

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Escola de Engenharia

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais

PPGE3M

**Revestimentos híbridos absorvíveis à base de quitosana e GPTMS visando
aumentar a resistência à corrosão da liga de magnésio ZK60 para aplicação
biomédica**

Vinícius Kothe

Dissertação para a obtenção do título de Mestre em Engenharia

Porto Alegre – RS

2015

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Escola de Engenharia

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais

PPGE3M

Revestimentos híbridos absorvíveis à base de quitosana e GPTMS visando aumentar a resistência à corrosão da liga de magnésio ZK60 para aplicação biomédica

Vinícius Kothe

Cirurgião-Dentista

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Pesquisa em Corrosão – LAPEC, da Escola de Engenharia da UFRGS, dentro do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais – PPGE3M, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia.

Área de Concentração: Ciência e Tecnologia dos Materiais

Porto Alegre – RS

2015

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de mestre em engenharia, área de concentração ciência e tecnologia dos materiais e avaliada em sua forma final, pela orientadora e pela banca examinadora do curso de pós-graduação.

Orientadora: Prof. Dra. Célia de Fraga Malfatti

Banca examinadora:

Profa. Dra. Ester Schmidt Rieder - Universidade Luterana do Brasil

Profa. Dra. Melissa Camassola - Universidade Luterana do Brasil

Prof. Dr. Antonio Shigueaki Takimi - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Roberto Schroeder – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Dedico este trabalho à família Kothe e à Melina de Oliveira Cesar, que me apoiaram de forma incondicional durante o curso do mestrado.

Prof. Dr. Carlos Pérez Bergmann

Coordenador do PPGE3M

Dedico este trabalho à família Kothe e à Melina de Oliveira Cesar, que me apoiaram de forma incondicional durante o curso do mestrado.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Pesquisa em Corrosão (LAPEC), ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais e à Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela oportunidade de realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

À Professora Doutora Célia de Fraga Malfatti pelo apoio, atenção, compreensão, incentivo, elogios e amizade concedidos.

Ao Instituto de pesquisa em materiais Helmholtz-Zentrum Geesthacht, e à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC); professor Dr. Dachamir Hotza e ao Cesar Augusto Stüpp pelo fornecimento da liga ZK60.

Aos meus familiares e namorada pelo incentivo, compreensão, carinho, palavras amigas, atenção e amor compartilhados.

Um agradecimento à professora Dra. Iduvirges Lourdes Müller e aos Professores Dr. Antonio Shigueaki Takimi e Dr. Roberto Moreira Schroeder

Aos meus colegas do laboratório que me auxiliaram, motivaram, orientaram e compartilharam ideias de cunho profissional e pessoal. Agradecimento principal a Maria Rita Ortega Vega, Leonardo Marasca Antonini, Joel da Silva Rodrigues, Leonardo Simoni, Leandro Brunholi, Andrea Bettanin, Lucas Lemos e Mauricio Del Vecchio.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1. Magnésio e suas ligas como biomateriais.....	5
3.1.1. Aplicações biomédicas e sua história.....	5
3.1.2. Propriedades do magnésio e seus ligas.....	8
3.1.3. Resistência à corrosão.....	17
3.1.4. Limitações do uso de magnésio <i>in vivo</i>	22
3.1.5. Revestimentos e tratamentos de superfície para o Mg e suas ligas.....	24
3.1.6. Adesão do filme ao substrato	33
4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	35
4.1. Estudo do SOL	36
4.1.1. Preparação do SOL	37
4.1.2. Seleção do melhor tempo de hidrólise do silano.....	37
4.2. Substrato	38
4.2.1. Estudo do pré-tratamento	38
4.2.2. Obtenção dos revestimentos por <i>dip-coating</i>	38
4.2.3. Caracterização dos revestimentos obtidos por <i>dip-coating</i>	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1. Estudo do Sol.....	41
5.1.1. Caracterização por FTIR (<i>Fourier-Transform Infrared Spectroscopy</i>).....	41
5.2. Obtenção do revestimento da liga ZK60	47
5.2.1. Pré-tratamento com H ₃ PO ₄	48
5.2.2. Pré-tratamento com NaOH	51
5.2.3. Caracterização morfológica e estrutural dos revestimentos obtidos	55
5.2.4. Caracterização quanto à resistência à corrosão	63
6. CONCLUSÕES.....	71
7. PERSPECTIVA DE TRABALHO	72
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Fratura do úmero supracondilar de uma criança (A), que foi fixada por um lamina de magnésio (B). Após alguns meses, o implante de magnésio estava completamente dissolvido e a fratura estava estável (C e D). ^[59]	6
Figura 2 Acompanhamento dos implantes em 2, 4 e 12 semanas após implantação em coelhos. Liga ZK60 tratada por MAO / PEO após (a) 2 semanas, (b) 4 semanas e (c) 12 semanas de implantação e não tratados após (a) 2 semanas, (b) 4 semanas e (c) 12 semanas de implantação ^[101]	15
Figura 3 Mapeamento dos elementos Mg, Ca, P, Si e F em sessão transversal após 8 semanas de implantação da liga ZK60 tratado com MAO / PEO ^[102]	16
Figura 4 Reconstrução por μ -CT, 6 meses após implantação da liga Mg–2.86 m.% Zn–0.3 m.% Zr, adaptado ^[103]	16
Figura 5 Limite da concentração de impureza na rede cristalina do magnésio, mensurado em ppm, em termos de taxa de corrosão, adaptado de. ^[105]	18
Figura 6 Representação da matriz e precipitados intermetálicos, para uma liga contendo altos teores de zinco. ^[111]	19
Figura 7 Morfologia da superfície das ligas WE (a, b, c), ZK60 (d, e), ZK30 (f, g, h) após imersão em solução de Hank por até 20 semanas. A amostra ZK60, contendo altos teores de zinco, degradou-se completamente após 12 semanas de imersão. ^[112]	19
Figura 8 Diagrama de fases ternário Mg-Zn-Zr a 25°C.	22
Figura 9 Diagrama de fase binário Mg-Zn.	22
Figura 10 Parafuso antes da implantação (A), após 2 semanas da implantação (B) e após 8 semanas da implantação (C), copiado de ^[120]	25
Figura 11. Diferentes técnicas de modificação da superfície, segundo Wang. et al. ^[153]	25
Figura 12 Exemplo de aplicação do dip-coating.	27
Figura 13 Diagrama de Pourbaix do Mg.	28
Figura 14 Esquema representativo da hidrólise e condensação em sistemas sol-gel, adaptado de ^[161]	29
Figura 15 A reação entre a quitosana e o GPTMS. As reações de hidrólise e condensação, adaptado ^[1]	32
Figura 16 Reação entre quitosana e GPTMS (a), e as proporções (b) dos produtos da reação diol/amina, em agitação por 24 horas, adaptado de ^[167]	33
Figura 17 Adaptada de ^[171] , mostra a solidificação de um gel, por cura a uma temperatura constante e desenvolvimento de tensões internas.	33
Figura 18 Adaptada de ^[171] (a) influência da temperatura e (b) umidade relativa do ar no estresse dos revestimentos.	34
Figura 19 Fluxograma da metodologia experimental adotado neste trabalho.	35
Figura 20 Espectro de FTIR do sol Ch0-Z, sem adição de GPTMS pH = 4, em 24, 48, 72 e 96 horas.	42
Figura 21 Espectros de FTIR para o sol a base de quitosana em tempo de agitação de 24h para as metodologias propostas por Zhao et al. ^[30] (Ch0-Z) e Shirotsaki et al. ^[31] (Ch0-S).	43
Figura 22 Espectro de FTIR dos sóis de quitosana com GPTMS 1:1, Shirotsaki et al. ^[31] (Ch1-S) em 24, 48, 72 e 96 horas de hidrólise.	43
Figura 23 Espectro de FTIR dos sóis de quitosana com GPTMS 1:2, método Shirotsaki et al. ^[31] (Ch2-S) em 24, 48, 72 e 96 horas de hidrólise.	44
Figura 24 Espectros de FTIR dos sóis de quitosana com GPTMS 1:1, método Zhao et al. ^[30] (Ch1-Z) em 24, 48, 72 e 96 horas de hidrólise.	45
Figura 25 Espectros de FTIR dos sóis de quitosana com GPTMS 1:2, método Zhao et al. ^[30] Ch2-Z em 24, 48, 72 e 96 horas de hidrólise.	46

Figura 26 Micrografia da liga ZK60 a) antes e b) após o ataque metalográfico com 1 mL HF, 1 mL HNO ₃ e 48 mL de água deionizada.	48
Figura 27 Espectros pontuais obtidos por EDS para a liga ZK60.	48
Figura 28 Monitoramento do potencial de circuito aberto para liga a ZK60 em H ₃ PO ₄ nas concentrações de 0,10; 0,20 e 0,31 Molar (M).	49
Figura 29 Liga ZK60 pré-tratada com H ₃ PO ₄ 0,31 M e imersa no SOL Ch1-S pH 3,0.	50
Figura 30 Liga ZK60 pré-tratada com H ₃ PO ₄ 30gL ⁻¹ e imersa em SOL Ch1-Z pH 4,0.	51
Figura 31 Liga ZK60 pré-tratada com NaOH 3M por 72 horas e imersa em SOL Ch1-Z pH 4,0.	52
Figura 32 Micrografias da liga Mg-6Zn-Ca após tratamento em meio alcalino NaOH 3 M a 30 °C por (a) 24h, (b) 48h, (c) 72h e (d) 240 horas, copiado de ^[174]	53
Figura 33 Liga ZK60 pré-tratada com NaOH 3 M por 240 horas e imersa em SOL Ch1-S pH 3,0.	53
Figura 34 Liga ZK60 pré-tratada com NaOH 3 M por 240 horas e imersa em SOL Ch1-Z pH 4,0.	53
Figura 35 Monitoramento de OCP durante o pré-tratamento em NaOH 3M.	54
Figura 36 Após tratamento alcalino em solução aquosa de NaOH 3M por 240 horas.	55
Figura 37 Aparência dos sistemas (a) ZK60, (b) ZK60-NaOH, (c) Arquitetura 1, (d) Arquitetura 2, (e) Arquitetura 3 e (f) Arquitetura 4.	56
Figura 38 Imagens de topo e os espectros em MEV anterior aos ensaios eletroquímicos (a) ZK60, (b) ZK60-NaOH, (c) Arquitetura 1 (uma camada), (d) Arquitetura 2 (duas camadas), (e) Arquitetura 3 (três camadas, sendo a última depositada mais espessa) e (f) Arquitetura 4 (três camadas). A barra da escala representa 50 µm em todas as imagens.	57
Figura 39 Arquitetura 1 (uma camada de Ch1-Z) topo, com mapeamento de cores dos elementos Mg (amarelo), O (vermelho), e Si (verde).	58
Figura 40 Aparência da amostra Arquitetura 3, após a cura a 60 °C por 24 horas.	58
Figura 41 Imagens em MEV do corte transversal da amostra ZK60-NaOH anterior aos ensaios eletroquímicos com mapeamento dos elementos Mg, O e Si.	60
Figura 42 Imagens em MEV do corte transversal da amostra Arquitetura 1 anterior aos ensaios eletroquímicos com mapeamento dos elementos Mg, O e Si.	61
Figura 43 Imagens em MEV do corte transversal da amostra Arquitetura 2 anterior aos ensaios eletroquímicos com mapeamento dos elementos Mg, O e Si.	61
Figura 44 Imagens em MEV do corte transversal da amostra Arquitetura 3 anterior aos ensaios eletroquímicos com mapeamento dos elementos Mg, O e Si.	62
Figura 45 Imagens em MEV do corte transversal da amostra Arquitetura 4 anterior aos ensaios eletroquímicos com mapeamento dos elementos Mg, O e Si.	62
Figura 46 Monitoramento do potencial de circuito aberto dos sistemas ZK60, ZK60-NaOH, Arquiteturas 1, 2, 3 e 4 imersos em SBF (Simulated body fluid), por 24 horas a 22°C.	64
Figura 47 Imagens e espectros de MEV dos sistemas (a1) ZK60, (b1) ZK60-NaOH, (c1) Arquitetura 1, (d1) Arquitetura 2, (e1) Arquitetura 3 e (f1) Arquitetura 4. e após o OCP por 24 horas em SBF (a2) ZK60, (b2) ZK60-NaOH, (c2) Arquitetura 1, (d2) Arquitetura 2, (e2) Arquitetura 3 e (f2) Arquitetura 4.	67
Figura 48 Resultados das curvas de polarização.	69
Figura 49 Imagens e espectros de MEV dos sistemas (a) ZK60, (b) ZK60-NaOH, (c) Arquitetura 1, (d) Arquitetura 2, (e) Arquitetura 3 e (f) Arquitetura 4 após a polarização.	70

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Contribuições das aplicações biomédicas do magnésio em ordem histórica adaptada de Frank Witte ^[41]	7
Tabela 2 Efeito dos elementos de liga ou impurezas nas propriedades do Mg ^[65]	9
Tabela 3 Limites de solubilidade dos principais elementos de ligas no magnésio ^[65]	9
Tabela 4 Influência da composição e do processo de fabricação nas propriedades mecânicas de ligas de magnésio com potencial para aplicação biomédica.	12
Tabela 5 Estudos por polarização potenciodinâmica quanto à resistência à corrosão de ligas de magnésio com potencial para aplicação biomédica.	13
Tabela 6 Estudos por teste de imersão quanto à resistência à corrosão de ligas de magnésio com potencial para aplicação biomédica.....	14
Tabela 7 Descrição dos sóis sintetizados de acordo com as metodologias de obtenção de Shirosaki et al. ^[31] e Zhao et al. ^[30]	37
Tabela 8 Descrição das amostras.	39
Tabela 9 Composição da solução salina SBF (Simulated Body Fluid).....	40
Tabela 10 Descrição dos sóis sintetizados de acordo com as metodologias de obtenção de Shirosaki et al. ^[31] e Zhao et al. ^[30]	41
Tabela 11 Composição da liga ZK60 deste estudo. Elementos Mg, Zn, Zr e Si em % em massa, demais elementos em ppm.	47
Tabela 12 Espessura de camada dos sistemas estudados	60
Tabela 13 Valores de E_{corr} e i_{corr} dos sistemas estudados.	69

LISTA DE ABREVIATURAS

ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
CT	<i>Computed Tomography</i>
DLC	<i>Diamond-like carbono</i>
DMEM	<i>Dulbecco's modified Eagle's medium</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
EDS	<i>Energy Disperse X-ray</i>
FTIR	<i>Fourier-Transform Infrared Spectroscopy</i>
GPTMS	Glicidoxipropiltrimetoxisilano
HA	Hidroxiapatita
LAPEC	Laboratório de Pesquisa em Corrosão
M	Molar
MAO	<i>Micro-Arc Oxidation</i>
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
MPa	Mega Pascal
OCP	<i>Open Circuit Potential</i>
PEO	<i>Plasma Electrolytic Oxidation</i>
pH	Potencial hidrogeniônico
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
RMN	Ressonância magnética nuclear
SBF	<i>Saline Body Fluid</i>
SCE	<i>Standard Calomel Electrode</i>
SHE	<i>Standard Hydrogen Electrode</i>
u.a.	unidades arbitrárias
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UTS	<i>Ultimate Tensile Strength</i>
YS	<i>Yield Strength</i>

LISTA DE SÍMBOLOS E FÓRMULAS

°C	Graus Celsius
μ	Micro
A/cm ²	Ampère por centímetro quadrado
Ca	Cálcio
CaP	Fosfato de cálcio
Cl ⁻	Cloreto
cm ²	Centímetro quadrado
Cr-Co	Liga de cromo e cobalto
E _{corr}	Potencial de corrosão
g.L ⁻¹	Gramas por litro
H ₂ O	Água
HCO ₃ ⁻	Íon bicarbonato
HF	Ácido fluorídrico
HNO ₃	Ácido nítrico
HPO ₄ ⁻²	Íon hidrogenofosfato
i _{corr}	Densidade de corrente de corrosão
kV	Quilovolt
mA	Miliampère
Mg ⁺²	Íon magnésio
mm	Milímetro
M	Molar
mV.s ⁻¹	Milivolts por segundo
Na ⁺	Íon sódio
NaCl	Cloreto de sódio
SiC	Carbeto de silício
SO ₄ ⁻²	Sulfato
V	Volts
v	<i>volume</i>
w	<i>weight</i>

RESUMO

Os biomateriais metálicos possuem módulo de elasticidade superior ao do osso o que pode ocasionar a reabsorção óssea, devido à blindagem de tensões. Além disso, a liberação de íons devido à corrosão do implante pode provocar inflamação, e em função da vida útil do implante, normalmente, existe a necessidade da segunda intervenção cirúrgica para substituição do mesmo. Com o intuito de contornar os pontos negativos dos implantes metálicos, têm sido estudados materiais absorvíveis com módulo de elasticidade próximos ao do osso. O magnésio e suas ligas têm sido propostos para uso em implante absorvível desde o final do século XIX. A grande dificuldade em utilizá-los está na elevada taxa de corrosão dos mesmos, que não é compatível com a velocidade de cicatrização dos tecidos adjacentes ao implante. Neste contexto, revestimentos têm sido propostos. O objetivo deste estudo é obter pelo método sol-gel, revestimentos híbridos absorvíveis à base de quitosana e GPTMS (Glicidoxipropiltrimetoxisilano) para aumentar a resistência à corrosão da liga de magnésio ZK60 visando aplicação biomédica. Parâmetros como tempo de hidrólise e pH do sol foram monitorados para avaliar as características do sol obtidos com as proporções quitosana/GPTMS de 1:1 e 1:2. A partir desse monitoramento foram estabelecidos os valores dos parâmetros a serem empregados para obtenção do revestimento por *dip-coating*. Foram aplicadas quatro diferentes arquiteturas (combinações de camadas) do revestimento sobre a liga ZK60. Os revestimentos obtidos foram caracterizados quanto à morfologia por MEV. A resistência à corrosão das amostras foi avaliada por monitoramento do potencial de circuito aberto por 24 horas em uma solução para simular o fluido corpóreo (SBF - *Simulated Body Fluid*). Os resultados mostraram que o revestimento obtido com a arquitetura 1, 2 e 4 (1 a 3 camadas) não promoveram deslocamento do potencial de circuito aberto em relação à liga ZK60 não revestida. Contudo, as amostras recobertas com três camadas (arquitetura 3) apresentaram um deslocamento do potencial de circuito aberto na ordem de 1000 mV em relação à liga não revestida, no entanto, houve o destacamento de parte da camada. Esses resultados indicam que é possível obter um revestimento que funcione como uma barreira temporária entre a liga de magnésio e o meio, retardando dessa forma a corrosão da mesma. Entretanto, estudos devem ser realizados no sentido de melhorar a adesão entre esse filme e o substrato.

Palavras Chave: Biomateriais metálicos, ZK60, Quitosana, GPTMS, Corrosão

ABSTRACT

Metallic biomaterials have a superior elastic moduli than cortical bone, which may lead to bone resorption, due to “the shielding of bone”. Besides, ion release as a result of corrosion may also lead to a inflammatory chain. And, according to the implants life cycle, it ordinarily implies its replacement. Focusing on avoiding those problems of the metallic materials, it has been studied absorbable implants with close-to-bone elastic moduli. Magnesium and its alloys have been proposed as absorbable implants since the end of the nineteenth century. The main difficulty in using Mg implants is its high corrosion rate, which is not compatible to the adjacent tissues healing rate. In this context, absorbable coatings have been proposed. The objective of this study is to obtain, through the sol-gel method, absorbable hybrid coatings composed by chitosan and GPTMS (Glicidoxipropiltrimethoxisilane) to enhance the corrosion resistance of the ZK60 alloy, focusing on biomedical applications. Parameters such as hydrolysis and the sol’s pH were monitored to evaluate the sols characteristics obtained with the proportions of chitosan/GPTMS of 1:1 and 1:2. The parameters used to obtain the coating through dip-coating were established from this monitoring. Four architectures were established (arrangement of layers) of the coating over the ZK60 alloy. The coating morphology was characterized using MEV. The corrosion resistance of the samples was evaluated by OCP (Open Circuit Potential) monitoring in a SBF (Simulated Body Solution) solution for 24 hours. The obtained results show that the coating with Architecture 1, 2 and 4, did not increase significantly the corrosion potential comparing to uncoated ZK60. However, the architecture 3 showed a displacement in the order of 1000 mV in the OCP, contrasting with the uncoated ZK60, nevertheless, the coating detached from the substrate. Those results indicate that it is possible to obtain a coating that works as a barrier between the Mg alloy and the media, slowing down the corrosion of the specimen. However, studies to enhance the coatings adhesion are mandatory to its effectiveness.

Keywords: Metallic biomaterials, Chitosan, GPTMS, Corrosion

1. INTRODUÇÃO

Indicações protéticas de metais como implantes abrangem próteses de quadril, fêmur, maxilares, mandibulares, dentárias, chapas/parafusos/pinos de fixação e stents cardiovasculares. Quando indicados, os metais são bons por resistir a cargas, comparado aos cerâmicos ou polímeros, e pela sua alta resistência mecânica e resistência à fratura ^[1].

Os atuais metais utilizados como biomaterial incluem aço inoxidável, ligas de cromo-cobalto e ligas de titânio. Apesar das vantagens de se utilizar os metais, quando implantados no corpo humano em contato com líquidos intersticiais, há a probabilidade, por mais passivo o metal, de liberar íons ou partículas tóxicas por um processo corrosivo ou abrasivo ^[2,3], acabando por incitar processos inflamatórios que reduzem a biocompatibilidade, promovendo um ambiente propício à perda de tecido adjacente ^[4,5].

O segundo ponto negativo da utilização de biometais para substituição de tecidos ósseos é o alto módulo de elasticidade destes materiais. O módulo nesta grandeza gera estímulo insuficiente à neoformação e remodelação óssea, configurando a chamada “blindagem de tensões”, levando à instabilidade do implante ^[6].

O terceiro ponto está baseado na característica inerte dos biometais. Quando aplicados com a função de fixação de feridas ósseas, estes deveriam ser removidos em uma segunda intervenção cirúrgica, após a cicatrização dos tecidos^[7]. A reintervenção cirúrgica causa nova possibilidade de infecção e septicemia, e posterior perda do tratamento, além do gasto de tempo, dinheiro e morbidade ao paciente.

Possuindo as informações supracitadas, se pensa em utilizar materiais que contornem tais inconvenientes. Materiais absorvíveis são candidatos interessantes para exercer essas funções. Os polímeros absorvíveis são muito bem indicados e empregados como implantes por possuírem a propriedade de degradação ao interagir com o fluido corpóreo. Entretanto, quando se procura um implante que resista à solicitação mecânica, os polímeros não conseguem atender às propriedades requisitadas. Nesse caso, como um material promissor para essa aplicação destaca-se o magnésio.

O magnésio apresenta densidade de $1,74 \text{ g/cm}^3$ o que é 1,6 e 4,5 vezes menor que alumínio e aço, respectivamente. Além disso, o mesmo é essencial ao metabolismo humano e é naturalmente encontrado no tecido ósseo ^[8]. É o quarto cátion mais abundante no corpo, com cerca de metade do total de magnésio fisiológico armazenado no tecido

ósseo. O magnésio é um co-fator para muitas enzimas e estabiliza as estruturas de DNA e RNA [9, 10]. Além disso, devido aos papéis funcionais e presença no tecido ósseo, é biocompatível e pode ter efeitos estimuladores sobre o crescimento de tecido ósseo novo [11].

Dentre as ligas de Mg estudadas para aplicação biomédica destacam-se as ligas AZ91, AM50, AZ31, ZK60 e WE30. A liga ZK60 se destaca pelas suas propriedades mecânicas e sua resistência contra a corrosão^[12], pela ausência do elemento alumínio, de terras raras, entre outros elementos conhecidos como nocivos ao ser humano.

A dificuldade que se encontra em utilizar implantes à base de magnésio é a sua alta taxa de corrosão. Durante o processo de corrosão do magnésio, ocorre a reação catódica de formação do gás hidrogênio, o qual pode ocasionar o acúmulo desse gás em regiões adjacentes ao implante, podendo interferir na cicatrização dos tecidos. Diversos artigos, desde o fim do século XIX, relatam regiões radiolúcidas (escuras) ao redor de implantes à base de magnésio em radiografias, que julgaram ser compatíveis com cistos de gás [13, 14].

O magnésio e/ou suas ligas como implante teriam a função de prover suporte temporário durante o processo de cicatrização degradando-se lentamente. Para diminuir a taxa de corrosão, e conseqüentemente a liberação de hidrogênio, revestimentos têm sido propostos [15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23]. Entre esses revestimentos propostos estão filmes híbridos à base de quitosana [30].

Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho é obter revestimentos híbridos absorvíveis à base de quitosana e GPTMS (Glicidoxipropiltrimetoxisilano) para aumentar a resistência à corrosão da liga de magnésio ZK60 visando aplicação biomédica. A quitosana apresenta propriedades que têm motivado o emprego da mesma como um material para liberação controlada de medicamentos (*drug delivery*)^[24], como suporte para pele artificial [25], além disso, tem sido proposta como lentes de contato [26,27], revestimento de implantes dentais [26, 27] e fios de sutura [26, 27]. A quitosana é biocompatível, absorvível, capaz de formar filmes, não-tóxica, agente cicatrizante e agente antimicrobiano [26]. Tem a capacidade de promover adesão, espreadimento e proliferação celular^[28], além de incitar a diferenciação de células-tronco em osteoblastos.^[29]

Zhao et al. [30] observaram em seu estudo *in vivo* em coelhos, a influência de um revestimento de quitosana em um implante intraósseo à base de magnésio. Os resultados mostraram que o revestimento diminuiu a velocidade de corrosão do magnésio. Além

disto, a formação óssea foi maior nos implantes revestidos com quitosana, comparando com os implantes não revestidos.

A quitosana tem atuação como agente protetor de substratos metálicos ou compósitos como o Mg-6%Zn-10%Ca₃(PO₄)₂ [30], entretanto, de modo a controlar a sua biodegradabilidade, *Shirosaki et al.* [31] sugerem que outro agente deva ser adicionado à rede polimérica de quitosana. O referido agente promoveria a reticulação do revestimento. Agentes como epoxy, formaldeído e glutaraldeído promovem reticulação, mas são altamente tóxicos. *Shirosaki et al.* [31] adicionaram o precursor silano GPTMS (Glicidoxipropiltrimetoxisilano), que é biocompatível e absorvível [32], em seus filmes de quitosana e observaram maior molhamento proporcionado pelos filmes híbridos, atribuído à presença dos grupos silanol derivados do GPTMS, comparando com o filme de quitosana pura, o que favorece a adesão e proliferação de células. Em cultura celular, *Shirosaki et al.* concluíram que as células estudadas (MG63) aderiram e proliferaram mais no filme híbrido, além de aumentar a velocidade de formação de núcleos minerais (devido à sílica) [33], comparado com o filme de quitosana pura. Estes autores não visaram revestir um material, mas a criação de uma matriz de suporte extracelular (*Scaffold*).

Nesse contexto, o presente trabalho tem por objetivo estudar as condições necessárias para a obtenção por sol-gel, empregando-se o processo *dip-coating*, de um revestimento híbrido absorvível à base de quitosana e GPTMS (Glicidoxipropiltrimetoxisilano) sobre a liga de magnésio ZK60. Pretende-se com esse revestimento melhorar a resistência à corrosão da liga de magnésio ZK60, visando aplicação biomédica em implantes degradáveis submetidos à baixo carregamento, considerando que esses implantes permaneceriam no corpo mantendo sua integridade mecânica por um período de 12 a 18 semanas [34], sendo substituídos por tecido natural gradualmente.

