grandes pedaços da camada superficial ficam livres para se desprender do alvo (figura 3.6, esquerda). O último - a esfoliação - é um processo superficial, onde qualquer irregularidade na superfície do alvo pode ser despreendida após repetidos choques térmicos e ser depositada no substrato (figura 3.6, direita).

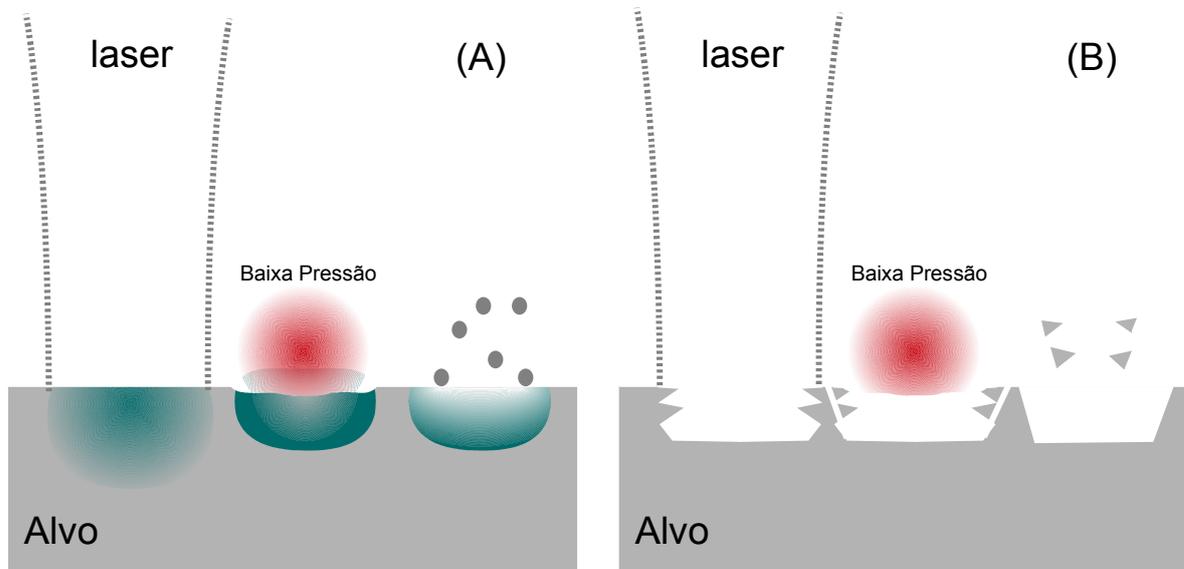


Figura 3.6: Geração de particulados: aquecimento interno (A) e esfoliação (B)

Os dois primeiros processos, hidrodinâmico e aquecimento interno, são praticamente indistinguíveis no resultado final da deposição, pois ambos geram particulados esféricos. Entretanto, em metais, a tendência é que o calor seja transmitido mais rápido, propiciando o aquecimento das camadas internas antes da evaporação do material. Por este motivo, é comum dizer que particulados nesses materiais ocorrem por aquecimento de camadas internas e a onda de pressão é responsável por gerar os particulados em materiais dielétrico. Porém, a esfoliação gera particulados de formatos aleatórios e diferente das anteriores. Este fenômeno pode ser solucionado com o tratamento da superfície do alvo, como polimento.

Estes processos de emissão de partículas são chamados de secundários e ocorrem simultaneamente no item (3) da sequência proposta por Von Allmen.

Independente de qual processo está ocorrendo na formação dos particulados, os mesmos são provenientes do alvo e não da pluma de plasma em expansão. [41] Apesar de existir a formação de alguns aglomerados durante o voo, estes são no máximo nanomé-

tricos. A formação dos particulados a partir do alvo depende dos parâmetros da técnica, como o comprimento de onda do laser, a pressão parcial de gases, a temperatura do alvo e a distância entre o alvo e o substrato.

Os particulados gerados são emitidos perpendiculares alvo [42] e a distribuição espacial dos mesmos pode ser descrita por uma função cossenoidal -  $(\cos^{\alpha}\theta)$  - onde o ângulo  $\theta$  é o ângulo da pluma com a superfície do alvo. Além disso, a dinâmica dos particulados, estudada por Vertes [43], é semelhante a um gás em expansão.

Algumas soluções foram encontradas para a redução dos particulados, entre elas seletores de velocidade, sabido que a velocidade dos particulados é menor (uma ordem de grandeza) em relação à pluma, polimento da superfície para evitar esfoliamento, mudanças de geometria entre alvo e substrato, manipulação da pluma com campos eletromagnéticos e rotação rápida do alvo.

Ainda na década de 70, outra grande melhoria tecnológica ocorreu com a criação de dobradores de frequência, que permitiu diminuir o comprimento de onda do laser ( $\lambda$ ), possibilitando outra forma diminuir o número de particulados gerados na ablação - lembrando que, como mostrado na figura 3.3, a alta penetração e o aquecimento interno estão ligados ao  $\lambda$  do laser.

Nesta época, a técnica de ablação a laser - apesar de ser nova e não ter resolvido completamente a geração dos particulados - já competia com as técnicas de deposição física convencionais, como a pulverização catódica (magnetron sputtering, MS) e o crescimento epitaxial (MBE). Eram poucos os laboratórios e grupos de pesquisa que trabalhavam com a técnica e o grande empecilho encontrado para o surgimento de novos grupos era o preço do laser. Entretanto, o cenário mudou no início dos anos 80, com a diminuição dos preços.

Com mais grupos pesquisando, o investimento na tecnologia de laser foi reforçado e mais trabalhos foram publicados para entender e solucionar os particulados. Uma grande revolução ocorreu em 1987, quando filmes de supercondutores de alta temperatura crítica - de difícil obtenção estequiométrica - foram produzidos com sucesso. [36] Praticamente qualquer filme, dependendo das escolhas realizadas no aparato experimental, poderia ser produzido, independente se o material fosse puro ou um composto.

A partir dessas mudanças, o número de artigos produzidos - estudando ou utilizando a técnica - foi 25 vezes maior que toda literatura da técnica até esta data. [36] O número de grupos de pesquisa envolvidos passou de dezenas para centenas e os esforços foram focados especialmente na reprodutibilidade da técnica, sua adaptação para aplicação em larga escala e mais recentemente a produção de filmes com várias camadas.

### 3.1 Caracterização do material evaporado

Pensando na reprodutibilidade, a dinâmica e os parâmetros do plasma da pluma passaram a ser estudados e medidos, para isso foram desenvolvidas ferramentas para este estudo específico. A interação com o gás ambiente, a densidade e a composição dos seus componentes podem ser relacionados com as propriedades dos filmes. Porém, devido ao curto tempo de duração da pluma ( $\mu\text{s}$ ), os equipamentos para caracterização são específicos, custam caro e não são facilmente encontrados nos laboratórios convencionais. [36]

Em geral, com as técnicas de caracterização é possível obter a velocidade (energia e temperatura), densidade e identificação de íons. Alguns exemplos de equipamentos e técnicas são dados a seguir:

***Espectrômetros de massa - Tempo de voo e quadrupólo.*** Utilizando seletores de velocidade e massa é possível separar temporalmente a chegada dos íons ao detector. Com essas técnicas é possível obter a velocidade (energia e temperatura) dos componentes da pluma e, de forma quantitativa, quais íons estão presentes. Estes equipamentos possuem limite de massa e não podem ser utilizado com partículas grandes. Um resultado interessante obtido por estas técnicas é que a velocidade dos particulados está entre  $10^3$  e  $10^4$  cm/s, uma ordem de grandeza menor que a pluma,  $10^5$ .

***Sondas iônicas - Langmuir e outras.*** Com apenas um fio metálico submetido a um potencial é possível obter a densidade e a temperatura dos íons existentes na pluma. Porém, a existência de particulados isolantes na pluma de ablação é um grande limitante no uso de sondas iônicas que dependem da condução de corrente.

***Espectroscopia ótica.*** A emissão de luz da recombinação dos íons também pode ser analisada. Utilizando um diodo é possível obter o tempo de emissão da pluma e utilizando um espectrômetro ótico com câmera CCD é possível distinguir cada espécie existente na pluma de acordo com sua emissão característica.

***Imageamento.*** Por fim, câmeras ultra-rápidas são utilizadas para obter a densidade e a velocidade de propagação da pluma e dos particulados maiores, permitindo estudos mais detalhados. Como por exemplo a não dependência com o  $\lambda$  utilizado, porém proporcional à fluência e inversamente proporcional ao raio dos particulados.

Utilizando das técnicas descritas, alguns importantes resultados foram encontrados sobre os particulados e suas relações com os parâmetro de deposição. Foi visto que em ligas bimetálicas que quanto menor o particulado, menor é a concentração do elemento de menor ponto de fusão devido evaporação. O mesmo comportamento não foi observado em cerâmicas. Quanto à estrutura, tem-se que devido a solidificação rápida é possível haver uma fase mista de material amorfo e cristalino. A distribuição dos particulados na pluma é igual a distribuição cossenoidal da pluma de plasma, onde as distribuições

são altamente dependentes da fluência, tal que uma maior fluência tende a aumentar o número de particulados e tornando-os maiores. Foi observado também que a introdução de gases na câmara pode modificar a estequiometria do filme, porém não é muito efetiva na modificação do tamanho ou número de particulados. [36]

## 3.2 O sistema

Como dito no início do capítulo, a técnica de ablação a laser é considerada simples e versátil. Nesta seção serão apresentados os principais componentes que reforçam este argumento, bem como suas funções e propriedades. Na figura 3.7 são mostrados os principais componentes da técnica de ablação a laser: o laser, o sistema ótico (espelhos, lente e janelas), câmara com ambiente controlado, suporte do substrato, suporte do alvo, sistemas bombas e entradas de gases. Com a escolha certa de cada componente, é possível construir um sistema simples e prático capaz de produzir qualquer tipo de filme, de qualquer material. Seu custo inicial, comparado com outras técnicas de sputtering, em uma montagem inicial básica é por volta de 10 vezes mais barata. Além disso, a utilização e a manutenção também não apresentam grandes dificuldades.

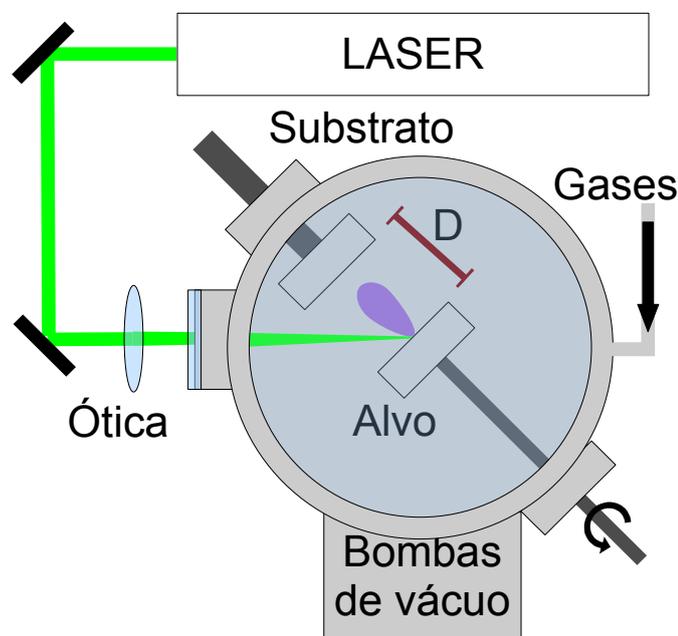


Figura 3.7: Sistema de deposição por ablação a laser

**Laser.** De todos os componentes, o laser pode ser considerado o mais importante. Diferente das outras técnicas de deposição, a fonte de energia é externa ao sistema, sendo

possível utilizar o mesmo laser em várias câmaras de ablação e em vários alvos dentro da câmara. O convencional é escolher lasers de pequeno comprimento de onda, entre 200 e 400 nm, devido a todos os fatores citados anteriormente, como por exemplo a maior absorção, menor penetração e a redução do número de particulados. A escolha mais versátil é o laser de Nd:YAG que pode emitir radiação nas 3 faixas úteis (infravermelho, visível e ultravioleta) com o uso de dobradores.

**Ótica.** Devido à alta fluência fornecida pelo laser, todos os componentes óticos devem ser resistentes. Lembrando que, para não haver perdas de energia ou qualquer acidente, os espelhos devem ter reflexão máxima, enquanto as lentes e janelas, transmissão máxima para o comprimento de onda fornecido pelo laser. Outro importante fator é a limpeza dos mesmos, principalmente para garantir a reprodutibilidade dos experimentos e também reduzir o dano aos equipamentos.

**Câmara.** A câmara de ablação deve ser desenvolvida, ou comprada, com cuidado. O mínimo foi representado na figura 3.7, com entrada para o laser, alvo, substrato, sistema de vácuo e entrada de gases. A mesma deve ser planejada para pressões reduzidas à altas, porém a geometria é o fator mais importante. Na produção de filmes, devem ser levados em consideração o ângulo de entrada do laser, a distância variável (D) entre o alvo e substrato e nenhuma obstrução deve existir no caminho do laser. Além disso, o alvo, o substrato e as janelas de entrada de laser devem ter fácil acesso, visto que são trocados com frequência.

Podem ser colocadas quantas entradas forem necessárias para medidores e sondas, a câmara pode ser quão complexa quanto for necessário. Apesar de não ser o principal objetivo do processo e depender de equipamentos caros, como foi citado na seção anterior, obter dados sobre a pluma em expansão é importante para manter a reprodutibilidade do sistema. Entradas e saídas óticas, além da entrada do laser, e espaços para sondas iônicas ou espectrômetros são recomendadas.

Além da geometria, o material utilizado na confecção da câmara deve ser escolhido com cuidado. Deve possuir baixa taxa de degasamento, como aço inox, para que pressões baixas possam ser alcançadas, não ocorra contaminação do filme e a pressão parcial dos gases dentro da câmara possa ser controlada.

**Alvo.** Para reduzir a geração de particulados, recomendasse que o alvo seja denso e polido. Além disso, para que a superfície atingida pelos pulsos de laser seja sempre nova, o mesmo é rotacionado durante o processo.

Como o desgaste é grande, o alvo deve ser montado de forma que seu acesso seja fácil. Caso seja possível, uma montagem com vários alvos (indexados) é recomendada, para fabricação de filmes com multicamadas.

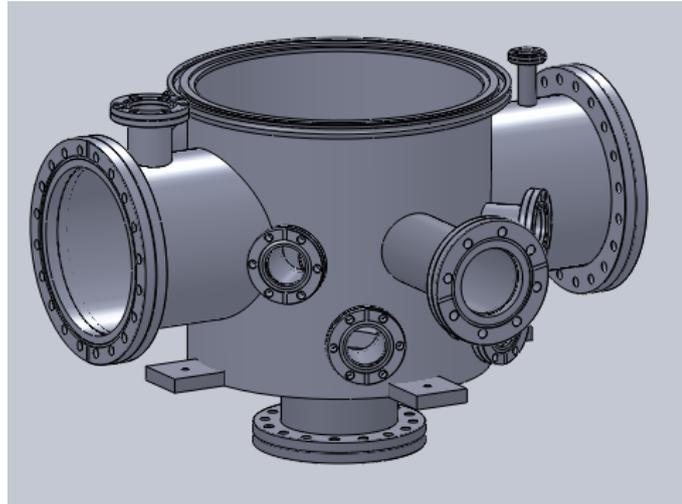


Figura 3.8: Nova câmara de ablação projetada

**Substrato.** Além da escolha e limpeza, novamente deve ser levada em conta a geometria necessária para a deposição, como ângulo e distância do alvo.

Os suportes do alvo e do substrato podem receber aquecimento ou campo magnético, de acordo com a necessidade.

**Proteção.** Por fim vale lembrar que o sistema trabalha com alta energia e todo cuidado deve ser tomado para evitar acidentes. Principalmente proteção com óculos especiais e o mínimo possível de reflexões.

### 3.2.1 Filmes de fosfatos de cálcio produzidos por ablação a laser

Para os fosfatos de cálcio, a condição de congruência (equação 3.1) é facilmente atingida. O coeficiente de difusão térmica "D" destes materiais é pequeno, já que os mesmos são cerâmicas, fazendo que o comprimento de difusão "L" seja pequeno. De tal forma que a estequiometria do alvo é facilmente transferida para o recobrimento. Entretanto, os particulados são facilmente gerados. O fator adimensional B (equação 3.2) destes materiais é menor que 1, visto que são cerâmicas de baixa condutividade térmica, alta refletividade e alto calor específico, favorecendo a geração de particulados.

Uma forma de reduzi-los é utilizando um pequeno  $\lambda$  do laser, por exemplo excimers laser ( $\lambda < 400$  nm) - a gás - ou o 3º e 4º harmônico do Nd:YAG ( $\lambda = 355$  e  $266$  nm) - Figuras A.1 e A.2. Esta escolha é comum na literatura. [1,9–11] Utilizando um pequeno  $\lambda$ , a penetração do laser é menor (figura 3.3) e nesta faixa de ultravioleta os fosfatos de cálcio absorvem mais energia, contribuindo com a menor penetração. Desta forma, a produção de particulados por aquecimento das camadas internas é reduzida. Somando todos estes

fatores, a rugosidade dos recobrimentos é reduzida.

Esta escolha de  $\lambda$  favorece dois dos fatores citados no capítulo anterior que são esperados nos recobrimentos de biocerâmicas para implantes: pureza e morfologia, visto que a estequiometria é mantida e os recobrimentos não possuem grande rugosidade. Apesar disso, taxa de deposição também é reduzida e o tempo de produção dos filmes aumenta.

Outro porém desta escolha é que a cristalinidade não é atingida. Os recobrimentos produzidos com esta faixa de  $\lambda$  são em sua maioria amorfos, altamente solúveis. Para contornar este empecilho, o substrato é aquecido durante a deposição ou são realizados tratamentos térmicos posteriores. [1, 9–11]

E em sua maioria, também se faz necessário a introdução de gases reativos no interior da câmara durante o processo. Um resumo de como obter as fases desejadas durante a deposição, utilizando  $\lambda$  pequenos, é encontrado em [44] e na tabela 3.1, reproduzida.

Fase desejada	Temperatura do substrato (°C)	Atmosfera
HA amorfa	< 400	qualquer
HA amorfa	> 400	gás inerte
HA cristalina	entre 400 e 700	gás inerte ou vapor d'água
$\alpha$ -TCP	entre 400 e 700	oxigênio
$\beta$ -TCP	> 700	oxigênio
TCP	> 700	gás inerte ou vapor d'água

Tabela 3.1: Condições favoráveis de temperatura do substrato e de atmosfera durante a ablação [45]

Utilizando comprimentos de onda maiores, é esperado que o número de particulados aumente, pois a maior penetração favorece o aquecimento de camadas mais internas. Além disso, a energia atingida com lasers nesta faixa de  $\lambda$  é maior, diminuindo ainda mais o fator adimensional B.

Com  $\lambda$  na faixa do visível, alguns poucos trabalhos são encontrados. Por exemplo não são encontrados em revisões como na referência [1]. Em [12, 13] é utilizado lasers de Nd:YAG no 2º harmônico ( $\lambda = 532$  nm) e em [15] é utilizado o laser de rubi ( $\lambda = 694$  nm). O número de particulados e o tamanhos dos mesmo é maior que os lasers de ultravioleta, aumentando a taxa de deposição e a rugosidade dos filmes. Uma maior rugosidade contribui no processo de adesão celular. [13, 15] Em todos estes trabalhos não é encontrado outras fases senão HA.

Além da rugosidade, os particulados retirados e depositados possuem a mesma estrutura cristalina do alvo. Logo o recobrimento também deve possuir fases cristalinas, além do amorfo gerado pela deposição de átomos e moléculas não ligadas. Entretanto, nos trabalhos anteriores [12–15], são apresentados apenas resultados de recobrimentos

produzidos com o substrato aquecido, com temperaturas acima de 300°C, promovendo a total cristalização do recobrimento e inibe a existência da fase amorfa. Esta fase amorfa é solúvel e, como visto no mecanismo de Duchyene [33], é importante para o fornecimento de íons para o meio biológico.

### 3.2.2 Sistema utilizado

Neste trabalho foi utilizado o laser Nd:YAG (natural em 1064 nm) da Litron com dobrador de frequência para o visível (532 nm), na intenção de produzir recobrimentos com alta cristalinidade e alta rugosidade, aproveitando da geração dos particulados. Por possuírem a estrutura cristalina do alvo são menos solúveis, aumentando a estabilidade e o tempo de vida do recobrimento. O substrato não foi aquecido durante a deposição, o que permitiu a existência da fase amorfa, mais solúvel. Esta fase aumenta a atividade biológica porém diminui a estabilidade do revestimento.

A energia máxima fornecida é 320 mJ na frequência máxima, com pulsos de 7 ns e frequência variável até 10 Hz. Espelhos de reflexão 99%/45° para 532 nm foram utilizados para direcionar o feixe para a entrada ótica da câmara. Uma lente com filme anti-reflexivo de distância focal igual a 16 cm foi utilizada para focar o feixe sobre o alvo (figura 3.9).