2. OBJETIVOS

Obter, pelo método sol-gel, revestimentos híbridos absorvíveis à base de quitosana e GPTMS (Glicidoxipropiltrimethoxisilano) para aumentar a resistência à corrosão da liga de magnésio ZK60, visando aplicação biomédica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar a formulação mais adequada do sol para obter o revestimento.
- Estudar pré-tratamentos superficiais para a liga de magnésio ZK60 visando à aplicação do revestimento híbrido.
- Obter revestimentos híbridos pelo método sol-gel sobre a liga de magnésio ZK60 empregando a técnica de *dip-coating*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Magnésio e suas ligas são utilizados em uma larga variedade de aplicações estruturais e não estruturais. Aplicações estruturais incluem automotivas, industrial e aeroespacial. As aplicações automotivas incluem embreagem e suporte ao pedal de freio, trava de coluna de direção e caixas de câmbio manuais. No maquinário da indústria, peças de magnésio são utilizadas em situações que se exige alta velocidade, e tais partes devem ser leves para minimizar forças inerciais. As aplicações comerciais incluem ferramentas manuais, bagagem e peças de computador. Na área aeroespacial, o magnésio é utilizado pela sua densidade e também por manter suas propriedades mecânicas a grandes oscilações de temperatura. ^[35, 36]

Em aplicações não-estruturais, é utilizado como agente de redução na produção de berílio, titânio, zircônio e urânio. Também utilizado para proteção catódica de outros metais contra a corrosão ^[37].

Segundo o ASM Handbook^[38], as ligas de magnésio podem ser satisfatoriamente utilizadas em aplicações que envolvam fricção, em que as cargas não excedam 14 Mpa, em boa lubrificação, com velocidades baixas (5 m/s) e temperaturas de operação baixas (até 105 °C).

3.1. Magnésio e suas ligas como biomateriais

3.1.1. Aplicações biomédicas e sua história

O elemento metálico magnésio foi identificado em 1808 por Humphry Davy. Em 1833, seu assistente Michael Faraday, foi responsável pela produção deste metal em pequena escala, pela eletrólise de um composto, majoritariamente $MgCl_2$ ^[39]. Produção comercial de Mg metálico foi feita por Robert Bunsen em 1852. Sua produção em escala industrial foi pensada primeiramente para fins pirotécnicos e fotográficos^[39], sendo posteriormente utilizado como um biomaterial. O primeiro artigo científico na área dos biomateriais data de 1878^[40]. Frank Witte^[41] fez detalhada pesquisa sobre a história do magnésio metálico. A Tabela 1, retirada do artigo de revisão de Witte, mostra artigos científicos de 1878 até 1981, com 21 diferentes autores principais. Constam na tabela dados dos artigos como autor principal, data de publicação, o material utilizado, aplicação e hospedeiro para os testes. Dentre as aplicações possíveis já estudadas *in vivo*, estão fios de sutura^[42], conectores de vasos/intestino/nervos ^[43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51], fios para

tratamento de hemangioma [52, 53] e implantes intraósseos [14, 54, 55, 56, 57, 58] de diversas geometrias. A Figura 1 mostra o úmero de uma criança, operado por Lambotte^[59], em 1909. Após alguns meses da fase cirúrgica, Lambotte relata que o magnésio corroeu totalmente e a fratura estava estável, não houve infecção ou dor e a criança mostrou boa função do cotovelo.

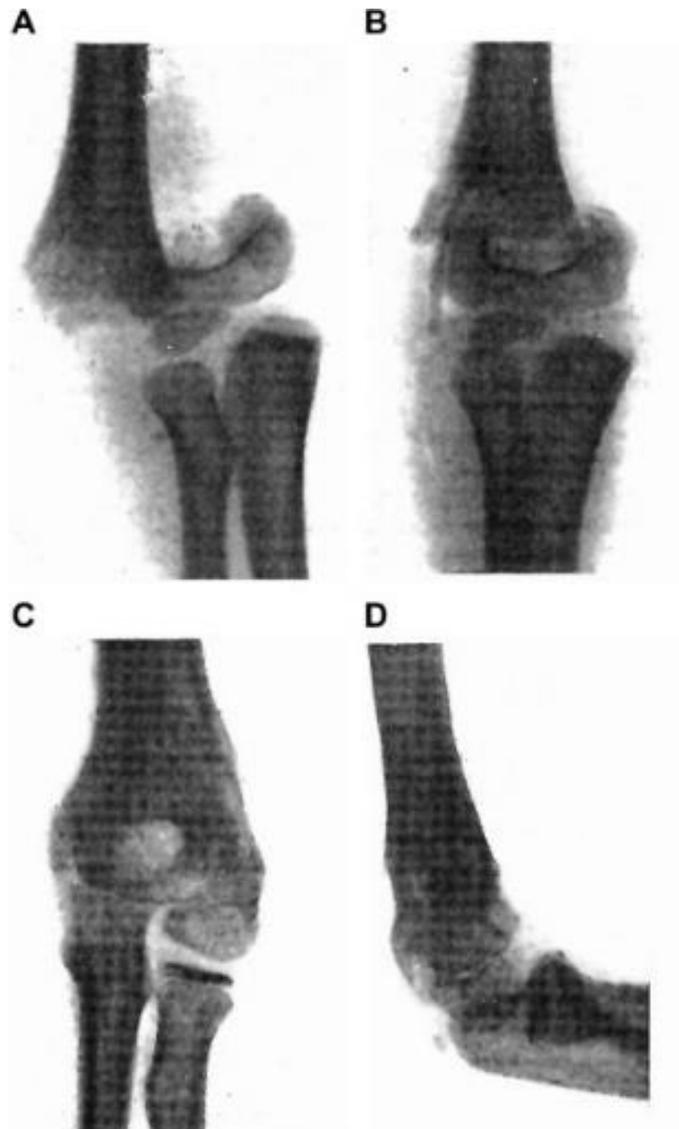


Figura 1 Fratura do úmero supracondilar de uma criança (A), que foi fixada por um lamina de magnésio (B). Após alguns meses, o implante de magnésio estava completamente dissolvido e a fratura estava estável (C e D).^[59]

Tabela 1 Contribuições das aplicações biomédicas do magnésio em ordem histórica adaptada de Frank Witte ^[41].

Autor principal	Ano	Magnésio (liga)	Aplicação	Hospedeiro
Huse	1878	Mg Puro	Fios para anastomose	Humanos
Payr	1892-1905	Mg alta pureza	Tubos conectores (intestino, vasos, nervos), pratos, fios, placas e hastes.	Humanos, Porcos de Guínea, coelhos, porcos e cães
Höpfner	1903	Mg Puro	Cilindros como conectores de vasos	Cães
Chlumský	1900-1905	Mg alta pureza	Tubos, placas, e cilindros conectores de intestino	Humanos, coelhos e cães
Lambotte	1906-1932	Mg Puro (99,7%)	Hastes, chapas, parafusos	Humanos, coelhos e cães
Lespinasse	1910	Mg metálico	Anéis para anastomose	Cães
Groves	1913	Sem informação	Fixadores intramedulares em osso	Coelhos
Andrews	1917	Mg Puro, Mg/Al, Mg/Cd, Mg/Zn	Fios, clips como anastomose	Cães
Seeling	1924	Mg Puro (99,99%)	Fios, tiras e bandas	Coelhos
Glass	1925	Mg Puro (99,8%)	Lâminas	Humanos, ratos e gatos
Heinzhoff	1928	Mg Puro	Lâminas	Coelhos
Verbrugge	1933-1937	Mg-Al6-Zn30Mn0.2 % wt. / Mg-Al8% wt.	Chapas, bandas, parafusos e fixadores	Humanos, cães e ratos
McBride	1938	Mg-Mn3% wt., Mg-Al4-Mn0.3% wt.	Lâminas, chapas, bandas, parafusos, fixadores e fios	Humanos e cães
Nogara	1939	Não especificado	Hastes	Coelhos
Tpo	1948	Mg-Cd	Chapas, parafusos, hastes-placa,	Humanos
Maier	1940	Mg Puro	Bandas e fio de sutura	Humanos e coelhos
Stone	1951	Mg-Al2% wt.	Fios para coágulo de aneurismas	Cães
Fontenier	1975	Mg, R60 Mg, MgMn1.5% wt., MgAl:GAZ8%, GAZ6% e GAZ3%	Âodos para baterias implantáveis para alimentar marca-passo	Cães
Wexler	1980	Mg-Al2% wt.	Fios intravasculares	Ratos
Hussl	1981	Mg Puro	Fios para hemangioma	Ratos e coelhos
Wilflingseder	1981	Mg Puro	Fios para hemangioma	Humanos

As aplicações deste metal e suas ligas cessaram por certo tempo, por volta dos anos de 1930 pois com a tecnologia de obtenção do magnésio metálico daquela época, não se obtinha o material com características mínimas para uma aplicação em maior escala. Pesquisadores identificaram o magnésio como frágil, com propriedades mecânicas limitadas e taxa de degradação não compatível com a recuperação dos tecidos [45].

O interesse pelo magnésio e suas ligas é despertado por volta dos anos 2000-2003, devido ao avanço tecnológico no processo de obtenção do magnésio de alta pureza, criação de novas ligas e novas tecnologias de processamento, que aprimoraram as propriedades mecânicas e a resistência à corrosão destes materiais. Tudo isso renovou o interesse em se estudar o magnésio metálico e suas ligas como biomaterial. Em 2003, *Heublein et al.*[4,5] desenvolveram stents cardiovasculares, baseado na propriedade absorvível do magnésio.

3.1.2. Propriedades do magnésio e seus ligas

O magnésio é considerado relativamente seguro para uso *in vivo*, excetuando a possível toxicidade de outros elementos de liga que possam ser adicionados para alteração de suas propriedades. Infelizmente, o magnésio puro tem baixa resistência mecânica mesmo após o processamento. A tensão de escoamento é de 84-125 MPa [60] e resistência à fadiga é de 28,3 MPa [61,62] para o magnésio puro extrudado. O magnésio é raramente utilizado em aplicações na engenharia sem ser ligado a outros metais[63]. Portanto, vários elementos de baixa toxicidade podem ser adicionados para desenvolver sistemas de ligas Mg-X (X = elemento de liga) com melhores propriedades mecânicas e de degradação.

As principais ligas de magnésio comerciais incluem as séries AZ (Mg-Al-Zn), AM (Mg-Al-Mn), AE (Mg-Al-RE), série EZ (Mg-RE-Zn), ZK (Mg-Zn -Zr), e WE (Mg-RE-Zr) [64], em que RE significa terras raras.

A adição de elementos de liga ao magnésio pode melhorar a sua resistência mecânica, conforme apresentado na Tabela 2 [65]. As possibilidades de os elementos formarem solução sólida com o magnésio, considerando os valores reais de solubilidade destes elementos na rede cristalina do magnésio estão na Tabela 3[65].

Tabela 2 Efeito dos elementos de liga ou impurezas nas propriedades do Mg^[65]

Elementos de liga/impurezas	Efeitos dos elementos de liga ou impurezas em:						
	Resistência à tração	Ductilidade	Resistência à compressão	Dureza	Fluência	Resistência à corrosão	Refinamento de grão
Alumínio	+	+		+			+
Cálcio	+				++	-	+
RE					++		+
Cobre	-	+	-			--	-
Ferro		+				--	
Lítio	-	+	-			-	
Manganês	+	+			+	^(b) +	+
Níquel						--	
Silício		-	+	+	+	-	
Estrôncio	+	+	+		+		+
Ítrio	+				++		+
Zinco	+	^(a) -					
Zircônio	+	+					++

Efeito: ++ = excelente; + = bom; - = ruim; -- = prejudicial

^(a): combinação com alta concentração de Zn

^(b): apenas em combinação com Al

Tabela 3 Limites de solubilidade dos principais elementos de ligas no magnésio ^[65]

Elemento	Limite de solubilidade (m. %)	Elemento	Limite de solubilidade (m. %)	Elemento	Limite de solubilidade (m. %)
Zn	6,2	Nd	3,60	Ag	15,0
Ca	1,34	Gd	23,49	Er	33,8
Mn	2,2	Dy	25,8	Tm	31,8
Si	~0	Th	4,75	Tb	24,0
Al	12,70	Cd	100	Eu	0
Li	5,5	Ga	8,5	La	0,23
Zr	3,8	Sc	~24,5	Ho	28,08
Y	12,4	Ce	0,74	Yb	8,0
Sr	0,11	In	53,2	Lu	~41
Sn	14,5	Sm	~6,4	Pr	~0,6

A maior parte das ligas binárias têm uma tensão de escoamento menor que 150 MPa e suas taxas de corrosão são altas, superiores a 2 mm por ano. A adição do terceiro elemento da liga, que geralmente está em pequena quantidade na rede cristalina, e que comumente tem a função de refinar a microestrutura, melhora as propriedades mecânicas do material. Têm sido utilizados como terceiro elemento, por exemplo: o zircônio, o cálcio, o estrôncio, o manganês e o silício. ^[66, 67]

Diversos estudos são publicados na literatura sobre ligas de Mg, contendo Al e outros elementos tóxicos. Contudo, é conhecido que o Al está associado à demência e doença de Alzheimer, enquanto as terras raras estão associadas à uma resposta inflamatória exacerbada [68, 69].

Estudos que avaliam a resistência mecânica e contra a corrosão destas ligas contendo esses elementos tóxicos em comparação com a liga ZK60 têm sido publicados [12]. Entretanto, quando se pensa em avaliar possíveis biomateriais, é mais seguro propor o uso de materiais que são constituídos por elementos encontrados naturalmente no corpo humano, como por exemplo Ca, Mn, Zn, Sn e Si [65].

A liga ZK60 é constituída por magnésio, zinco e zircônio. A quantidade diária recomendada de ingestão de Mg e Zn são respectivamente (240–420 mg) e (8–11 mg) [70]. No entanto, sobre o zircônio há pouca informação na literatura quanto a sua influência no corpo humano [71, 72]. Alguns poucos autores chegaram a associar a presença do zircônio à câncer de mama, câncer de fígado, câncer de pulmão e câncer nasofaríngeo [136], mas não há consenso sobre isso, além disso, há diversos relatos de sua biocompatibilidade [73, 74, 75]. Na liga ZK60, o Zr está adicionado em pequenas quantidades (~0,6% m.) para refinar os grãos da matriz, resultando em melhor resistência mecânica [12]. Além disto, o zircônio pode ser utilizado para purificar as ligas de Mg, através de técnicas metalúrgicas simples [107]. As propriedades mecânicas de algumas ligas próprias à implantação são apresentadas na Tabela 4 e as propriedades contra a corrosão, Tabela 5 e Tabela 6. Para aplicações intraósseas, é necessário que o implante mantenha sua resistência mecânica superior a 200 MPa e alongação maior que 10% [133]. E são necessárias pelo menos 12 semanas de integridade das propriedades mecânicas [34].

A extrusão é o processo de fabricação mais utilizado, como se vê na amostra de dados da Tabela 4. Esse promove maiores valores de resistência à tração e limite de elasticidade [76]. Embora a presença de impurezas possa influenciar nas propriedades mecânicas das ligas de Mg [77], um sinal claro de que a extrusão promove melhor resistência mecânica é a diferença significativa dos valores de UTS e YS entre ligas de composição similar, porém processadas de diferentes formas: Mg-0,98Mn [78] extrudado e a liga Mg-1Mn [79] laminado (Tabela 4). A influência dos elementos de liga sobre as propriedades mecânicas das ligas de Mg fica evidente no estudo de *Gu et al.* [79], a resistência a tração varia em 60 MPa entre as ligas Mg-1Zn e Mg-1Mn.

As ligas de Mg que possuem maior resistência mecânica são aquelas constituídas por Zn. Destas ligas, a ZK60 possui as melhores propriedades mecânicas, segundo os

dados da Tabela 4. Com a implantação e a degradação da mesma, suas propriedades mecânicas reduzem consideravelmente, e a liga ZK60 é bem indicada para aplicação como um biometal absorvível, pois as ligas de Mg reduzem consideravelmente sua resistência mecânica após implantação, pela perda de parte da estrutura por corrosão^[80].

Parâmetros como a concentração de impurezas e/ou fases intermetálicas e a forma de obtenção do material, como já mencionado neste trabalho, item 3.1.3 (Resistência à corrosão), influenciam fortemente a taxa de corrosão do Mg e suas ligas. Dos estudos da Tabela 5, apenas dois controlam a concentração de impurezas na escala adequada (ppm ou mg.kg⁻¹). Devido à quantidade de parâmetros que envolvem os experimentos eletroquímicos, não é possível comparar diretamente os resultados em valores absolutos quando esses são muito próximos. É importante reiterar que os testes de imersão e o monitoramento da evolução do H₂ e/ou perda de massa é mais representativo da corrosão das ligas de Mg que os testes eletroquímicos. Para fins de comparação, foram calculadas as taxas de corrosão, através de ^[81, 82], das amostras que foram caracterizadas por polarização potenciodinâmica (Tabela 5).

O recente estudo de *Hofstetter et al.*^[83] mostra excelentes resultados obtidos *in vivo* e *in vitro*^[84]. Após 12 semanas de implantação em um osso de um coelho, o implante de Mg-1Zn-0.3Ca de ultra alta pureza praticamente não degradou. Os autores obtiveram a liga em seu próprio laboratório e controlaram a contaminação das impurezas, o que consideraram um fator chave para obter uma taxa de corrosão consideravelmente menor que os estudos até agora encontrados, na ordem de micrometros por ano. Para um implante absorvível, com a função de fixar uma fratura óssea em um paciente jovem, sem alterações sistêmicas, 12 semanas seria o tempo ideal para que houvesse a cicatrização do osso ^[85]. Após o “serviço prestado”, o implante pode degradar-se, sem problemas, independente de tempo, desde que não prejudique os tecidos adjacentes.

Tabela 4 Influência da composição e do processo de fabricação nas propriedades mecânicas de ligas de magnésio com potencial para aplicação biomédica.

Processamento	Materiais	Resistência à tração (Mpa) UTS	Limite de elasticidade 0,2% (Mpa) YS	Elongação à fratura (%)	Ref.
Extrudado à quente	ZK30	286	232	14	86
	ZK60	371	288	18	87
	Mg-3Zn-0,2Ca	242	226	28	88
	Mg-0,98Mn	234	204	39	78
	Mg	198	97	16	
	Mg-2Sn-1Ca (TX21)	305	269	6	89
	Mg-2Sn-1Ca-2Zn (TXZ212)	285	218	23	
	Zn	60	50	3	90
	Mg-2Zn-0.5Ca-1Mn	205	---	16	91
	Mg-1Zn-0.3Ca (ZX-10)	265	238	31	83
	Mg-1Ca	240	185	19.5	92
	Mg-4Zn-0.2Ca	297	240	21	93
	Mg-6Zn-0.5Mn (ZM60)	280	206	17	94
	Mg-6Zn-1Si-0.5Mn ZSM610	314	191	19	
Laminado à quente	Mg-1Mn	170	120	3	79
	Mg-1Si	190	120	5	
	Mg-1Zn	230	160	7	
	Mg-1Zr	180	140	16	
Laminado à quente e tratado termicamente	Mg-2Zn-1Mn (ZM21)	345	---	9	95
Não informado	Mg-5Zn-0.3Ca (ZX50)	295	210	18	96
	Mg-1Zn-0.3Ca (ZX-10)	240	---	26	
Como fundido	Mg-0.6Si	162	60	6	97
	Mg-0.6Si-0.2Ca	154	50	6	
	Mg-0.6Si-0.4Ca	156	56	6	
	Mg-0.6Si-1.5Zn	182	53	14	

Tabela 5 Estudos por polarização potenciodinâmica quanto à resistência à corrosão de ligas de magnésio com potencial para aplicação biomédica.

Materiais	Processamento	Eletrólito	Área com eletrólito	CE	Tempo imersão	Preparação amostra	E_{corr} (V_{SCE})	i_{corr} (μA/cm²)	ref.	Taxa de corrosão (mm.ano⁻¹)	
Mg-0.6Si	Como fundido	350 mL Hanks	1 cm ²	Pt	15 min	até #2000	-1,727	30,6	97	0,70	
Mg-0.6Si-0.2Ca					15 min		-1,547	36,3		0,83	
Mg-0.6Si-0.4Ca					15 min		-1,536	14,3		0,33	
Mg-0.6Si-1.5Zn					15 min		-1,630	12,6		0,29	
Mg-Zn-Ca		SBF	não informado	30 min	até #800	-1,701	336	98	7,68		
Mg-1Ca	Forjado à quente	500 mL SBF pH 7,7	1 cm ²	Grafite	não informado	até #2400	-2,01	5,67.10 ⁻³	99	0,0001	
ZK60	Como fundido	Hanks		Pt		até #2000	-1,5	15	100	0,34	
		DMEM					-1,48	30		0,69	
		DMEM + Soro bovino fetal					-1,45	55		1,26	
	Extrudado à quente	Hanks					-1,35	10		0,23	
		DMEM					-1,3	13		0,30	
		DMEM + Soro bovino fetal					-1,25	23,5		0,53	
		SBF					-1,67	243		93	5,55
Mg-4Zn-0.2Ca				Grafite							

Tabela 6 Estudos por teste de imersão quanto à resistência à corrosão de ligas de magnésio com potencial para aplicação biomédica.

Materiais	Processamento	Controle da degradação	Eletrólito	Área com eletrólito	Tempo de imersão	Preparação amostra	Taxa de corrosão	ref.
HP Mg	Como Fundido	Evolução H ₂	100mL/cm ² SBF NaHCO ₃ /CO ₂ buffer	4 cm ²	14 dias	polimento 1µm	28 µ ano ⁻¹	84
XHP Mg							10 µ ano ⁻¹	
HP Mg	Fundido, TT(400°C)						39 µ ano ⁻¹	
ZK60	Como fundido	Perda de massa e evolução de H ₂	Hanks	1 cm ²	20 dias	até #2000	5,87 mL de H ₂ em 470 horas	100
ZK60	Extrudado à quente		Hanks				3,29 mL de H ₂ em 470	
Mg-4Zn-0.2Ca		Perda de massa	SBF		30 dias		1,98 mm.ano ⁻¹	93

Em um estudo *in vivo* (Figura 2) foram avaliadas as dimensões de um implante da liga ZK60 tratado superficialmente com PEO (*plasma eletrolytic oxidation*), comparativamente a uma liga ZK60 não-tratada^[101]. Os autores viram que o revestimento foi eficaz em até 2 semanas, e retardou a taxa de corrosão do implante. Entretanto, após este tempo, uma maior taxa de degradação foi observada nos implantes tratados com PEO, o que foi atribuído a uma corrosão localizada, com uma pequena área anódica (corrosão localizada) e uma grande área catódica (revestimento obtido por PEO). Observou-se que os implantes também degradaram em uma velocidade não compatível com a recuperação dos tecidos adjacentes, e tal dissolução mais rápida ocorreu entre 4 e 12 semanas.

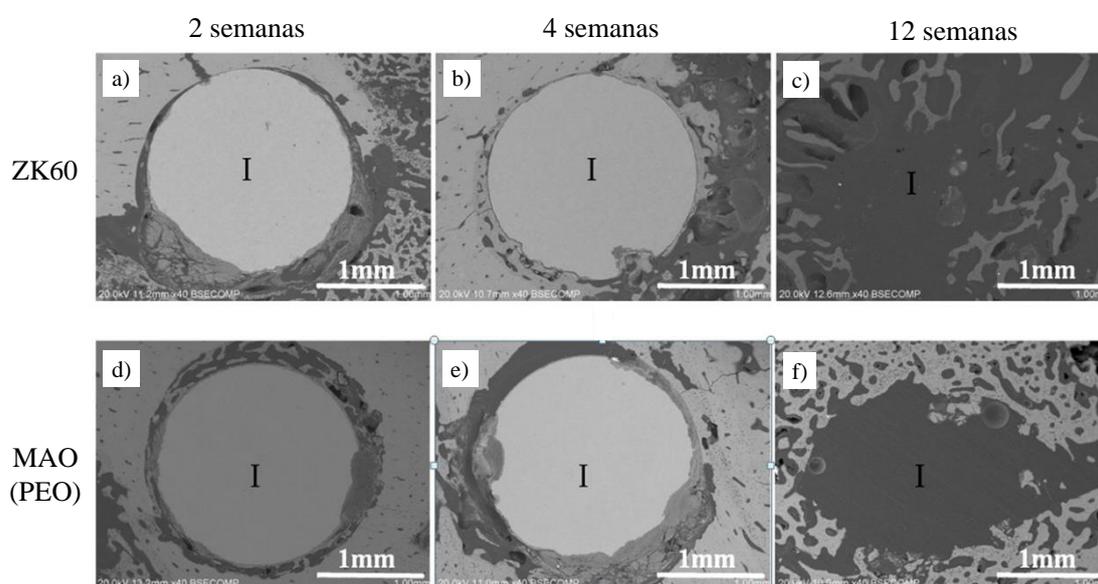


Figura 2 Acompanhamento dos implantes em 2, 4 e 12 semanas após implantação em coelhos. Liga ZK60 tratada por MAO / PEO após (a) 2 semanas, (b) 4 semanas e (c) 12 semanas de implantação e não tratados após (a) 2 semanas, (b) 4 semanas e (c) 12 semanas de implantação^[101].

Na Figura 3, Zheng *et al.*^[102] mostram a deposição de cálcio e fosfato ao redor do implante da liga ZK60 tratada por PEO, evidenciando o início de uma neoformação óssea no local. Foi um estudo realizado em ratos, a liga ZK60 tratada por PEO foi comparada à liga não tratada em termos de corrosão, avaliado por micro-CT. Os resultados mostram que ambos os sistemas não obtiveram a taxa de degradação objetivada. A taxa obtida foi mais alta que a velocidade de cicatrização do tecido adjacente, não havendo o tempo necessário a neoformação óssea. Houve o acompanhamento da atividade do fígado e rins e os resultados mostram comportamento normal, assim como o acompanhamento de alguns constituintes do sangue dos ratos participantes deste estudo. Neste estudo, a biocompatibilidade da liga foi comparada com aquela observada para o ácido polilático

(polímero biodegradável), e além disso a liga ZK60 apresentou boa osteocondutividade e osteoindutividade.

Liga ZK60 tratada por MAO / PEO

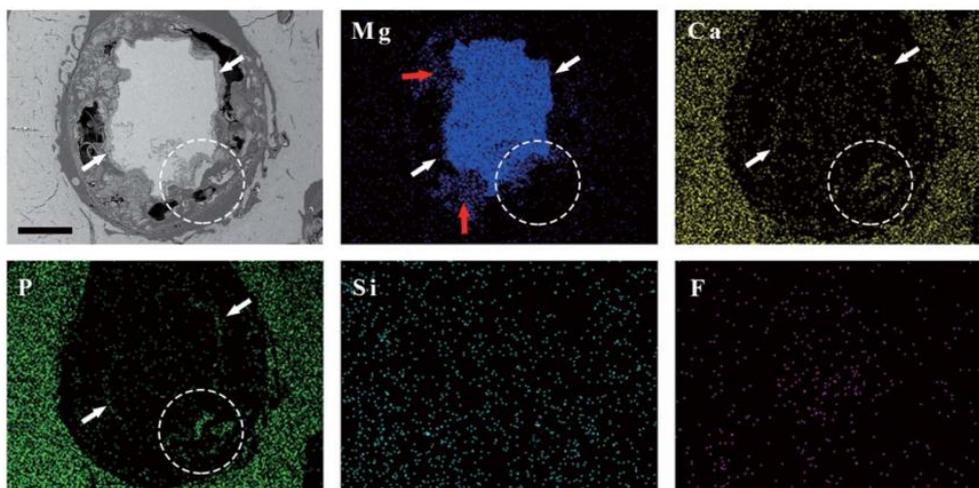


Figura 3 Mapeamento dos elementos Mg, Ca, P, Si e F em sessão transversal após 8 semanas de implantação em um rato da liga ZK60 tratado com MAO / PEO ^[102].

A liberação de gás hidrogênio é fator chave para o sucesso de um implante *in vivo*. A Figura 4 é adaptada de um estudo^[103] que procurou avaliar a influência do gás hidrogênio na cicatrização do tecido adjacente ao implante. O gás produzido no osso esponjoso pode causar cavitação, com as cavidades maiores ocorrendo entre 8-12 semanas após a implantação da liga. Nesse estudo, o gás não afetou a osteogênese, cartilagem e o tecido conjuntivo. A Figura 4 mostra uma reconstrução em μ -CT após 6 meses da implantação do material em cômulo femoral de um coelho.

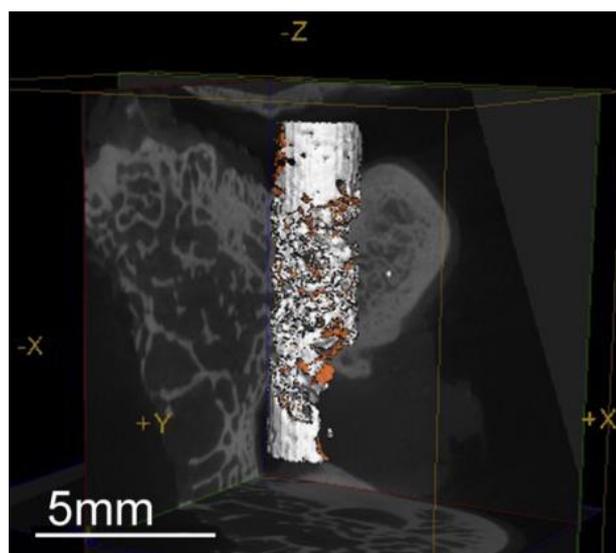


Figura 4 Reconstrução por μ -CT, 6 meses após implantação da liga Mg-2.86 m.% Zn-0.3 m.% Zr em cômulo femoral de um coelho, adaptado ^[103].

Como um biomaterial, a liga ZK60 se encaixa adequadamente, pelos critérios mencionados de resistência mecânica. Como mostra a Tabela 4, a liga ZK60 avaliada no estudo em questão ^[87] possui uma resistência à tração de 371 Mpa, limite de elasticidade de 288 MPa e alongação à fratura de 18%. As propriedades mecânicas da liga ZK60 mostram boa probabilidade de sucesso ao utilizá-la *in vivo*, e é motivação para a pesquisa de novos processos de obtenção da liga, purificação e revestimentos que controlem a taxa de degradação da liga ZK60.

Contudo, como já foi explicado anteriormente, devido à alta reatividade do Mg e suas ligas em meio fisiológico, implantes desses materiais sem revestimento, dificultariam a adesão celular ^[104].

3.1.3. Resistência à corrosão

Outra consideração importante é a influência dos elementos de liga sobre o comportamento à corrosão. Elementos de liga que têm um potencial similar ao do magnésio (-2,37 V [vs SHE]) e/ou que as fases intermetálicas formadas por eles na liga também tenham esta característica, podem melhorar a resistência à corrosão, reduzindo a corrosão galvânica interna ^[105].

O controle da taxa de degradação de um biomaterial absorvível é fundamental para o sucesso do tratamento clínico. O magnésio tem forte tendência a se corroer e voltar ao estado menos ativo, como óxido. Este comportamento dificulta sua aplicação em qualquer meio que envolva um eletrólito. Em linhas gerais, um meio contendo íons cloro, a exemplo do fluido corpóreo, pode ser altamente agressivo para qualquer metal, inclusive os aços inoxidáveis. ^[106]

A corrosão do Mg é relativamente lenta na atmosfera e na água pura. Entretanto, o Mg apresenta altas taxas de corrosão em soluções aquosas contendo íons cloreto, pois: (i) Mg é intrinsecamente reativo, (ii) os filmes formados não são protetores ^[107].

Ligas de magnésio são altamente suscetíveis à corrosão galvânica. Corrosão galvânica é usualmente observada como intensa corrosão localizada adjacente a um cátodo ^[108]. Cátodos podem ser externos (outros metais em contato com o magnésio) ou podem ser internos, como segunda fase ou impurezas.

Um exemplo da corrosão galvânica está presente na revisão de *Hanawalt et al* ^[105], em uma das observações feitas pelos autores, em sua extensa revisão, foi citado o efeito da pureza do magnésio. Os autores observaram a taxa de corrosão do magnésio, determinada por perda de massa em solução de NaCl 3%, e verificaram que magnésio

comercialmente puro (99,9%) apresentou uma taxa de corrosão na ordem de **5-100,00 mg.cm⁻².d⁻¹**, enquanto o magnésio de alta pureza (~99,994%) apresentou uma taxa de corrosão na ordem de **0,15 mg.cm⁻².d⁻¹**. O efeito da adição das impurezas (Figura 5) de ferro, cobre e níquel foi observado no estudo de *Hanawalt et al.*^[105] A curva (Figura 5) mostra um limite de impureza definido, acima do qual a velocidade de corrosão aumenta drasticamente.

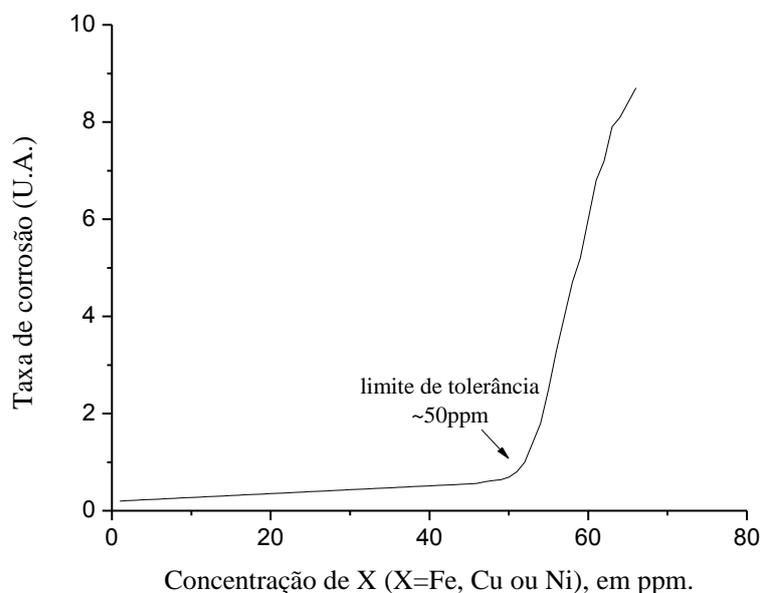


Figura 5 Limite da concentração de impureza na rede cristalina do magnésio, mensurado em ppm, em termos de taxa de corrosão, com os elementos Fe, Cu ou Ni, adaptado de.^[105]

A adição de certos elementos à rede cristalina do magnésio puro pode provocar a precipitação de novas fases. A precipitação de uma segunda fase pode gerar um par microgalvânico com a matriz, como mostra o exemplo na Figura 6. Todas as segundas fases das ligas, com a exceção de algumas contendo Ca^[109], aceleram a corrosão das ligas de magnésio, por corrosão microgalvânica. Por exemplo, a taxa de corrosão da liga Mg-Y (Ítrio) aumentou com a adição Y^[110]. A maior taxa de corrosão foi atribuída ao aumento de micropares galvânicos na estrutura da liga neste estudo. Na Figura 6 está representada a fase α e os precipitados intermetálicos (Mg-Zn) do contorno de grão, neste caso para uma liga contendo altos teores de zinco.^[111]

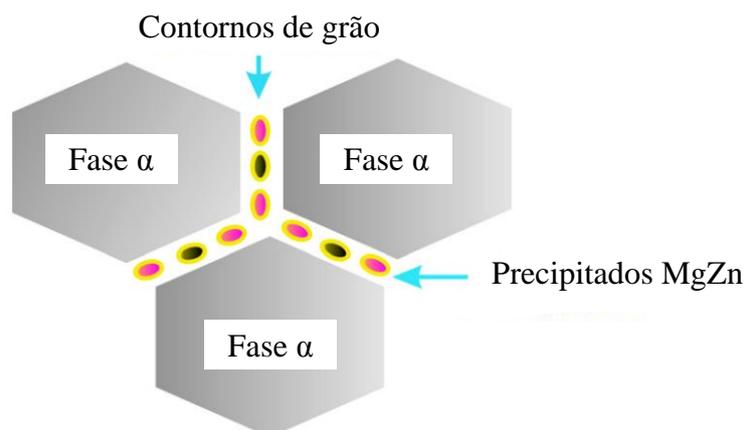


Figura 6 Representação da matriz e precipitados intermetálicos, para uma liga contendo altos teores de zinco com possível formação de par galvânico entre as fases ^[111].

A corrosão galvânica pode ocorrer entre a matriz magnésio e as fases intermetálicas^[105]. Na Figura 7 pode-se observar diferentes padrões de degradação^[112], para diferentes ligas de magnésio, após 20 semanas de imersão em uma solução que simula o fluido corpóreo. WE (liga de Mg, contendo Ítrio e terras raras), ZK60 (liga de Mg contendo alta concentração de zinco) e ZK30 (baixa concentração de zinco).

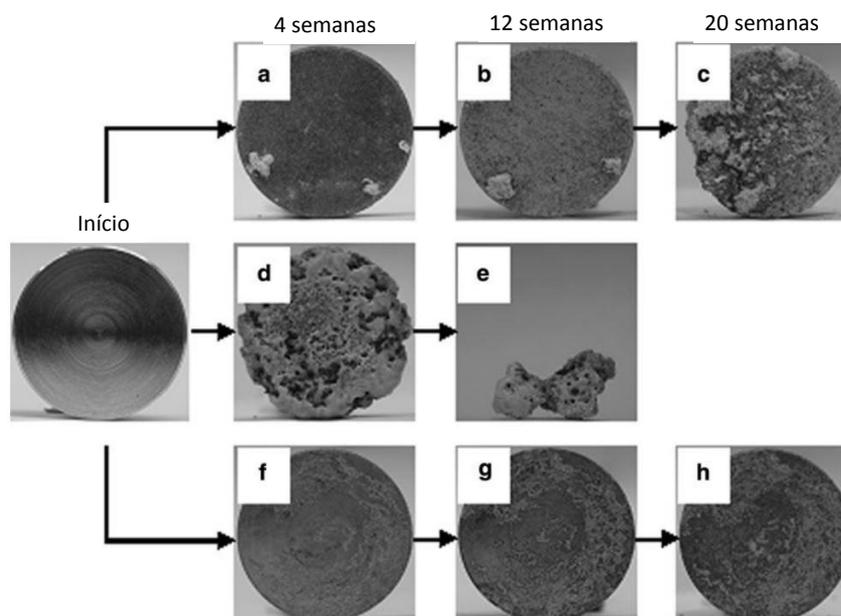


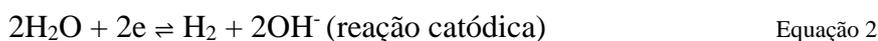
Figura 7 Morfologia da superfície das ligas WE (a, b, c), ZK60 (d, e), ZK30 (f, g, h) após imersão em solução de Hanks por até 20 semanas. A amostra ZK60, contendo altos teores de zinco, degradou-se completamente após 12 semanas de imersão. ^[112]

As Figuras 4d e 4e representam a liga ZK60 após 4 e 12 semanas de imersão, respectivamente, ao comparar com as demais figuras das ligas ZK30 (f; g; h) e WE (a;b;c), a liga ZK60 mostra um padrão de degradação acelerado, o que enfatiza a sensibilidade da liga ZK60 frente aos fluidos corpóreos. Apenas observando a Figura 7, pelo padrão de

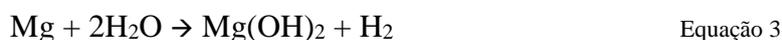
degradação, pode-se pensar em utilizar a liga ZK30 ao invés da liga ZK60. Entretanto, não foi controlada a concentração de impurezas nas ligas mencionadas nesse estudo, e a liga ZK60 em termos de resistência mecânica, se mostra superior^[113], comparado à liga ZK30^[114].

A partir da Figura 7, pode-se concluir que das ligas ali apresentadas, a liga ZK60 é que maior proteção necessita para ser aplicada como um implante, considerando que seriam necessárias pelo menos 12 semanas de integridade das propriedades mecânicas para atingir o tempo necessário para o crescimento ósseo^[34]. Segundo *Erinc et al.*^[115], para aplicações intraósseas (*bone fixtures*), é necessário que o implante mantenha sua resistência mecânica superior a 200 MPa e alongação maior que 10% durante este tempo.

A corrosão do magnésio envolve uma reação (Equação 3) que não contribui com elétrons ao eletrodo de magnésio^[116], e portanto a corrosão do magnésio não pode ser determinada apenas por meios eletroquímicos. São recorrentes na literatura estudos em que os resultados de experimentos eletroquímicos e de perda de massa se contradigam. *Lebouil et al.*^[116] propuseram que a corrosão do magnésio envolva as reações:



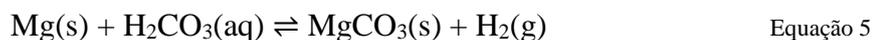
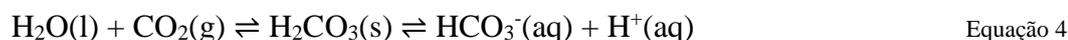
e outra reação, que pode ser escrita como:



Em princípio, a taxa de corrosão do magnésio pode ser avaliada através do controle da evolução de hidrogênio e perda de massa, e podem ser acompanhadas das técnicas eletroquímicas de polarização potenciodinâmica e espectroscopia de impedância eletroquímica, entre outras.

Na prática, a técnica da medição da quantidade de íons Mg^{2+} no eletrólito técnica é dificultada pela baixa solubilidade de $\text{Mg}(\text{OH})_2$, de modo que a quantidade de Mg^{2+} na solução pode ser apenas uma fração da quantidade de átomos de Mg corroído. Por exemplo, o cálculo para as medições de *Lebouil et al.*^[116] indica que apenas 60% do Mg dissolvido foi medido. Isto significa que esta técnica deve ser acompanhada por uma medição independente da taxa de corrosão.

Aproximando-se das condições fisiológicas, *Willumeit et al.*^[117] consideraram a presença do dióxido de carbono e proteínas, apresentando as seguintes reações:



Além disto, Feyerabend et al.^[118] consideraram um ambiente com a presença de sangue, e acrescentaram as seguintes reações:



Em revisão, Walker et al.^[119] abordam a questão da avaliação da taxa de corrosão *in vivo*. As técnicas estão associadas à mensuração da redução física da amostra e pela corrosão no período de implantação. O mais comum dos métodos é a análise do volume remanescente do implante, usando a tomografia micro computadorizada (μCT)^[15, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128]. É uma técnica não destrutiva (uma das suas principais vantagens) mantendo o implante e o tecido adjacente intacto. São usados explantes contendo um implante, fixados em resina. Pelo fato de não alterar os tecidos, pode-se analisar diferentes características, como formação de osso neoformado e o contato osso-implante com os dados obtidos por μCT ^[128], além da possível análise histológica. A desvantagem é o complexo e caro aparato para efetuar os procedimentos.

Outro método utilizado para analisar a corrosão de materiais de magnésio *in vivo* é a mensuração da perda de massa do implante^[120, 128, 129]. Poder comparar com outros estudos *in vitro* de perda de massa, e a menor necessidade de instrumentação especializada são as vantagens desta técnica. Entretanto, a necessidade de separar o implante dos tecidos adjacentes elimina a oportunidade de investigar a interface implante-tecido. Por último, a análise quantitativa *in vivo* é a da sessão transversal do implante, comparado com o implante intacto. Esta análise assume que o material se dissolva de forma uniforme.

A Figura 8 e a Figura 9 apresentam, respectivamente, os diagramas ternários e binários para liga ZK60. Devido à baixa concentração do elemento Zr na liga, é aceitável considerar as fases previstas no diagrama binário Mg-Zn para 6% Zn. Como pode-se observar no diagrama de fases binário (Figura 9), nessa proporção, estão presentes as fases Mg- α e MgZn^[111, 130]. Compostos intermediários, como o MgZn, formam par galvânico com a matriz, prejudicando a estabilidade eletroquímica do material a base de Mg^[111]. A taxa de corrosão galvânica pode ser acelerada pelos seguintes fatores: alta condutividade do eletrólito, o valor da diferença de potencial entre ânodo e cátodo, baixa polarizabilidade do ânodo e do cátodo, grande razão entre a área do cátodo e a área do ânodo, e a pequena distância entre ânodo e cátodo^[131].

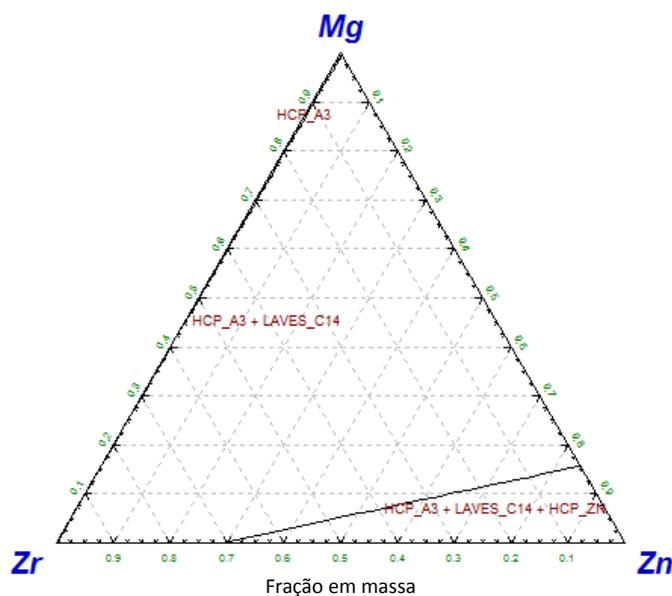


Figura 8 Diagrama de fases ternário Mg-Zn-Zr a 25°C.

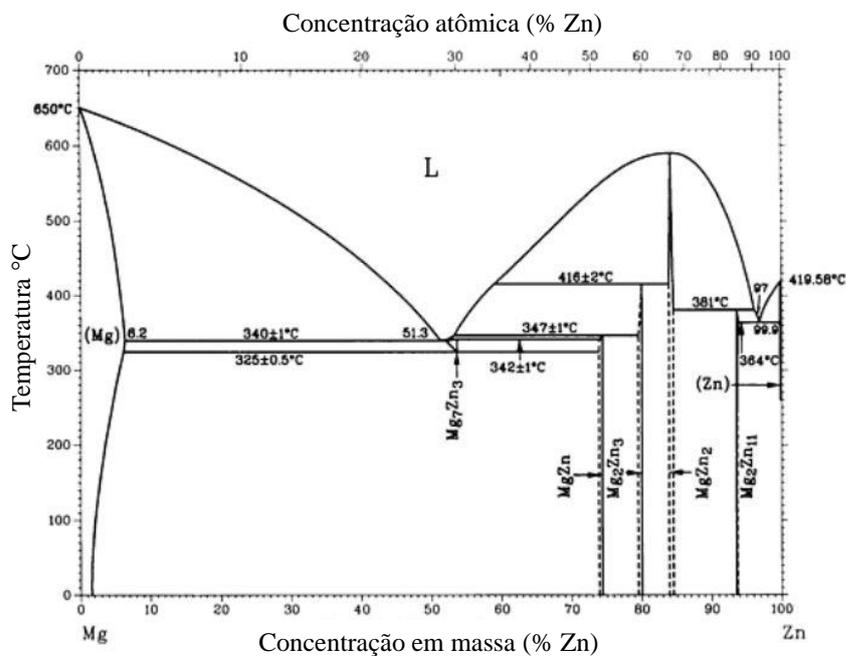


Figura 9 Diagrama de fase binário Mg-Zn.

3.1.4. Limitações do uso de magnésio *in vivo*

A utilização do magnésio *in vivo* não se dá em maior escala por dois fatores principais: a baixa resistência mecânica e a baixa resistência à corrosão [41]. Sabe-se que o magnésio e suas ligas apresentam menor módulo de elasticidade em comparação com outros biometais. Embora o menor módulo de elasticidade do Mg possa ser benéfico no que diz respeito à blindagem de tensões, também pode haver uma maior chance de falha em aplicações com elevada sollicitação mecânica, como na coluna vertebral por exemplo,

onde cargas de compressão podem chegar a 3500 N^[132]. É vital garantir que qualquer implante seja projetado para sustentar cargas sem deformação. Este aspecto é ainda mais importante quando se considera os materiais absorvíveis, pois é necessário o suporte mecânico mesmo com a perda de parte do material, frente a sua degradação, e deve manter suas propriedades acima de um certo limiar, de acordo com a aplicação^[133].

Este processo deve ocorrer a uma velocidade semelhante à cicatrização dos tecidos. A rápida degradação pode causar uma resposta biológica inadequada à cicatrização, pela alta taxa de liberação iônica para os tecidos circundantes. No uso de implantes absorvíveis, deve-se supor que todos os elementos da liga se dissolvam e circulem na corrente sanguínea do paciente. Elementos normalmente presentes no organismo (por exemplo, Mg, Zn^[134] e Ca) também podem ser tóxicos se estiverem presentes em altas concentrações, sobrecarregando rins ou tecidos moles.¹³⁵

A liberação rápida de H₂ pode desencadear a formação de cistos. Bolsas de gás podem se formar nos tecidos moles, podendo causar a separação dos tecidos^[136], além de atrasar a cicatrização, levando à necrose dos tecidos circundantes. No pior cenário, as bolhas de gás poderiam bloquear o fluxo de sangue, causando o óbito^[137].

A taxa de degradação dos implantes pode depender da localização do mesmo, permitindo o aumento das taxas de liberação de H₂ devido ao fluxo sanguíneo, como no caso dos “stents” cardíacos^[138].

Por conseguinte, desde que a taxa de corrosão do dispositivo seja controlada com o auxílio de novas ligas e revestimentos, é razoável esperar que a evolução de hidrogênio durante a degradação de Mg não apresente um problema. Este ponto de vista está de acordo com diversas opiniões desde 1906, com Payr^[43] até o início do século XXI, representado por Witte^[41].

Com o mesmo propósito dos biomateriais, a indústria automotiva e aeroespacial incentivou o desenvolvimento de ligas que melhorassem a resistência à corrosão e mecânica dos materiais a base de magnésio, porém, sem a preocupação do contato com os tecidos humanos. Os elementos de liga que tornam ligas de Mg com propriedades adequadas e de baixo custo são, em geral, tóxicos para os seres humanos. Há uma necessidade de adequar resultados das pesquisas nestas áreas com as necessidades biomédicas^[65].

Entre as diversas possibilidades de ligantes com o magnésio que são estudadas para aplicação biomédica, o alumínio é um dos primeiros na lista de melhorias mecânicas; aumenta a ductilidade, a resistência mecânica, a resistência à corrosão e tem baixo custo.

No entanto, diversos autores associam este elemento à demência e doença de Alzheimer [68, 139, 140, 141]. Tais estudos consideram a ingestão do alumínio por via oral (alimentação/água) ou por inalação. Dependendo de condições como pH, salinidade e temperatura durante o cozimento do alimento, pode aumentar consideravelmente o desprendimento de Al das panelas [142], embora revisões mais antigas (1997) [143] não tenham encontrado consenso sobre o risco de utilizar panelas de Al, outro estudo sugere que seja feita uma mudança nos hábitos alimentares e que as panelas de Al sejam protegidas contra a corrosão [144].

Não há relatos sobre a influência do Al no corpo humano por contato através de implantes metálicos absorvíveis à base de magnésio, entretanto, há um consenso entre os principais estudiosos [62, 119, 135] por criticarem sua presença nas ligas de Mg com potencial para aplicação biomédica.

O uso de elementos de terras raras (ítrio^[145, 146], neodímio^[147, 148], gadolínio^[149], cério^[150] e lântalo^[151, 152]) também é comum em estudos em biomateriais absorvíveis a base de magnésio. Embora existam relatos clínicos em que o uso de elemento de terras raras indicaram alteração na resposta inflamatória do hospedeiro^[135], e o fato de diversos autores criticarem o uso destes elementos como um biomaterial [34, 135], estudos contendo tais substâncias tóxicas continuam a ser desenvolvidos [62].

A questão da toxicidade é considerada, pela grande maioria dos pesquisadores, de alta prioridade no momento da escolha de um elemento de liga para o magnésio. Neste ponto, o zinco é considerado protagonista por diversos autores, pela necessidade que o ser humano tem de ingerir Zn, por exemplo; e pelas propriedades mecânicas que o zinco proporciona, quando ligado ao magnésio, em que apenas perde para o alumínio.

3.1.5. Revestimentos e tratamentos de superfície para o Mg e suas ligas

O revestimento da superfície é um dos mais efetivos meios de controlar o comportamento à corrosão, além de melhorar a biocompatibilidade dos implantes de ligas de magnésio. A taxa de corrosão do implante deve se ajustar a velocidade de cicatrização dos tecidos. Infelizmente, o que se vê em alguns artigos é uma velocidade de corrosão dos implantes maior que a velocidade de formação óssea, o que impossibilita a osseointegração com o implante. *Erdmann et al.* [120] mostram um implante de Mg-0.8Ca (Figura 10) que foi implantado em uma tíbia de um rato, em controle de 2, 4, 6 e 8 semanas. Neste estudo avaliou-se a força necessária para retirar o implante com o tempo, e se viu que essa força diminuía drasticamente.

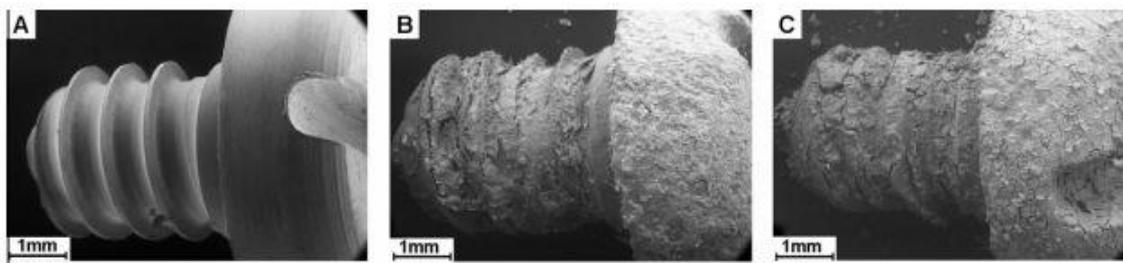


Figura 10 Parafuso de Mg-0.8Ca antes da implantação (A), após 2 semanas da implantação (B) e após 8 semanas da implantação (C), copiado de ^[120].

De acordo com Wang *et al.*^[153] e Hornberger *et al.*^[16] as técnicas de modificação da superfície de magnésio e suas ligas para implantes ortopédicos podem ser divididas em: **revestimentos de conversão** (passivação, conversão química, anodização, implantação de íons) e **revestimentos de deposição** (revestimentos metálicos, inorgânicos e orgânicos), Figura 11.