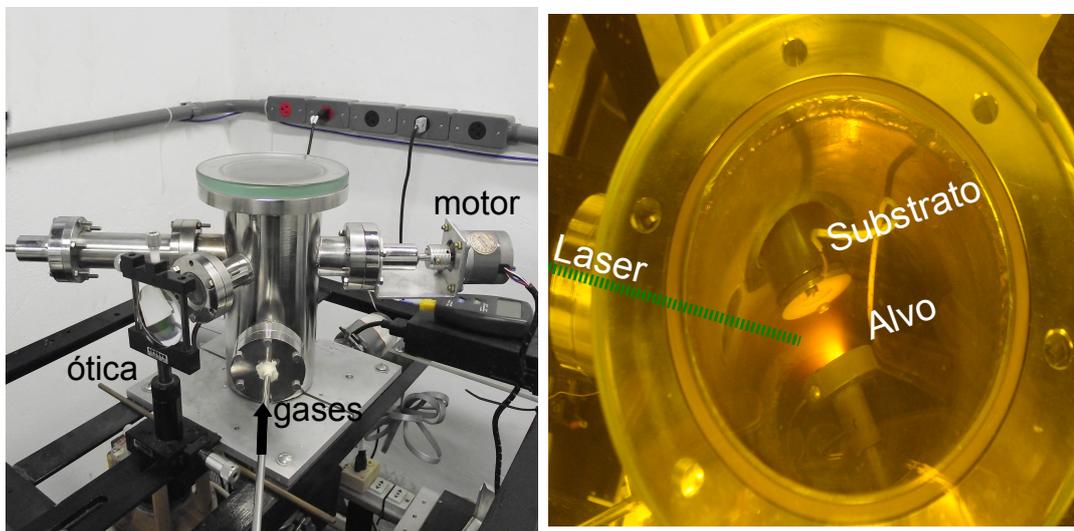


Figura 3.9: Câmara de ablação a laser utilizada e detalhe interno durante a deposição

Na figura 3.9 também é mostrada a câmara de ablação (esquerda), completamente desenvolvida e montada no CBPF, constituída dos componentes especificados na figura 3.7. Na imagem à direita, pode ser visto o interior da câmara com a entrada do laser, o suporte giratório do alvo, a pluma em expansão, o termopar e o suporte do substrato. O

ângulo de entrada do laser em relação ao alvo é  $45^\circ$  e o substrato é colocado paralelo ao alvo.

Abaixo da câmara se encontra uma bomba turbo de 70L/min e uma bomba mecânica utilizada como suporte da turbo. Além disso a câmara é monitorada por medidores de pressão (penning e pirani) ligados respectivamente a um mostrador e a um controlador de fluxo de massa de gases MKS, que por sua vez alimenta uma válvula agulha solenóide.

---

---

# CAPÍTULO 4

---

## MÉTODOS EXPERIMENTAIS E MATERIAIS UTILIZADOS

Neste capítulo serão detalhadas as técnicas e medidas utilizados na caracterização dos recobrimentos. Em seguida serão apresentados os materiais utilizados, a preparação da HA, sua sinterização e os substratos nos quais ela foi depositada.

### 4.1 Métodos experimentais de Caracterização

#### 4.1.1 Perfilometria

Utilizando um equipamento Dektak 150 Surface Profiler da Veeco, representado na figura 4.1 com detalhe na ponta stylus ( $12,5 \mu\text{m}$ ) utilizada, foram realizadas varreduras de contato e obtidos os perfis da altura dos filmes depositados. A partir dos mesmos foi possível estimar a espessura, a taxa de deposição e a rugosidade dos filmes, além de obter a taxa de ablação - pela profundidade dos furos realizados a laser no alvo - e funcionar como um microscópio ótico de baixa resolução.

Os dados obtidos foram analisados por um programa próprio (figura 4.2), foi utilizada expressão 4.1 para a rugosidade ( $R_a$ ) e a definição de espessura como a variação entre as alturas médias da região M e da região R.

$$R_a = \frac{1}{L} \int_0^L |y| dx \quad (4.1)$$

Onde L é o comprimento da região medida (M), mostrada em 4.2.

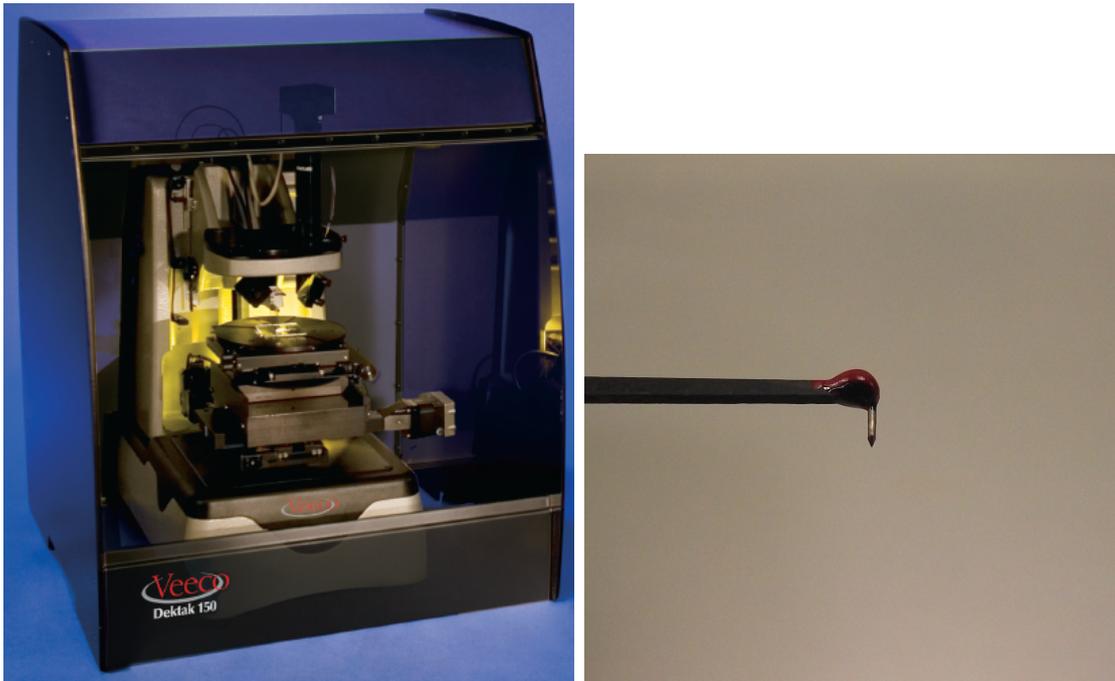


Figura 4.1: Equipamento de perfilometria Dektak 150 e ponta stylus

As medidas no alvo foram realizadas com uma varredura lenta de 0,3 samples/s, logo em seguida que o mesmo foi retirado da câmara, após 5 pulsos consecutivos de diferentes energias. Para realizar as medidas nos filmes, estes foram depositados utilizando uma máscara retangular de  $1 \times 0,3 \text{ cm}^2$  de tal forma que houvesse um degrau (figura 4.3). Em um mesmo filme, inúmeras medidas em diferentes direções da amostra foram feitas para obtenção de uma média.

#### 4.1.2 Microscopia Ótica Digital

Buscando medidas mais precisas de área e profundidade dos furos realizados com os disparos de laser no alvo, foi utilizado um microscópio ótico digital Hirox KH-7700 (figura 4.4, esquerda). Este equipamento realiza medidas automáticas junto ao módulo com programa próprio (figura 4.4, direita), capturando várias imagens, focando em diferentes alturas, e reunindo todas em uma só imagem (figura 4.5) e reproduzindo uma imagem 3D do perfil (figura 4.6).

Das imagens é possível obter a área (figura 4.5, direita) e a profundidade dos furos, para enfim medir a fluência (energia por área) e a taxa de ablação (quantidade de material retirado por pulso).

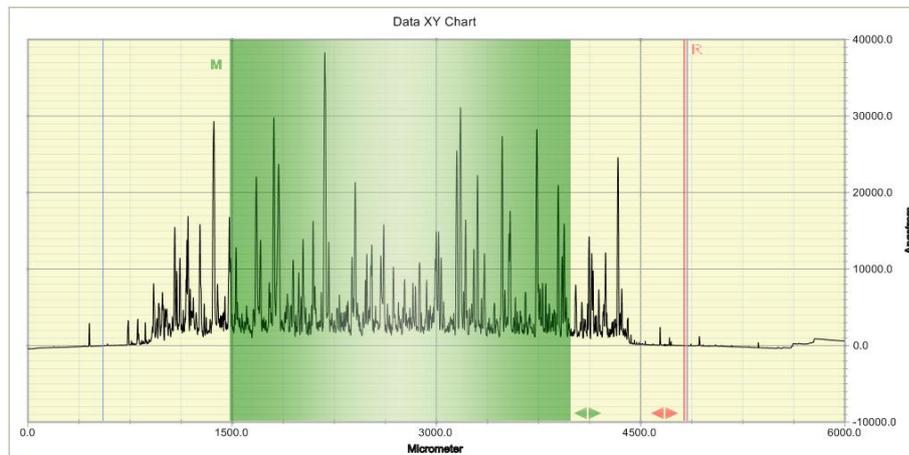


Figura 4.2: Imagem do programa de medidas do perfilômetro com as regiões de medida M (verde) e referência R (vermelho)



Figura 4.3: Representação do filme após utilizar uma máscara durante a deposição

### 4.1.3 Absorção de Infravermelho por Transformada de Fourier - FTIR

As cerâmicas utilizadas neste trabalho, bem como os filmes produzidos a partir delas, são formados de átomos unidos por ligações covalentes, lineares ou não (figura 4.7). Cada átomo está ligado com alguns vizinhos e existem certos graus de liberdade, estiramentos (comprimento das ligações) e deformações (mudança angular), com os quais eles se movimentam. [46]

As energias envolvidas nos processos de vibração e rotação estão na faixa do infravermelho ( $0,8 \mu\text{m}$  a  $1 \text{ mm}$ ), muito menores que as energias de transição eletrônica (figura 4.8). Cada uma destas ligações, por envolverem átomos de massas específicas, são características de cada combinação de átomos. Tornando possível identificar, de acordo com



Figura 4.4: Foto do microscópio ótico digital e seu módulo de controle

as energias envolvidas, os átomos e seus ligantes.

De forma análoga a bloco ligados com hastes e molas onde é possível inserir energia no sistema de forma a forçar o movimento, ao incidir ondas eletromagnéticas com a mesma energia de vibração dos átomos do material, estas são absorvidas, colocando o sistema em oscilação. Ao irradiar um material com uma onda policromática (várias energias), dentro da faixa de infravermelho, parte é absorvida e parte não, desde que o material possua uma transição de momento de dipolo elétrico (figura 4.8), associado às rotações e vibrações, gerando um espectro de infravermelho (figura 4.9). O mesmo normalmente é expresso em unidades de número de onda ( $k - \text{cm}^{-1}$ ) por ser linear em relação à energia:

$$k = \frac{2\pi}{\lambda} = \frac{2\pi}{hc} E \quad (4.2)$$

Onde  $c$  é a velocidade da luz no vácuo e  $h$  é a constante de Plank.

Estes processos de transição por absorção de radiação infravermelha podem, como qualquer outro processo semelhante, ser representados em termos de níveis de energias quantizados ( $E_0, E_1, E_2 \dots$ )(figura 4.8). Cada átomo e molécula ocupando um nível de energia e as vibrações são representadas pela mudança de um nível para outro, identificada pela variação de energia entre um nível e outro. No espectro de infravermelho de um material, a energia de que cada pico de absorção que aparece corresponde à frequência de vibração das ligações moleculares, ou seja, a mudança de nível de um de seus componentes



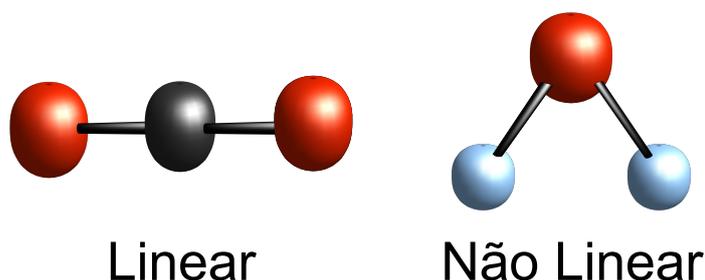


Figura 4.7: Ligações covalentes lineares e não lineares

descolados no substrato. Portanto, a técnica escolhida para analisá-los foi a Reflectância Total Atenuada (ATR) com microscopia ótica integrada. Neste sistema, a radiação em forma de interferograma passa por um prisma, sofrendo infinitas reflexões na borda do mesmo. Nesta borda, parte da radiação - chamadas ondas remanescentes - pode escapar e, colocando o prisma em contato com a amostra, ser absorvida pela amostra. Nenhum tratamento foi necessário. (detalhe da figura 4.10)

Foi utilizado um espectrômetro FTIR Shimadzu, modelo IRPRESTIGE-21 do CBPF, acoplado a um microscópio AIM 8800 (figura 4.10). O espectro foi coletado no intervalo de 600 a 3700  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 8  $\text{cm}^{-1}$  e média de 56 varreduras. Na seção de materiais, são apresentados os espectros do alvo e as bandas almeçadas dos filmes.

#### 4.1.4 Difractometria de Raios-x - DRX

Assim como a composição elementar, obtida por outras técnicas, a organização dos átomos no material também define muitas de suas propriedades, e.g. solubilidade. Para cada conjunto de átomos utilizados para formar um cristal, diferentes configurações estruturais são possíveis, de acordo com a afinidade e a distribuição eletrônica de cada componente. Este fato torna cada rede cristalina única do ponto de vista estrutural e das propriedades do material. Imaginando a rede cristalina como um conjunto de fendas criada pela distância entre os átomos, é possível realizar experimentos de difração, desde que a onda utilizada possua o comprimento de onda da mesma ordem de grandeza que os espaçamentos. [47]

A região do espectro eletromagnético cujo comprimento de onda é próximo ao espaçamento interatômico - algumas centenas de angstroms ( $10^{-8}\text{m}$ ) - é ocupada pelos raios-x. Segundo a expressão de Plank ( $E = hc/\lambda$ ), os raios-x possuem altas energias que são comparáveis às transições eletrônicas de níveis externos para os mais internos (keV).

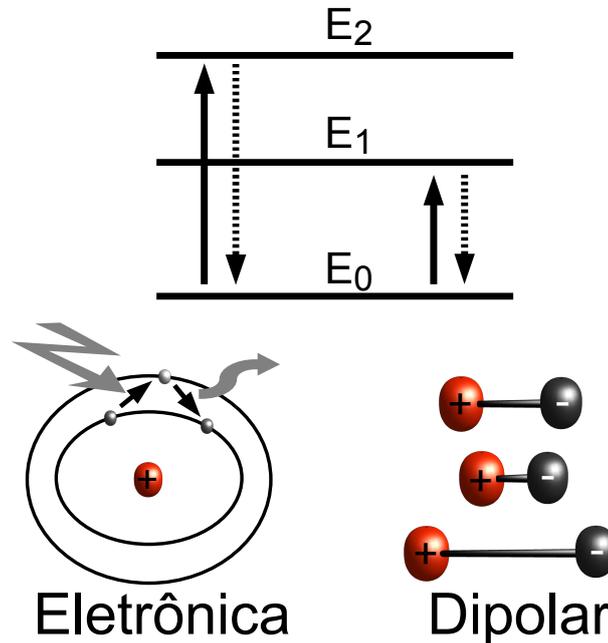


Figura 4.8: Transições eletrônicas e dipolares e respectivas energias

As maneiras convencionais de produzir raios-x envolvem a aceleração de partículas carregadas, por colisão sobre um alvo ou deflexão utilizando campos magnéticos pois, de acordo com a teoria eletromagnética, quando uma distribuição de cargas é acelerada, esta emite radiação eletromagnética.

No primeiro caso (figura 4.11), elétrons são retirados de metais com alto ponto de fusão, e.g. tungstênio, por termoemissão. Ao ser aquecido, os elétrons de valência deste metal recebem energia suficiente para se tornarem livres, de tal forma que uma pequena diferença de potencial aplicada é capaz de retirá-los e acelerá-los em direção a um alvo, normalmente metálico. O choque dos elétrons contra os átomos do alvo provoca frenagem (aceleração negativa) dos primeiros e com isso há emissão de ondas com energias de acordo com a tensão fornecida para acelerá-los. Para produzir raios-x a diferença de potencial aplicada para acelerar os elétrons é no mínimo de 5kV. Além desta radiação de frenagem, alguns elétrons das camadas internas dos átomos do alvo são retirados por colisão e elétrons de camadas externas ocupam esta vacância, emitindo energia específicas da transição (figura 4.8).

No segundo caso, campos magnéticos forçam um feixe de elétrons a mudar de direção aplicando uma aceleração central, radiando de acordo com a velocidade e curva aplicada. Em vários países existem laboratórios específicos que mantêm um feixe com uma grande quantidade de elétrons em anéis fechados, ciclo contínuo (figura 4.12). Estes elétrons

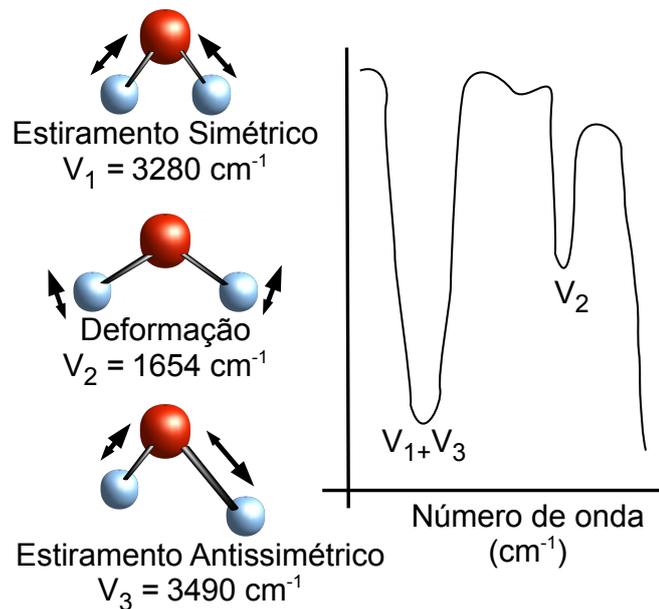


Figura 4.9: Transições eletrônicas e dipolares e respectivas energias

são acelerados por campos elétricos sincronizados e um conjunto de ímãs faz com que se mantenham dentro do anel e emitam radiação a cada curva, chamada radiação síncrotron. Esta fonte de radiação possui uma grande vantagem em relação à anterior: a quantidade de elétrons no feixe é muito maior, aumentando a quantidade de radiação disponível para realizar a análise.

Independente da forma como os raios-x são gerados, a interação deles com a matéria, difração, pode ser explicada por duas formulações equivalentes, de Bragg e de Von Laue. A primeira é mais simples de ser visualizada e mais comum entre cristalografistas enquanto a segunda utiliza está mais próxima da visão moderna de física do estado sólido. Ambos utilizam a natureza ondulatória da radiação eletromagnética.

A formulação de Bragg (W.H. e W.L. Bragg, 1913) surgiu da observação que materiais cristalinos, se irradiados com raios-x, produziam padrões de difração (picos de Bragg) altamente dependentes da direção de incidência. Eles propuseram a rede cristalinas como planos - ocupados pelos átomos - separados por distâncias fixas (figura 4.13). Os raios-x incidentes sofrem então reflexões especulares - ângulos idênticos de incidência e reflexão - em cada um desses planos e o aparecimento dos picos se dava quando a interferência entre duas ondas que sofreram reflexão em diferentes planos fosse construtiva.

Para isso a diferença de caminho entre as duas ondas deve ser múltiplo inteiro do comprimento de onda:

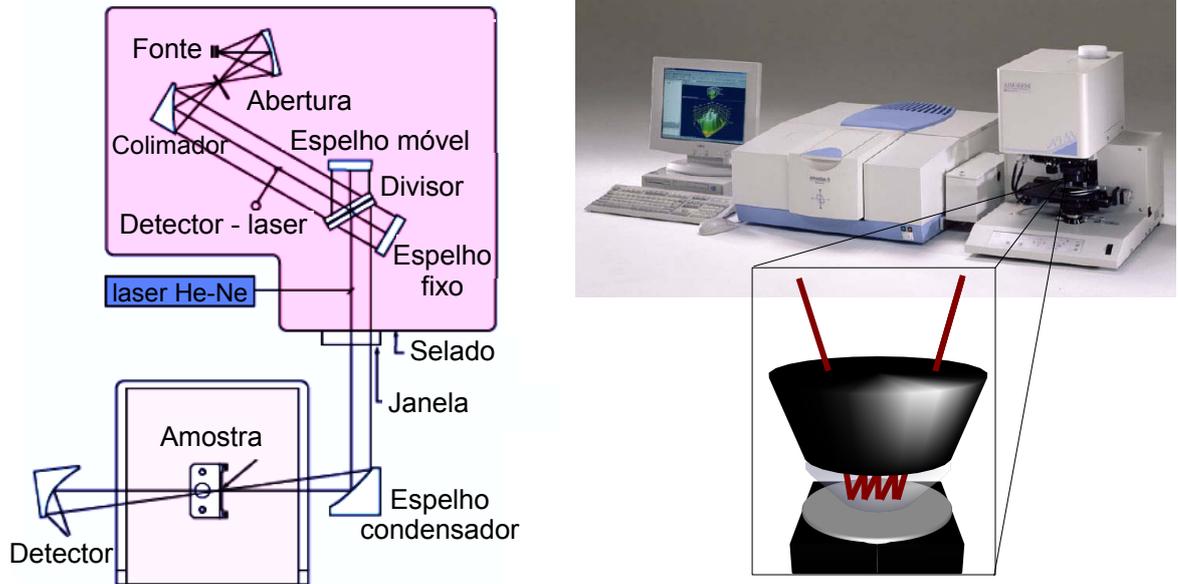


Figura 4.10: Esquema de um equipamento de FTIR. O esquema do interferômetro de Michelson, a foto do equipamento e o detalhe do prisma

$$n\lambda = 2dsen\theta \quad (4.3)$$

Onde  $\lambda$ ,  $d$  é a distância entre os planos e  $\theta$  é o ângulo especular, como na figura 4.13.