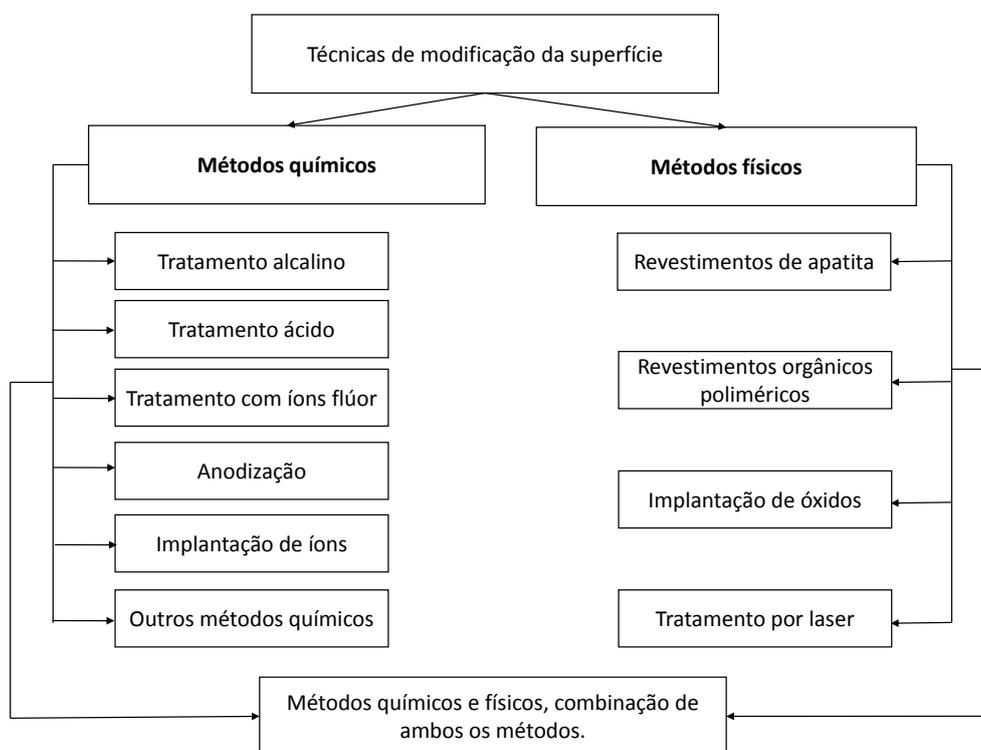


Figura 11. Diferentes técnicas de modificação da superfície, segundo Wang. *et al.* ^[153]

Há tipos de revestimento que são melhor incluídos na área dos biomateriais absorvíveis, como a conversão química, tratamento alcalino, anodização, eletrodeposição e os métodos sol-gel. O contra-exemplo neste caso seriam os revestimentos por DLC (*Diamond-like carbon*), que não possuem a degradabilidade necessária para a aplicação em implantes absorvíveis ^[18].

Dentre aqueles revestimentos bem indicados como biomateriais absorvíveis, incluem-se os revestimentos de conversão química em banho de fosfato de cálcio, uma

técnica capaz de formar uma camada de hidroxiapatita, de composição mineral similar ao do osso humano^[154, 155]. Inclui-se também o revestimento de conversão química em banho contendo íons flúor^[156], formando uma camada de MgF_2 , diminuindo consideravelmente a taxa de corrosão, embora esta camada seja pouco estável^[156]. A técnica de conversão-anodização-oxidação eletrolítica por plasma (PEO/MAO)^[157] é a técnica comercial mais aplicada para preparação de ligas de magnésio. As voltagens aplicadas são maiores que o potencial do *breakdown* dielétrico do óxido formado, de 300 V^[157] a 500 V^[158]. É bem indicada como pré-tratamento do substrato para promover adesão do revestimento a ser depositado^[16].

Outro revestimento interessante em aplicação biomédica é o revestimento metálico por deposição do vapor, aplicado por *Fukumoto et al.*^[20] em uma liga de magnésio AZ31, revestida com Mg de alta pureza. Os autores observaram que quando o revestimento eventualmente quebrava, este funcionava como ânodo de sacrifício, em um estudo de imersão em solução contendo íons cloreto.

A técnica de eletrodeposição catódica usualmente deposita camada de fases inorgânicas. Segundo *Hornberger et al.*^[16], a eletrodeposição catódica leva a revestimentos de hidroxiapatita (HA) com melhores resultados, comparando com os revestimentos de HA criados através da técnica de conversão química^[19, 159].

No artigo de revisão de *Hornberger et al.*^[16], os mesmos destacam os revestimentos de deposição orgânicos como promissores à aplicação biomédica, atrativos por promoverem a proteção contra a corrosão e ainda outras funções como sistema de liberação de medicamentos, podendo ser funcionalizados com biomoléculas. Os revestimentos orgânicos são geralmente aplicados pela simples imersão do substrato em uma solução de constituintes orgânicos. Nessa classe de revestimentos estão, por exemplo, os revestimentos obtidos pela rota *sol-gel*.

A técnica de *dip-coating* tem sido amplamente empregada para a obtenção de revestimentos pela rota *sol-gel* e consiste na imersão de uma amostra em um sol, e a retirada dessa amostra com velocidade controlada.

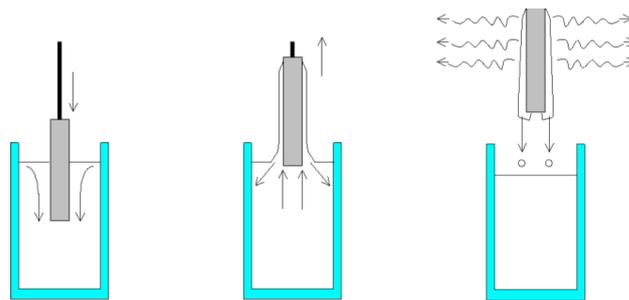


Figura 12 Exemplo de aplicação do dip-coating, com imersão da amostra no sol e remoção a uma velocidade de retirada fixa.

Os fatores que influenciam na espessura de camada ^[160] aparecem na Equação 8:

$$h = \frac{0,94.(n.v)^{2/3}}{\frac{\gamma LV^{1/6}}{(\rho g)^{1/2}}} \quad \text{Equação 8}$$

A Equação 8 corresponde a Lei de Landau e Levich ^[160], que relaciona a espessura de camada (h) para revestimentos obtidos por *dip-coating*, com a viscosidade (n); a velocidade de retirada (v); a densidade do sol (ρ); a tensão interfacial do líquido/vapor (γLV) e a gravidade (g). A velocidade de retirada foi variável neste estudo, e quando se aumenta essa velocidade, a espessura de camada também aumenta, entretanto, os outros itens que influenciam a espessura de camada se mantiveram constantes nas diferentes deposições das camadas.

As ligas de Mg apresentam elevada reatividade em meios ácidos (Figura 13), onde tendem a corroer ocasionando a formação do gás hidrogênio, no momento do *dip-coating*. Se vê a partir do Diagrama de Pourbaix do Mg que abaixo do pH 11 há forte tendência à corrosão do substrato metálico.

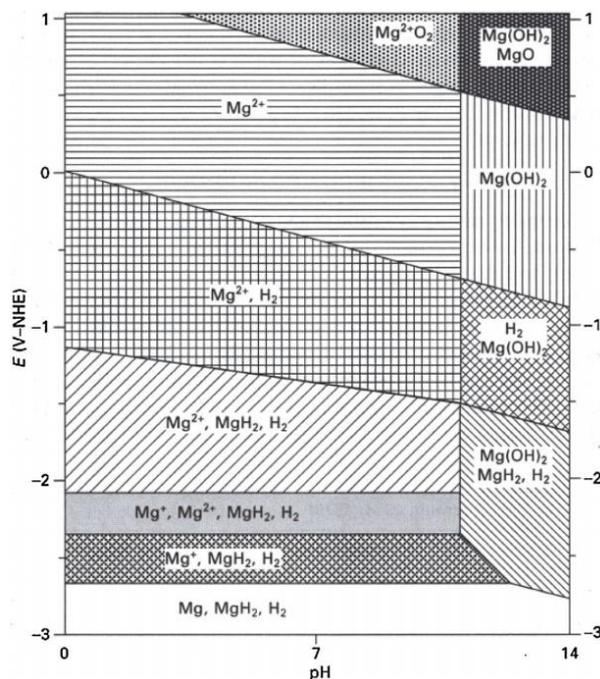


Figura 13 Diagrama de Pourbaix do Mg do pH 0 a 14, com diferenças de potencial de -3 a 1 V, em relação ao eletrodo padrão de hidrogênio.

3.1.5.1 Rota Sol-gel

Wang e Bierwagen^[161] citam que há dois modos para revestimentos sol-gel para proteção à corrosão de metais: o método inorgânico e o método orgânico^[161]. O método inorgânico envolve a formação de uma suspensão coloidal (geralmente óxidos) e geleificação do sol (suspensão coloidal de partículas muito pequenas, 1-100 nm), para formar uma rede na fase líquida. Mas o método mais amplamente usado é o orgânico, que é geralmente iniciado com uma solução monomérica de precursores alcoóxidos de metais ou metalóides $M(OR)_n$, em um álcool ou outro solvente orgânico de baixo peso molecular. Aqui, o símbolo M representa o elemento metálico ou metalóide de formação da rede, tais como Si, Ti, Zr, Al, Fe e B; e R é tipicamente um grupo alquila (C_xH_{2x+1}). As etapas para a obtenção do filme estão apresentadas na Figura 14, para o caso de $M = Si$. (adaptada de^[161])

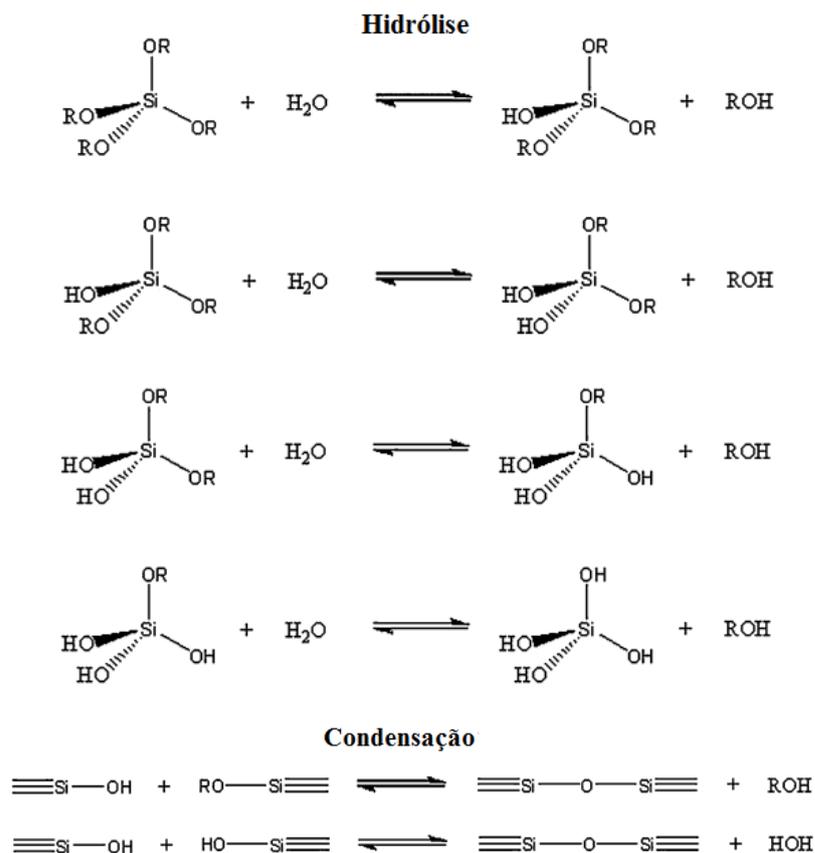


Figura 14 Esquema representativo da hidrólise e condensação em sistemas sol-gel, adaptado de ^[161]

Geralmente, a formação de sol-gel ocorre em quatro fases ^[161]: **(a)** hidrólise (Figura 14), **(b)** a condensação (Figura 14) e a polimerização de monômeros para formar cadeias e partículas, **(c)** o crescimento das partículas, **(d)** a aglomeração das estruturas de polímeros seguido pela formação de redes que se estendem por todo o meio líquido resultando em espessamento, que forma um gel. Na verdade, a hidrólise e a condensação ocorrem simultaneamente, uma vez que a reação de hidrólise foi iniciada. Ambos os passos de condensação e hidrólise podem gerar produtos tais como álcool e água, que são de baixo peso molecular. Após secagem, estas moléculas pequenas são expulsas da rede. Estes processos são essencialmente afetados pelas condições iniciais da reação, tais como pH, relações molares de reagentes e composição do solvente ^[161].

Após a deposição do revestimento, existe uma contração de volume e acumulação de tensão interna devido à grande evaporação de solventes e água. Se as condições de formação de filme não são cuidadosamente controladas, fraturas se formam facilmente devido a este esforço interno ^[161].

3.1.5.2 Revestimentos Orgânicos à base de quitosana e GPTMS

Dentre os diversos revestimentos possíveis de serem efetuados, o presente trabalho foca em revisar a literatura quanto aos revestimentos orgânicos baseados em quitosana e/ou GPTMS, por ser objeto de estudo nesse trabalho.

Em comparação com outros revestimentos, os revestimentos poliméricos absorvíveis ^[135] podem isolar o substrato do meio de forma mais eficaz. *Baumgardner et al.* ^[162] observaram que o polímero natural quitosana promoveu maior adsorção de albumina e fibronectina, aumentando a adesão de células embrionárias, comparado ao grupo controle, em um estudo com titânio.

Hahn et al. ^[163] avaliaram revestir uma liga de magnésio AZ31 com um compósito quitosana e HA através de deposição por aerosol. Concluíram que os recobrimentos possuíam alta adesão, entre 24,6 a 27,7 MPa, além de melhorar a resistência à corrosão do substrato (uma ordem de grandeza menor no i_{corr}), avaliado por testes eletroquímicos (polarização potenciodinâmica).

Um revestimento similar ao que este estudo propõe foi testado *in vivo* ^[30], no entanto não existe relato conhecido sobre o revestimento de quitosana + GPTMS na liga ZK60. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo é de criar um revestimento híbrido a base de quitosana e GPTMS para proteger a liga ZK60 da corrosão, com intuito de futura aplicação biomédica.

O referido estudo *in vivo* ^[30] aplica o compósito Mg-6%Zn-10%Ca₃(PO₄)₂ revestido com quitosana. Esse estudo avaliou que havia menor concentração de íons metálicos na corrente sanguínea de coelhos com implantes recobertos com a quitosana em comparação aos compósitos não revestidos, em um acompanhamento por 12 semanas. Este resultado indica uma menor velocidade de degradação *in vivo* com implantes compósitos revestidos com quitosana. Estes autores avaliaram o comportamento de importantes órgãos viscerais incluindo o coração, rins e fígado dos coelhos, e observou a quitosana ser inofensiva para tais órgãos. Além disso, os autores concluíram ser o revestimento de quitosana uma barreira efetiva contra a corrosão, reduzindo a liberação de gás hidrogênio pelo compósito. A redução da taxa de corrosão evita a formação de bolhas subcutâneas.

Sistemas híbridos (orgânico-inorgânico) compostos de quitosana e organosilanos têm sido apontados como candidatos a aplicações biomédicas devido a sua degradabilidade, biocompatibilidade, não-tóxicidade ^[164], e ainda ao fato de o Si(IV) estimular a proliferação celular e expressão gênica ^[165,166]. *Shirosaki et al.* ^[31] reportaram

que seus híbridos derivados de quitosana e GPTMS apresentaram excelentes níveis de biocompatibilidade com células MG63. Entretanto, neste estudo não foi utilizado metal como substrato.

Em outro estudo^[28] com quitosana, filmes compósitos de celulose e quitosana foram desenvolvidos por imersão de uma película (celulose) em solução de quitosana-ácido acético. A quitosana penetrou na rede de fibrilas da celulose e preencheu os poros. Os resultados no FTIR indicaram a interação intermolecular entre os grupos amino da quitosana e os grupos hidroxila da celulose. Algumas propriedades mecânicas, tais como a resistência à tração e módulo de Young diminuíram em comparação com a película não modificada. No entanto, com a quitosana, os filmes compósitos exibiram propriedades biológicas e antimicrobianas importantes para a cicatrização de feridas. Estes filmes mostraram capacidades antimicrobianas contra *S. aureus* e *A. niger* e promoveram a adesão, disseminação e proliferação de queratinócitos humanos e de fibroblastos.

Muzzarelli.^[29] afirmou que a quitosana permite a obtenção de uma superfície hidrofílica promotora de adesão, proliferação e diferenciação celular, além de ter alta capacidade de formação de filmes, boa biocompatibilidade e boa reposta do hospedeiro. Além disso, a quitosana possui significativa influência bioquímica na homeostase, angiogênese, ativação de macrófagos e controle da proliferação de fibroblastos. A quitosana é agente bactericida e bacteriostático e a biodegradabilidade da quitosana é realizada por lisossomos e outras enzimas. Ainda, segundo *Muzzarelli* ^[29], a quitosana possui baixa resistência mecânica e capacidade de manter uma forma pré-definida após a reticulação (*cross-linking*).

A quitosana tem sido explorada como potencial para muitas aplicações de engenharia de tecidos, como em materiais híbridos, onde redes de orgânicos e inorgânicos se interpenetram ao nível molecular. Há interesse particular em utilizar 3-glicidoxipropil trimetoxissilano (GPTMS) como um agente de reticulação covalente entre as redes num processo sol-gel. O GPTMS contém tanto um anel epóxi, que pode ser submetido a uma reação de abertura deste anel com a amina primária da quitosana, quando um grupo trimetoxissilano, que pode co-condensar com os precursores de sílica para formar uma rede de sílica (Figura 15). Muitos investigadores exploraram esta reação de abertura do anel, que ainda não está completamente compreendida, segundo *Connell et al*^[167].

Como mostra a Figura 15, a reação entre o GPTMS e quitosana se dá através da abertura do anel epóxi do GPTMS com a amina primária da quitosana, e se forma uma

estrutura maior contendo uma amina secundária. Concomitante, há hidrólise do grupo trimetoxissilano.

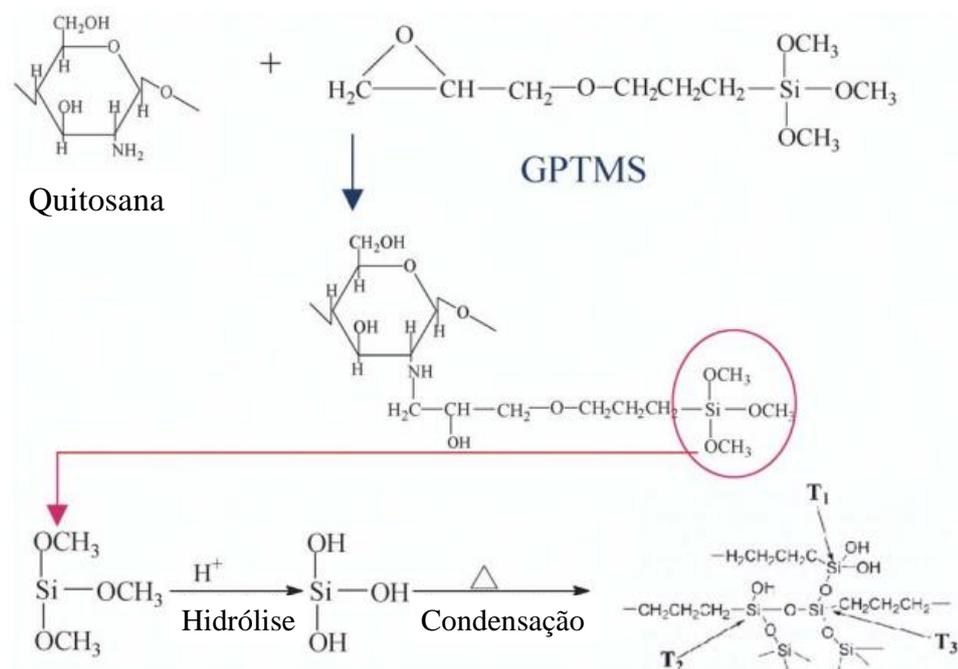


Figura 15 A reação entre a quitosana e o GPTMS. As reações de hidrólise e condensação propostas por Ying-Ling^[168].

As reações que ocorrem do GPTMS, com água e quitosana, são catalisadas em meio ácido, porém as quantidades relativas de produtos (amina) e produtos secundários (diol) formados não dependem do pH ^[167] (Figura 16b). Entretanto, aumentando o pH pode acelerar a condensação de grupos silanol (gelação) ^[169]. As amostras sintetizadas (quitosana e GPTMS) no estudo de *Connell et al.* ^[167], funcionalizadas em pH 2 degradaram mais rapidamente que aquelas sintetizadas a pH 4 em contato com SBF (*Simulated Body Fluid*). Isto é atribuído à maior conexão das redes observada no pH 4, comparado à síntese com pH 2. Somado a isso, em testes mecânicos, os resultados obtidos com as matrizes de suporte extracelular (*scaffolds*) funcionalizados a pH 4 foram melhores que os funcionalizados em pH 2.

Segundo os autores, as reações de formação da amina secundária (Figura 16a) indicaria a reação de GPTMS e quitosana. O anel epóxi, que se faz presente antes desta reação ocorrer, se manteve em 98% (fração molar) nas reações em pH 6. Nas reações em pH 2 e 4 foram 9% e 68%, respectivamente após o mesmo tempo de hidrólise, 24 horas^[167] (Figura 16). De acordo com a Figura 16a e Figura 16b, as três condições de pH testadas para a reação da quitosana com o GPTMS resultam nos mesmos constituintes e

a proporção Amina/Diol permanece constante, porém o tempo necessário para ocorrer a reação varia com o pH. Em pH 6, por exemplo, leva vários dias para se completar. A literatura não relata controle da temperatura das reações de síntese do sol, e há pouquíssima informação sobre o tempo de hidrólise ótimo para estas reações.

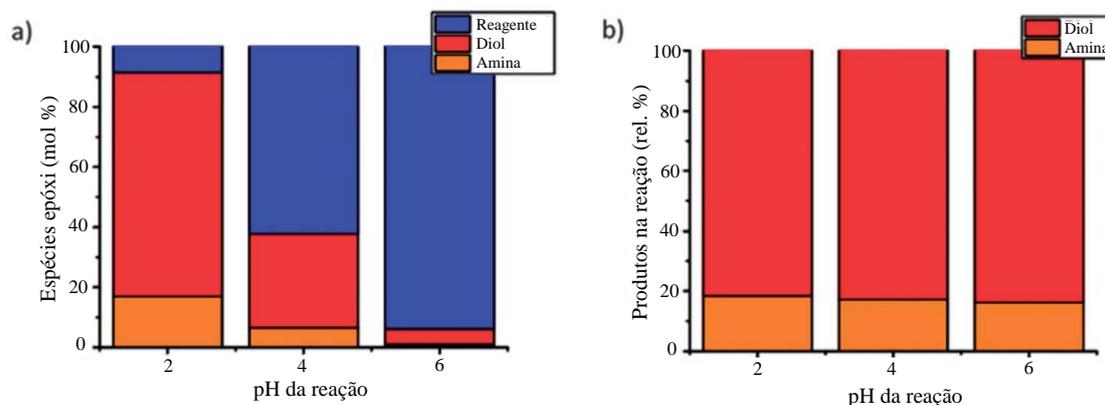


Figura 16 Reação entre quitosana e GPTMS em diferentes pH. (a) reagentes e produtos envolvidos na reação e (b) as proporções dos produtos da reação diol/amina, em agitação por 24 horas, adaptado^[167]

3.1.6. Adesão do filme ao substrato

No caso dos revestimentos orgânicos sol-gel solidificados por cura, uma tensão se faz presente quando se produz um revestimento sol-gel sobre um substrato rígido. A retração da rede (*shrinkage*) durante a cura pode chegar a 20% ou mais em alguns sistemas de polímeros^[170]. Como consequência, há o estabelecimento de tensões substrato-revestimento e a formação de descontinuidades do revestimento por fissuras, delaminação e “enrugamento”, que interferem na adesão do revestimento ao substrato^[171].

Pode-se observar pela Figura 17, adaptada de Francis *et al.*^[171], que há um certo tempo, nos primeiros minutos de cura, em que o revestimento solidifica, e logo então começa a ser registrado a tensão no revestimento, que cresce drasticamente.

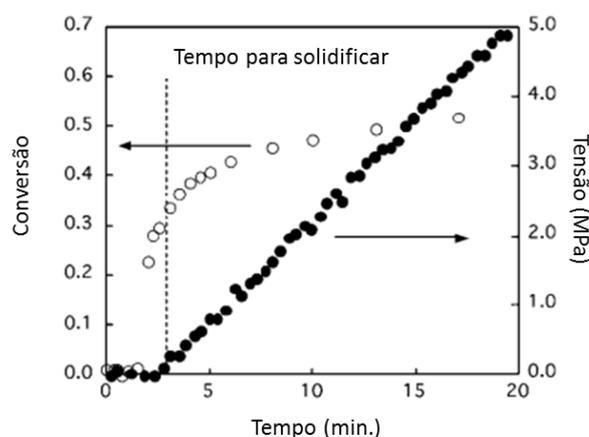


Figura 17 Adaptada de^[171], mostra a solidificação por cura de um gel hipotético, a uma temperatura constante considerando o desenvolvimento de tensões internas.

A temperatura de cura influencia a tensão desenvolvida no filme^[171]. Segundo Francis *et al.*, revestimentos obtidos por sol-gel podem desenvolver grandes tensões pela vasta evaporação de solvente^[171].

A umidade relativa do ar também se mostra importante à promoção da tensão no revestimento^[171]. A Figura 18 mostra a tensão durante o tempo da cura do revestimento. O primeiro gráfico considera a temperatura de cura, enquanto o outro considera a umidade relativa do ar durante a cura versus o tempo (minutos). Segundo a Figura 18, adaptada de Francis *et al.*^[171], um baixo nível de umidade no momento da cura promove maior tensão no revestimento, comparando com maiores concentrações de umidade no ambiente. A temperatura de cura deve estar acima da temperatura de transição vítrea do revestimento, para que se minimize as tensões internas^[171].

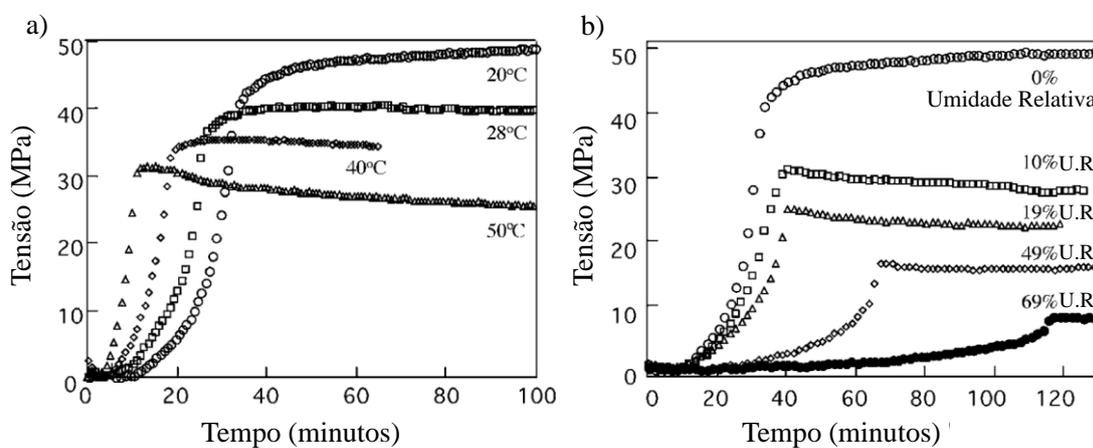


Figura 18 Adaptada de ^[171] (a) influência da temperatura e (b) umidade relativa do ar no estresse dos revestimentos no decorrer da cura dos mesmos.

4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Foi criado um fluxograma (Figura 19) com o intuito de facilitar o entendimento das etapas que foram adotadas na metodologia experimental deste trabalho. O fluxograma trata de importantes fases do estudo como a preparação da amostra, seleção da metodologia para o sol e a caracterização das arquiteturas obtidas.

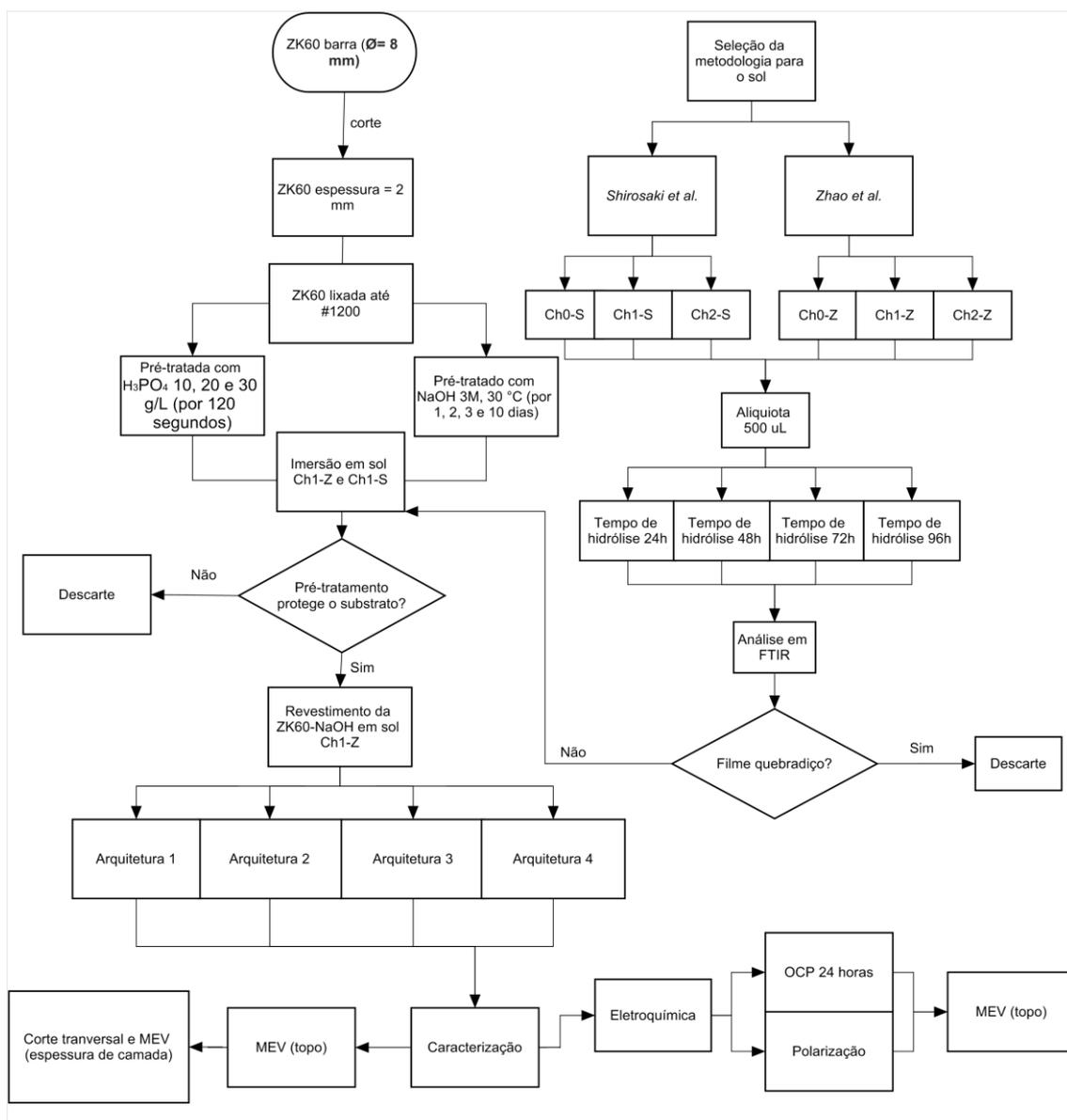


Figura 19 Fluxograma da metodologia experimental adotado neste trabalho.

A liga de magnésio utilizada neste estudo foi a ZK60 (Mg- 6%Zn-0,6%Zr) fundida, procedente do Instituto de pesquisa em materiais Helmholtz-Zentrum Geesthacht, Alemanha. Foi feita a revelação da microestrutura através de lixamento até granulação #2500, polimento com pasta de diamante 1 μm e álcool, polimento com alumina 0,3 μm

com água, amostra limpa com álcool absoluto em ultrassom por 5 minutos, e por fim, o ataque ácido com 1 mL ácido fluorídrico, 1 mL ácido nítrico e 48 mL de água deionizada [172], por 15 segundos, com a face da amostra para cima, em agitação leve. Após o ataque, amostra foi lavada com água deionizada, álcool e seca com ar frio, sem ser esfregada com algodão. Foram fotografadas amostras no microscópio óptico anterior e posterior ao ataque ácido. A imagem após o ataque foi tratado com o *software* ImageJ com o intuito de aumentar o contraste entre as cores.

4.1. Estudo do SOL

Obteve-se o sol a partir de metodologias apresentadas em dois diferentes artigos científicos. De acordo com a metodologia de *Shirosaki et al.* [31], que em seu artigo não objetivavam a obtenção de um revestimento mas a obtenção de *scaffolds* (matriz de suporte extracelular para regeneração tecidual, com características específicas) com esse método, foi adicionado 2% (m/v) de quitosana em ácido acético 0,25 M (1,5%). O outro estudo da literatura foi proposto por *Zhao et al* [30] e indica a obtenção de revestimentos com quitosana sobre o compósito Mg-6%Zn-10%Ca₃(PO₄)₂ utilizando 1% (m/v) de quitosana em ácido acético 0,2%.

No presente estudo, a fim de obter um revestimento à base de quitosana para aplicação sobre uma liga ZK60, foram utilizados os sóis apresentados na Tabela 7, adicionando-se diferentes relações de concentração de quitosana e GPTMS: quitosana 1:1 GPTMS e quitosana 1:2 GPTMS (fração molar), seguindo como referência outro artigo de *Shirosaki et al.* [173].

A adição de GPTMS à solução de quitosana tem por objetivo contribuir para a reticulação do revestimento. O referido agente promoveria a reticulação do revestimento e além de ser biocompatível e absorvível, promoveria o aumento da molhabilidade da superfície devido à presença dos grupos silanol, comparando com o filme de quitosana pura, o que favorece a adesão e proliferação de células [173].

Tabela 7 Descrição dos sóis sintetizados de acordo com as metodologias de obtenção de *Shirosaki et al.*^[31] e *Zhao et al.*^[30].

Nome do Sol	Descrição	Método de síntese
Ch0-S	Quitosana:GPTMS 1:0	<i>Shirosaki et al.</i> ^[31]
Ch1-S	Quitosana:GPTMS 1:1	
Ch2-S	Quitosana:GPTMS 1:2	
Ch0-Z	Quitosana:GPTMS 1:0	<i>Zhao et al.</i> ^[30]
Ch1-Z	Quitosana:GPTMS 1:1	
Ch2-Z	Quitosana:GPTMS 1:2	

4.1.1. Preparação do SOL

Os sóis foram preparados de acordo com a Tabela 7, empregando-se ácido acético glacial (Química Moderna) pureza 99,7%, diluído em água deionizada e quitosana de alta viscosidade (Sigma Aldrich, ref.: 48165) (massa molar não informada) e o precursor silano GPTMS (Glicidoxipropiltrimetoxisilano) (Sigma Aldrich).

A quitosana foi dissolvida em ácido acético nas respectivas concentrações citadas e, para completa dissolução da quitosana, agitou-se a solução por 24 horas, a temperatura de 20 °C. Depois disso, foi adicionado o precursor silano GPTMS a essa solução inicial.

4.1.2. Seleção do melhor tempo de hidrólise do silano.

Estudos são escassos sobre a utilização de quitosana e GPTMS com a finalidade de revestir materiais metálicos à base de magnésio. Não se tem na literatura, por exemplo, relatos de estudos do tempo de hidrólise. A fim de avaliar o tempo de hidrólise do sol obtido com quitosana e GPTMS, três sóis foram avaliados. Um deles com 0 GPTMS, outro com na proporção 1:1 e o último na proporção 1:2 (proporção quitosana:GPTMS em razão molar).

O efeito do tempo de hidrólise foi avaliado por (*Fourier-Transform infrared spectroscopy*) (marca Bruker) para os filmes obtidos sobre uma placa de polipropileno. Foram coletadas alíquotas de 500 µL de cada sol (Ch0, Ch1 e Ch2) em diferentes tempos de hidrólise, 24, 48, 72 e 96 horas de hidrólise. As amostras foram curadas a 60 °C por 48 horas.

4.2. Substrato

A liga ZK60 foi obtida por fundição no Instituto de Pesquisa em Materiais (em Helmholtz-Zentrum Geesthacht, Alemanha). A composição da liga de magnésio foi determinada por fluorescência de Raios-X (marca Thermo Scientific, modelo Niton XL3t). Os tarugos foram usinados na forma de cilindros, com diâmetro 8 mm e as amostras foram obtidas através de corte transversal do cilindro, na espessura de aproximadamente 2 mm. As amostras foram lixadas com lixas de carbetto de silício (SiC), da granulação #400 até #1200, depois disso foram lavadas com etanol e armazenadas em um dessecador.

Dois pré-tratamentos foram propostos com o objetivo de evitar o ataque à liga ZK60 no momento da aplicação do sol por *dip-coating*, pois essa liga apresenta elevada reatividade em meios ácidos (Figura 13), onde tende a corroer ocasionando a formação do gás hidrogênio. O gás formado pode ficar aprisionado entre o sol e o substrato metálico, o que prejudica a formação do revestimento. Foram estudados como pré-tratamento das amostras: pré-tratamento com H_3PO_4 e pré-tratamento com NaOH.

4.2.1. Estudo do pré-tratamento

Dois pré-tratamentos foram realizados. O primeiro pré-tratamento consistiu na decapagem em HNO_3 0,16 M por 60 segundos e imersão em H_3PO_4 (concentrações 0,10, 0,20 e 0,31 M) por 120 segundos a 22 °C, visando a formação de uma camada de fosfato [174]. Durante esse pré-tratamento, o potencial de circuito aberto foi monitorado com o uso de um potenciostato Autolab, PGSTAT. Após o pré-tratamento, as amostras foram enxaguadas em água destilada, secas com ar frio e armazenadas em dessecador. O outro pré-tratamento foi realizado pela imersão das amostras em solução de NaOH 3M, por 10 dias, a temperatura de 30 °C, visando a formação de uma camada de $Mg(OH)_2$ [175]. Durante esse pré-tratamento, o potencial de circuito aberto também foi monitorado com o uso de um potenciostato Autolab, PGSTAT.

4.2.2. Obtenção dos revestimentos por *dip-coating*

Os revestimentos de GPTMS com quitosana foram obtidos pela técnica de *dip-coating*, combinando diferentes velocidades de retirada com o objetivo da obtenção de diferentes espessuras de camada e conseqüentemente, de revestimentos com diferentes

arquiteturas (Tabela 8). Foram arquitetadas pelo menos 3 amostras de cada sistema. O equipamento *dip-coater* utilizado foi da marca Marconi, modelo MA 765.

Tabela 8 Descrição das amostras.

Nome	Descrição
ZK60	Liga ZK60 (Mg-6.81Zn-0.57Zr).
ZK60-NaOH	Liga ZK60 pré-tratada com NaOH 3M por 240 horas.
Arquitetura 1	ZK60-NaOH revestida com 1 camada de Ch1-Z, com velocidade de retirada de 5 cm.min ⁻¹
Arquitetura 2	ZK60-NaOH revestida com 2 camadas de Ch1-Z. com velocidade de retirada de 5 cm.min ⁻¹
Arquitetura 3	ZK60-NaOH revestida com 3 camadas de Ch1-Z, as duas primeiras com velocidade de retirada de 5 cm.min ⁻¹ sendo a última mais espessa, com velocidade de retirada de 10 cm.min ⁻¹
Arquitetura 4	ZK60-NaOH revestida com 3 camadas de Ch1-Z, todas com velocidade de retirada de 5 cm.min ⁻¹

Após *dip-coating* a amostra foi colocada em uma estufa a 60 °C por 24 horas. A segunda arquitetura consistiu na obtenção de duas camadas, nas mesmas condições que a arquitetura 1, mas com 6 horas de cura entre as camadas.

A outra arquitetura consistiu na obtenção do filme a partir de três camadas, sendo as duas primeiras camadas obtidas com velocidade de retirada de 5 cm/min e a terceira camada com velocidade de retirada de 10 cm/min. Entre uma aplicação e outra as amostras foram colocadas em uma estufa a 60 °C por 6 horas e ao final colocadas em uma estufa a 60 °C por 24 horas.

Nessa técnica, a velocidade de retirada tem relação com a espessura de camada ^[160], e dessa forma espera-se, com o aumento da velocidade de retirada de 5 para 10 cm.min⁻¹, aumentar a espessura da última camada em relação à espessura das camadas anteriores, com o objetivo de aumentar a proteção à liga ZK60.

4.2.3. Caracterização dos revestimentos obtidos por *dip-coating*.

Os revestimentos obtidos foram caracterizados quanto à morfologia e espessura de camada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (Marca Jeol, modelo JSM 6510LV) e composição química por Espectroscopia de raios-X por dispersão de energia (EDS).

Para avaliar o efeito-barreira contra a corrosão do revestimento obtido, o potencial de circuito aberto das amostras revestidas foi monitorado por 24 horas imersas em 30 mL de solução que simula o fluido corpóreo, Tabela 9 (SBF^[176]) a 37 °C. Os ensaios em que

se realizou o monitoramento do OCP foram realizados em triplicata. Após os ensaios de monitoramento de OCP, as amostras foram enxaguadas com água deionizada e secas com ar frio.

Tabela 9 Composição da solução salina SBF (Simulated Body Fluid) utilizada nos testes de imersão e polarização.

Composição	Concentração
NaCl	8,035 g/L
NaHCO ₃	0,355 g/L
KCl	0,225 g/L
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,231 g/L
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,311 g/L
1,0M-HCl	39 mL/L
CaCl ₂	0,292 g/L
Na ₂ SO ₄	0,072 g/L
Tris	6,118 g/L
1,0M-HCl	0 – 5 mL/L

Empregando-se a mesma solução a 37 °C, realizou-se a caracterização por curvas de polarização potenciodinâmica, após 60 minutos de imersão [tempo no qual se monitorou o potencial de circuito aberto (OCP), com 4 aquisições de dado por segundo] Empregou-se uma célula com três eletrodos, tendo como eletrodo de referência um eletrodo de calomelano saturado (SCE) e como contra-eletrodo um fio de platina, sendo o ensaio realizado em meio arejado, assim como *Jamesh et al.* ^[177]. A área exposta para a análise foi de ~0,29 cm². A velocidade de varredura do potencial foi de 1 mV.s⁻¹. A varredura catódica começou 150 mV abaixo do OCP e encerrou quando a célula atingia 1 mA.cm⁻²^[178]. Após o monitoramento do OCP e ensaio de polarização as amostras foram avaliadas por MEV e EDS. Os ensaios de polarização foram realizados em triplicata. Após os ensaios de polarização, as amostras foram enxaguadas com água deionizada e secas com ar frio.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo do Sol

Foram obtidos sóis com as diferentes metodologias de acordo com *Shirosaki et al.*^[31] e *Zhao et al.*^[30] e medidos os valores de pH para cada um dos sóis, conforme está apresentado na Tabela 10. A concentração de íons H_3O^+ de cada sol se distancia em ~ 10 vezes, sendo o sol preparado de acordo com *Zhao et al.* o menos ácido (pH ~4). Um pH maior diminuiria a agressividade do sol ao substrato ZK60.

Pelo princípio de Le Chatelier, o aumento da concentração de íons hidrônio deslocaria o equilíbrio no sentido da corrosão do Mg ao neutralizar os íons hidroxila da reação (Equação 2).

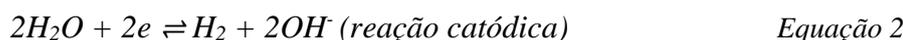
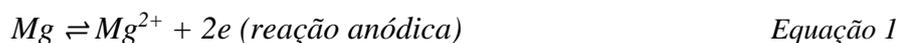


Tabela 10 Descrição dos sóis sintetizados de acordo com as metodologias de obtenção de *Shirosaki et al.*^[31] e *Zhao et al.*^[30].

Nome do Sol	Descrição	pH	Método de síntese
Ch0-S	Quitosana:GPTMS 1:0	2,9	<i>Shirosaki et al.</i> ^[31]
Ch1-S	Quitosana:GPTMS 1:1	3,0	
Ch2-S	Quitosana:GPTMS 1:2	3,0	
Ch0-Z	Quitosana:GPTMS 1:0	4,05	<i>Zhao et al.</i> ^[30]
Ch1-Z	Quitosana:GPTMS 1:1	4,1	
Ch2-Z	Quitosana:GPTMS 1:2	4,1	

5.1.1. Caracterização por FTIR (*Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*)

Para avaliar a evolução da estrutura do sol com o tempo e determinar o tempo necessário para hidrólise, visando à obtenção do filme, foi realizada a análise de FTIR. No espectro do filme obtido a partir do sol à base de quitosana sem adição de GPTMS, sintetizado pelo método proposto por *Zhao et al.*^[30] (Figura 20), pode-se observar que as alturas relativas dos picos não se alteram com o passar do tempo e que para todos os tempos de agitação (24, 48, 72 e 96 horas), todos os espectros apresentaram os mesmos picos. Isto demonstra a presença dos mesmos grupos funcionais dentro da estrutura, e que estes grupos não variam com o tempo de agitação; portanto, é provável que os

revestimentos tenham a mesma estrutura. Porém, não se pode afirmar com exatidão que a estrutura do revestimento é a mesma, pois não é possível determinar o grau de polimerização através desta análise, para isso seria necessário um estudo adicional com ressonância magnética nuclear (RMN)^[167].

A Figura 21 apresenta os espectros de FTIR correspondentes aos sois à base de quitosana sem adição de GPTMS, para o tempo de agitação de 24 horas, seguindo as rotas sintéticas de *Zhao et al.*^[30] (Ch0-Z; pH = 4,0) e *Shirosaki et al.*^[31] (Ch0-S; pH=3). Não se observou nenhuma diferença entre os dois espectros, o que significa que passar de um valor de pH de 3 para 4, para tempo de 24 horas de agitação, não gera alterações nos grupos funcionais presentes no revestimento e que, portanto, o revestimento é estruturalmente igual. De acordo com estes resultados, a variação do pH entre 3,0 e 4,0 não exerceu influência sobre a estrutura do revestimento de quitosana.

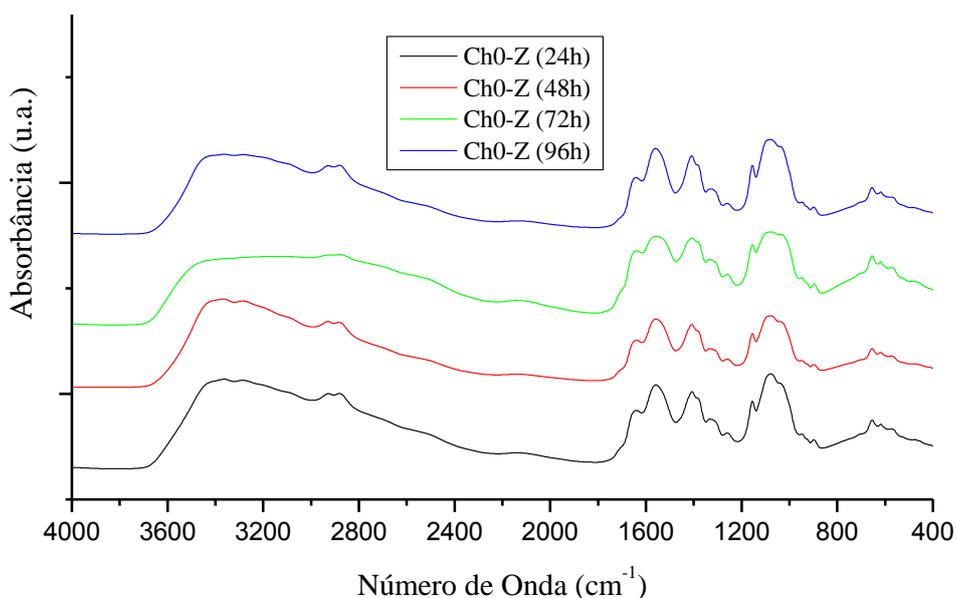


Figura 20 Espectro de FTIR do sol Ch0-Z, sem adição de GPTMS pH = 4, em 24, 48, 72 e 96 horas.

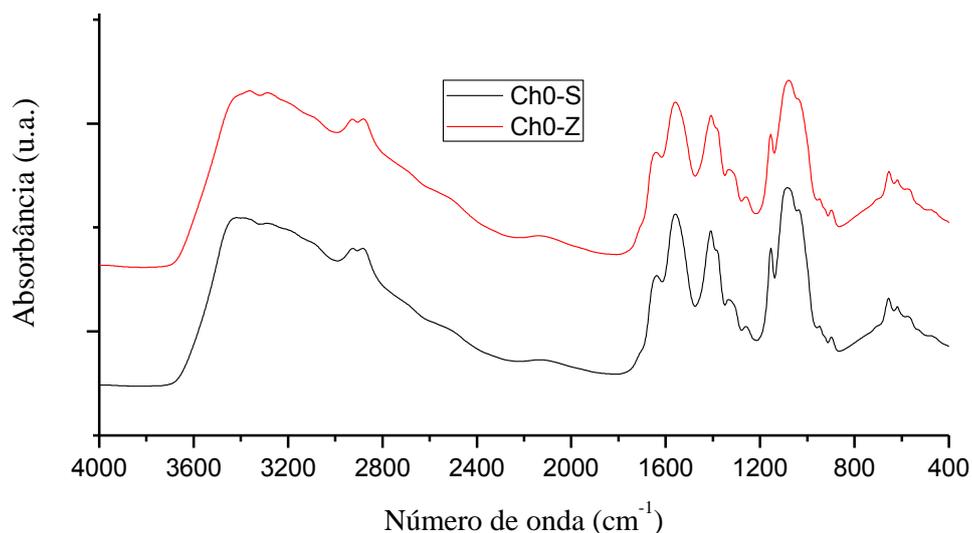


Figura 21 Espectros de FTIR para o sol a base de quitosana em tempo de agitação de 24h para as metodologias propostas por Zhao et al.^[30] (Ch0-Z) e Shirosaki et al.^[31] (Ch0-S).

A influência da adição do GPTMS na estrutura do revestimento também foi avaliada por espectroscopia de FTIR. As Figura 22 e Figura 23 correspondem aos revestimentos obtidos com um sol à base de quitosana e GPTMS, variando a concentração deste último, em uma condição de pH 3, que é a condição do sol obtido de acordo com o método de Shirosaki et al.^[31].

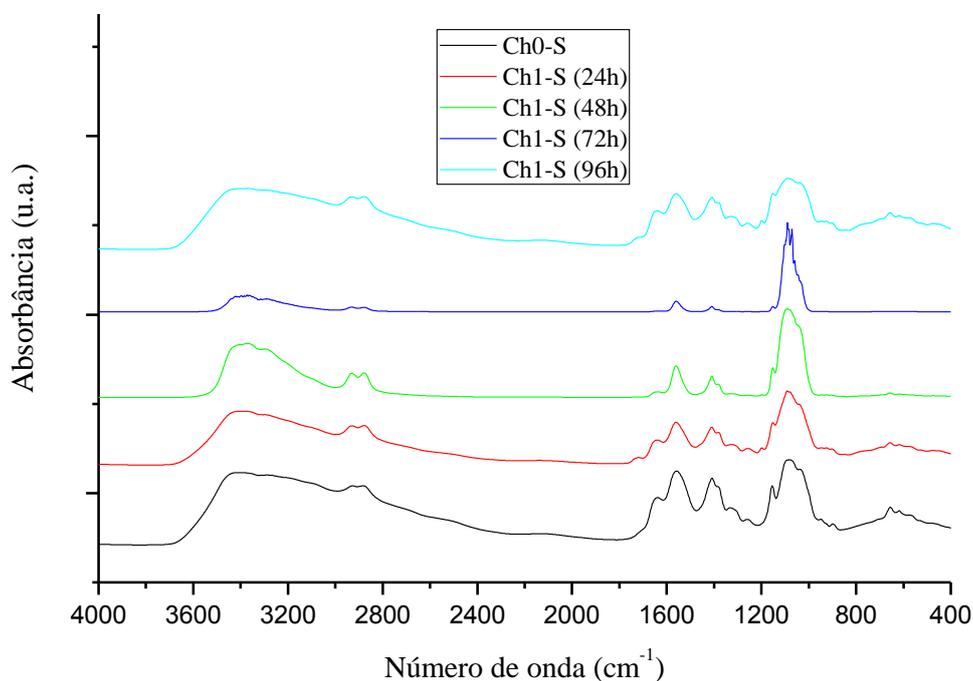


Figura 22 Espectro de FTIR dos sóis de quitosana com GPTMS 1:1, Shirosaki et al.^[31] (Ch1-S) em 24, 48, 72 e 96 horas de hidrólise.

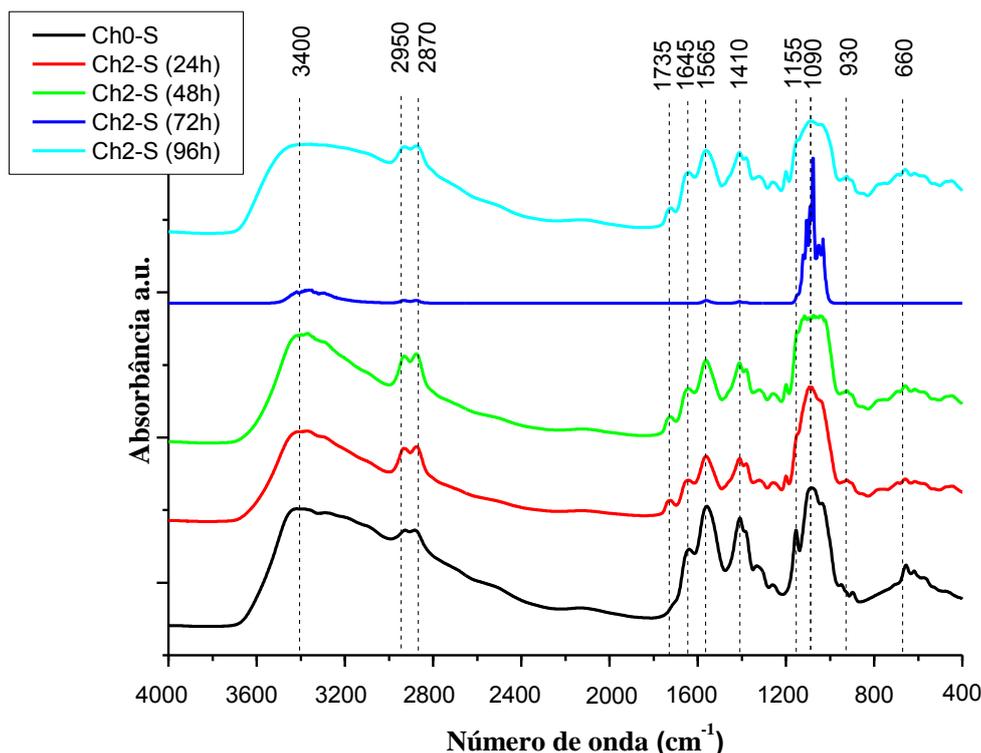


Figura 23 Espectro de FTIR dos sóis de quitosana com GPTMS 1:2, método Shiroasaki et al.^[31] (Ch2-S) em 24, 48, 72 e 96 horas de hidrólise.