Na formulação de Von Laue, as ondas não são obrigadas a sofrer reflexão especular e pode incidir em qualquer direção. As ondas em contato com o material são espalhadas em todas as direções, dependendo de cada íon envolvido, e em alguns pontos do espaço elas se encontram e interferem. Da mesma forma que a formulação anterior, os picos aparecem para as interferências construtivas.

Considerando duas onda de mesmo comprimento de onda  $\lambda$  incidindo numa direção  $\hat{n}$  em dois átomos separados pela distância  $|\vec{d}|$ . Definidas então pelo vetor de onda  $\vec{k} = 2\pi\hat{n}/\lambda$ . As mesmas são espalhadas na direção  $\hat{n}'$ , com  $\vec{k}' = 2\pi\hat{n}'/\lambda$ . A diferença de caminho destas ondas é:

$$d\cos\theta + d\cos\theta' = \vec{d} \cdot (\hat{n} - \hat{n}') = m\lambda \quad (4.4)$$

$m$  inteiro. Equivalente a:

$$\vec{d} \cdot (\vec{k} - \vec{k}') = 2\pi m \quad (4.5)$$

Generalizando para qualquer par de átomos das rede, separados por  $|\vec{R}|$ :

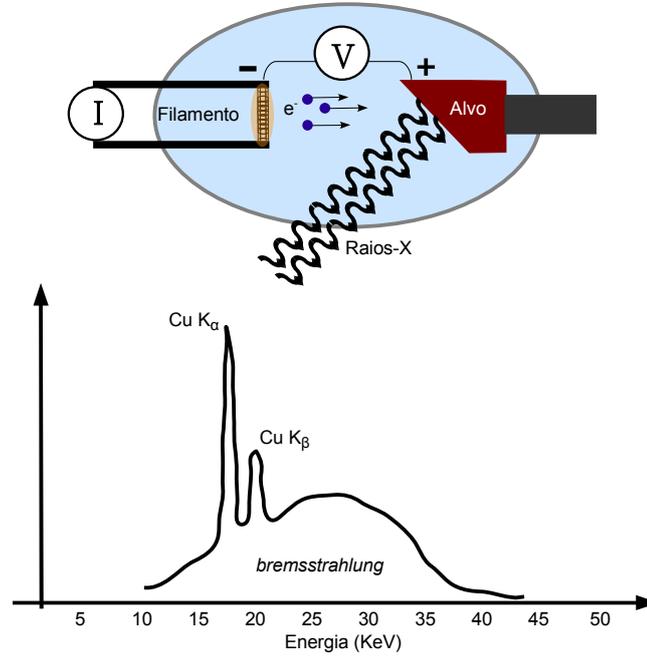


Figura 4.11: Tubo de geração de raios-x e o espectro do cobre

$$\vec{R} \cdot (\vec{k} - \vec{k}') = 2\pi m \quad (4.6)$$

Reescrito como:

$$\exp[i(\vec{k} - \vec{k}') \cdot \vec{R}] = 1 \quad (4.7)$$

A última equação impõe então que a diferença  $\vec{K} = \vec{k} - \vec{k}'$  seja um vetor da rede recíproca.

A equivalência entre as duas formulações se encontra na relação entre os vetores da rede real e da rede recíproca. Sendo  $\vec{K} = \vec{k} - \vec{k}'$  que satisfaz a condições de Laue, um vetor da rede recíproca. Se o comprimento de onda não varia, os vetores  $\vec{k}$  e  $\vec{k}'$  possuem a mesma magnitude, de tal forma que formam um ângulo  $\theta$  com o plano perpendicular a  $\vec{K}$ , logo este é um plano da rede real. O vetor  $\vec{K}$  pode ser escrito em múltiplos do vetor mínimo da rede recíproca,  $\vec{K}_0$ , e este último tem amplitude  $2\pi/d$  (figura 4.15). Assim:

$$K = \frac{2\pi n}{d} \quad (4.8)$$

Pela figura, temos  $K = 2k \sin \theta$ . Assim:



Figura 4.12: Anel onde circula o feixe de elétrons do LNLS e a saída pra linha XRD1

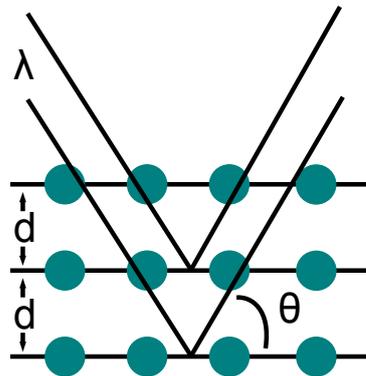


Figura 4.13: Planos de átomos da rede cristalina irradiados por raios-x - formulação de Bragg

$$k \sin \theta = \frac{\pi n}{d} \quad (4.9)$$

Como  $k = 2\pi/\lambda$ , é obtida a condição de Bragg.

A partir do sinal de interferência das ondas refletidas é obtido um difratograma de raios-x com os picos de Bragg nas posições específicas de cada material em relação ao ângulo. Além da identificação do material pelos seus picos característicos catalogados em fichas padronizadas, algumas outras informações podem ser obtidas dos difratogramas, por exemplo, o tamanho dos cristais a partir da largura dos picos e a orientação preferencial dos cristais de acordo com a intensidade relativa. Quando as amostras medidas são filmes finos, outros fatores podem modificar os difratogramas, como as tensões superficiais.

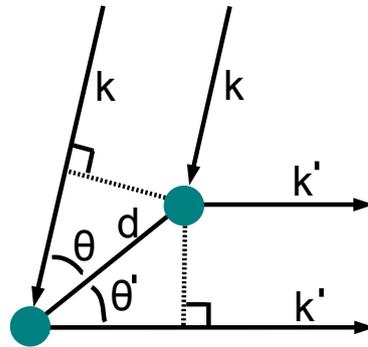


Figura 4.14: Centros de dispersão de raios-x - formulação de Von Laue

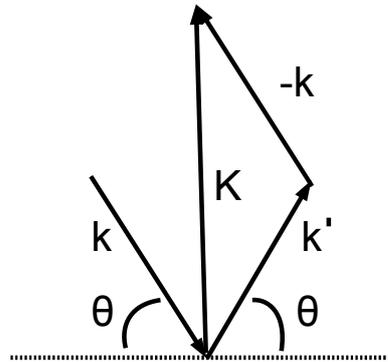


Figura 4.15: Relação de equivalência entre as formulações de Bragg e Von Laue

Neste trabalho, ambas as fontes de raios-x foram utilizadas, por termoemissão e síncrotron. A primeira foi utilizada para caracterizar o material dos alvos, em forma de pó antes da sinterização e em discos após a mesma. Para isso foi utilizado um equipamento X'Pert Pro Panalytical no Laboratório de Cristalografia e Difração de Raio-X do CBPF. Utilizou-se a linha  $K_{\alpha}$  cujo comprimento de onda é  $\lambda = 1.541 \text{ \AA}$  com tensão de aceleração de 45kV e 40mA de corrente no filamento. A varredura foi realizada de 8 a 55° com passos de 0.05°.

Para a análises dos filmes, foi utilizada a técnica de incidência razante (grazing angle - GAXRD) para diminuir a contribuição do substrato na análise. Além disso, a quantidade de material interagente em um filme é menor e por isso foi necessário utilizar uma fonte com maior quantidade de fótons. Os filmes foram então analisados utilizando a linha XRD1 e XRD2 do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS). O comprimento de

onda levemente diferente,  $\lambda = 1.378 \text{ \AA}$  (equivalente a 9.00 keV). O ângulo de incidência se manteve fixo em  $0.5^\circ$  e o de reflexão variou entre  $8^\circ$  e  $60^\circ$ , com passos de  $0.025^\circ$ .

#### 4.1.5 Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Dispersão de Energia de Raios-X - MEV e EDS

Outras informações importantes são obtidas se analisado o comportamento de partículas após interagir com a matéria. Uma das técnicas que se enquadra neste contexto é a microscopia eletrônica de varredura, utilizada para analisar principalmente a morfologia e a composição superficial dos recobrimentos. A resolução deste equipamento é alta, de 2 a 5 nm, se utilizada uma fonte de emissão de campo (FEG), se comparada com técnicas óticas. E seu aumento máximo, 300.000 vezes - teórico, fica atrás apenas do microscópio eletrônico de transmissão (MET).

Nesta técnica um feixe de elétrons acelerados, gerados por termoemissão como no tubo de raios-x, é focado sobre a amostra como num microscópio ótico utilizando lentes magnéticas. Os elétrons entram na amostra e se esta for fina parte deles a atravessa. Os elétrons aprisionados se dispersam, ocupando uma região chamada de garrafão de elétrons, podendo sair da amostra com menos energia, expulsar elétrons do material ou excitar átomos do material estudado. Cada região deste garrafão é responsável por uma informação sobre a amostra (figura 4.16).

A primeira camada, mais próxima à superfície emite os elétrons secundários (SE). Podendo estes ser elétrons que percorreram um caminho dentro da amostra e saíram da mesma ou elétrons da amostra emitidos após a colisão com elétrons do feixe. A energia dos SE é da ordem de 50 eV e eles são responsáveis pela formação da imagem.

Os elétrons que sofrem reflexão nas camadas mais internas mas saem com energia próxima à de entrada são chamados retroespalhados (BSE). São gerados por repulsão ao núcleo dos átomos do material, com uma colisão praticamente elástica. São altamente dependentes da massa do material do átomo e das irregularidades da amostra. Por isso são utilizados para analisar a topologia e qualitativamente a composição. Além disso, acrescentam maior contraste às imagens feitas por SE.

Alguns dos elétrons do feixe primário podem retirar os elétrons de camadas mais internas dos átomos do material. Um elétron de uma camada mais externa desse átomo pode ocupar a camada vazia e emitir radiação de acordo com diferença de energia entre as duas camadas, característica de cada transição. A energia desta radiação está na faixa dos raios-x, keV, pode ser coletada e, por ser específica da transição, ajuda na identificação qualitativa dos elementos da amostra. É conhecida por espectroscopia de dispersão de

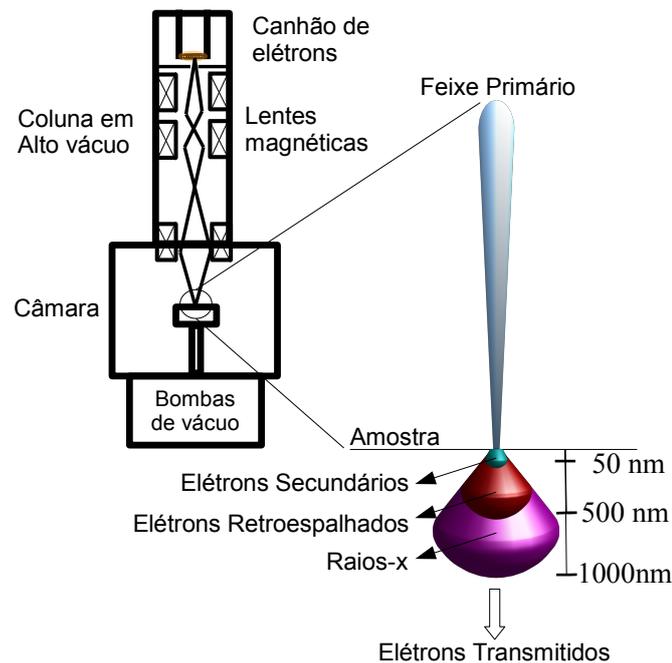


Figura 4.16: Esquema do microscópio eletrônico de varredura e a interação dos elétrons com a amostra

energia de raios-X (EDS). A radiação analisada provém de todo o garrafão de elétrons, mas possui a menor resolução em comparação aos SE e BSE.

Foi utilizado o Jeol JSM 6490-LV, microscópio eletrônico de varredura com detector de EDS do Laboratório Multiusuário de Nanociência e Nanotecnologia no CBPF. Este equipamento foi utilizado em todas as análises (morfologia e composição) dos alvos, filmes e filmes com cultura de células, com os parâmetros referentes à cada amostra.

## 4.2 Materiais

### 4.2.1 Alvos

Na técnica de ablação a laser é necessário que o alvo utilizado seja denso, como uma pastilha sinterizada ou pó prensado. Além disso, a composição e a estrutura cristalina dos alvos influenciam diretamente nas propriedades finais dos recobrimentos produzidos, tornando a produção do material-alvo uma tarefa importante.

**Síntese da HA.** O alvo foi produzido a partir do pó da HA, fornecido pelo Laboratório de Biomateriais do CBPF e obtido a partir de uma precipitação controlada em via úmida,

seguindo a reação:



Os reagentes foram concentrados de forma a produzir HA com razão Ca/P igual a 1,67. A solução aquosa de nitrato de cálcio [ $Ca(NO_3)_2$ ] é mantida aquecida a 90°C sob agitação mecânica enquanto o fosfato ácido de amônio [ $(NH_4)_2HPO_4$ ] é gotejado no balão reator. É necessário manter o pH básico (=11) para ocorrer a precipitação e para controlá-lo, é adicionado hidróxido de amônio [ $NH_4OH$ ]. A partir do início da precipitação, são esperadas duas horas de digestão para o fim da reação. Em seguida, o produto é lavado com água ultra pura até que retome o pH neutro e então é seco em estufa a 100°C por um dia.

**Sinterização.** O material seco é então macerado e peneirado até que possua apenas granulados de aproximadamente 200  $\mu m$ . Este pó é pesado e prensado uniaxialmente em forma de pastilhas cilíndricas de 3,1 cm de diâmetro sob 6 toneladas de carga por 5 minutos. As pastilhas são então levadas a uma mufla para sinterização: uma rampa de 6 horas até 1150°C, permanência de duas horas e então resfriamento com o forno desligado. A temperatura escolhida é alta o suficiente para sinterizar o pó e está abaixo da temperatura crítica, 1200°C, a partir da qual ocorrem decomposições da HA em outros fosfatos de cálcio.

Ao final do tratamento térmico, o alvo é reduzido em 20% em suas dimensões devido à perda de água e à densificação das partículas do pó, assumindo um diâmetro de uma polegada. Seguindo este procedimento, a pastilha final é rígida e a densidade esperada, 3,1 g/cm<sup>3</sup>, é alcançada. Por fim, devido à influencia da superfície do alvo na técnica de deposição, a mesma é polida utilizando uma politriz giratória com lixas d'água de granulação superior a 800.

**Caracterização.** A estrutura do pó e do alvo de HA foram analisados por difratometria de raios-x para garantir a existência única do material desejado, este resultado pode ser visto na figura 4.17. Todos os picos encontrados no difratograma do pó são também encontrados no do alvo com pequena variação de intensidade, devido à orientação preferencial dada pela prensa nos planos (300) e (210).

A composição superficial do pó e do alvo de HA foi analisada por FTIR, como é mostrado na figura 4.18. As bandas características foram identificadas assim como o aumento dos cristais devido à sinterização (afinamento das bandas). [5]

No espectro estão presentes o estiramento simétrico ( $\nu_1$ ) dos grupos OH<sup>-</sup>, em 3570 cm<sup>-1</sup> e somente aparece na HA, a banda larga em torno de 3400 cm<sup>-1</sup> e em 1420 e 1450 cm<sup>-1</sup>, referentes à água e aos íons CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, respectivamente. São vistas também as fortes

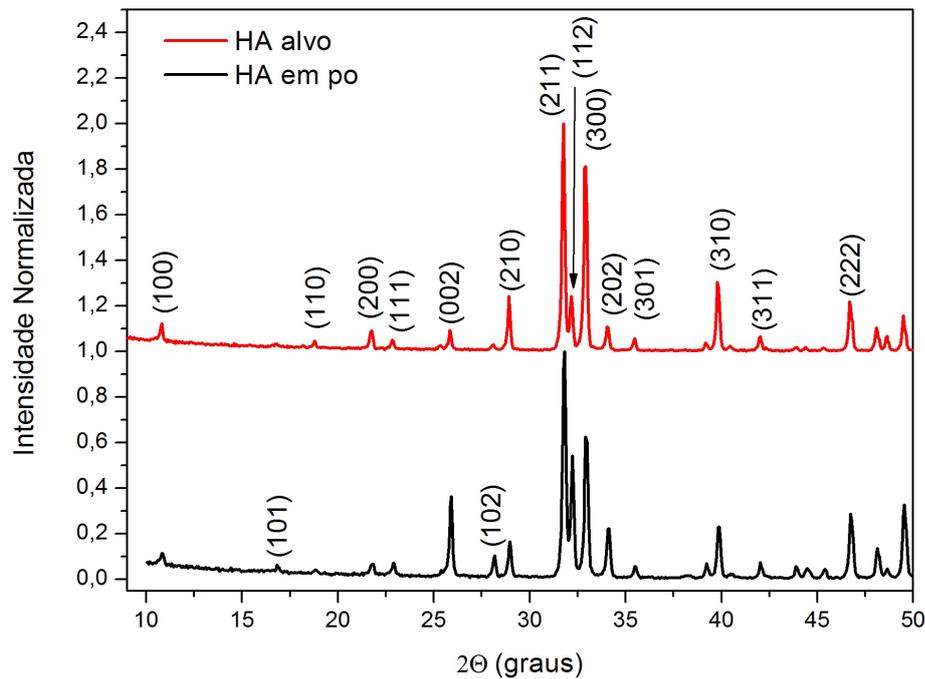


Figura 4.17: Difratomogramas de raios-x do pó e do alvo de HA

bandas dos íons fosfato  $\text{PO}_4^{2-}$ , os estiramentos assimétricos ( $\nu_3$ ) centrados em torno de  $1020$  e de  $1088\text{ cm}^{-1}$  com outra de menor intensidade em  $964\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento simétrico ( $\nu_1$ ). No espectro do alvo ainda é encontrada uma banda de baixa intensidade em  $872\text{ cm}^{-1}$  atribuída a íons de  $\text{HPO}_4^{2-}$ . [5]

## 4.2.2 Substratos

Todos os substratos utilizados, silício ou titânio, seguiram o mesmo processo de limpeza detalhados a seguir.

**Silício.** O wafer foi cortado em quadrados de  $1,4\text{ cm}$  de lado e estes foram colocados em um becker limpo com água deionizada por 8 minutos em banho ultrassônico, para remoção de partículas maiores. Em seguida a água é substituída por uma mistura 1:1 de detergente e água deionizada e recolocada em banho ultrassônico, para remoção de gorduras e afins. O becker é então lavado e outra sessão com água deionizada é realizada. O último banho ultrassônico é realizado com acetona, com a mesma duração dos anteriores. Por fim, em outro becker de plástico, os substratos são colocados de molho em ácido hidrófluorídrico por 30 segundos e então retornados para água deionizada. No momento da utilização são secos com  $\text{N}_2$  puro comprimido. A limpeza foi realizada no dia que o substrato foi utilizado.

**Titânio.** Os substratos cilíndricos de titânio comercialmente puro de  $2\text{ mm}$  de es-

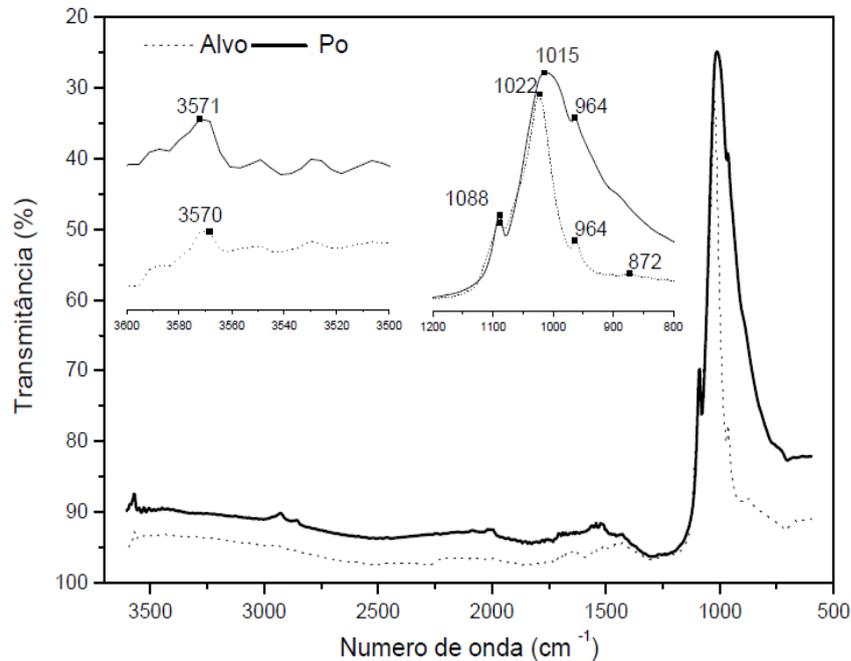


Figura 4.18: Espectros de absorção de infravermelho do pó e do alvo de HA

peçura foram usinados de uma barra de 3m cujo diâmetro era 12,5 mm. Todas as peças foram lavadas com água e sabão em banho ultrassônico por 10 minutos, para retirar os óleos do processo (figura 4.19 à esquerda). Em seguida, para aumentar a rugosidade e melhorar a aderência dos recobrimentos e das células, os substratos foram jateados com microesferas de vidro (figura 4.19 à direita).

Este processo de jateamento acaba por contaminar os substratos com o silicato que constitui as microesferas. Por isso são novamente lavados com água e sabão em banho ultrassônico por 10 minutos e uma etapa adicional em uma solução ácida (2% de HF e 20% de HNO<sub>3</sub>), para retirada completa dos silicatos presentes. O processo se assemelha ao utilizado em [48] porém, após o ataque ácido utilizando o tempo descrito neste trabalho, o elemento Si continuo sendo encontrado pela análise elementar de EDS, como é visto na tabela 4.1.