Todos os revestimentos obtidos à base de quitosana (Figura 20 a Figura 25) apresentaram um pico largo em aproximadamente 3400 cm^{-1} , relacionado com o estiramento do grupo amino N–H acoplado com o estiramento do grupo –OH^[179]. Outra característica existente em todos os revestimentos obtidos é a presença de estiramentos simétricos e assimétricos dos grupos C–H, localizados em 2960 cm^{-1} e 2860 cm^{-1} ^[179].

Além disso, é possível observar em todos os espectros (Figura 20 a Figura 25) a presença de picos nos números de onda 1645 cm^{-1} e 1565 cm^{-1} , relacionados com o estiramento C=O ou amida I e com o dobramento do grupo N–H ou amida II, respectivamente^[179]. Nos números de onda de 1410 cm^{-1} , há uma banda característica do grupo CH₂ e a banda localizada em 1155 cm^{-1} associa-se com a função éter C–O–C que se encontra no interior da estrutura cíclica da quitosana^[179]. O pico localizado em 660 cm^{-1} representa o balanço do grupo N–H. Estes grupos funcionais provêm da molécula de quitosana^[179].

Nas amostras de quitosana e nas amostras de quitosana com adição de GPTMS, a banda em 1100 cm^{-1} mostra a função éter C–O–C linear que pode estar relacionada com ligações entre duas moléculas diferentes de quitosana, com o grupo C–O–C procedente do GPTMS ou da ruptura do anel epóxi deste último^[179].

De acordo com *Al-Sagheer e Muslim*^[180], o ácido acético perde o grupo –OH e se liga à quitosana no grupo N–H. Assim, desaparece do espectro de FTIR a função C=O carboxílica, e aparecem os grupos amida I e II. Os espectros com adição do GPTMS mostram o pico C=O carboxílico, localizado em 1735 cm^{-1} , o que significa que essa ligação entre a quitosana e o ácido acético não existe mais e dá lugar à polimerização quitosana – GPTMS. Por outro lado, o pico relacionado com o grupo carboxílico C–OH, que aparece nos 930 cm^{-1} , cresce com o a adição de GPTMS, o que confirma a saída do ácido acético da estrutura condensada. Porém, a presença de ácido acético nos espectros do filme, indica que o solvente não foi completamente removido do filme e que pode estar retido pelas ligações entrecruzadas do revestimento. Para evitar isso os parâmetros de cura do filme deveriam ser estudados com mais detalhe, contudo no presente trabalho foram seguidos os parâmetros empregados por *Shirosaki et al.*[31]

Com o objetivo de avaliar a influência do tempo de hidrólise do silano, comparou-se um dos espectros de qualquer amostra Ch-0 com os espectros correspondentes às amostras dos sóis Ch1-S, Ch2-S, Ch1-Z e Ch2-Z (Figura 22, Figura 23, Figura 24, Figura 25, respectivamente).

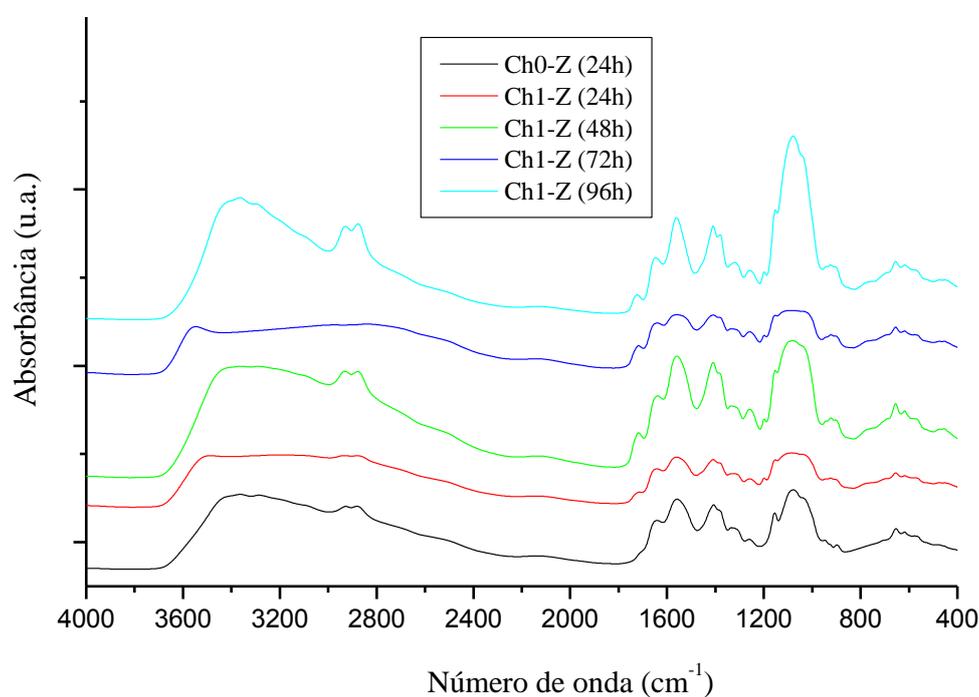


Figura 24 Espectros de FTIR dos sóis de quitosana com GPTMS 1:1, método Zhao et al.^[30] (Ch1-Z) em 24, 48, 72 e 96 horas de hidrólise.

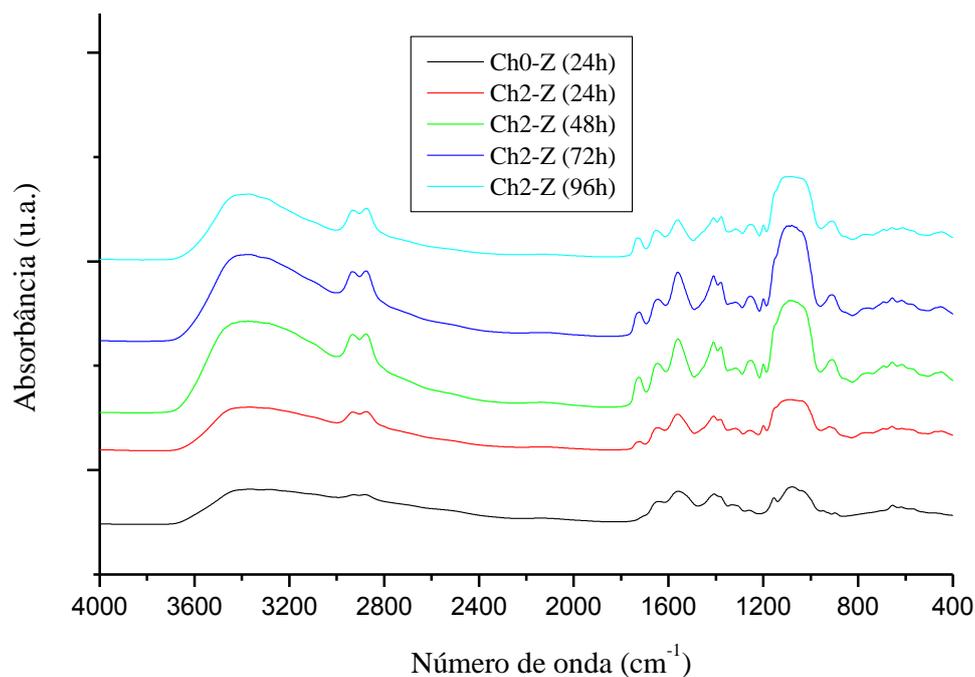


Figura 25 Espectros de FTIR dos sóis de quitosana com GPTMS 1:2, método Zhao et al.^[30] Ch2-Z em 24, 48, 72 e 96 horas de hidrólise.

Os espectros obtidos após 48h (Figura 22 a Figura 25) mostram uma mudança significativa das alturas relativas dos picos para os números de onda correspondentes ao GPTMS (1735 cm^{-1} , 1100 cm^{-1} e 930 cm^{-1}), que permaneceram relativamente constantes nos tempos 72 h e 96 h. A abertura do anel epóxi pode ser observada pela menor intensidade na banda 1550 cm^{-1} (N-H)^[168]. Com a introdução do silano (Figura 22 a Figura 25), e o início da hidrólise, o espectro de infravermelho mostrou maior altura relativa em 920 cm^{-1} , que, segundo os autores Ying-Ling et al.^[168] está associada às ligações estiramento Si-OH. Houve também um aumento de intensidade da faixa entre 1000 e 1100 cm^{-1} , que é associada a absorção das ligações Si-O-C^[168]. À faixa entre 1020 e 1150 cm^{-1} pode ser atribuída aos grupos de estiramento (*stretching vibration*) Si-O-Si^[168].

Dessa forma, para o presente estudo será utilizado o tempo de hidrólise para a obtenção do revestimento de 48 horas, desde que esta informação não foi mencionada por Shirosaki et al.^[31]

5.2. Obtenção do revestimento da liga ZK60

A composição da liga ZK60, determinada por fluorescência de Raios-X (Tabela 11), mostra alta concentração das impurezas Si, V, Cr, Ti e Pb. A influência das impurezas é conhecida e está apresentada no ítem 3.1.3 deste trabalho (Resistência à corrosão). Impurezas modificam acentuadamente a resistência à corrosão do magnésio e suas ligas [105]. Hofstetter et al.^[83] obtiveram uma liga de ultra alta pureza e seus resultados de imersão mostraram uma taxa de corrosão baixíssima, na ordem de micrometros ao ano, o que corrobora com a ideia da forte influência negativa da presença de impurezas na taxa de corrosão de ligas de Mg.

Tabela 11 Composição da liga ZK60 deste estudo. Elementos Mg, Zn, Zr e Si em % em massa, demais elementos em ppm.

Elemento	Mg	Zn	Zr	Si	V	Cr	Ti	Pb
Unidade de concentração	% em massa				ppm			
Concentração na liga	90,19	6,81	0,57	2,23	660	640	80	50

Hofstetter et al. desenvolveram um material com pequena concentração dos elementos de liga (Zn e Ca) para diminuir a quantidade de micropares galvânicos entre as fases metálica e intermetálica. Estes pesquisadores obtiveram uma liga de baixíssima taxa de corrosão *in vivo* e *in vitro*.

A presença de fases intermetálicas foi observada para a liga ZK60 utilizada neste estudo (Figura 27). As análises pontuais obtidas revelaram a presença de Zr e Zn nas regiões claras da imagem, enquanto na região escura foi detectado o sinal predominante para o Mg. Isso indica a presença de duas fases na liga ZK60 em questão, sendo observada no ponto 1 a fase rica em Mg (possivelmente, Mg- α), enquanto o ponto 3 indica a presença de uma fase intermetálica (Figura 9), com a presença de precipitados ricos em Zn [111, 175] e Zr.

A micrografia da liga ZK60 mostra grãos com tamanhos irregulares, de 4 μm a 30 μm (Figura 26). Como a liga foi fundida, se espera ter tamanhos bastante irregulares de grão.

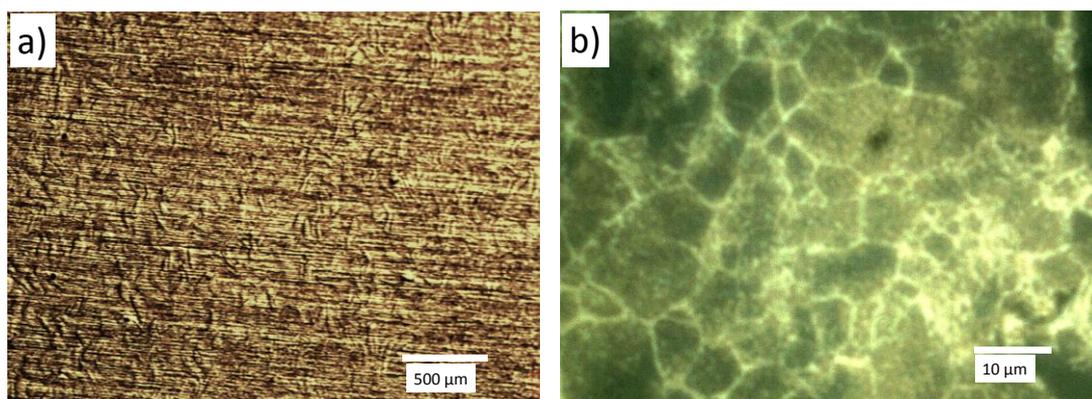


Figura 26 Micrografia da liga ZK60 a) antes e b) após o ataque metalográfico com solução composta por 1 mL HF (concentrado), 1 mL HNO₃ (concentrado) e 48 mL de água deionizada.

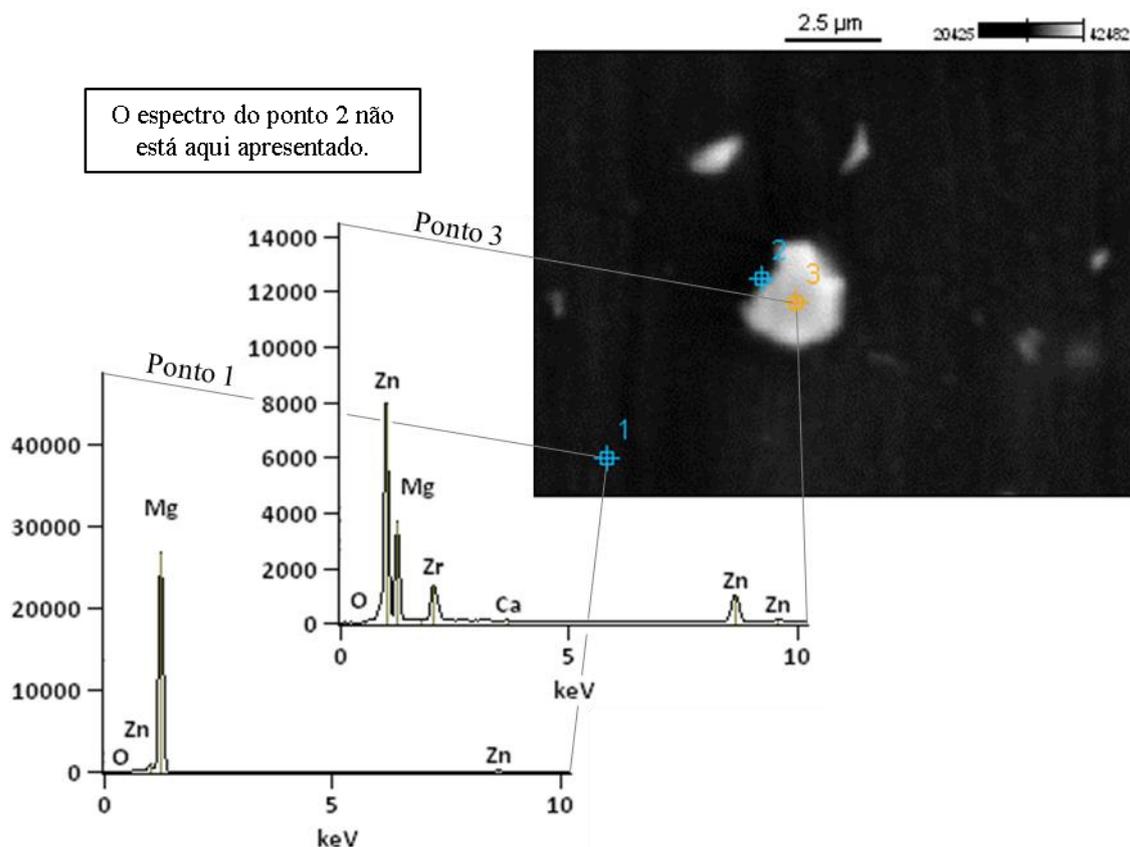


Figura 27 Espectros pontuais obtidos por EDS para a liga ZK60.

5.2.1. Pré-tratamento com H₃PO₄

O pré-tratamento com ácido fosfórico foi precedido de uma decapagem com uma solução de 0,16 M de HNO₃ por 60 segundos, para remover o óxido de passivação [174]. Sem lavagem intermediária, logo então, o pré-tratamento com H₃PO₄ foi realizado por 120 segundos, com monitoramento simultâneo do potencial de circuito aberto (Figura 28) em relação ao eletrodo de calomelano saturado. Esse procedimento foi realizado para diferentes concentrações de H₃PO₄. Foram utilizadas: 0,10; 0,20 e 0,31 M [174].

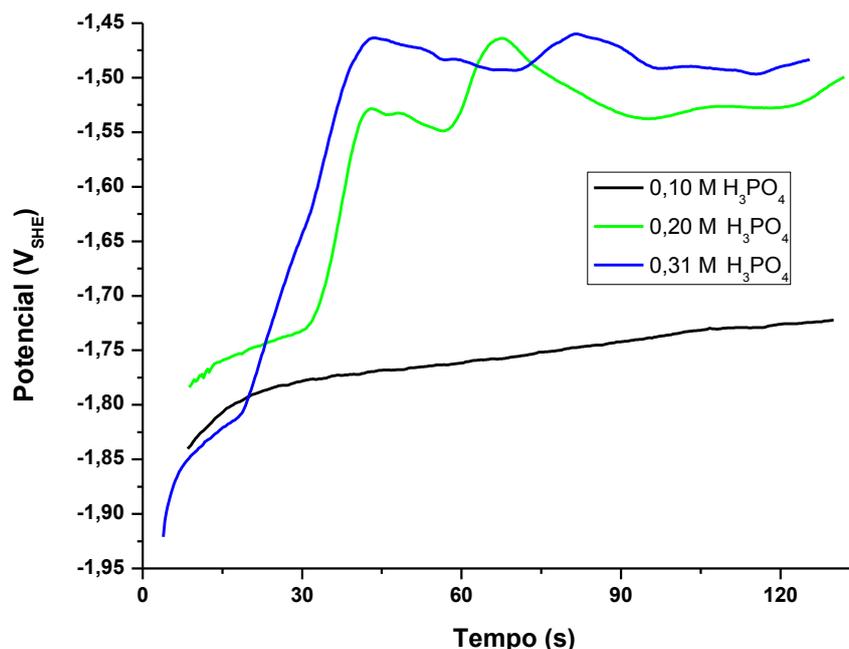
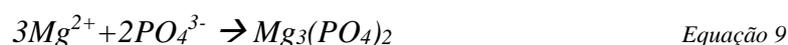


Figura 28 Monitoramento do potencial de circuito aberto para liga a ZK60 em H₃PO₄ nas concentrações de 0,10; 0,20 e 0,31 Molar (M).

Segundo Zhu *et al.*¹⁸¹ a formação de uma camada de fosfato Mg₃(PO₄)₂ sobre o substrato se dá segundo a seguinte reação:



De acordo com o Diagrama de Pourbaix (Figura 13), no pH em que se encontra a solução de ácido fosfórico e na diferença de potencial entre o SHE (*Standard Hydrogen Electrode*) o magnésio se oxidaria. A partir disto, os íons Mg²⁺ reagiriam com os íons fosfato PO₄³⁻ provenientes da solução aquosa de H₃PO₄. O tratamento com ácido fosfórico forma uma superfície porosa, o que beneficiaria a adesão para revestimentos a serem depositados^[30].

Conforme pode-se observar na Figura 28, a imersão em H₃PO₄ na concentração de 0,10 M, não promove um deslocamento importante do potencial de circuito aberto em direção a potenciais mais positivos, tendo sido observado um deslocamento de apenas 100 mV ao longo de 120 segundos. No entanto, para as amostras imersas em H₃PO₄ nas concentrações de 0,20 e 0,31 M observou-se, respectivamente, um deslocamento de aproximadamente 350 e 450 mV.

Dessa forma, considerando que as amostras imersas em H₃PO₄ na concentração 0,31 M apresentaram maior deslocamento de potencial de circuito aberto e maior estabilidade do mesmo ao final dos 120 segundos de imersão, esse foi o parâmetro escolhido como pré-tratamento para aplicação do sol Ch1-S pH 3,0.

A amostra pré-tratada com H_3PO_4 na concentração 0,31 M por 120 segundos quando imersa no sol Ch1-S pH 3,0 apresentou a liberação de bolhas na superfície da amostra (Figura 29), evidenciando que o filme obtido por esse pré-tratamento não impede o ataque do substrato (liga ZK60). A evolução de bolhas de gás no momento da obtenção do filme por *dip-coating* pode levar à formação de descontinuidades no revestimento, ocasionando a presença de defeitos que podem comprometer a função “barreira” do revestimento.

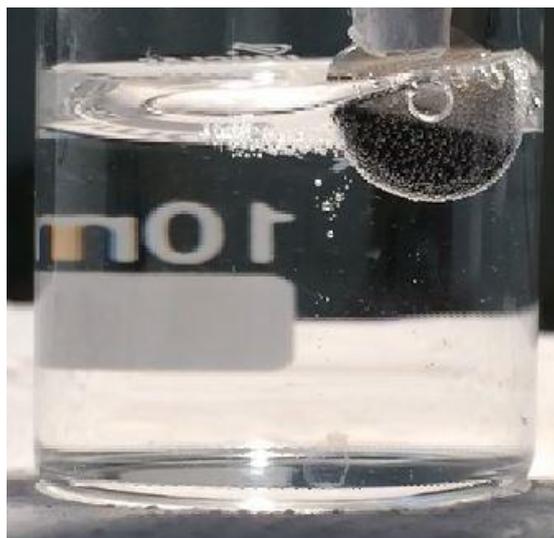


Figura 29 Liga ZK60 pré-tratada com H_3PO_4 0,31 M e imersa no SOL Ch1-S pH 3,0

O mesmo pré-tratamento (H_3PO_4 na concentração 0,31 M por 120 segundos) foi testado para um sol com pH mais alto (sol Ch1-Z pH 4,0), e mesmo nessa condição ocorreu a formação de bolhas de gás na superfície da amostra (Figura 30), evidenciando que o filme obtido pelo pré-tratamento não impede o ataque do substrato (liga ZK60) mesmo quando o pH do sol é mais elevado. O sol, sintetizado de acordo com *Zhao et al.* [30], contém o mínimo necessário de ácido acético para dissolver a quitosana. Dessa forma, outro pré-tratamento foi proposto, considerando que com pré-tratamento de H_3PO_4 não conseguiu garantir uma proteção suficiente do substrato para aplicação do revestimento.



Figura 30 Liga ZK60 pré-tratada com H_3PO_4 $30gL^{-1}$ e imersa em SOL Ch1-Z pH 4,0

5.2.2. Pré-tratamento com NaOH

A partir do diagrama de Pourbaix do magnésio (Figura 13) pode-se formar em solução de NaOH (a partir de pH 11), hidróxido de magnésio $[Mg(OH)_2]$. É preciso de qualquer forma considerar que o diagrama está proposto para Mg puro em condição de equilíbrio.

A solução de NaOH 3M possui pH 13, enquanto que a partir de 192 horas de imersão, o potencial de corrosão estabiliza em $-0,6V$ em relação ao SHE.

As amostras pré-tratadas com NaOH 3 M por 24 h, 48 h e 72 h foram imersas no sol Ch1-Z pH 4 (como foi mencionado, um sol com pH mais elevado para minimizar o ataque da liga ZK60) e também apresentaram a evolução de bolhas na superfície de todas as amostras, inclusive a tratada por 72h (Figura 31), evidenciando que o filme obtido pelo pré-tratamento com NaOH 3M por até 72h de imersão não impede o ataque ao substrato (liga ZK60).

Gaur et al.^[175] realizaram o mesmo pré-tratamento por 24 h, 48 h e 72 h, com a liga Mg-6Zn-Ca e os autores revelaram fissuras na superfície das amostras tratadas com NaOH 3 M, o que concorda com os resultados obtidos neste trabalho, Figura 31, onde se observa bolhas sobre o substrato da amostra pré-tratada com NaOH 3 M por 72 h. Eles observaram que a quantidade de fissuras diminuiu com o tempo de tratamento na solução alcalina, e justificaram tal observação pela reação de formação do $Mg(OH)_2$, que se forma com a reação do Mg presente na fase alpha, excetuando-se a formação do hidróxido em sítios intermetálicos, o que facilitaria a formação de descontinuidades (Figura 32). Com o aumento do tempo de pré-tratamento para 240 horas, se criaria uma camada mais resistente, e o ataque ao substrato metálico seria minimizado^[175]. A evolução de bolhas

no sol (Ch1-S pH 3,0), observada para as amostras pré-tratadas por 72 horas em NaOH 3 M (Figura 31) são provavelmente devido à formação de uma camada de hidróxido descontínuo. Embora *Gaur et al.*^[175] tenham utilizado a liga Mg-6Zn-Ca, o mecanismo por eles apresentado de diminuição da quantidade de fissuras com o aumento do tempo de tratamento em solução alcalina seria bem aplicado no presente estudo.

Dessa forma, com o objetivo de formar uma camada mais protetora, foi realizado um tratamento por 240 horas com NaOH 3 M à temperatura entre 28 e 30 ° C. No sol Ch1-S pH 3,0, também se observou a evolução de pequenas bolhas após a imersão Figura 33.

No entanto, para a liga ZK60 pré-tratada por 240 horas em NaOH 3M, imersão no sol Ch1-Z pH 4,0 se observa a formação de poucas bolhas após a imersão durante o processo de *dip-coating* (Figura 34)

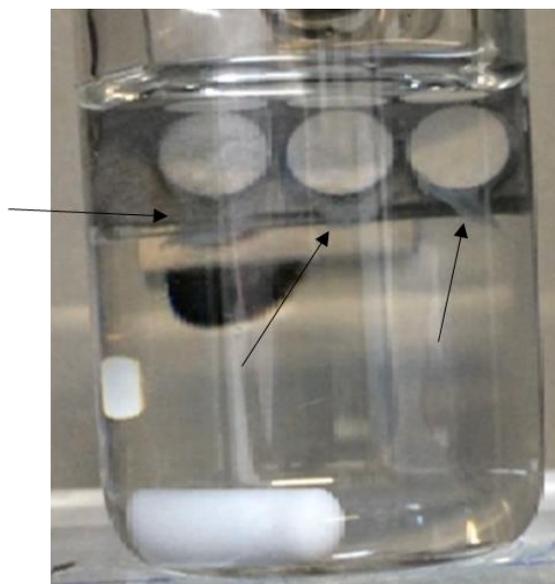


Figura 31 Liga ZK60 pré-tratada com NaOH 3M por 72 horas e imersa em SOL Ch1-Z pH 4,0.