Tempo de ataque ácido (min)	Concentração de Si (%)
0	3.97 +/- 0.05
0.5	2.31 +/- 0.11
1.0	2.19 +/- 0.03
2.0	1.63 +/- 0.05

Tabela 4.1: Concentração de silício sobre o titânio após diferentes tempos de ataque ácido

Utilizando tempos superiores, foi constatado que o tratamento deveria durar 6 minu-

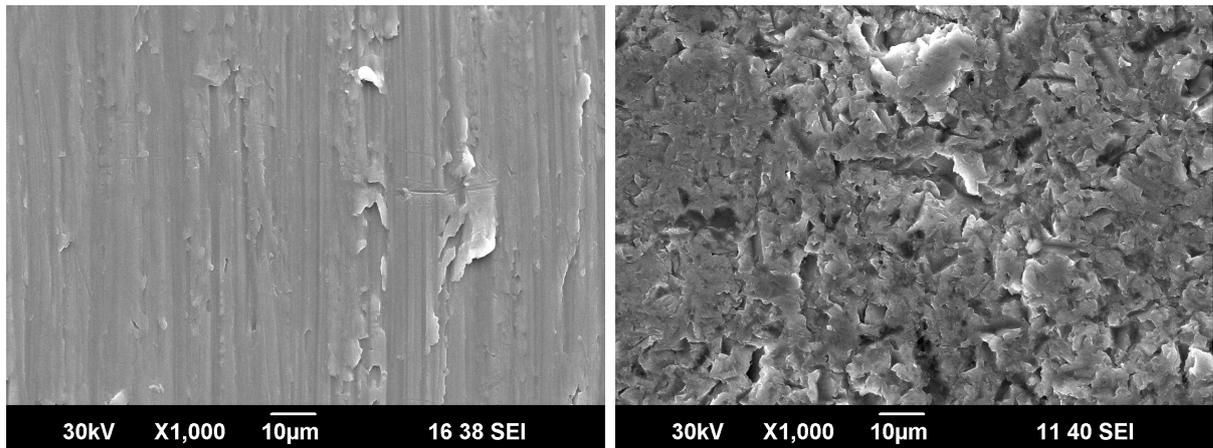


Figura 4.19: Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos substratos de titânio antes e após o jateamento com microesferas de vidro

tos para que o substrato estivesse livre de silicatos e esse tempo foi então adotado nos procedimentos.

### 4.2.3 Testes In Vitro

**Fluido Corpóreo Simulado - SBF.** Testes in-vitro foram realizados para avaliar a capacidade da superfície dos recobrimentos de induzir a precipitação de hidroxiapatita quando em contato com uma solução de SBF. A solução de SBF possui uma composição de sais minerais similar ao plasma sanguíneo, mostrado na tabela 4.2.

	Concentração de íons (mM)							
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sup>3-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	<sup>2-</sup> <sub>4</sub>
Plasma Sanguíneo Humano	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5
SBF	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	4,2	1,0	0,5

Tabela 4.2: Concentração dos íons no plasma sanguíneo e no SBF, reproduzida de [6]

**Testes com cultura de células.** Após conhecer as propriedades dos filmes e a forma como poderíamos controlá-las, uma certa condição foi escolhida para realizar testes in-Vitro de cultura de células ósseas, como primeiros resultados. Foi escolhida uma condição onde o filme produzido tinha as melhores características para ser utilizado como implante, como por exemplo, fases cristalinas e amorfas, rugosidade, além de composição e estrutura mais próximas do alvo de HA. O filme foi produzido sobre titânio, jateado e limpo, com energia de 250 mJ, 10 Hz de frequência de pulso, sob vácuo ( $3.10^{-5}$  mbar) a 4 cm de distância do alvo.

O procedimento de cultura de células e aplicação, fornecido e utilizado pelo Laboratório

de Cultura Celular do CBPF, é descrito a seguir. As células são cultivadas rotineiramente em ambiente estéril em incubadora a 37°C sob atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub>. Duas vezes por semana as células da linhagem pré-osteoblástica MC3T3-E1 subclone 14, foram cultivadas em meio  $\alpha$ -MEM suplementado com 10% de soro fetal bovino. Quando confluentes, são tripsinizadas e contadas em câmara de Neubauer para serem utilizadas nos experimentos. Todas as pastilhas utilizadas para adesão celular foram previamente esterilizadas em radiação gama por 12h à 15kGy.

Para analisar o comportamento das células sobre os recobrimentos utilizando o MEV, foi necessário realizar um tratamento descrito a seguir. Após adesão às pastilhas de Ti e TiHA por 24h em cultura, as células osteoblásticas foram fixadas em Karnovsky [49] por 24h, pós-fixadas em 1% tetróxido em ósmio por 30 minutos, lavadas em tampão Cacodilato 0.2M e desidratadas em séries crescentes (30, 50, 70, 90, 2x100%) de etanol. Secas em ponto crítico, metalizadas em ouro (15nm) e observadas em MEV a 15kV.

---

---

# CAPÍTULO 5

---

## RESULTADOS

### 5.1 Taxa de ablação e fluência mínima

A quantidade de material depositado durante a ablação está diretamente ligada a quantidade de material retirado do alvo por disparo do laser. Para obter as taxas de ablação da HA utilizando o laser Nd:YAG (532 nm - verde) foram realizadas medidas de microscopia ótica nos alvos após disparos consecutivos do laser com diferentes energias.

O microscópio utilizado realiza inúmeras imagens, uma para cada foco em alturas diferentes. Com o software do próprio equipamento, as imagens são montadas em uma só figura e é também gerado um perfil tridimensional. A figura 5.1 exibe os furos realizados no alvo após cinco disparos consecutivos.

De cada imagem, foi possível medir a área de cada furo utilizando o software (figura 5.2). E obter a fluência (energia por área) para cada energia utilizada (tabela 5.1).

Energia (mJ)	Área ( $\mu\text{m}^2$ )	Fluência ( $\text{J}/\text{cm}^2$ )
283	6025,83	4,696
192	5937,89	3,233
150	4729,10	3,172
102	3489,12	2,923
52	2402,44	2,164

Tabela 5.1: Tabela de fluência para cada energia

Pode ser observado que a energia e a área variam de forma linear. Isso ocorre na passagem do feixe de laser pela lente, quanto menor a energia mais condensado é ao feixe, diminuindo a área final.

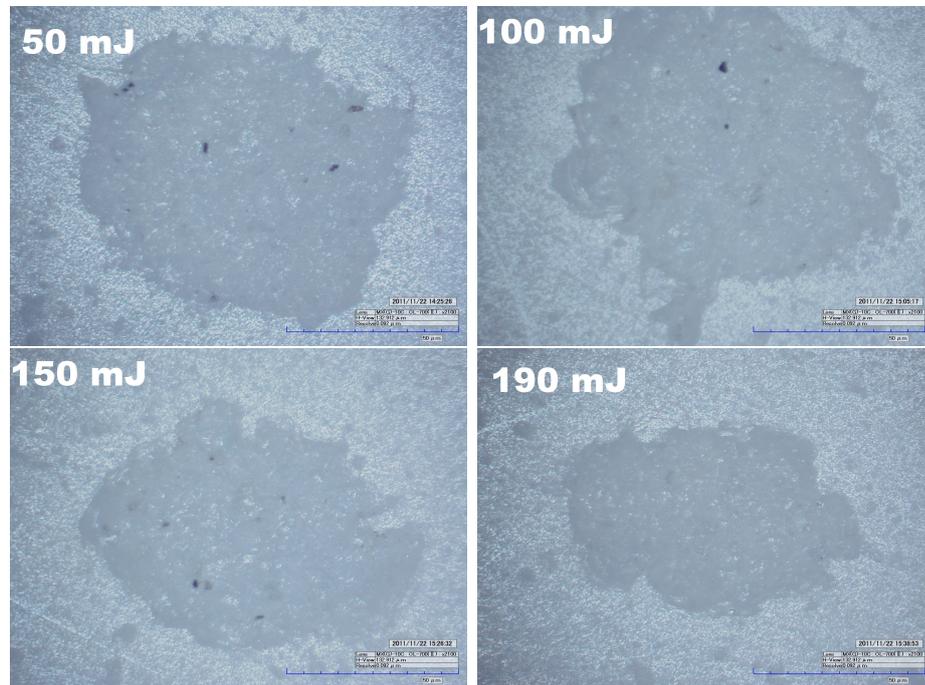


Figura 5.1: Imagens de microscopia digital dos furos realizados por 5 disparos de laser com energias de 50, 100, 150 e 190 mJ, nesta ordem. Escala 50µm

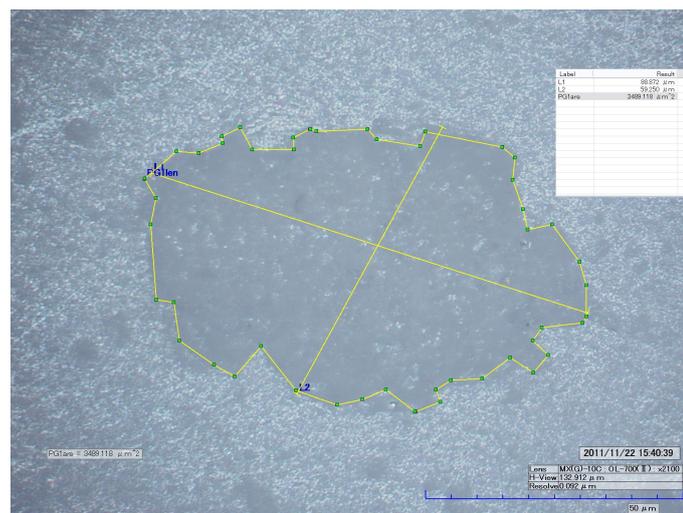


Figura 5.2: Imagem de microscopia digital do furo realizado após 5 disparos com 190 mJ de energia onde é realizada a medida de área. Escala 50µm

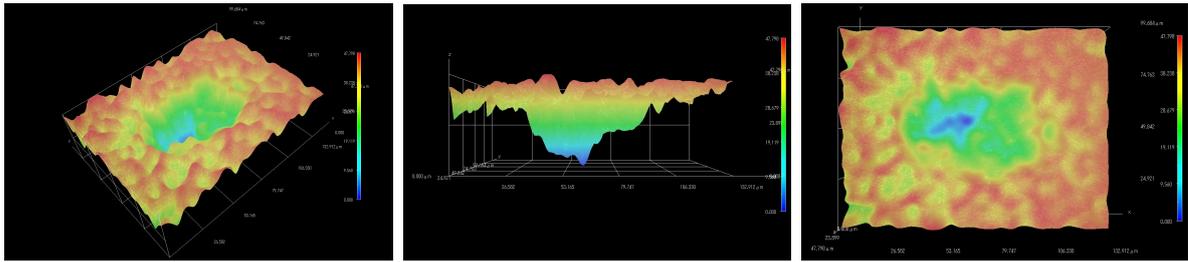


Figura 5.3: Perfil tridimensional do furo realizado após 5 disparos com 190 mJ de energia obtida por microscopia ótico digital. Escala vertical -  $50\mu\text{m}$

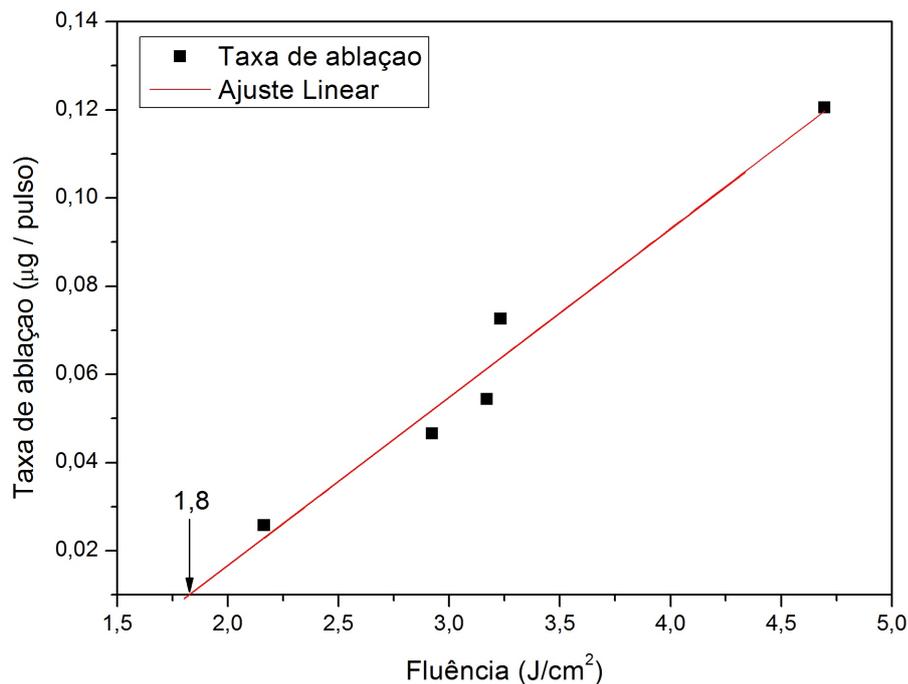


Figura 5.4: Comportamento da quantidade de material ablaçao pela fluência e a energia limite de ablação

Utilizando o perfil tridimensional (figura 5.3) foi possível também calcular o volume de material retirado do alvo após 5 disparos do laser. Além da quantidade de material retirado, outro parâmetro importante a ser obtido destas medidas é a energia limite de ablação, ou seja, a fluência mínima necessária para iniciar o processo de ablação. Da figura 5.4 é obtida a fluência mínima encontrada para ocorrer a ablação é de  $1,8 \text{ J}/\text{cm}^2$ , levemente menor que o valor encontrado na literatura,  $2,4 \text{ J}/\text{cm}^2$ . [14]

Na figura 5.4 é mostrada a relação da quantidade de material retirado por tiro com a fluência utilizada.

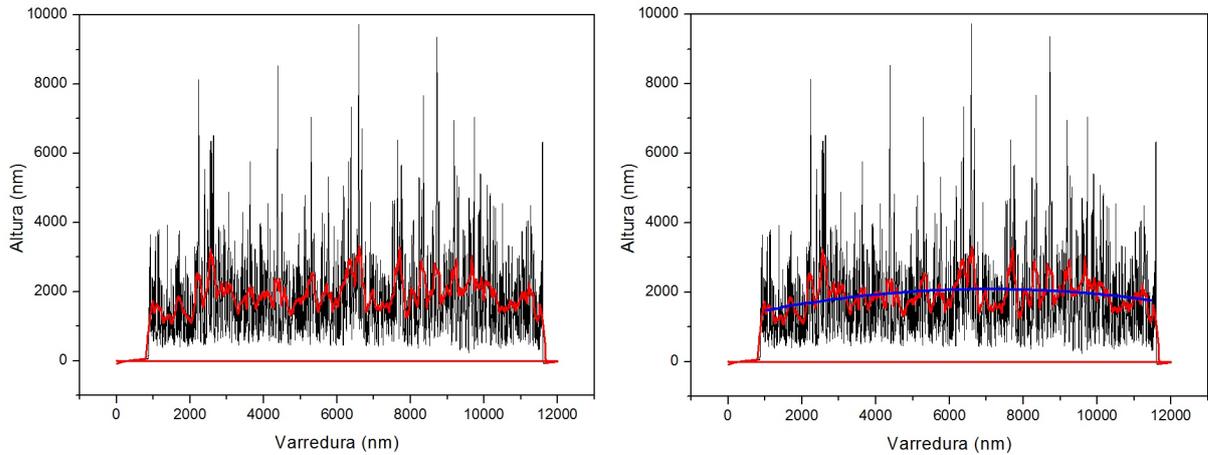


Figura 5.5: Ajuste da medida de perfilometria, suavização e ajuste parabólico

## 5.2 Taxa de deposição

Antes de se iniciar qualquer deposição é necessário escolher os parâmetros da ablação a serem utilizados de acordo com a aplicação desejada. É sabido que a espessura e a homogeneidade dos filmes são influenciadas por esses parâmetros, como visto no capítulo 3. Por isso foram realizadas medidas de perfilometria em filmes produzidos sob diferentes condições de energia, distância e tempo, como forma de calibração do sistema.

No capítulo anterior foi apresentada a técnica de perfilometria e como as medidas foram realizadas, porém nesta seção os resultados apresentados passaram por um tratamento prévio. Primeiro foi realizado uma suavização onde é retirado a média num retângulo de 500 pontos (figura 5.5, esquerda) e o resultado foi ajustado por uma parábola (figura 5.5, direita). A função parabólica foi escolhida pois aproxima bem uma distribuição cossenoidal que modela da densidade da pluma de plasma e dos particulados, como explicado no capítulo 3.

As amostras foram produzidas com máscara de  $1 \times 0,3 \text{ cm}^2$ , como mostrado na seção anterior, onde foram realizadas medidas horizontais e verticais. As medidas passaram pelo tratamento descrito e os resultados para as deposições realizadas com energias de 150 e 200 mJ, durante 2 minutos, a diferentes distâncias são mostradas na figura 5.6. A pressão foi mantida constante a  $3 \cdot 10^{-5} \text{ mbar}$  e a frequência dos pulsos do laser foi 10 Hz.

Para a produção de filmes espessos - sem preocupação com a homogeneidade - é possível utilizar todo o material ablacionado no filme, posicionando o substrato o mais próximo possível do alvo. Por outro lado, pode ser visto na figura 5.6 que a espessura se torna homogênea em filmes produzidos com distâncias maiores que 3 cm, além disto a espessura não varia mais com a distância. Este último resultado se deve à pequena variação sofrida

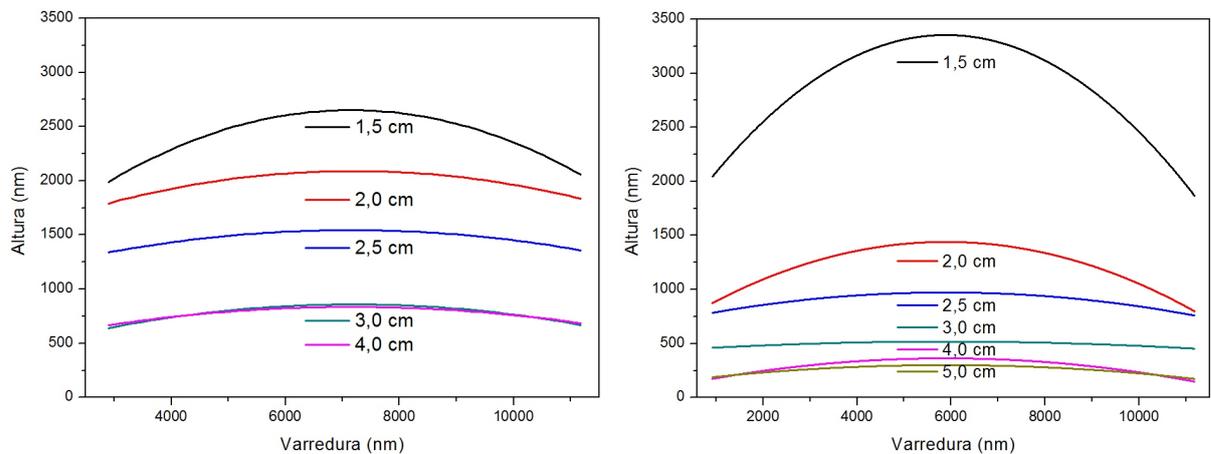


Figura 5.6: Perfil de espessura dos filmes produzidos com 150 e 200 mJ de energia a diferentes distâncias do alvo

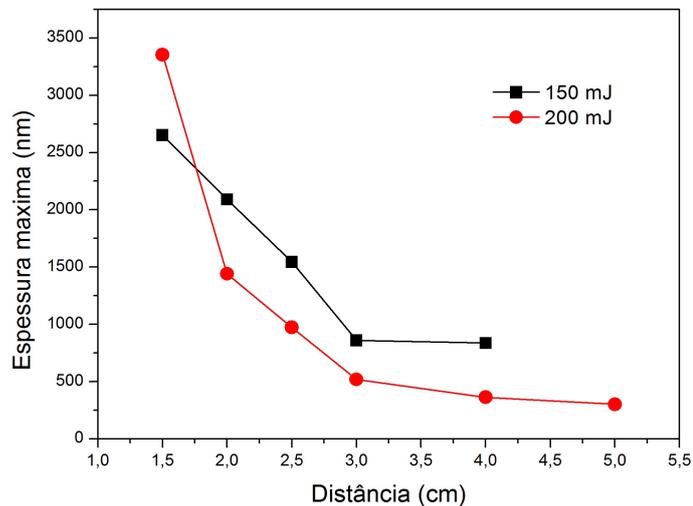


Figura 5.7: Valores de espessura máxima para as energias 150 e 200 mJ nas diferentes distâncias

pele ângulo de coleta a partir desta distância (figura 5.8, direita).

Os máximos da espessura são apresentados em função da distância na figura 5.7. Utilizando os dados de valores máximos apresentados, obtemos a tabela de taxa de deposição para cada energia e distância (tabela 5.2).

Comparando os valores alcançados por esta técnica com outros métodos, a menor taxa de deposição é 100 vezes maior que a taxa do sputtering convencional (0,03 nm/s) e 20 vezes maior que do dual magneto sputtering (0,1 nm/s). [5, 6]

Na figura 5.8 é mostrada a evolução da pluma de acordo com a energia (esquerda) e distância (direita) e o perfil do filme depositado no substrato. O aumento da energia do laser permite que a pluma se abra com maior rapidez, com maior ângulo de abertura,

Energia (mJ)	Distância $\pm 0,3$ (cm)					
	1.5	2.0	2.5	3.0	4.0	5.0
150	44.2	34.8	25.7	14.3	13.9	–
200	28.0	12.0	8.1	4.3	3.0	2.5

Tabela 5.2: Taxa de deposição máxima em nanômetros por segundo

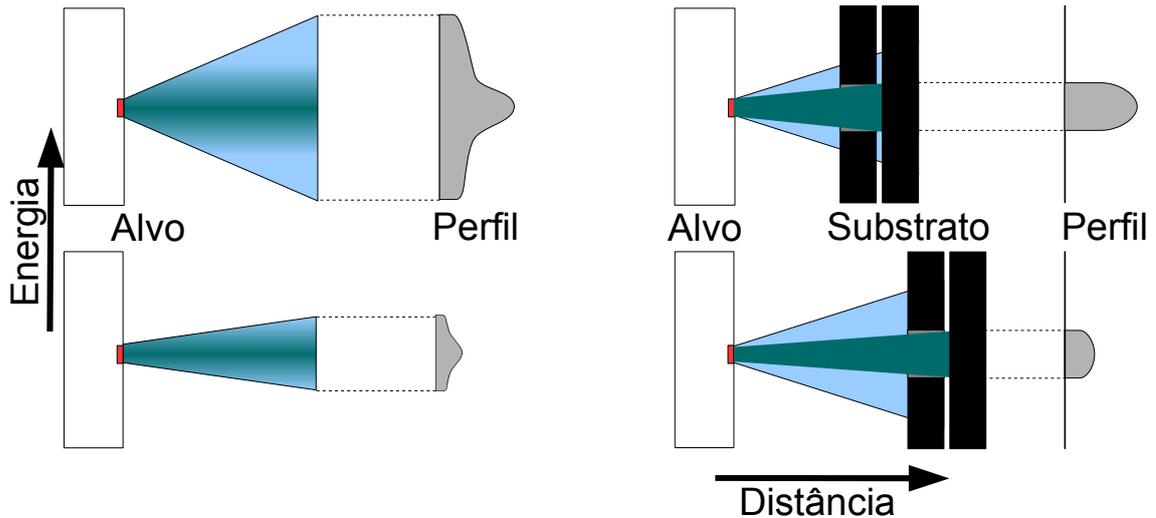


Figura 5.8: Distribuição da pluma com a variação da energia do feixe de laser e distância entre alvo e substrato

fazendo com que o material ablaçionado se distribua numa maior área. Com isso, ao diminuir o ângulo de coleta - aumento da distância, a taxa de deposição decresce mais rápido com a energia maior, de acordo com resultado mostrado na figura 5.7. Utilizando uma máscara, o ângulo de captação do material da pluma diminui quando afastamos o substrato do alvo com isso obtemos a diminuição da taxa de deposição, porém uma maior homogeneidade é alcançada.

Como visto, as taxas de deposição da ablação a laser é maior que as outras técnicas. Porém, as medidas apresentadas anteriormente são consideradas espessas para aplicação como recobrimento de implantes para uso médico. Contudo, como apresentada na tabela 5.2, é possível, com pouco tempo de deposição a uma certa distância, produzir um filme de apenas alguns nanômetros. Na figura 5.9 são apresentadas as espessuras de filmes produzidos com 10, 20 e 40 segundos. As condições utilizadas foram 200 mJ de energia a 4 cm de distância.

Na seção seguinte será apresentado, através da morfologia, como surgem os padrões de espessura e rugosidade apresentados na figura 5.9.

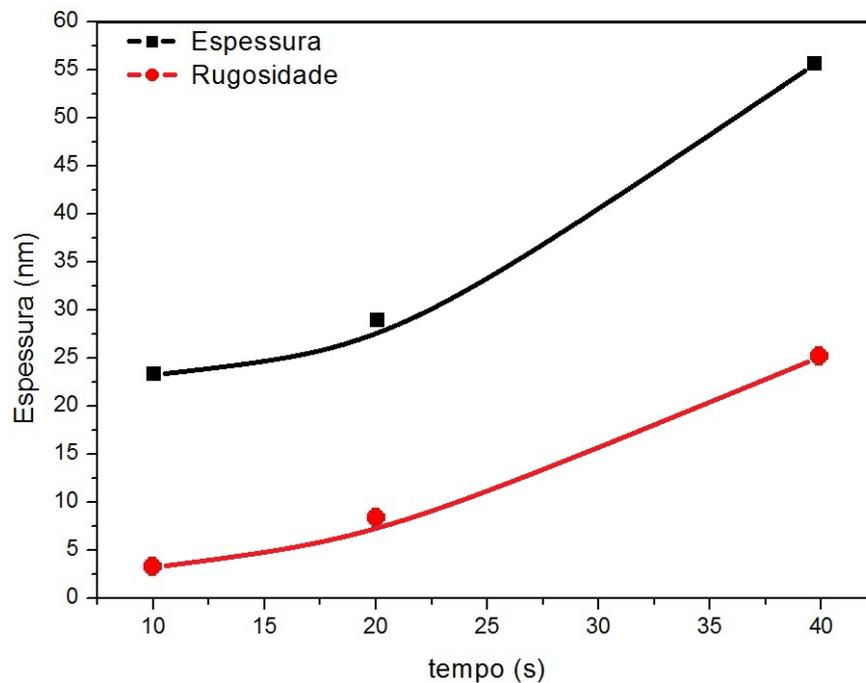


Figura 5.9: Evolução temporal da espessura e rugosidade, medidas por perfilometria, de recobrimentos produzidos com 200 mJ de energia a 4 cm do alvo

### 5.3 Morfologia, composição e estrutura

A seguir são apresentados os resultados relacionados à morfologia, composição e estrutura dos filmes produzidos em diferentes substratos, bem como suas dependências com os parâmetros de deposição.

#### 5.3.1 Componentes da pluma e tempo de formação dos recobrimentos

Assim como a espessura e a homogeneidade, a morfologia da superfície dos filmes também depende das variáveis do processo. Foram obtidas imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes produzidos com diferentes tempos, mostrados na figura 5.10, para estudar o início da formação dos recobrimentos.

Da morfologia podemos extrair informações importantes da interação do laser com o material, quais os constituintes da pluma e como se dá a formação dos filmes produzidos. Na figura 5.10 é mostrado a evolução temporal de uma deposição e do crescimento do filme. Utilizando o comprimento de onda 532 nm é esperado o aparecimento de particulados provenientes da pluma de ablação, como explicado no capítulo 3. Tais particulados são vistos em todas as imagens e a quantidade aumenta de acordo com o tempo.

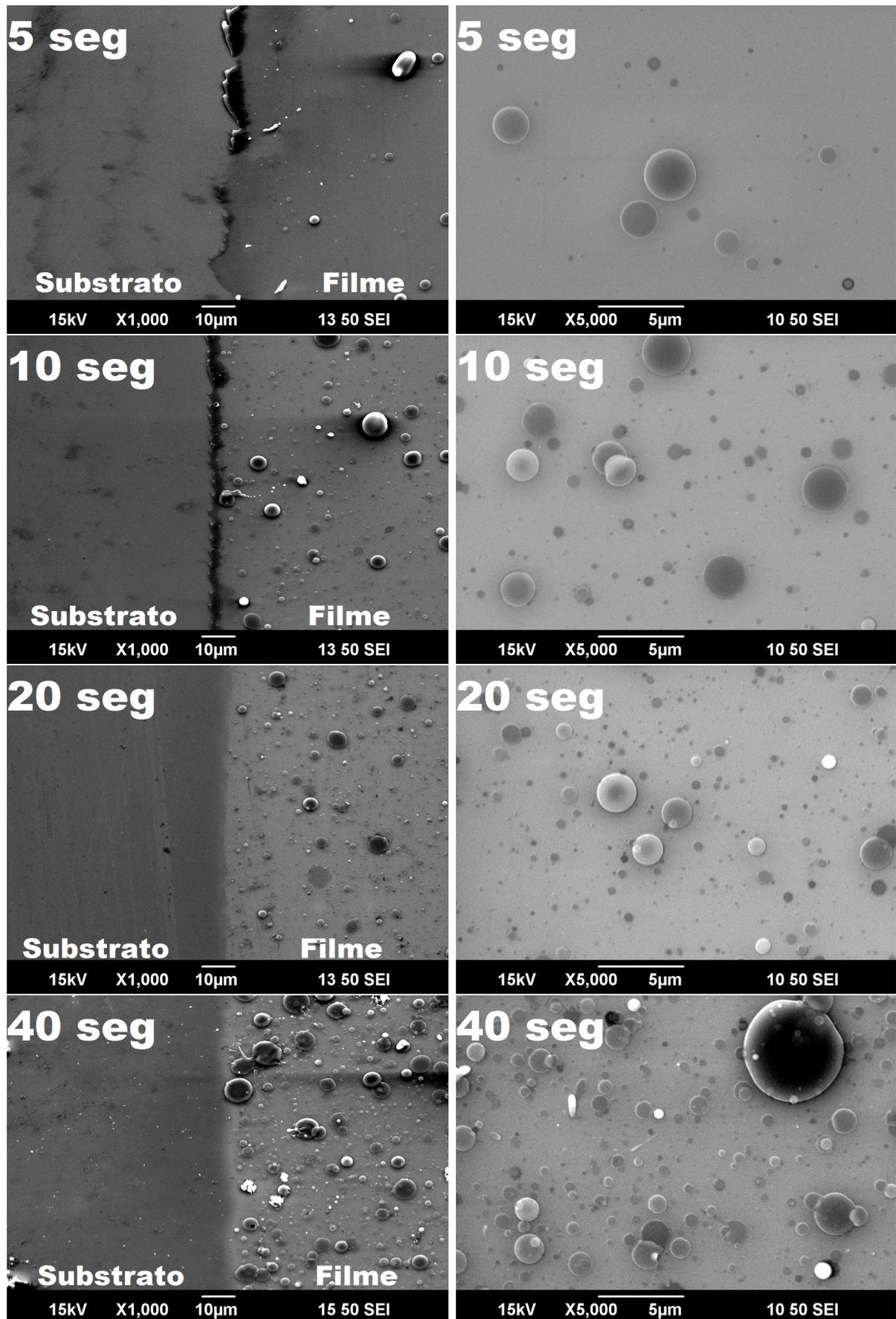


Figura 5.10: Imagens de microscopia eletrônica de varredura de filmes produzidos com 5, 10, 20 e 40 segundos sobre silício

Além dos particulados, o limite entre filme e substrato é visível, devido à máscara utilizada, e indica a existência de uma fina película de material, formado por átomos e moléculas, outro constituinte da pluma de ablação. O filme por fim é formado pela mescla entre grande particulados de diferentes tamanhos e uma fina camada de material nanoestruturado, exemplificado na figura 5.11. Na seção seguinte serão discutidas a relação destas estruturas com a estrutura cristalina dos filmes.

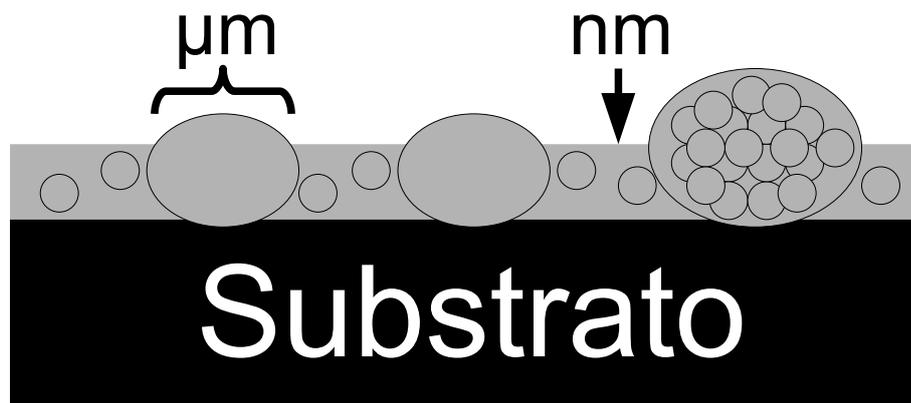


Figura 5.11: Formação dos filmes

Na figura 5.12 é mostrado a evolução temporal da distribuição de tamanhos dos particulados encontrados no substrato. A distribuição é concentrada em torno de 250 nm de diâmetro e com o tempo vai se tornando mais larga, indicando que mais partículas de tamanhos variados são depositadas.

A medida que o tempo de deposição aumenta, mais partículas vão preenchendo a área do substrato e, segundo a figura 5.13 que apresenta a área recoberta e o número de particulados, todo substrato é recoberto com particulados em aproximadamente 2 minutos.

### 5.3.2 Efeito do tratamento térmico

Utilizando substratos de silício foram produzidos filmes espessos para caracterização de composição e estrutura. Utilizando 250 mJ de energia e 10 Hz de frequência, a ablação foi realizada por 4 minutos sob 3 pressões parciais de oxigênio a 3 distâncias entre alvo e substrato, totalizando 9 condições. Produzidos sob as mesmas condições, outros 9 filmes passaram por tratamento térmico a 450°C por 2 horas com o intuito de torná-los completamente cristalinos, caso houvesse alguma fase amorfa. Esta temperatura foi escolhida de acordo com [45]. Utilizando os resultados da seção anterior, é traçada uma

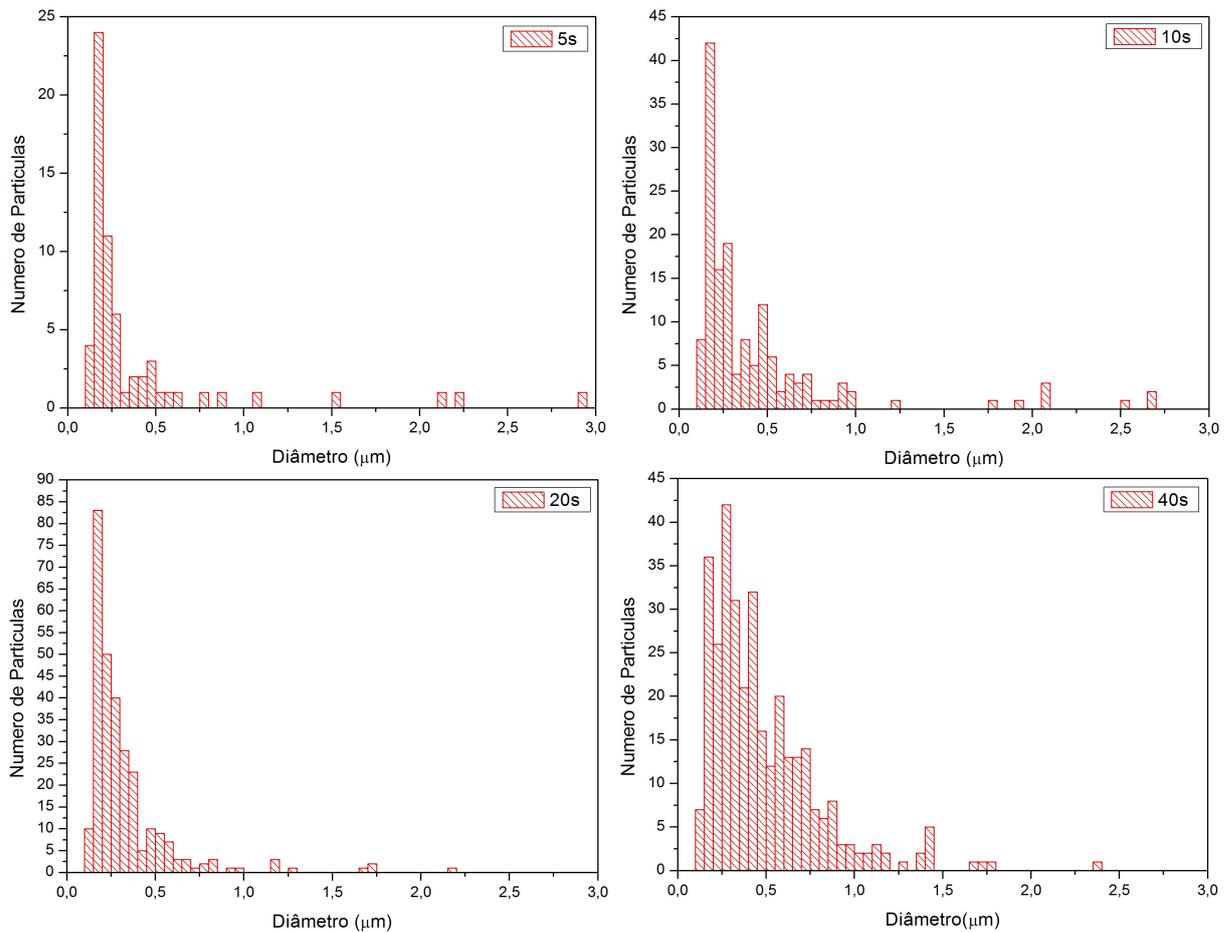


Figura 5.12: Evolução temporal do tamanho de partículas obtida das imagens de microscopia eletrônica

relação da morfologia com a estrutura e a composição filmes, antes e após o tratamento térmico.

Nessa seção serão apresentados apenas os resultados dos filmes produzidos a 3 cm sob as diferentes pressões, visto que os resultados para as outras distâncias foram semelhantes. Segue na tabela 5.3 as condições utilizadas e as taxas de deposição obtidas.

Como visto na seção anterior, ao utilizar uma energia mais alta, a espessura reduz drasticamente a partir de 3 cm de distância, devido ao aumento da dispersão dos componentes da pluma. Da tabela pode-se concluir também que existe uma tendência a diminuir a taxa de deposição com o aumento da pressão, pois a mesma dificulta a propagação da pluma, reduzindo o caminho médio de seus componentes.

A morfologia do filme produzido a 3 cm de distância sob  $3E-5$  mbar é apresentada, antes e depois do tratamento térmico (figura 5.14). O mesmo é constituído de particulados imersos em camadas de nanopartículas (figura 5.11), porém os particulados se sobressaem

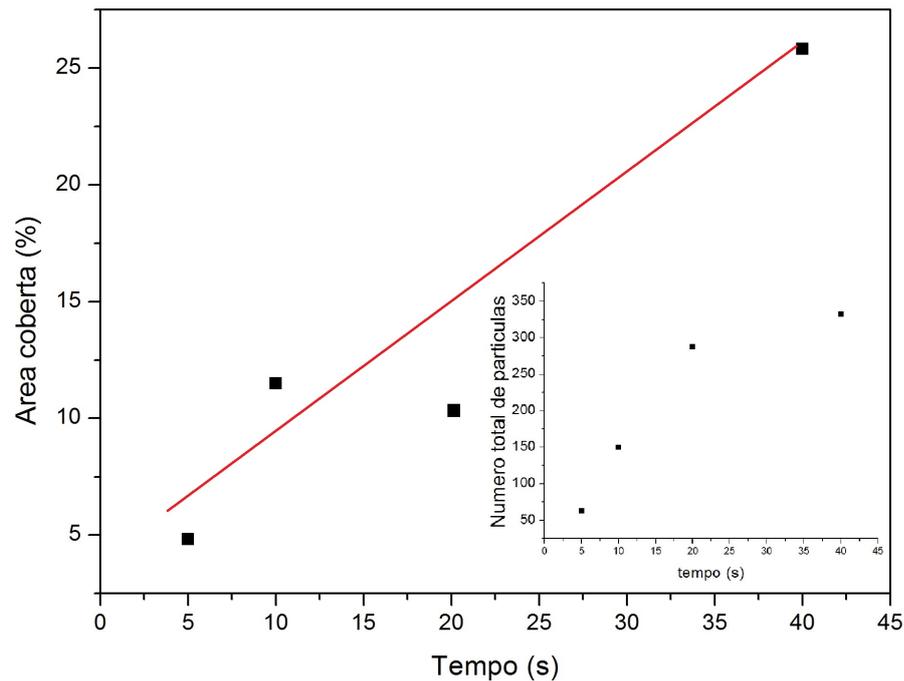


Figura 5.13: Evolução temporal do número de partículas e área coberta

Pressão Oxigênio (mbar)	Distância $\pm 0,3$ (cm)		
	2.0	3.0	4.0
$3,5 \cdot 10^{-5}$	10.5	5.3	5.3
$2,0 \cdot 10^{-4}$	7.8	7.3	3.0
$2,0 \cdot 10^{-5}$	3.8	2.7	4.3

Tabela 5.3: Taxa de deposição máxima em nanômetros por segundo

devido ao elevado tempo de deposição.

As imagens de microscopia do filme antes do tratamento de  $450^{\circ}\text{C}$  (figura 5.14) mostram alta homogeneidade e que não possuem rachaduras. São altamente rugosos, com particulados (de até 7  $\mu\text{m}$ ) e algumas finas agulhas. Tais particulados, em geral esféricos, se encontram em um fundo homogêneo de partículas menores que 100 nm.

Após a realização do tratamento térmico (figura 5.15), a rugosidade e o número de partículas diminui, mas não significativamente e a homogeneidade não é modificada. O tratamento também elimina as agulhas antes observadas e ocorre a aglomeração de nanoestruturas em pequenos particulados.