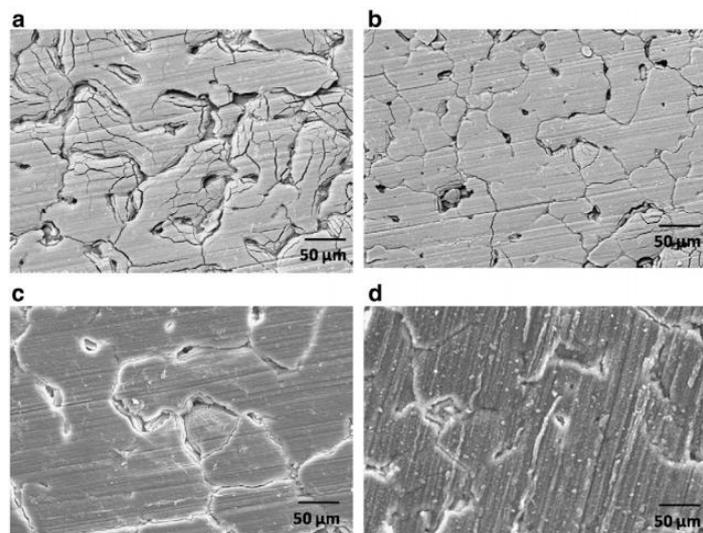


Figura 32 Micrografias da liga Mg-6Zn-Ca após tratamento em meio alcalino NaOH 3 M a 30 °C por (a) 24h, (b) 48h, (c) 72h e (d) 240 horas, copiado de ^[175]



Figura 33 Liga ZK60 pré-tratada com NaOH 3 M por 240 horas e imersa em SOL Ch1-S pH 3,0

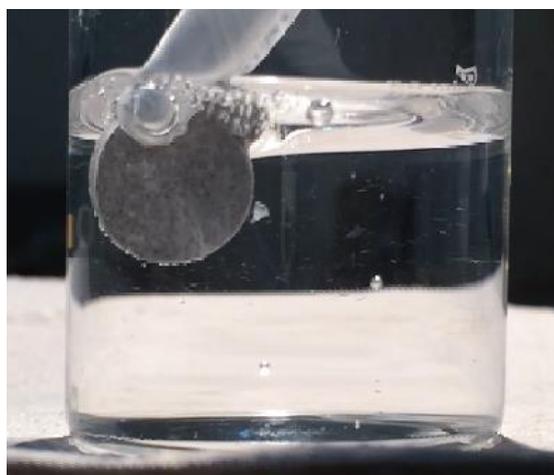


Figura 34 Liga ZK60 pré-tratada com NaOH 3 M por 240 horas e imersa em SOL Ch1-Z pH 4,0

Dessa forma, o pré-tratamento por 240h em NaOH 3 M foi escolhido como pré-tratamento para a obtenção do revestimento, considerando que o mesmo promove uma melhor proteção ao substrato (liga ZK60), avaliado pela observação das amostras quando imersas no sol Ch1-Z de pH 4,0 (Figura 34). Como já foi mencionado, o sol sintetizado de acordo com *Zhao et al* [30] contém o mínimo necessário de ácido acético para dissolver a quitosana, e portanto, os sóis Ch1-Z e Ch2-Z seriam os mais indicados para a obtenção dos filmes considerando o ataque à liga ZK60.

O monitoramento do OCP por 240 horas em solução aquosa de NaOH 3 M a 30 °C (Figura 35) mostra um comportamento cíclico, revelando a instabilidade da camada formada na superfície na liga ZK60. Este comportamento pode ser ocasionado pela formação e dissolução de um hidróxido, causando a oscilação do potencial de circuito aberto monitorado. Após 8 dias de imersão, ocorreu a estabilização do potencial em -0,6V, mostrando uma camada de hidróxido que, em princípio, se mantém estável. Dessa forma, foi adotado esse pré-tratamento na liga ZK60 empregando-se 240 horas de imersão em NaOH 3 M a 30 °C antes da aplicação do filme por *dip-coating*.

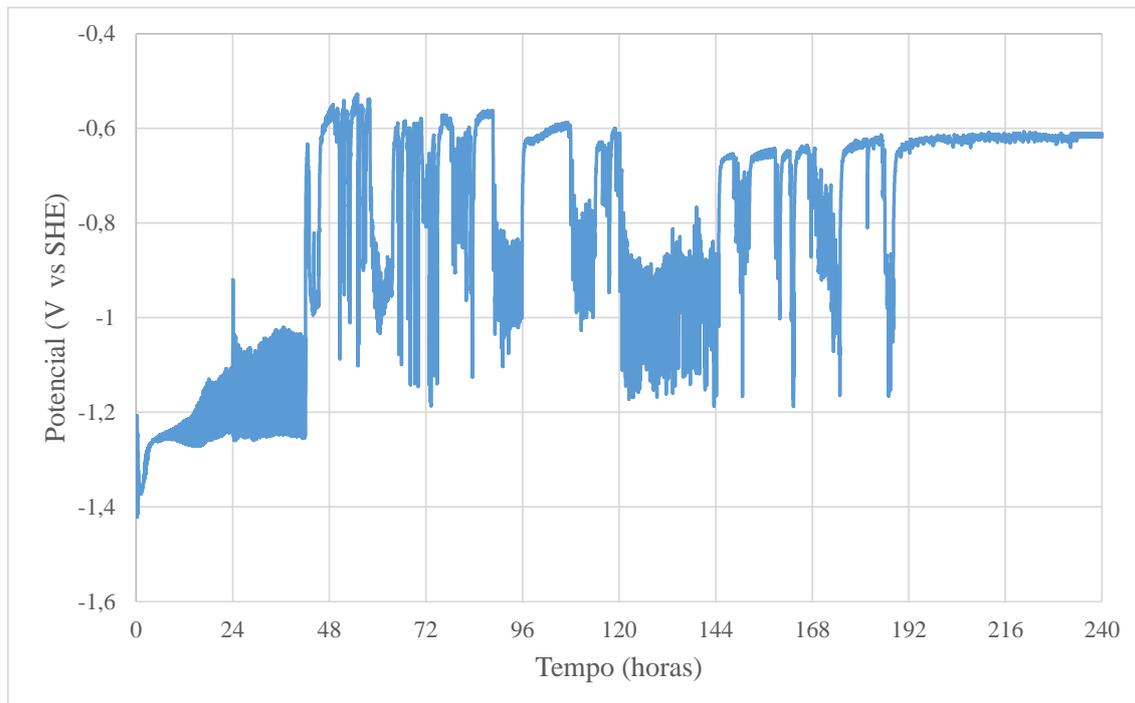


Figura 35 Monitoramento de OCP durante o pré-tratamento em NaOH 3M.

Contudo, como pode-se observar na Figura 36, após 240 horas de imersão em NaOH 3 M a 30 °C, observa-se descontinuidades na camada, possivelmente de $Mg(OH)_2$ [175]. Dessas descontinuidades afloram produtos que são possivelmente hidróxidos neoformados. Isso indica que tais fissuras da camada mais externa de hidróxido de magnésio possam estender-se até o substrato de magnésio.

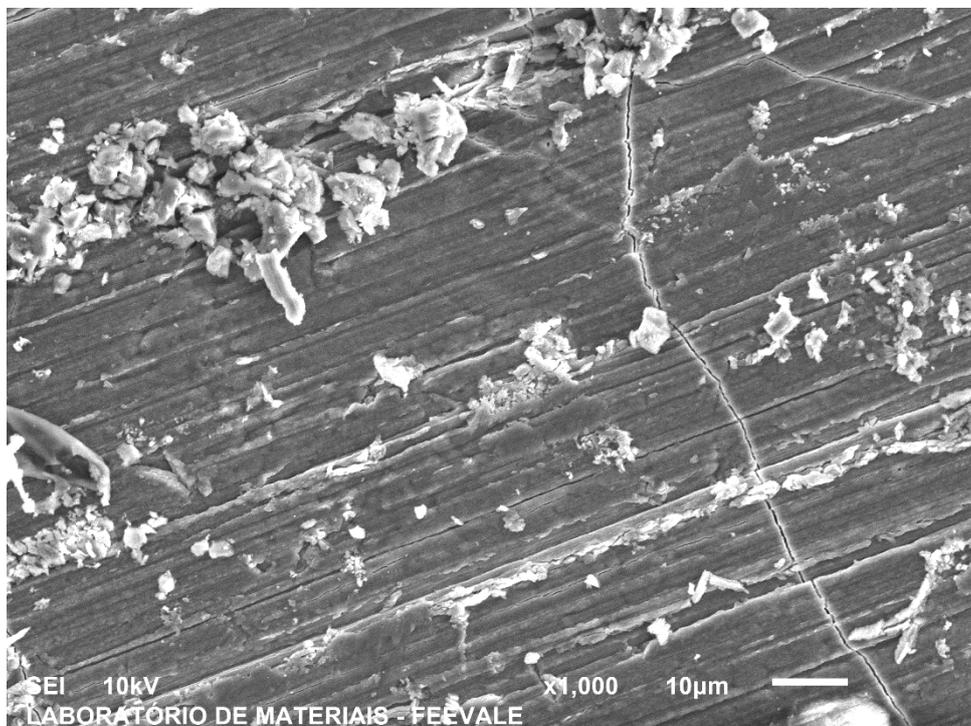


Figura 36 Após tratamento alcalino em solução aquosa de NaOH 3M por 240 horas.

5.2.3. Caracterização morfológica e estrutural dos revestimentos obtidos

De acordo com o item 5.1.1 (Caracterização por FTIR), o tempo de hidrólise do silano foi estabelecido a 48 horas. Quanto à concentração deste precursor alcoóxido, sabe-se que uma maior concentração de GPTMS forma filmes mais quebradiços [182]. Experimentalmente, observou-se para os filmes obtidos sobre as placas de polipropileno, filmes com maiores teores de GPTMS não apresentaram adesão ao substrato. Além disso, *Shirosaki et al.* [31] observaram a relação entre uma maior concentração de GPTMS (quitosona: GPTMS 1:1) na rede e menor adesão celular, avaliada por cultura celular (célula MG63). Dessa forma, o sol Ch1-Z, que é de menor proporção de GPTMS, foi selecionado para a obtenção dos filmes. Na Tabela 8 mostrada anteriormente, está apresentada a descrição das amostras dos revestimentos obtidos com diferentes arquiteturas sobre a liga ZK60.

A Figura 37 mostra a aparência de cada sistema. Pode-se observar que das Figura 37b, Figura 37c, Figura 37d e Figura 37f não há deslocamento dos revestimentos,

enquanto na Figura 37e (Arquitetura 3, com duas camadas finas e uma mais espessa) há fissuras do revestimento e deslocamento.

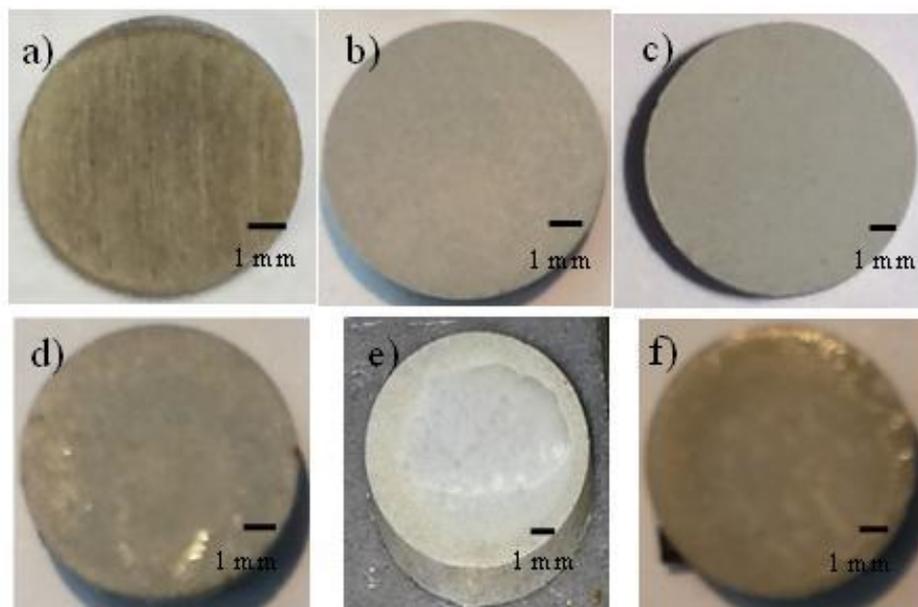


Figura 37 Aparência dos sistemas (a) ZK60, (b) ZK60-NaOH, (c) Arquitetura 1, (d) Arquitetura 2, (e) Arquitetura 3 e (f) Arquitetura 4.

A imagem obtida em microscópio eletrônico de varredura a 10 kV para a arquitetura 1 (Figura 38c) evidencia duas regiões com aspectos visuais distintos. Um deles é muito similar ao aspecto da ZK60-NaOH. Como mostra o mapeamento dos elementos Mg, O e Si para a arquitetura 1 (Figura 39) o sinal intenso dos elementos Mg e O indicam que nessas regiões o substrato estaria exposto. Contudo, é possível observar o sinal do silício em todas as regiões, indicando que ainda que a morfologia se pareça com aquela observada para o substrato com pré-tratamento com NaOH (Figura 38d), parte do revestimento deve ter permeado a camada de hidróxido de Mg, fazendo com que o silício esteja presente mesmo na região em que não se observa mais o filme aderido ou devido à presença do Si na liga ZK60 (item 5.2). O sinal mais intenso na região inferior-direita da imagem com mapeamento de silício pode sinalizar a presença da camada híbrida.

A imagem obtida para a arquitetura 4 mostra um aspecto morfológico compatível com o revestimento quitosana/GPTMS, indicando que o filme formado é aderente ao substrato, e apresenta-se com cobertura regular sobre toda a superfície.

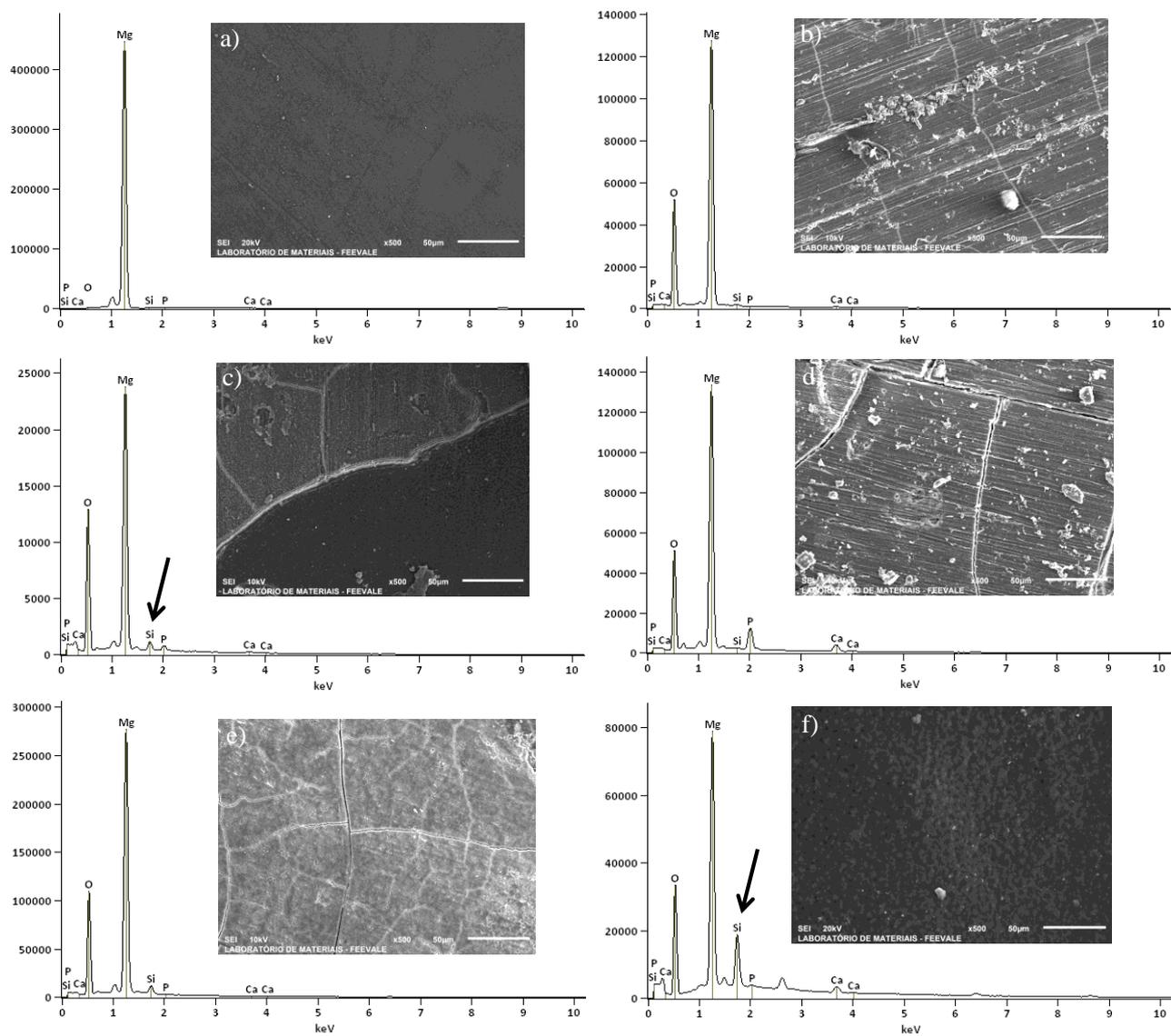


Figura 38 Imagens de topo e os espectros em MEV anterior aos ensaios eletroquímicos (a) ZK60, (b) ZK60-NaOH, (c) Arquitetura 1 (uma camada), (d) Arquitetura 2 (duas camadas), (e) Arquitetura 3 (três camadas, sendo a última depositada mais espessa) e (f) Arquitetura 4 (três camadas). A barra da escala representa 50 μm em todas as imagens.

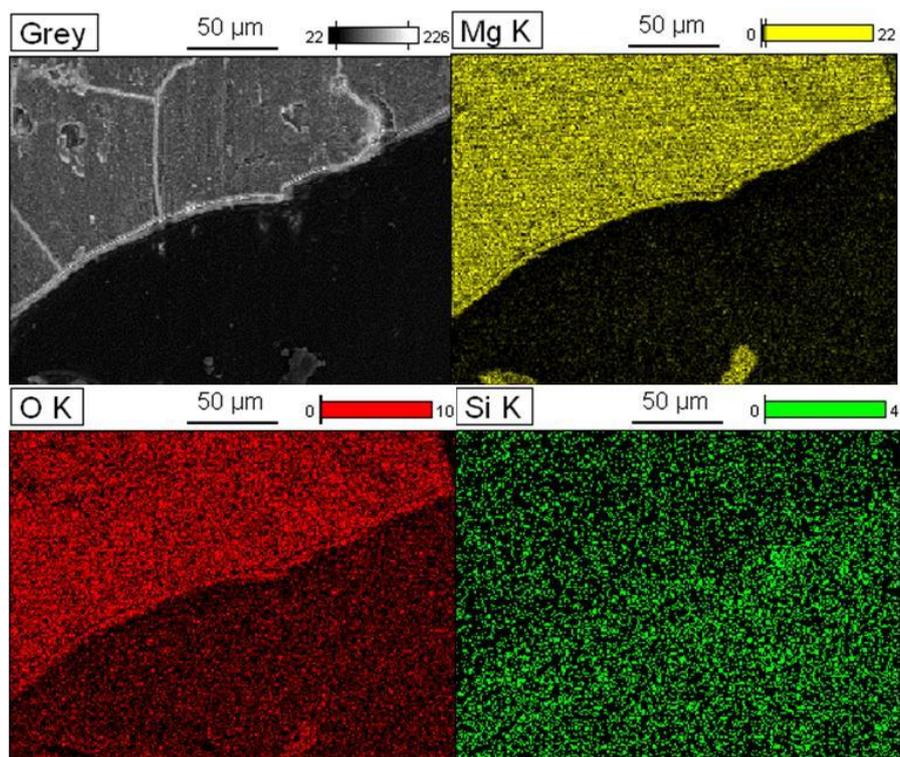


Figura 39 Arquitetura 1 (uma camada de Ch1-Z) topo, com mapeamento de cores dos elementos Mg (amarelo), O (vermelho), e Si (verde).

Para as arquiteturas 2 e 3 (Figura 38d e Figura 38e, respectivamente), observam-se aspectos semelhantes à ZK60-NaOH, já que a preparação para o MEV provocou o deslocamento dos revestimentos e se vê um aspecto similar à ZK60-NaOH (Figura 38b).

Pela vista frontal da amostra de Arquitetura 3 (Figura 40), pode-se ver que não há adesão do revestimento ao substrato (vista frontal, Figura 37e). Nas bordas, provavelmente, houve a primeira evaporação do solvente, restringindo o espaço do gel ao interior da amostra, o que provavelmente causou concentração de tensões na região, promovendo a deplacagem do revestimento. Não se sabe precisamente qual a espessura de parte do revestimento que desloca, mas se supõe que tenha em torno de 500 µm.



Figura 40 Aparência da amostra Arquitetura 3, após a cura a 60 °C por 24 horas.

O sol Ch1-Z é majoritariamente composto por água (99% em massa), a ser evaporada durante a cura, e o volume de água presente no gel é proporcional à espessura

do filme depositado por *dip-coating*. Maior espessura do gel está associada a maiores quantidades de água a ser evaporada e monômero a ser polimerizado, e assim produzir tensões. Logo, a espessura do filme é um dos fatores-chave à presença de tensões, norteador da adesão do revestimento ao substrato, como mencionado anteriormente ^[171].

Conclui-se que a tensão interna desenvolvida é maior que a adesão do filme ao substrato, o que resulta no deslocamento do filme. A baixa adesão do filme ao $Mg(OH)_2$ pode ser resultado da natureza desta camada de hidróxido. Se um pré-tratamento através de PEO (MAO) fosse utilizado, haveria a possibilidade da criação de uma camada de MgO ^[183], mais densa que uma de $Mg(OH)_2$ ^[184]. Uma camada mais densa talvez seja um fator à contribuir à adesão da camada híbrida ao substrato.

As espessuras das camadas de hidróxido de Mg variaram entre 23 e 83 μm (Tabela 12), o que corresponde a uma variação de mais de 200%. Esta grande variação de espessuras entre diferentes amostras pode ser resultado das fissuras da camada (Figura 36) e a heterogeneidade da liga com relação à formação de precipitados ^[111], e o fato de as amostras terem sido obtidas por fundição, que comunicam o substrato ao meio, promovendo a corrosão, formação de Mg oxidado, e posterior formação do hidróxido, como foi evidenciado pelo monitoramento de OCP (Figura 35). Além disso, *Gaur et al.* ^[175] que estudaram a liga Mg-6Zn-Ca, propõem que a presença de fases intermetálicas inicia tais fissuras, pois estas seriam catodicamente protegidas em detrimento do Mg metálico, promovendo descontinuidades na camada de hidróxido. Sobre a liga ZK60 aqui estudada, não se tem informação sobre a distribuição das fases intermetálicas na liga, e a diferença de espessura observada para o hidróxido de Mg formado pode ser devido a distribuição irregular desses intermetálicos na liga. O desvio padrão das camadas de $Mg(OH)_2$ é resultado da medição de uma amostra de cada sistema, assim como uma amostra de cada sistema de revestimento híbrido foi analisada em corte transversal.

A partir das imagens obtidas para as amostras em corte transversal (Figura 41 a Figura 45) foi possível estimar a espessura da camada do revestimento híbrido. Teoricamente, deveria haver uma ordem crescente de espessura de camada, da Arquitetura 1 à 3. Entretanto, os dados da Tabela 12 não mostram isso (Figura 40).

Entretanto, mesmo com o deslocamento do revestimento (Figura 40) observa-se que restou uma camada de filme com 4,1 μm , sugerindo que a primeira camada permaneceu aderida ao substrato enquanto a segunda camada (com aproximadamente 500 μm) de revestimento não aderiu sobre a primeira.

Tabela 12 Espessura de camada dos sistemas estudados

Sistema	Espessura de camada (μm)	
	Mg(OH) ₂	Revestimento híbrido
ZK60	-	-
ZK60-NaOH	31,3 \pm 0,4	-
Arquitetura 1	32,3 \pm 0,6	2,7 \pm 1,0
Arquitetura 2	83,6 \pm 1,8	6,1 \pm 0,1
Arquitetura 3	60,1 \pm 0,5	4,1 \pm 0,5
Arquitetura 4	23,1 \pm 1,9	5,5 \pm 0,2

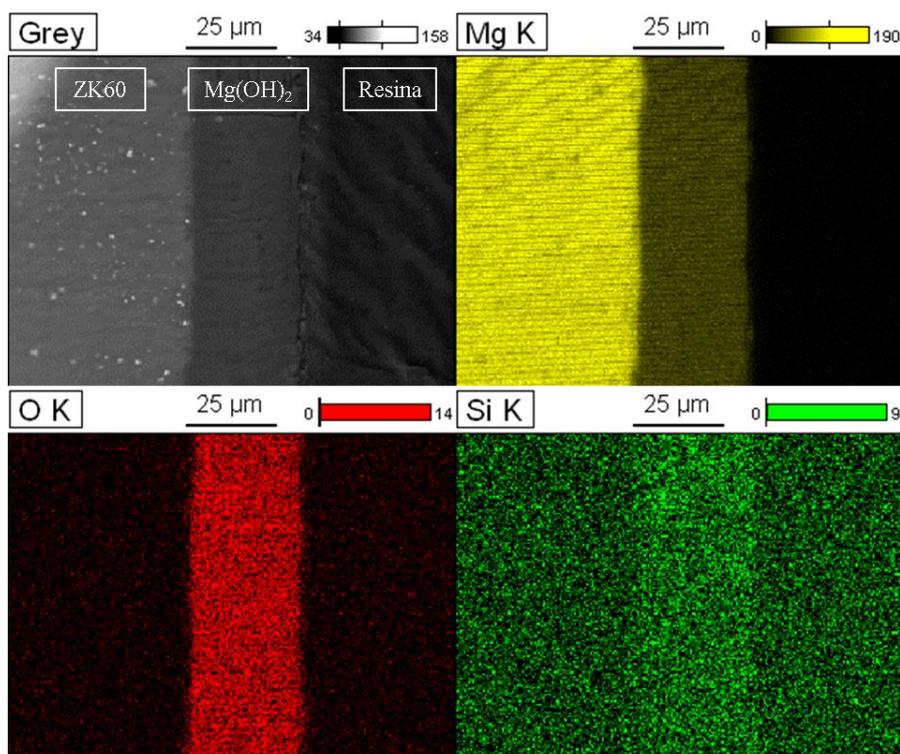


Figura 41 Imagens em MEV do corte transversal da amostra ZK60-NaOH anterior aos ensaios eletroquímicos com mapeamento dos elementos Mg, O e Si.

Se observa nos mapeamentos de silício para todas os sistemas revestidos um sinal mais intenso do silício na mesma faixa de espessura que o Mg(OH)₂ está presente, o que pode evidenciar uma permeação do gel pela camada de hidróxido de Mg. A presença de um sinal mais intenso na camada de hidróxido, mesmo no sistema ZK60-NaOH pode ser devido a um sinal similar do Si com alguns elementos contaminantes.

O corte transversal da arquitetura 1 (Figura 42) apresentou um gap entre a resina e o revestimento híbrido, o que prejudica a avaliação da espessura de camada.

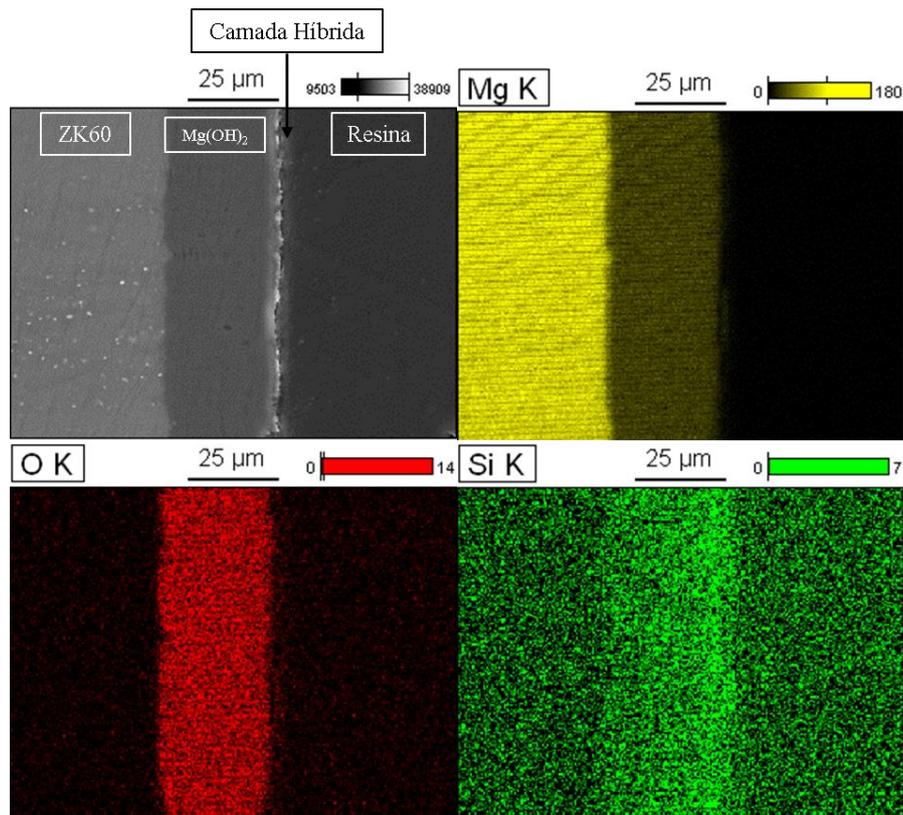


Figura 42 Imagens em MEV do corte transversal da amostra Arquitetura 1 anterior aos ensaios eletroquímicos com mapeamento dos elementos Mg, O e Si.