Apesar de não haver uma mudança morfológica considerável, a menos do desaparecimento das agulhas, a partir dos espectros de absorção de infravermelho é possível observar uma grande mudança estrutural e de composição com o aumento da pressão de gás oxi-

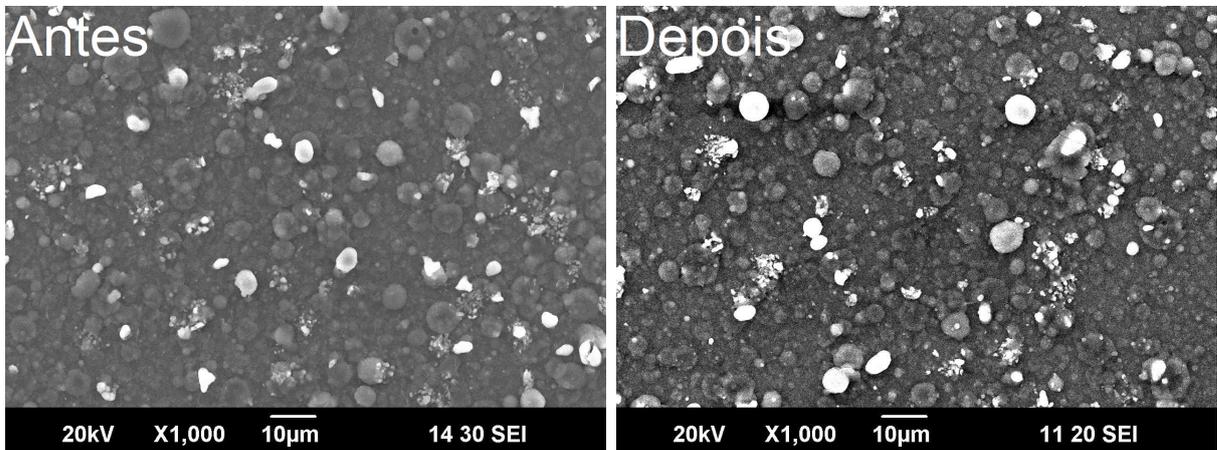


Figura 5.14: Microscopia eletrônica de varredura dos filmes produzidos a  $3E-5$  mbar e 3 cm de distância, antes e após o tratamento térmico a  $450^{\circ}C$  ampliados x1000

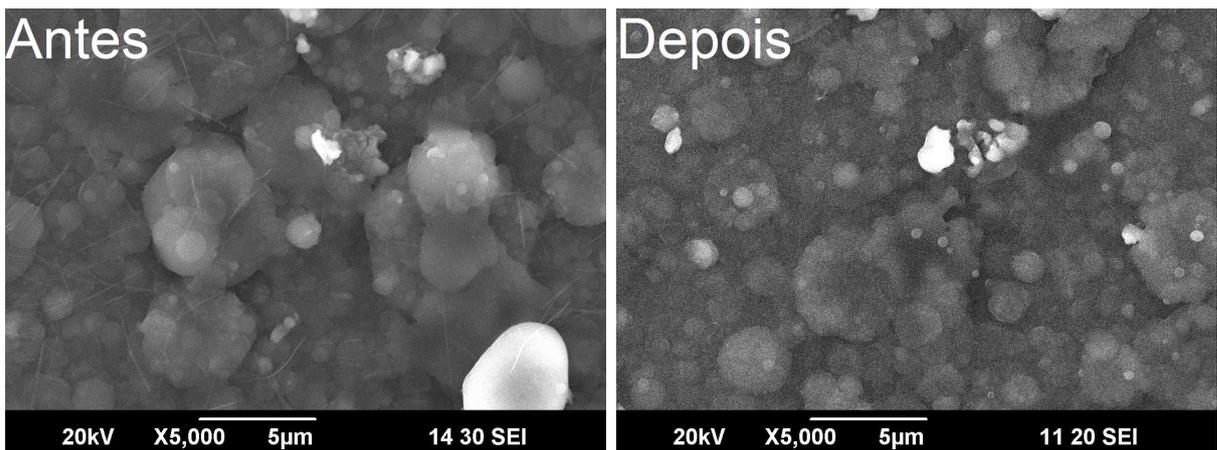


Figura 5.15: Microscopia eletrônica de varredura dos filmes produzidos a  $3E-5$  mbar e 3 cm de distância, antes e após o tratamento térmico a  $450^{\circ}C$  ampliados x5000

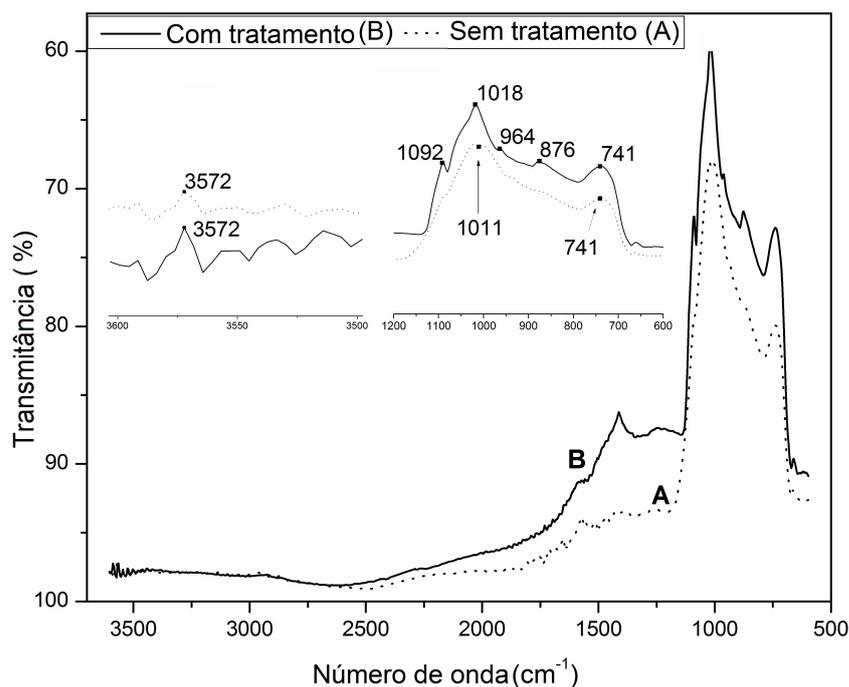


Figura 5.16: Espectro de FTIR dos filmes produzidos a  $3.10^{-5}$  mbar e 3 cm do alvo, antes e depois do tratamento térmico

gênio ou após o tratamento térmico.

Em relação ao tratamento térmico, vê-se que o espectro do filme sem tratamento térmico (figura 5.16 A) apresenta as principais bandas dos fosfatos de cálcio, destacada banda dos estiramentos do  $\text{PO}_4^{3-}$  (em torno de 1018) mas sem definição dos ombros centrados em 964 e 1092. Os mesmos encontram-se levemente deslocados em relação ao espectro do alvo de HA, devido às tensões superficiais existentes por se tratar de um filme. São também observadas as bandas largas de absorção de água e substituição do  $\text{PO}_4^{3-}$  pelo  $\text{CO}_3^{2-}$  em torno de 3500 e 1400, respectivamente.

Após o tratamento térmico (figura 5.16 B) a cristalinidade aumenta, como pode ser visto com a definição das bandas 964 e 1092 e a diminuição da largura das bandas vibracionais de todo o espectro. A quantidade de  $\text{CO}_3^{2-}$  aumenta e ocorre a substituição dos grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  (pico 876). Apenas o pico 741 não foi identificado. Em ambas é observado o pico 3572, específico da HA, demonstrando a existência inequívoca desta fase nos filmes.

Também foram realizadas medidas de difração de raios-x para caracterizar a estrutura e as fases existentes nos filmes. Na figura 5.17 é apresentado o difratograma de raios-x do filme produzido a 3 cm de distância sob  $3E-5$  mbar, antes e após o tratamento térmico.

O filme recém produzido possui duas estruturas distintas, uma cristalina e outra nanocristalina, que são explícitas no difratograma (figura 5.17 B) na forma de picos e uma linha de base na região central característica da HA, respectivamente. O mesmo

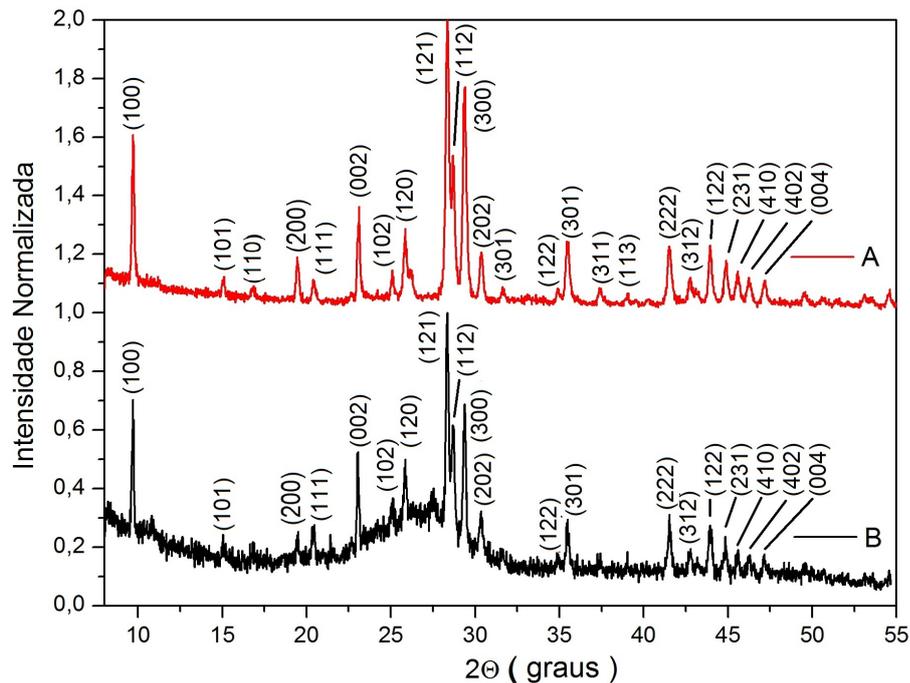


Figura 5.17: Difratoograma de raios-x dos filmes produzidos a  $3.10^{-5}$  mbar e 3 cm do alvo, antes (B) e após (A) o tratamento térmico

apresenta crescimento preferencial na direção (100) perpendicular à superfície. A quantidade de material amorfo foi aproximada, pela área da região central, em 56 % do material existente no filme. O tratamento térmico cristaliza o filme completamente (figura 5.17 A) e não é possível observar nenhuma outra fase de óxidos ou fosfatos de cálcio, o que significa que a estequiometria do alvo foi mantida.

As duas estruturas citadas, existentes no difratograma, são claramente distintas na morfologia dos filmes. Ambos, agulhas e nanocristais, são responsáveis pelo sinal largo na região central, entre 20 e 35°. A presença de nanoestruturas é importante na fase de utilização dos implantes pois são mais solúveis no meio aquoso em relação à fase cristalina e é reconhecido pelas células do corpo hospedeiro, iniciando o processo de adesão e osseointegração. [8,33] Entretanto, filmes que consistem apenas de material nanométrico não possuem a rugosidade necessária para a adesão celular [13] e não são recomendados para recobrimento de implantes pois, devido à alta solubilidade, sua vida útil seria baixa.

Outros componentes morfológicos encontrados nos filmes são particulados provenientes do alvo, como visto no capítulo sobre ablação. Por serem provenientes diretos do alvo, mantém sua cristalinidade e a estequiometria e tal resultado pode ser visto pela existência de picos da HA no difratograma de raios-x antes do tratamento e, após o tratamento térmico, não haver outra fase senão a HA. Além das características do alvo serem reproduzidas, os particulados tornam o filme rugoso, contornando o problema dos filmes que

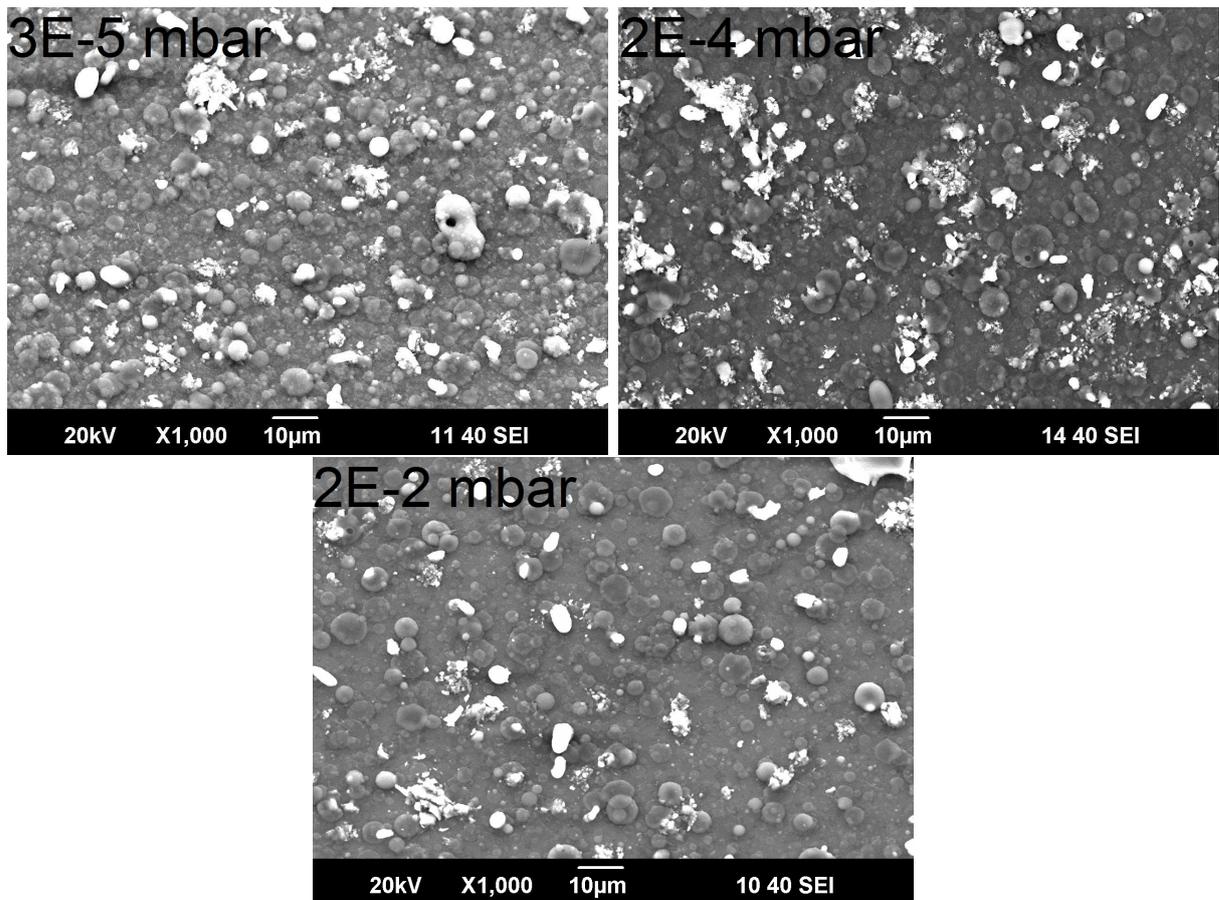


Figura 5.18: Microscopia dos filmes produzidos a 3 cm de distância sob pressões de  $3 \cdot 10^{-5}$ ,  $2 \cdot 10^{-4}$  e  $2 \cdot 10^{-2}$  mbar de gás oxigênio

possuem apenas nanoparticulados e aumentando a vida útil dos implantes.

### 5.3.3 Efeito da pressão parcial de gás oxigênio

A morfologia do filme produzido sob diferentes pressões de gás oxigênio é apresentada (figura 5.18). O aumento da pressão produz uma leve redução da rugosidade, porém não é observada uma grande mudança morfológica dos filmes. O tamanho de partículas também não é alterado.

A partir dos espectros de absorção de infravermelho é possível observar uma grande mudança estrutural e de composição com o aumento da pressão de gás oxigênio. Na figura 5.19 é apresentado o que ocorre se a pressão de gás oxigênio na câmara de ablação é aumentada (A  $\rightarrow$  B). São identificados em ambos espectros as principais bandas dos fosfatos (em torno de 1018) e ocorre uma substituição destes grupos pelo grupo carbonato visto pelo crescimento de uma banda alargada em torno de 1500. O alargamento de uma

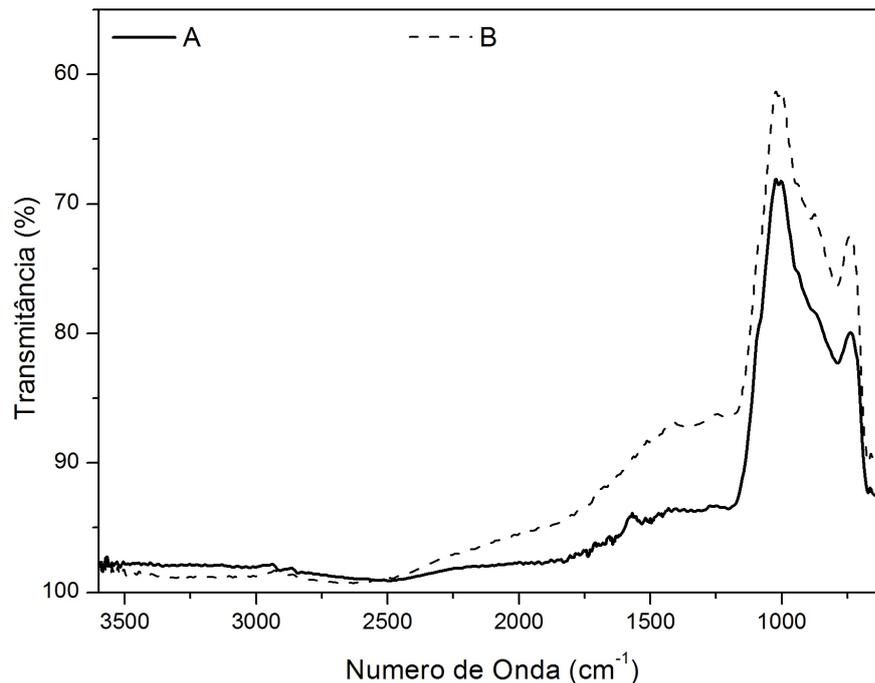


Figura 5.19: Espectro de FTIR dos filmes produzido a  $3 \cdot 10^{-5}$  (A) e  $2 \cdot 10^{-4}$  (B) mbar de gás oxigênio e 3 cm do alvo

banda significa a perda de ordenamento de longo alcance.

Com a intenção de estudar de forma mais profunda os efeitos da pressão parcial de gás oxigênio utilizada durante a deposição sobre a composição e estrutura, filmes da HA foram produzidos sobre substratos de silício recobertos com um filme fino de 100 nm de titânio depositado por feixe de elétrons (Si/Ti(100nm)). Os filmes foram produzidos utilizando 250 mJ de energia, 10 Hz de frequência de pulso e 3,5 cm de distância entre alvo e substrato, por 2 minutos.

Na figura 5.20 é apresentada a razão entre os elementos cálcio e fósforo (Ca/P) das amostras produzidas nas condições descritas, obtidas através de medidas de composição por EDS. Na mesma figura são mostrados linhas horizontais com os valores esperados da razão Ca/P ideal da HA e da medida obtida do alvo de HA. As outras duas curvas são referentes aos filmes sob diferentes condições de pressão, considerando os dados com a interferência do substrato (total) e sem o mesmo (sem substrato). Na análise total, a razão Ca/P pode ser influenciada pela espessura do filme, levando a uma menor interação entre o feixe a amostra. Essa diminuição é vista no gráfico como uma redução da razão Ca/P. Como a informação obtida por EDS tem alta penetração, foi necessário subtrair do espectro total a contribuição do substrato. Assim, desconsiderando o substrato, a razão se mantém praticamente constante em torno de 2,0.

Independente do método, é obtida uma razão Ca/P sempre maior do que a encontrada

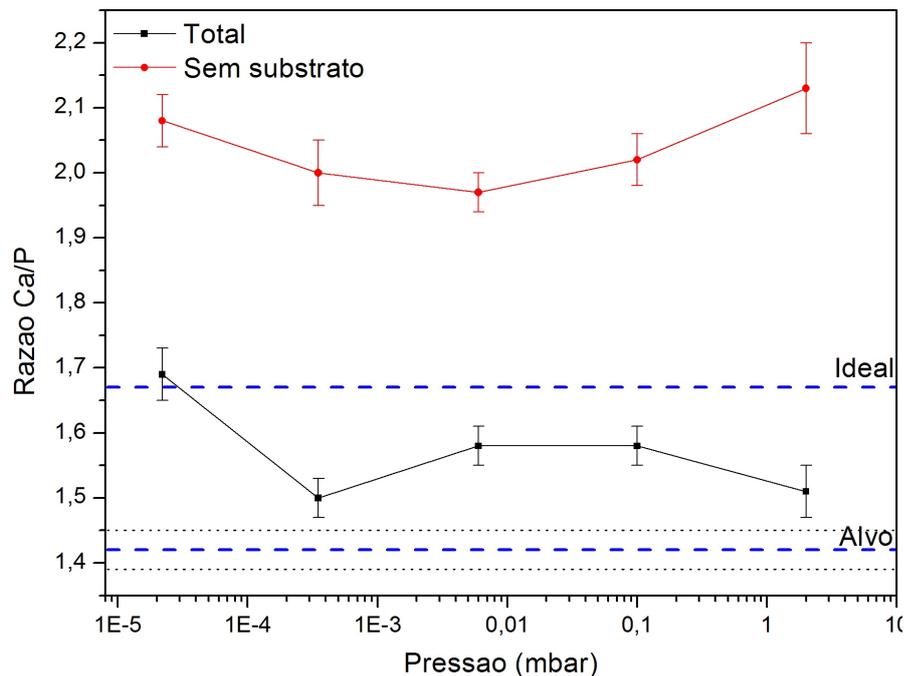


Figura 5.20: Razão Ca/P para amostras produzidas sob diferentes condições de pressões de gás oxigênio

no alvo. Tal resultado pode ser atribuído à diminuição do fósforo superficial devido a substituição do grupo fosfato pelo carbonato, absorvido da atmosfera após a deposição. Convém ressaltar que os valores de razão Ca/P encontrados abaixo do ideal corroboram com medidas de XPS realizadas no pó de HA estequiométrica e em seus filmes indicam que a superfície dos mesmos é deficiente em cálcio, com a razão  $\text{Ca/P} = 1,48 \pm 0,08$ . [5]

Os espectros de FTIR da figura 5.21 apresentam as bandas características dos fosfatos de cálcio - em torno de  $1050 \text{ cm}^{-1}$ , com picos característicos de  $964$  a  $1099 \text{ cm}^{-1}$  - novamente deslocados devido às tensões de superfície. Com o aumento da pressão parcial de gás oxigênio na câmara, ocorre uma leve perda na cristalinidade, mostrado pelo alargamento dos picos. Semelhante ao resultado mostrado anteriormente, ocorre uma substituição das bandas do grupo fosfato pelo grupo carbonato, coerente com o resultado de EDS que indicam filmes com menor concentração de fósforo. As bandas vibracionais em  $1431$ ,  $1585$  e  $2920$ , são características desta substituição. [5, 10, 11] A pressão elevada também provoca maior absorção das bandas de água (em torno de  $3400$ ).

O aumento da pressão não tem um fator expressivo sobre a estrutura. Não promove o surgimento de nenhuma nova fase, como pode ser visto nos difratogramas da figura 5.22. Porém a quantidade de material amorfo presente no filme, obtido pela área da região central dos difratogramas mostra uma pequena redução, de 50 para 40 %.

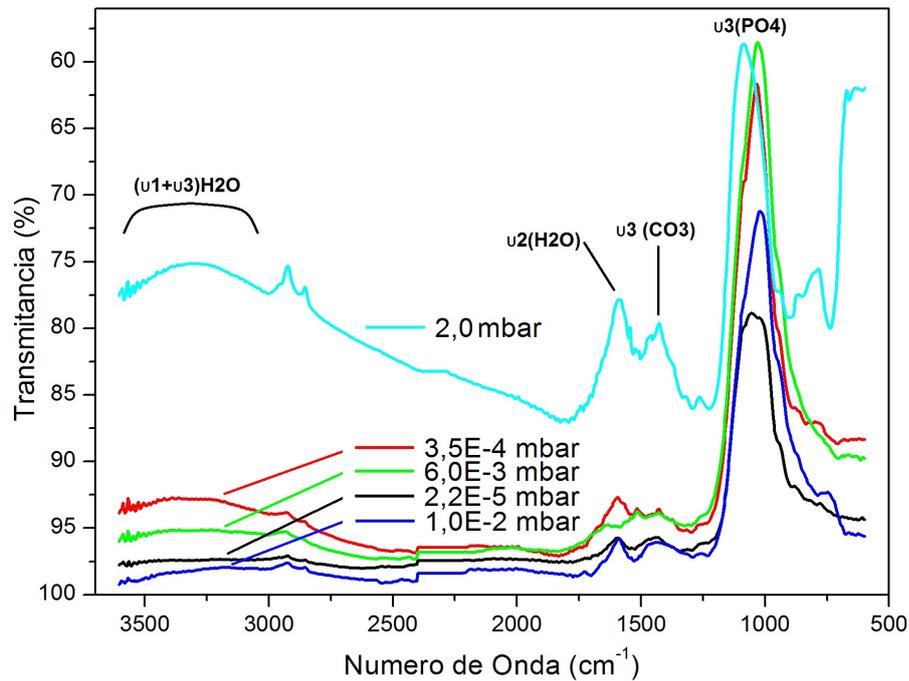


Figura 5.21: Espectro de FTIR dos filmes produzidos sob diferentes pressões de gás oxigênio e 3,5 cm do alvo

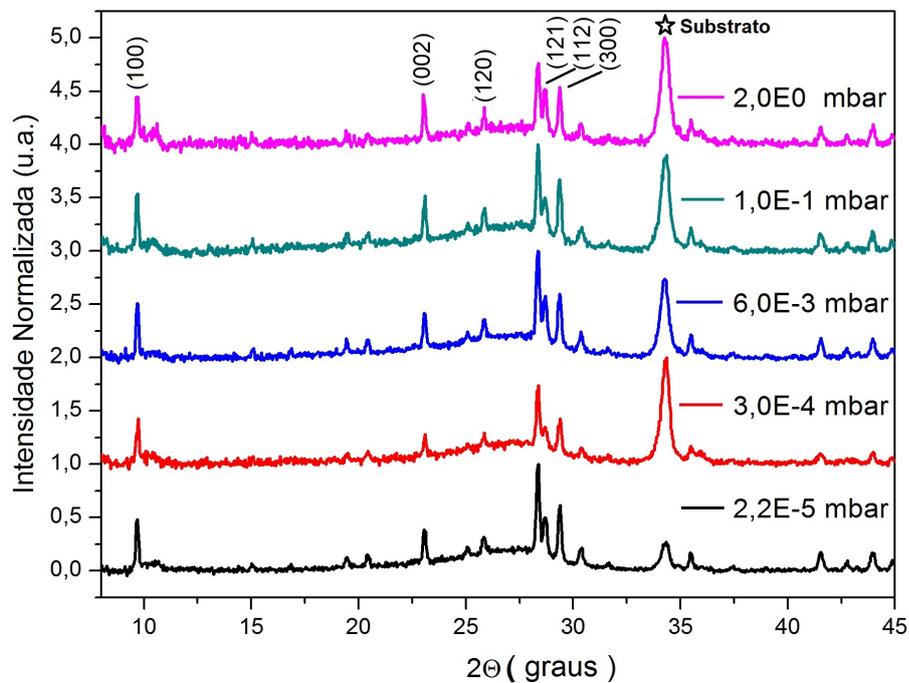


Figura 5.22: Difração de raios-x dos filmes produzido sob diferentes pressões de gás oxigênio e 3,5 cm do alvo

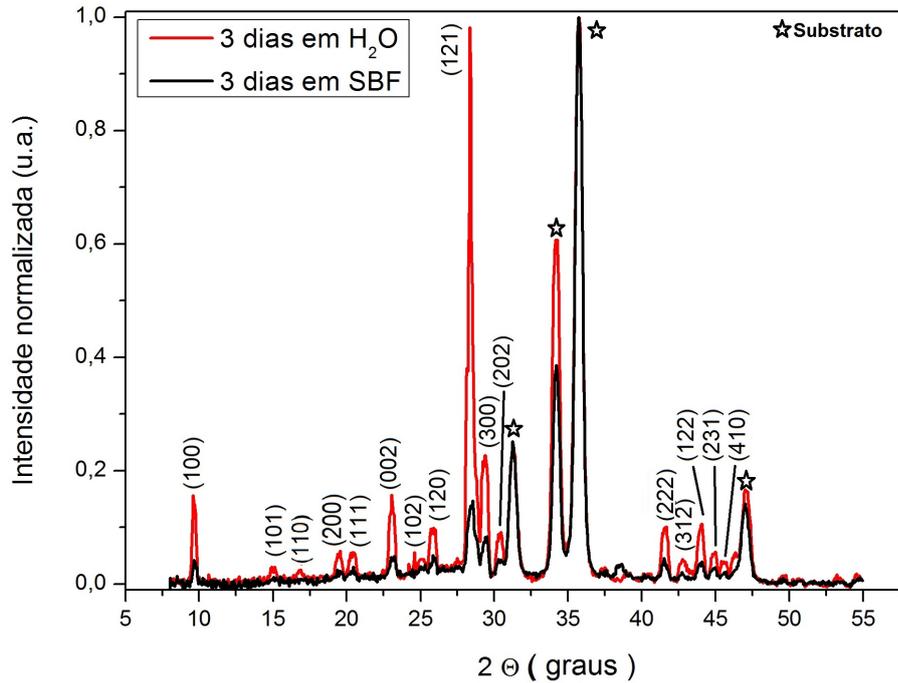


Figura 5.23: Difratoograma de raios-x de recobrimentos sobre titânio produzidos a  $3.10^{-5}$  mbar imersos por 3 dias em água deionizada e SBF

### 5.3.4 Testes com Fluido Corpóreo Simulado (SBF)

A biocompatibilidade e a solubilidade dos recobrimentos foi testada *in-vitro* em SBF, neste caso, representada pela capacidade de forçar a precipitação de fosfatos de cálcio a partir dos íons presentes no SBF. Recobrimentos produzidos sobre substratos de titânio foram imersos em SBF e em água deionizada - controle - por 3 e 5 dias e então analisados por difração de raios-x de baixo ângulo.

Os recobrimentos foram produzidos em vácuo ( $3.10^{-5}$  mbar) e parte foi tratada termicamente a  $450^{\circ}\text{C}$  para remoção da fase amorfa existente, já mostrada anteriormente. Antes do tratamento térmico, se comparada com a amostra produzida nas mesmas condições antes da imersão (figura 5.17, B), a fase amorfa existente é dissolvida, tanto em água como em SBF, como pode ser visto na figura 5.23. Tal resultado contribui com a afirmação que a estrutura cristalina é menos solúvel, mais estável em solução, que a fase amorfa. O mesmo resultado pode ser encontrado com amostras produzidas com RFMS. [6]

Se mantido em água deionizada por 5 dias, também é observada uma possível precipitação, porém a fase amorfa reaparece (figura 5.24). Nenhuma fase contaminante foi encontrada nos difratogramas.

Entretanto, quando a amostra não possui nenhuma fase amorfa, é possível observar que a fase cristalina também é dissolvida, seja em água deionizada ou SBF, mostrada na

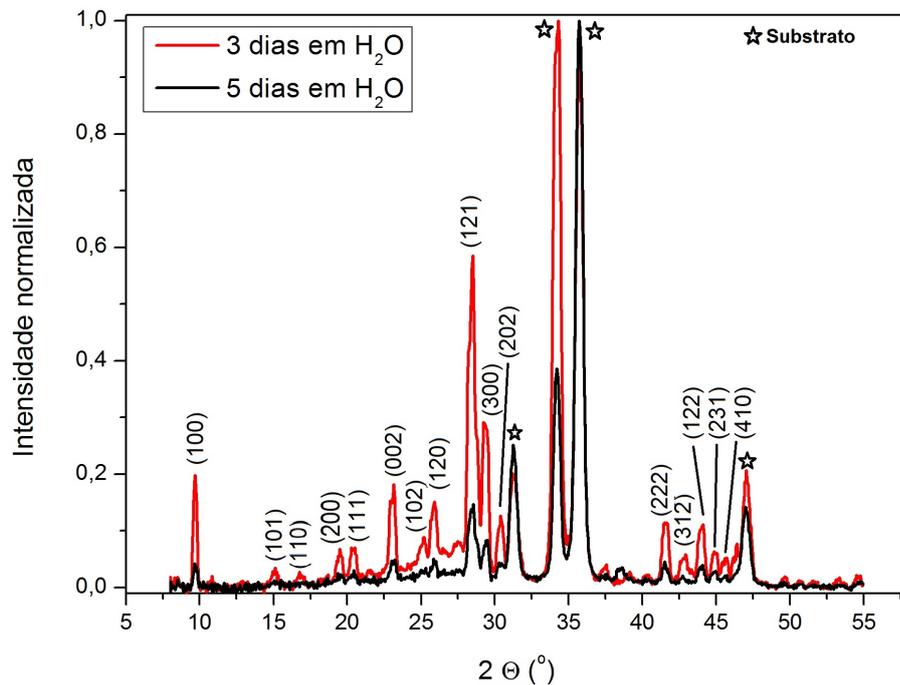


Figura 5.24: Difratograma de raios-x de recobrimentos sobre titânio produzidos a  $3.10^{-5}$  mbar imersos por 3 e 5 dias em água deionizada

redução da intensidade dos picos encontrados na figura 5.25.

O diferente comportamento entre as duas fases, amorfo e cristalino, contribuem no entendimento do mecanismo de adesão e na escolha dos parâmetros de deposição. A fase amorfa é mais solúvel que a cristalina, reduzindo o tempo de vida do implante. Porém é esta que induz o crescimento de uma nova camada de fosfato de cálcio. A fase cristalina é menos solúvel, contribui com o tempo útil do recobrimento e mantém o metal isolado do meio biológico. Ambas são desejadas, se suas proporções forem controladas.

### 5.3.5 Testes com cultura de células ósseas - preliminares

O teste se deu, além dos filmes produzidos, em lamínulas thermanox (Therma) previamente tratadas com 0.1% de gelatina de porco, conferindo cerca de 95-100% de adesão às células em 24h (figura 5.26) como controle e, a título de comparação, em substratos de titânio puro jateado e limpo (figura 5.26).

No substrato de controle foi observada uma adesão excelente como o esperado. Isto serviu para indicar que o ambiente utilizado era propício e as células utilizadas estavam saudáveis. Também nos substratos de titânio puro, as células se acomodaram sobre os defeitos produzidos pelo jateamento de areia, porém sobre as células são observadas, além das estruturas vesiculares, algumas estruturas tubulares que podem indicar estresse celular

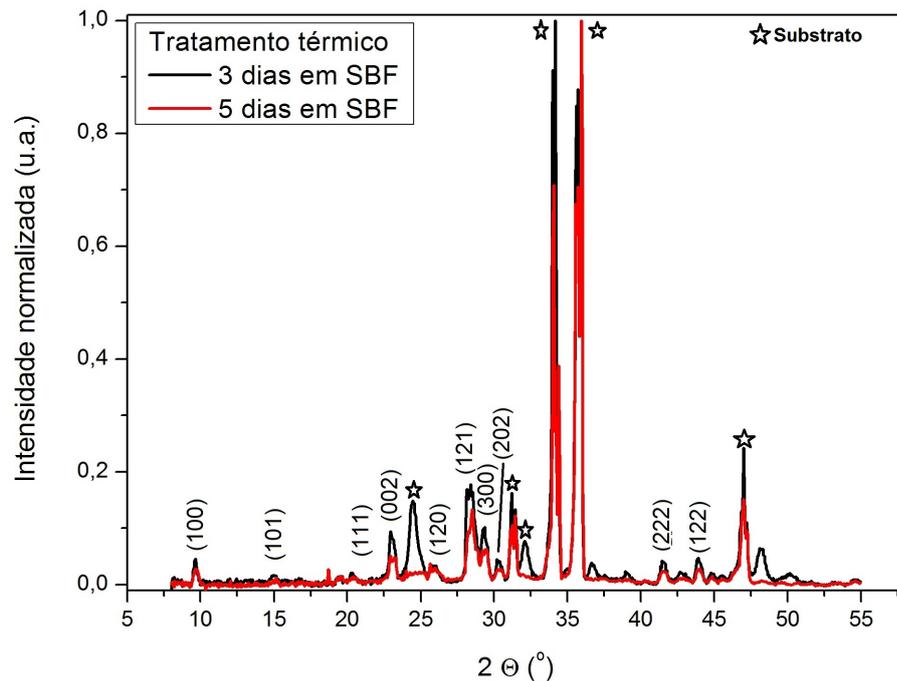


Figura 5.25: Difratoograma de raios-x de recobrimentos sobre titânio produzidos a  $3.10^{-5}$  mbar, tratados termicamente e imersos por 3 e 5 dias em SBF

relacionado à morfologia.

É possível observar uma grande diferença na morfologia entre o titânio puro e titânio recoberto com o HA. O efeito do jateamento produz uma rugosidade média, onde existem buracos e elevações de no máximo 2 micrômetros, menores que o tamanho convencional da célula. O filme porém, devido aos particulados micrométricos que o constituem, possuem elevações de mais de 3 micrômetros (figura 5.27). Na figura 5.28 a presença dos particulados é mostrado em detalhe.

A figura 5.28 mostra em detalhe uma deformação causada na parte central da célula, mantendo-a afastada do recobrimento em si. Além disso são observadas ainda maior quantidade de estruturas tubulares na superfície da célula, significando mais estresse relacionado à morfologia. A hipótese de elevada acidez foi levantada, visto que os espectrogramas de absorção de infravermelho acusaram a existência do grupo carbonato e o mesmo poderia aumentar a acidez do meio, porém o pH foi monitorado durante todo o experimento e não houve modificação do mesmo.

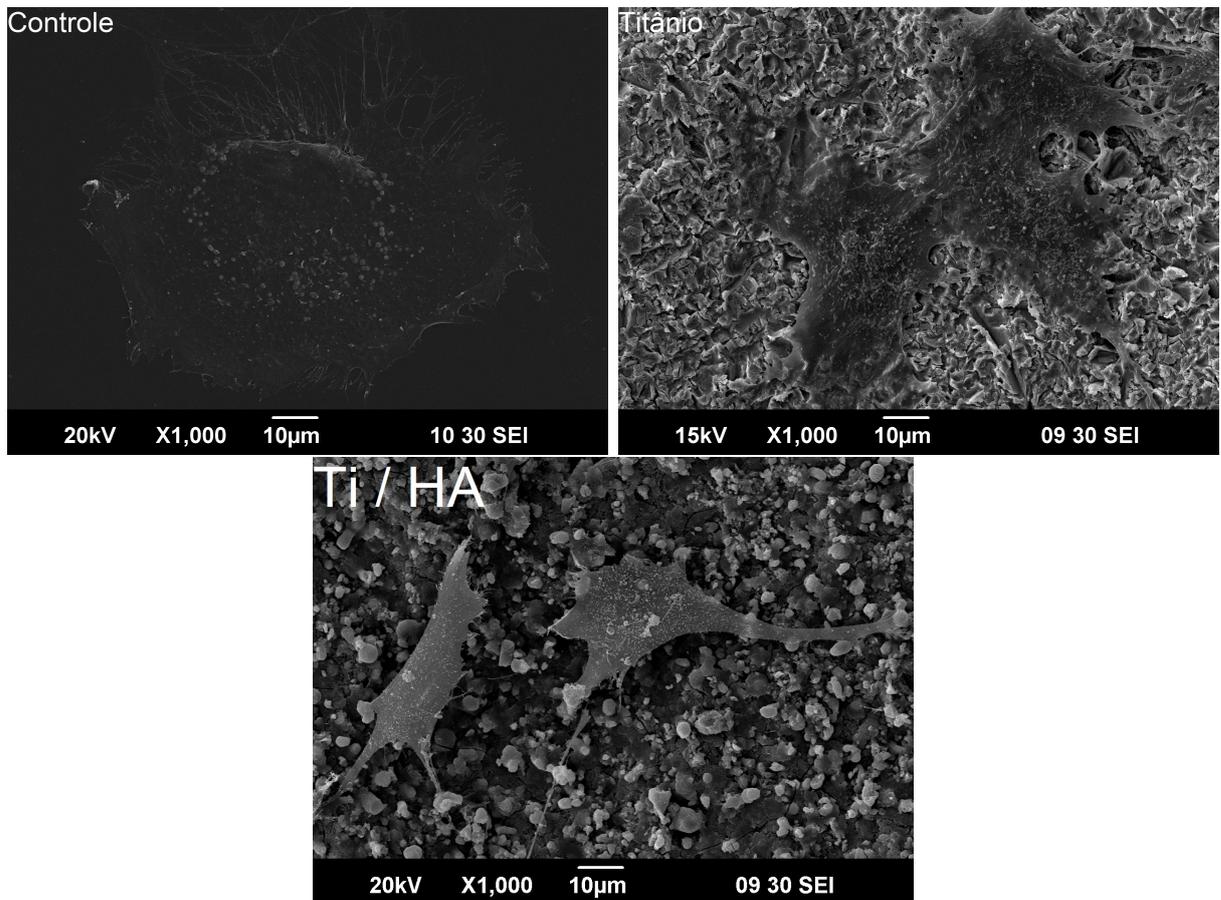


Figura 5.26: Imagens de microscopia eletrônica da lamínula de controle, do titânio e dos recobrimentos com as células aderidas

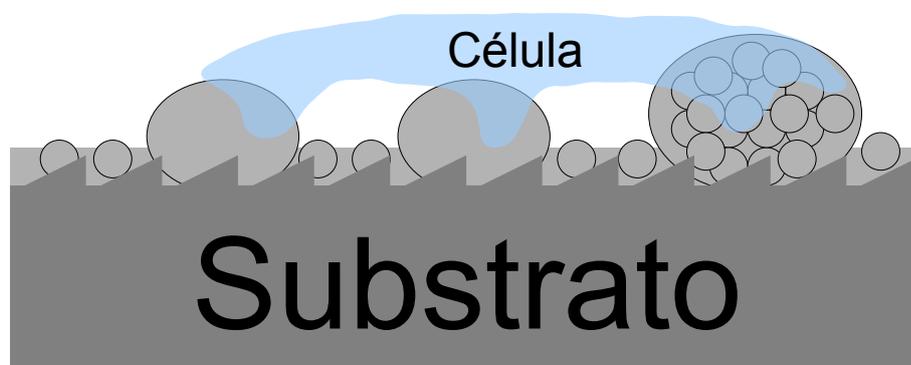


Figura 5.27: Representação da morfologia do substrato de titânio puro e com o recobrimento de HA

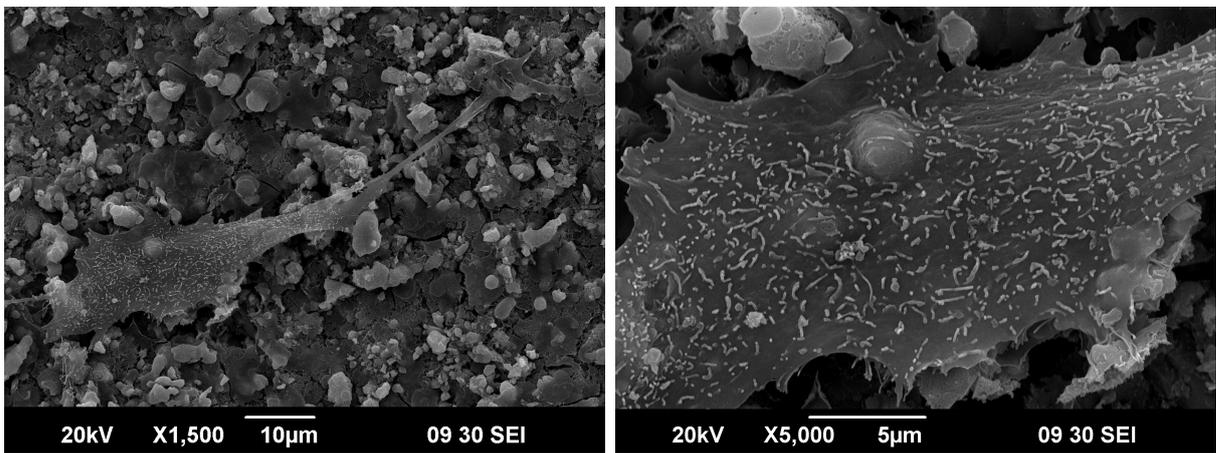


Figura 5.28: Imagens de microscopia eletrônica dos recobrimentos com uma célula e seu detalhe

---

---

# CAPÍTULO 6

---

## CONCLUSÕES E SUGESTÕES

### 6.1 Conclusões

Neste trabalho foi desenvolvida uma montagem experimental de ablação a laser pulsado para produção de recobrimentos cristalinos de HA à temperatura ambiente. Valendo citar que a mesma montagem permite produzir filmes de materiais quaisquer, com liberdade no comprimento de onda do laser, temperatura do substrato e gás dentro da câmara.

Durante o projeto, uma nova câmara foi projetada, com mais acesso para medidas óticas e medidores, visando sobrepor as dificuldades encontradas na primeira. Além disso, será possível realizar deposições de filmes multicamadas devido a um sistema carrossel de suporte de alvo e de substrato. Além do alto vácuo e controles de temperatura e pressão interna.

A utilização do comprimento de onda maior, 532 nm, resultou no aparecimento esperado de particulados vindo do material alvo que colaboraram com as propriedades desejadas nos recobrimento, como rugosidade e cristalinidade, retirando a necessidade de tratamentos térmicos.

Os recobrimentos foram devidamente caracterizados por FTIR, MEV, DRX e perfilometria e os resultados obtidos foram satisfatórios. Os mesmos se mostraram cristalinos e nenhuma fase além de HA foi encontrada. Além disso, uma fase amorfa, importante no mecanismo de adesão, foi encontrada. Esta fase pode ser cristalizada com o tratamento térmico, quando necessário. Para isso não foi necessário realizar tratamentos térmicos ou introduzir gases na câmara.

A introdução de gás oxigênio na câmara durante a ablação reduziu a taxa de deposição

e aumento a carbonação das amostras, substituindo os grupos fosfato por carbonatos. Não modificou a morfologia de forma significativa.

Ao mesmo tempo, os filmes apresentaram alta rugosidade, principalmente em substratos de silício. A rugosidade forçada na superfície dos substratos de titânio foi completamente preenchida pelo material ablacionado. A rugosidade desses recobrimentos pode ter sido uma desvantagem durante o teste de cultura de células, porém de fácil solução com o aumento da distância entre alvo e substrato ou diminuição da energia. Outra vantagem encontrada foi a taxa de deposição, que se comparada com outras técnicas, foi dezenas de vezes maior. A mesma se mostrou controlável com os parâmetros de deposição.

Este trabalho colaborou com a demonstração de que é possível produzir recobrimentos de materiais cerâmicos bioativos em implantes utilizando a técnica de PLD em 532 nm e que os mesmos podem ser utilizados em aplicações biomédicas.

## 6.2 Sugestões de trabalhos futuros

- Realizar medidas de espectroscopia ótica no plasma gerado pela ablação a laser para obter a composição da mesma, além de valores de energia e densidade de íons. Relacionar estes resultados com os parâmetros de ablação e também com as propriedades dos filmes produzidos;
- Diminuir a espessura e a rugosidade dos filmes para os testes com cultura de células para diminuir o estresse as mesma gerado pela topologia;
- Analisar melhor os difratogramas de raios-x e obter a proporção entre as fases cristalina e amorfa, comparando-as com os parâmetros de deposição;
- Realizar medidas quantitativas de adesão dos recobrimentos;
- Montar e utilizar o novo sistema de ablação a laser para filmes multicamadas;
- Continuar a automatização do sistema;
- Realizar experimentos com implantes recobertos pela técnica em testes *in-vivo*;
- Realizar Microscopia Eletrônica de Transmissão dos recobrimentos.

---

---

# APÊNDICE A

---

## TABELAS E FICHAS

Laser	Wavelength, $\lambda$ (nm) (energy eV)	Pulse length	Pulse energy (J) / cw power (W)
ArF	193 (6.42)	ns	0.8 / 75
KrCl	222 (5.58)	ns	0.2 / $\leq 10$
KrF	248 (5)	ns	2 / 150
XeCl	308 (4.03)	ns	3 / 200
XeF	351 (3.53)	ns	0.65 / 100
N <sub>2</sub>	337 (3.68)	ns	0.02 / 1
HeCd	441.6 (2.81)	cw	0.2
Ar <sup>+</sup>	275 – 306 (4.51 – 4.05)	cw	1.6
	334 – 364	cw (ML)	7
Kr <sup>+</sup>	337 – 356	cw (ML)	2
HeNe	632.8	cw	0.120
CO <sub>2</sub>	9000 – 11000 ( 0.14 – 0.11)	cw	45k

Figura A.1: Tabela dos lasers a gás existentes

### Semiconductor and Solid-State lasers

Laser	Wavelength, $\lambda$ (nm) (energy eV)	Pulse length	Pulse energy (J) / cw power (W)
GaN	376 (3.30)		5m
	402 and 417		
$Al_xGa_yIn_{1-x-y}P$	630 – 680 (1.97-1.82)	cw	1.2
$Al_{1-x}Ga_xAs$	780 – 880 (1.59 – 1.41)	cw	4k
PbSe	8000 (0.155)	cw	
Rubi ( $Al_2O_3:Cr^{3+}$ )	694.3 (1.79)	ms (ns)	50 (1)
Ti: Sapphire ( $Al_2O_3:Ti$ )	670–1080 (1.85-1.15)	ps(fs)	1.5 (2)
Nd:glass	1062.3	ms(ns;ps)	200(200;2)
Nd:YAG	1064.1 (1.17)	cw	2500
Nd:YAG	532; 355; 266; 213	ns, ps	1; 0.74; 0.2; 0.01
Er:YAG	2.94 (0.42)	$\mu$ s	2

Figura A.2: Tabela dos lasers de estado sólido existentes

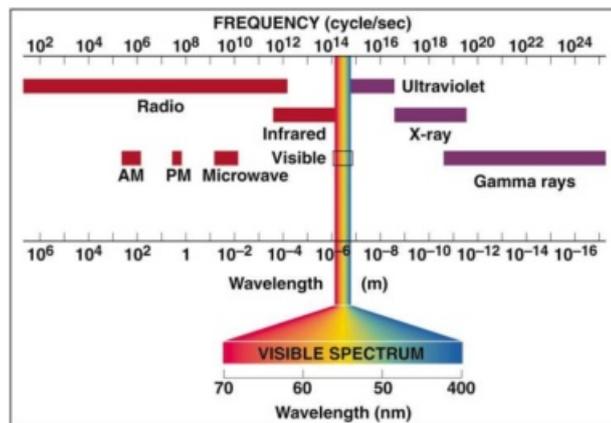


Figura A.3: Espectro Eletromagnético

84-1998		Wavelength= 1.377				C					
<b>Ca<sub>5</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(OH)</b>		2 $\theta$	Int	h	k	l	2 $\theta$	Int	h	k	l
<b>Calcium Phosphate Hydroxide</b>		9.686	177	1	0	0	41.523	279	2	2	2
<b>Hydroxylapatite</b>		15.054	47	1	0	1	42.741	120	3	1	2
		16.817	23	1	1	0	43.185	40	3	2	0
		19.442	63	2	0	0	43.974	305	1	2	3
		20.418	62	1	1	1	44.840	156	2	3	1
		22.644	24	2	0	1	45.522	113	4	1	0
Rad.: CuK $\alpha$ 1 $\lambda$ : 1.54060 Filter: d-sp: Calculated		23.110	359	0	0	2	46.238	115	4	0	2
Cut off: 17.7 Int.: Calculated I/ICor.: 1.05		25.109	87	1	0	2	46.238		3	0	3
Ref: Calculated from ICSD using POWD-12++, (1997)		25.814	161	1	2	0	47.233	137	0	0	4
Ref: Hughes, J.M., Cameron, M., Crowley, K.D., Am. Mineral., 74, 870 (1989)		28.340	999*	1	2	1	48.336	10	1	0	4
Sys.: Hexagonal S.G.: P6 <sub>3</sub> /m (176)		28.719	522	1	1	2	49.542	58	2	3	2
a: 9.4166 b: c: 6.8745 A: C: 0.7300		29.343	608	3	0	0	49.542	58	2	2	3
$\alpha$ : $\beta$ : $\gamma$ : Z: 2 mp:		30.375	212	2	0	2	49.939	2	5	0	0
Ref: Ibid.		31.610	39	3	0	1	50.645	37	1	3	3
Dx: 3.160 Dm: 3.080		34.011	2	2	2	0	51.424	15	5	0	1
		34.919	49	1	2	2	51.538	10	2	0	4
		35.445	198	3	1	0	51.656	10	1	4	2
		36.014	17	2	2	1	52.041	8	3	3	0
		36.371	3	1	0	3	53.070	42	4	2	0
		37.381	56	3	1	1	53.485	30	3	3	1
		37.678	10	3	0	2	54.494	31	4	2	1
		39.042	44	1	1	3	54.603	47	2	1	4
		39.474	11	4	0	0	55.711	75	5	0	2
		40.321	33	2	0	3	56.078	15	1	5	0
		41.249	7	4	0	1	56.584	73	3	0	4

Peak height intensity. Specimen from Holly Springs, Georgia, USA. Calc. density unusual but tolerable. R-factor: 0.016. PSC: hP44. See PDF 73-293, PDF 73-1731, PDF 86-740 and PDF 9-432. Mwt: 502.32. Volume[CD]: 527.91.

Figura A.4: Ficha padrão ICCD do sistema hexagonal da HA para  $\lambda = 1,377 \text{ \AA}$

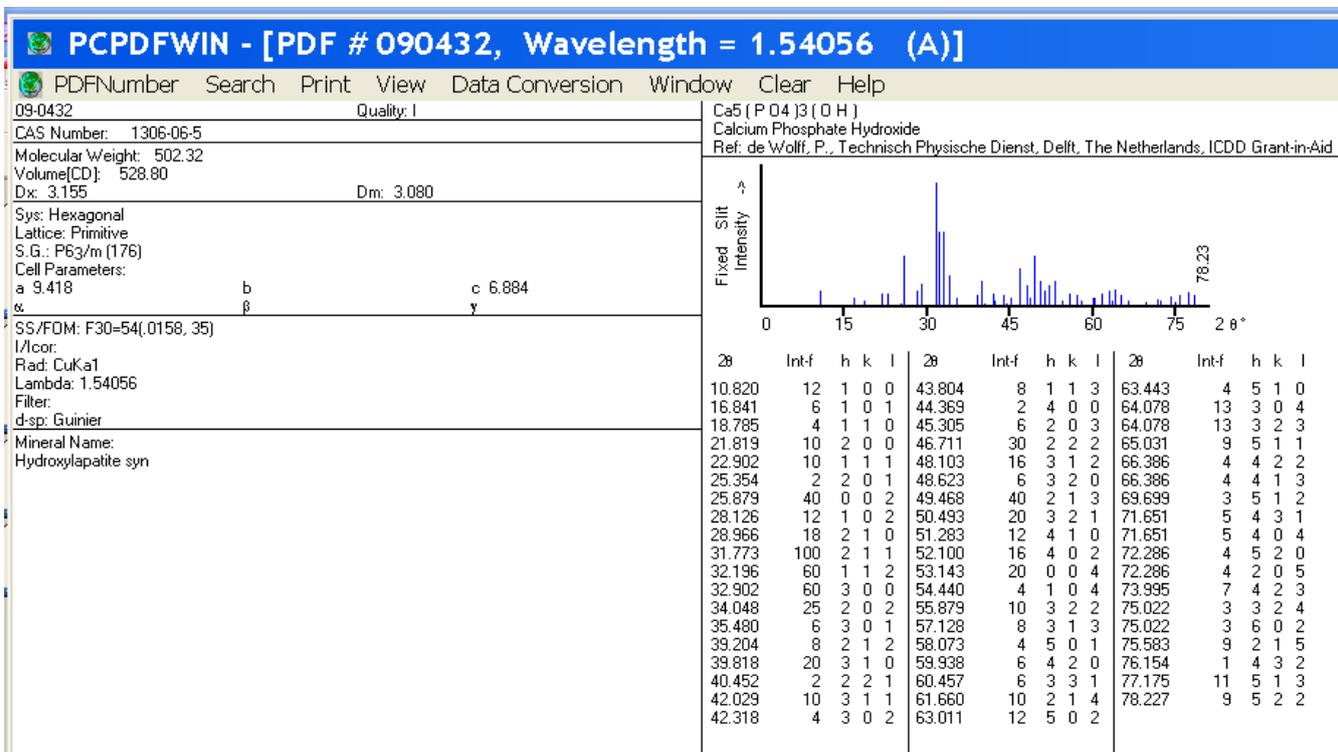


Figura A.5: Ficha padrão ICCD do sistema hexagonal da HA para  $\lambda = 1,541 \text{ \AA}$

---

## BIBLIOGRAFIA

- [1] S. R. Paital; N. B. Dahotre. Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and methodologies. *Materials Science and Engineering R*, 66:1–70, 2009.
- [2] M. Long; H.J. Rack. Titanium alloys in total joint replacement — a materials science perspective. *Biomaterials*, 19:1621–1639, 1998.
- [3] T. Albrektsson; P. I. Branemark; H. A. Hansson; J. Lindstrom. Titanium alloys in total joint replacement — a materials science perspective. *Acta orthop. scand.*, 52:155–170, 1981.
- [4] Serge D. V. Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials*, 31:1465 – 1485, 2010.
- [5] Alexandre Mello de Paula Silva. *Filmes finos cristalinos de hidroxiapatita: uma abordagem original com magnetron sputtering de alvos opostos*. PhD thesis, Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 2007. 156p.
- [6] Elvis Oswaldo López Meza. Produção e caracterização de recobrimentos nanoestruturados biocompatíveis de hidroxiapatita e hidroxiapatita substituída com flúor usando a técnica de rf magnetron sputtering de alvos opostos. Master’s thesis, Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, 2010.
- [7] Glória de Almeida Soares. Biomateriais, dezembro 2005.
- [8] C. F. Koch; S. Johnson; D. Kumar; M. Jelinek; D. B. Chrisey; A. Doraiswamy; C. Jin; R. J. Narayan; I. N. Mihailescu. Pulsed laser deposition of hydroxyapatite thin films. *Materials Science and Engineering C*, 27:484 – 494, 2007.

- [9] B. Mayor; J. Arias; S. Chiussi; F. Garcia; J. Pou; B. León Fong; M. Pérez-Amor. Calcium phosphate coatings grown at different substrate temperatures by pulsed arf-laser deposition. *Thin Solid Films*, 317:363 – 366, 1998.
- [10] F. J. García-Sanz; M. B. Mayor; J. L. Arias; J. Pou; B. León. Hydroxyapatite coatings: a comparative study between plasma-spray and pulsed laser deposition techniques. *Journal of materials science: materials in medicine*, 8:861 – 865, 1997.
- [11] D. Tanaskovic; B. Jokic; G. Socol; A. Popescu; I. N. Mihailescu; R. Petrovic; Dj Janackovic. Synthesis of functional graded bioactive glass-apatite multistructures on ti substrates by pulsed laser deposition. *Applied surface technology*, 254:1279 – 1282, 2007.
- [12] Y. Suda; H. Kawasaki; T. Ohshima; S. Nakashima; S. Kawazoe; T. Toma. Hydroxyapatite coatings on titanium dioxide thin films prepared by pulsed laser deposition method. *Thin solid films*, 506 - 507:115 – 119, 2006.
- [13] L. C. Nistor; C. Ghica; V. S. Teodorescu; S. V. Nistor; M. Dinescu; D. Matei; N. Frangis; N. Vouroutzis; C. Liutas. Deposition of hydroxyapatite thin films by nd:yag ablation: a microstrutural study. *Materials research bulletin*, 39:2089 – 2101, 2004.
- [14] J. J. Beltrano; L. Torrisi; D. Margarones. Biocompatible film deposition using nd:yag pulsed laser. *Radiation effects and defects in solids*, 160:545 – 552, 2005.
- [15] L. Torrisi; R. Setola. Thermally assisted hydroxyapatite obtained bu pulsed-laser deposition on titanium substrates. *Thin solid films*, 227:32 – 36, 1993.
- [16] Williams D. F. *The Williams dictionary of biomaterials*. Liverpool University Press, Liverpool, U, 1999. 368 pp.
- [17] D. C. Greenspan. Bioactive cermic implant materials. *Cur Opin Solid State*, 4:389 – 393, 1999.
- [18] H. M. Kim. Bioactive ceramics: challenges and perspectives. *Journal of Japanese Ceramic Society*, 109:S 49 – 57, 2001.
- [19] K. Yamashita; H. Owada; T. Umegaki; T. Kanazawa; T. Futagamu. Ionic conduction in apatite solid solutions. *Solid State Ionics*, 28 - 30:660 – 663, 1988.
- [20] M. P. Mahabole; R. C. Aiyer; C. V. Ramakrishna; B. Sreedhar; R. S. Khairnar. Synthesis, characterization and gas sensing property of hydroxyapatite ceramic. *Bulletin of Mareial Science*, 28:535 – 545, 2005.

- [21] A. J. Salinas; M. Vallet-Regi. Evolution of ceramics with medical applications. *Z Anorg Allg Chem*, 633:1762 – 1773, 2007.
- [22] A. Bobbio. The first endosseous alloplastic implant in the history of man. *Bulletin of History of dentistry*, 20:1 – 6, 1970.
- [23] R. G. Craig R. Z. LeGeros. Strategies to affect bone remodeling: osteointegration. *Journal of Bone Miner Res*, 8:S583 – 596, 1993.
- [24] K. Anselme. Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials*, 21:667 – 681, 2000.
- [25] W. Cao; L. L. Hench. Bioactive materials. *Ceram Int*, 22:493 – 507, 1996.
- [26] F. H. Albee. Studies in bone growth - triple calcium phosphate as stimulus to osteogenesis. *Ann Surg*, 71:32 – 39, 1920.
- [27] G. E. Garrington; P. M. Lightbody. Bioceramics and dentistry. *Biomedical Materials Research*, 6:333 – 343, 1972.
- [28] L. Wang; G. H. Nancollas. Calcium orthophosphates: Crystallization and dissolution. *Chemical Reviews*, 108:4628 – 4669, 2008.
- [29] S. V. Dorozhkin. Calcium orthophosphates. *Journal of Materials Science*, 42:1061 – 1095, 2007.
- [30] M. Nagase; D. G. Baker; H. R. Schumacher. Prolonged inflammatory reactions induced by artificial ceramics in the rat pouch model. *J Rheumatol*, 15:1334 – 1338, 1988.
- [31] A. S. Posner; M. I. Kay; R. A. Young. Crystal structure of hydroxyapatite. *Nature*, 204:1050 – 1051, 1964.
- [32] M. Bohner. Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements. *Injury*, 31:D37 – 47, 2000.
- [33] P. Ducheyne; Q. Qiu. Bioactive ceramics: the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. *Biomaterials*, 20:2287 – 2303, 1999.
- [34] N. Y. Mostafa. Characterization, thermal stability and sintering of hydroxyapatite powders prepared by different routes. *Mater Chem Phys*, 94:333 – 341, 2005.

- [35] W. L. Suchanek; M. Yoshimura. Processing and properties of hydroxyapatite based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. *Journal of Materials Research*, 13:94 – 117, 1998.
- [36] D. B. Chrisey; G. K. Hubler. *Pulsed laser deposition of thin films*. John Wiley and Sons, Nova Iorque, EUA, 1994. 613 pp.
- [37] H. M. Smith; A. F. Turner. Vacuum deposited thin films using a ruby laser. *Applied Optics*, 4:147 – 148, 1965.
- [38] M. Von Allmen. —. *Journal of Applied Physics*, 47:5460 – 5463, 1976.
- [39] F. P. Gagliano; U. C. Paek. —. *Applied Optics*, 13:274, 1974.
- [40] J. T. Cheung; H. Sankur. —. *CRC Crit. Rev. Solid State Mater*, 15:63 – 109, 1988.
- [41] O. Eryu; K. Murakami; K. Masuda; A. Kasuya; Y. Nishima. —. *Applied Physics Letters*, 54:2716, 1989.
- [42] A. Namiki; T. Kawai; K. Ichige. —. *Surface Science*, 166:129, 1986.
- [43] A. Vertes; P. Juhasz; P. Jani; A. Czitrovszky. —. *Int. Journal of Mass Spectrometry Ion Process*, 83:45, 1988.
- [44] Q. Bao; C. Chen; D. Wang; Q. Ji; T. Lei. Pulsed laser deposition and its current research status in preparing hydroxyapatite thin films. *Applied Surface Science*, 252:1538 – 1544, 2005.
- [45] S. Johnson; M. Haluska; R. J. Narayan; R. L. Snyder. In situ annealing of hydroxyapatite thin films. *Materials Science and Engineering C*, 26:1312 – 1316, 2006.
- [46] B. H. Stuart *Infrared spectroscopy : fundamentals and applications*. John Wiley and Sons, University of Technology, Sydney, Australia 2004. 224 pp.
- [47] N. W. Ashcroft; N. D. Mermin *Solid state physics*. Thomsom Leading, EUA, 1976. 826 pp.
- [48] Marcelo Henrique Prado da Silva. *Recobrimentos de titânio com hidroxiapatita: desenvolvimento do processo de deposição eletrolítica e caracterização biológica in vitro*. PhD thesis, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999. 127p.
- [49] J. J. Bozzola; L. D. Russell. *Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists*. Jones and Bartlett Publishers, 1999.