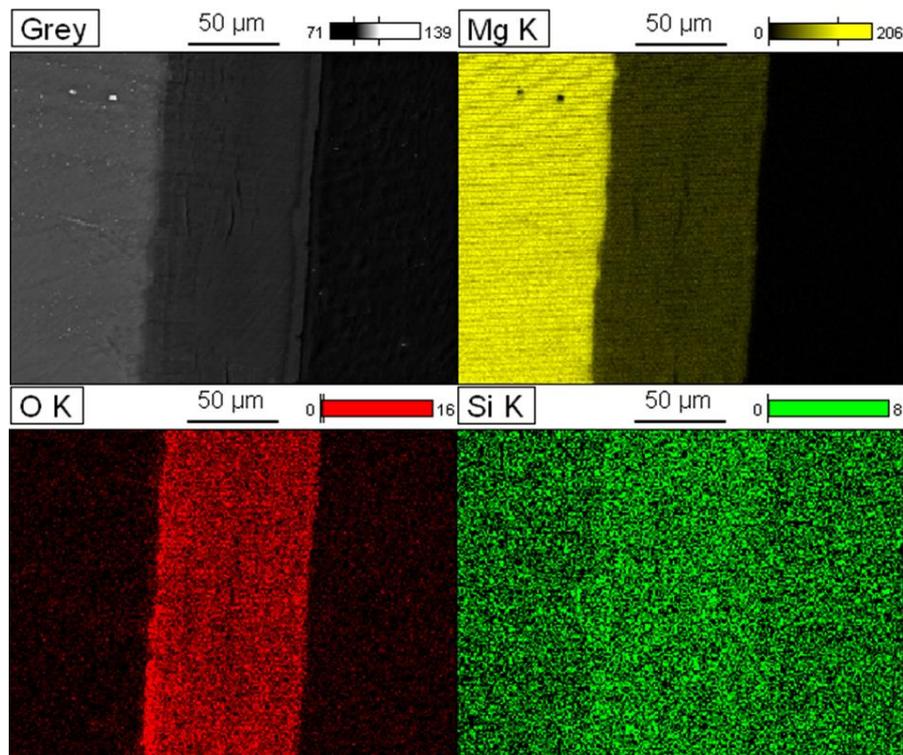


Figura 43 Imagens em MEV do corte transversal da amostra Arquitetura 2 anterior aos ensaios eletroquímicos com mapeamento dos elementos Mg, O e Si.

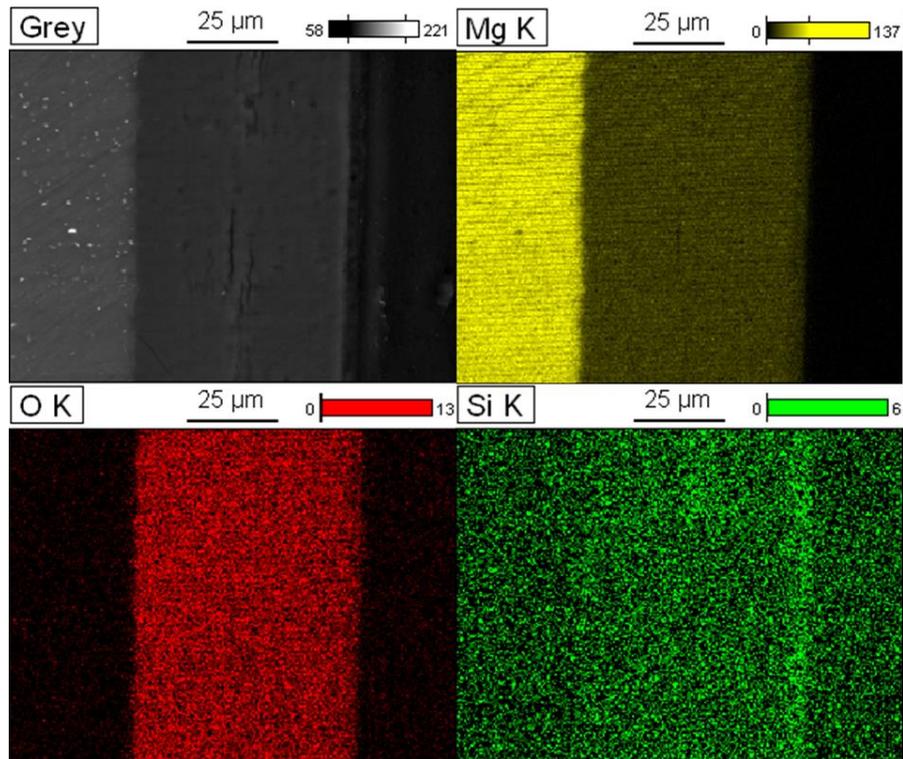


Figura 44 Imagens em MEV do corte transversal da amostra Arquitetura 3 anterior aos ensaios eletroquímicos com mapeamento dos elementos Mg, O e Si.

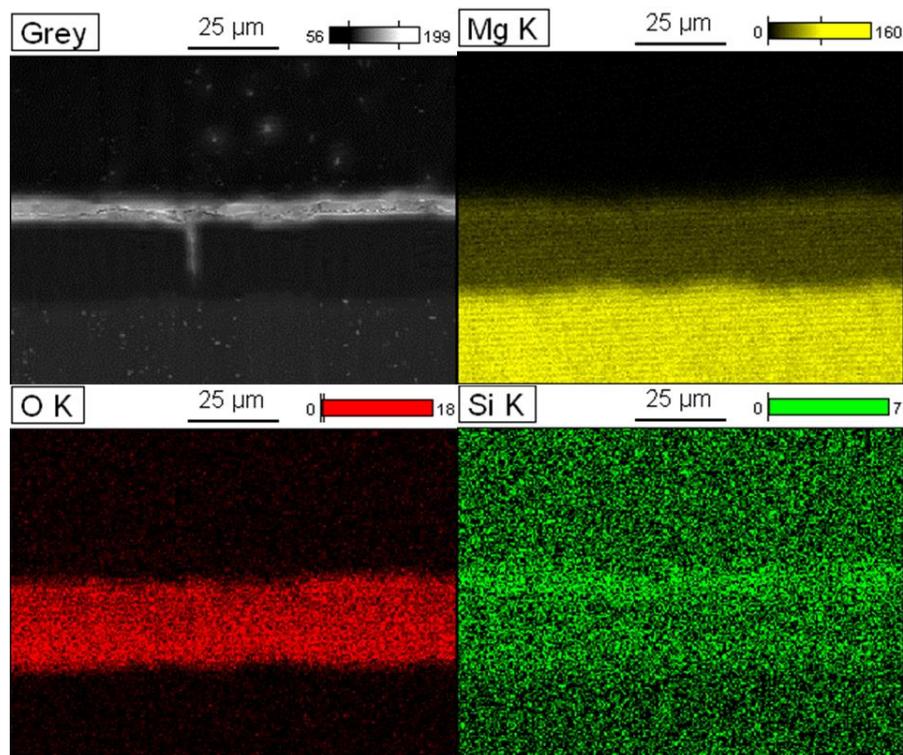


Figura 45 Imagens em MEV do corte transversal da amostra Arquitetura 4 anterior aos ensaios eletroquímicos com mapeamento dos elementos Mg, O e Si.

5.2.4. Caracterização quanto à resistência à corrosão

O monitoramento do OCP do sistema ZK60-NaOH revela um comportamento bastante ativo, em torno de $-1,5\text{V}$ (SCE), acompanhado em imersão (SBF) por 24 horas, similar ao comportamento da liga ZK60 após 24 horas de imersão (Figura 46). Como já mencionado, os ensaios foram realizados em triplicata e as curvas mais representativas de cada sistema estão na Figura 46. Do sistema ZK60-NaOH, nos primeiros minutos de imersão, houve um aumento da diferença de potencial, em torno de 600 mV que pode ser atribuído à resistência que a camada de hidróxido de Mg possa ter promovido e, então, ao dissolver na presença do eletrólito (SBF), diminuiria a diferença de potencial a $-1,5\text{ V}$.

Comparativamente à arquitetura 3, as arquiteturas 1, 2 e 4 não promoveram um deslocamento importante do potencial do circuito aberto (Figura 46), entretanto, o revestimento obtido com a arquitetura 3 deslocou-se completamente (Figura 40), enquanto os demais revestimentos obtidos permaneceram aderentes ao substrato (Figura 37). Como foi mencionado anteriormente, durante o monitoramento do OCP e os ensaios de polarização, se conseguiu manter os revestimentos aderidos, sem o deslocamento.

O comportamento das amostras de arquitetura 1, 2, e 4 (Figura 46) indicam barreira parcial pelo monitoramento do OCP por 24h, podendo ser devido à presença de descontinuidades, desencadeadas pela presença de tensão no revestimento, como sugerido anteriormente^[171], assim como a espessura da camada ser insuficiente para exercer a “função barreira” do revestimento^[187]. Quando se objetiva um revestimento degradável, uma das características que este deve ter é um comportamento de barreira parcial, como observado por outros autores com o mesmo propósito de revestimento absorvível^[185].

Em comparação com o sistema ZK60-NaOH, o revestimento de arquitetura 3, parece ter promovido uma barreira significativa, que modificou a diferença de potencial em torno de 1000 mV monitorada por OCP. Os trabalhos ^[186, 187] que revestiram substratos a base de magnésio com quitosana não obtiveram tal modificação.

Fekry *et al.*^[186] revestiram a liga de magnésio AZ91E com quitosana em diferentes concentrações (5%, 10% e 15%), pela técnica *dip-coating*. Não fica claro na metodologia do estudo, mas apenas uma camada parece ter sido depositada, sem a informação da velocidade de remoção da amostra no momento do *dip-coating*. Segundo os autores, o maior aumento do E_{corr} que foi encontrado foi de apenas 90 mV (valores na ordem de $-1,55\text{ V}_{\text{SCE}}$, mensurado pela extrapolação das retas de Tafel obtidas das curvas de

polarização. O resultado de *Fekry et al.* é compatível com o potencial de corrosão obtido pelo monitoramento de OCP por 24h das arquiteturas 1, 2 e 4 do presente estudo.

Zhang et al.^[187] compararam diferentes espessuras (0,31; 0,40; 0,61; 0,87 e 1,05 mm) de camada compósita quitosana/CaP por deposição eletroforética (EPD-*electrophoretic deposition*), e o maior E_{corr} obtido foi do revestimento de espessura 0,31 mm ($E_{\text{corr}} = -1,45$ V), entretanto foi um dos sistemas que mais corroeu segundo o teste de imersão ($0,358 \text{ mm.ano}^{-1}$) contra a menor taxa de corrosão, $0,012 \text{ mm.ano}^{-1}$ do sistema espessura 0,61 mm e $E_{\text{corr}} = -1,75$ V. Os testes eletroquímicos possuem pouca representatividade quanto à corrosão de ligas de Mg, como mencionado nesta dissertação.

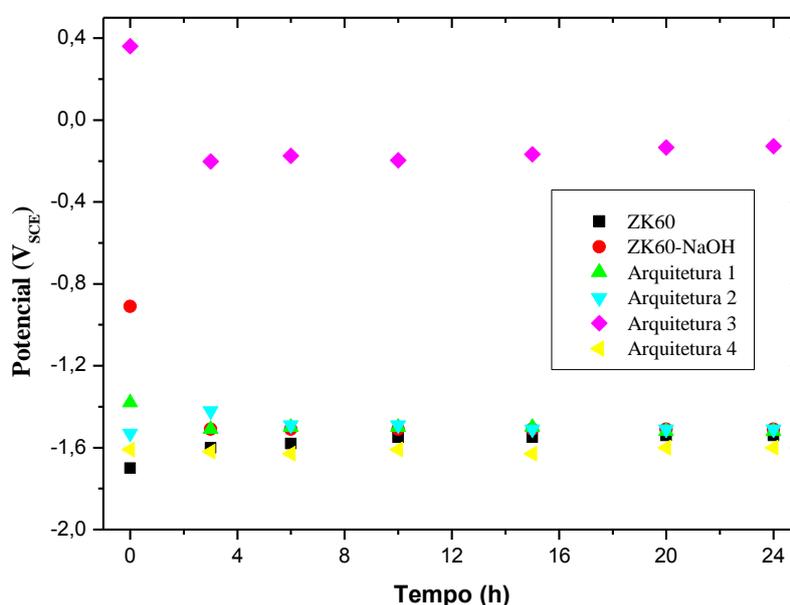


Figura 46 Monitoramento do potencial de circuito aberto dos sistemas ZK60, ZK60-NaOH, Arquiteturas 1, 2, 3 e 4 imersos em SBF (Simulated body fluid), por 24 horas a 22°C.

O aspecto das amostras após imersão por 24 h está na Figura 47. O produto de corrosão formado sobre o sistema ZK60 possui fissuras (Figura 47.a2). Pelo espectro obtido por EDS da amostra após o teste de imersão, se vê a presença de Ca e P, originados do eletrólito. A literatura mostra que a deposição de fosfato de cálcio é um dos sinais da bioatividade de um material ^[188].

A aparência micrométrica (escala 50 μm) do sistema ZK60-NaOH anterior ao ensaio de imersão em SBF apresenta uma camada de $\text{Mg}(\text{OH})_2$ pouco uniforme, com neoformação dos produtos de corrosão que emergem das fissuras. Após 24 horas de imersão em SBF, em menor aumento, não se observa tais neoformações, entretanto, se

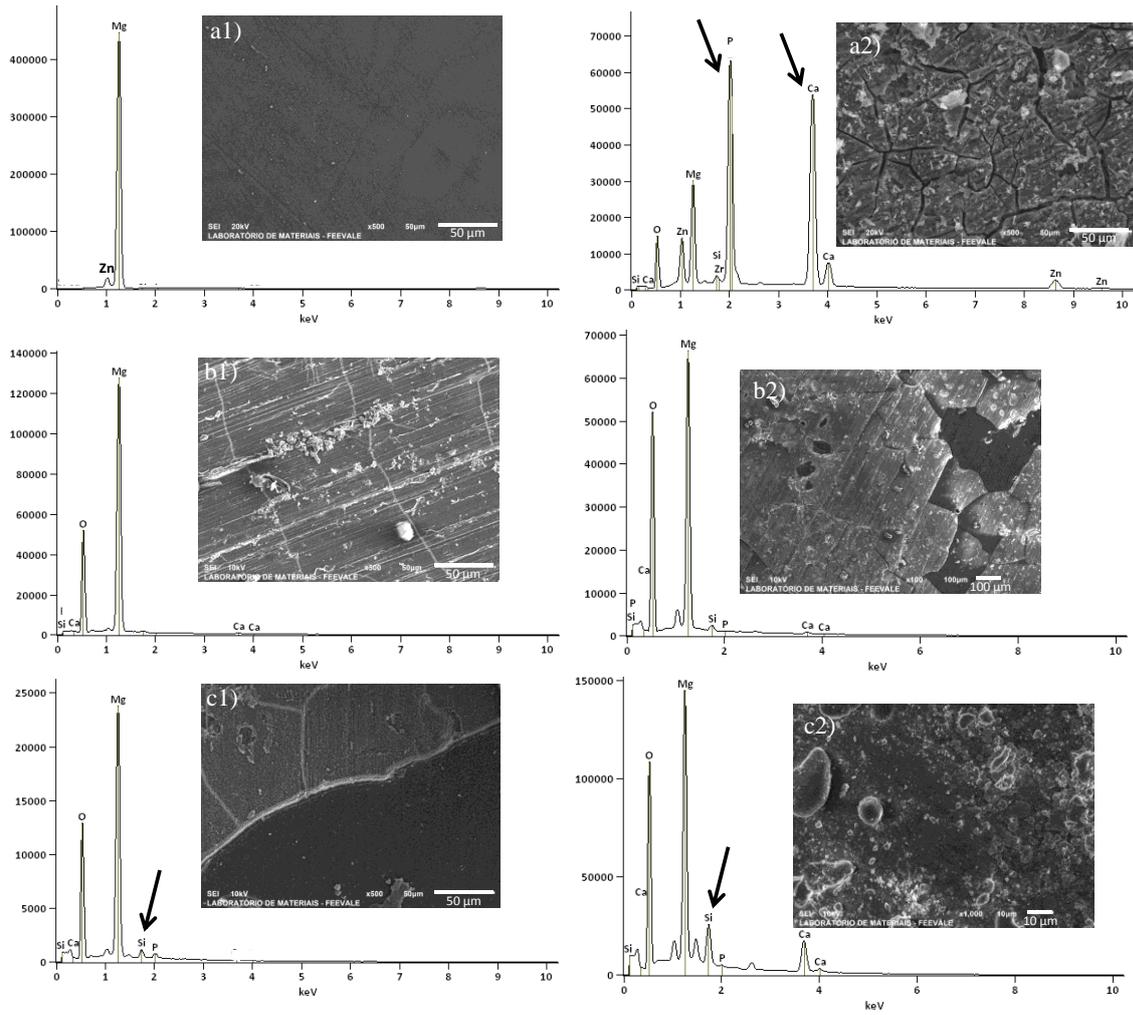
observa pontos de corrosão localizada nestas fissuras, compatível com pits (camada não uniforme). Algumas partículas podem ser sais de Ca ou P depositados na superfície.

A Figura 47c representa a arquitetura 1 como revestida, em que houve o deslocamento parcial do filme híbrido. O remanescente do filme, sinalizado pela presença do Si (Figura 47c), se mostra homogêneo, enquanto a parte da figura que não está revestida apresenta fissuras, assim como a Figura b. A figura que representa a arquitetura após o ensaio de imersão mostra uma aparência diferente das aparências dos sistemas ZK60 e ZK60-NaOH após a imersão, sem fissuras, o que pode ser sinal de um resquício do revestimento, além da presença do Si no mapeamento. Se observa menor quantidade de pits nesta imagem da amostra revestida com arquitetura 1, comparada com os sistemas ZK60 e ZK60-NaOH.

A Figura 47d representa a arquitetura 2 e mostra o deslocamento do revestimento. Esta imagem apresenta um aspecto semelhante ao do sistema ZK60-NaOH. O ensaio de imersão foi feito com uma amostra que manteve seu revestimento aderido, e após este ensaio, sua aparência revela um aspecto uniforme do revestimento, sem fissuras ou pits.

A arquitetura 3, antes do ensaio de imersão, deslocou parte de seu revestimento, restando apenas um sinal fraco de Si, detectado pelo EDS. Através deste revestimento, é possível observar fissuras semelhantes às fissuras do sistema ZK60-NaOH (Figura 47e). Após o ensaio de imersão desta arquitetura, houve o deslocamento parcial do revestimento, apresentando regiões bem distintas: uma bastante homogênea, representando o filme aderido (e com sinal forte do Si no espectro), e outra apresentando fissuras, compatível com uma camada de $Mg(OH)_2$.

O filme da arquitetura 4 se manteve bem aderido, evidenciado pelo sinal forte do Si, aparência uniforme, e similar à figura Figura 47c região inferior. Após o ensaio, houve o deslocamento do revestimento, e com isto, o filme carregou consigo a provável precipitação de Ca e P do eletrólito.



Continua..

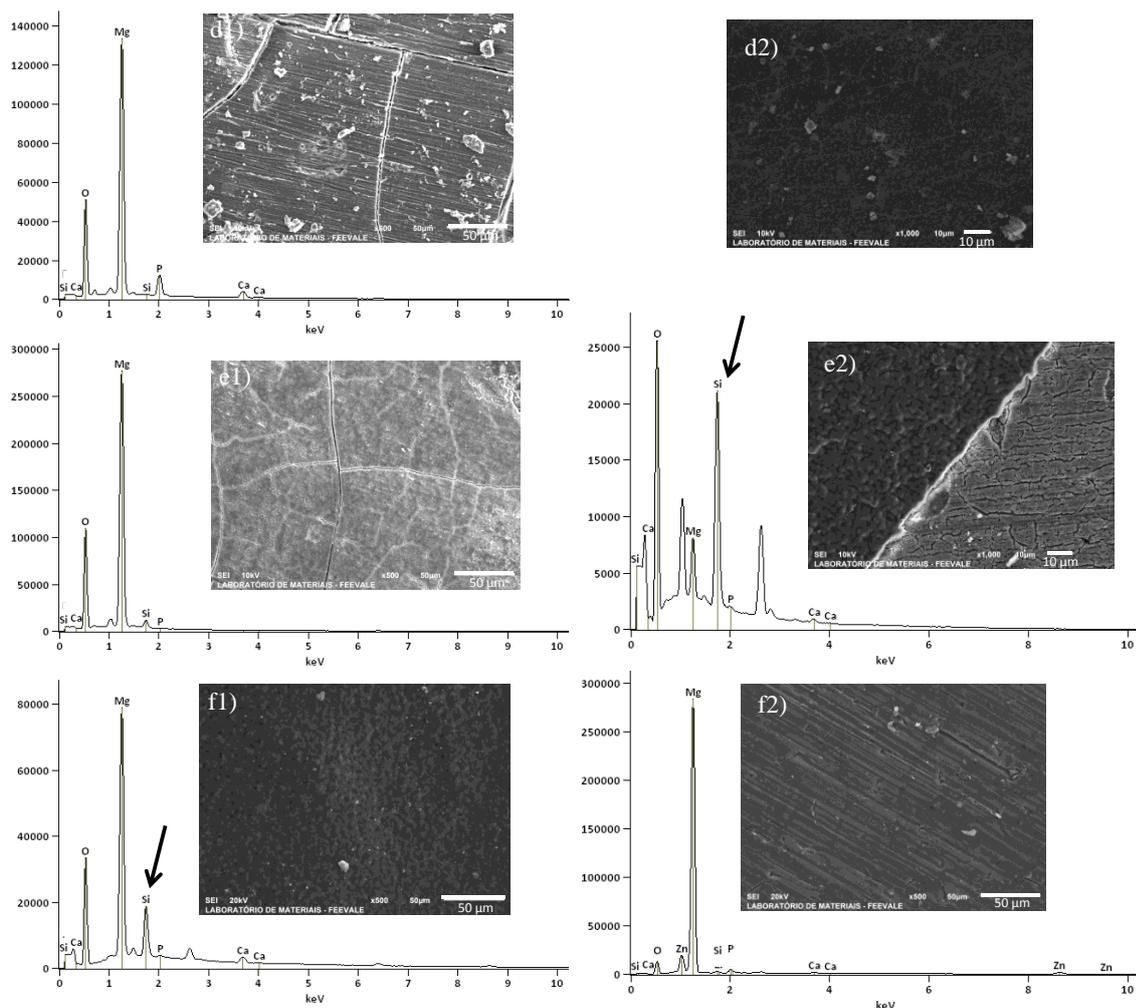


Figura 47 Imagens e espectros de MEV dos sistemas (a1) ZK60, (b1) ZK60-NaOH, (c1) Arquitetura 1, (d1) Arquitetura 2, (e1) Arquitetura 3 e (f1) Arquitetura 4. e após o OCP por 24 horas em SBF (a2) ZK60, (b2) ZK60-NaOH, (c2) Arquitetura 1, (d2) Arquitetura 2, (e2) Arquitetura 3 e (f2) Arquitetura 4.

Gu et al.^[189] utilizaram um sol de quitosana, de concentração não informada, para revestir a liga de magnésio Mg-1Ca, pela técnica de *dip-coating*, a velocidade de retirada de $1 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$, com diferente número de camadas (0, 1, 3, 6 e 9 camadas). Um pré-tratamento complexo foi utilizado. Os autores observaram por testes de imersão em SBF por 250 horas a 37°C pelo volume de hidrogênio que foi liberado nos sistemas com 6 camadas, que estes foram os mais efetivos como barreira. A maior quantidade de liberação de hidrogênio foi obviamente para 0 camada, mas também foi grande para 1 camada, o que mostra ter esta efetividade parcial como barreira, assim como no presente estudo. O segundo melhor sistema de Gu et al. foi preparado com 9 camadas de quitosana, o que parece indicar a espessura não ser diretamente proporcional à efetividade como barreira de um revestimento de quitosana, segundo esse estudo^[189]. Zhang et al.^[187] compararam diferentes espessuras (0,31; 0,40; 0,61; 0,87 e 1,05 mm) de camada

compósita quitosana/CaP por deposição eletroforética (EPD-*electrophoretic deposition*), e também observaram que a espessura de camada intermediária (0,61 mm) foi a mais efetiva em termos de taxa de corrosão do substrato, que foi avaliada por imersão em *m*-SBF (*modified*-SBF) por 30 dias, com monitoramento da concentração do elemento Mg na solução, e através das técnicas eletroquímicas da polarização potenciodinâmica e EIE.

De acordo com a Tabela 12 das espessuras de camada, se observa que as arquiteturas 2 e 4 possuem espessura da camada híbrida semelhante (6,1 e 5,5 μm), e desenvolvem densidades de corrente semelhantes (Tabela 13). Talvez a espessura de camada seja proporcional à efetividade da função barreira do revestimento.

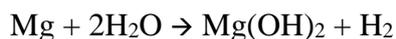
Em princípio, a taxa de corrosão do magnésio pode ser obtida pelo controle da evolução de hidrogênio e perda de massa, e podem ser acompanhadas das técnicas eletroquímicas, polarização potenciodinâmica e espectroscopia de impedância eletroquímica. Embora não tenha sido realizado o ensaio de perda de massa ou controle da evolução do hidrogênio, a curva potenciodinâmica de polarização da amostra de Arquitetura 3 mostra claramente um deslocamento de mais de 1000 mV para potenciais mais positivos em comparação com a amostra ZK60. *James et al.*^[177] calcularam em seu estudo, através da extrapolação das retas de Tafel, a taxa de corrosão da liga ZK60. Adotando tal procedimento, obtêm-se valores que fazem distanciar o i_{corr} da amostra ZK60 em 4 ordens de grandeza em comparação com a arquitetura 3 ($1,0 \cdot 10^{-8} \text{ A} \cdot \text{cm}^{-2}$ a $2,0 \cdot 10^{-4} \text{ A} \cdot \text{cm}^{-2}$), o que mostra a efetividade da barreira proporcionada por esta arquitetura (Figura 48 e Tabela 13). Como já mencionado, os ensaios foram realizados em triplicata e as curvas mais representativas de cada sistema foram selecionadas (Figura 48).

A curva das arquiteturas 2 e 4 se mostraram semelhantes à curva da ZK60-NaOH, tais arquiteturas desenvolveram menores correntes. A arquitetura 1 apresentou um comportamento eletroquímico interessante, pois desenvolveu densidades de corrente maiores, assim como maior potencial de atividade, comparando com a amostra ZK60-NaOH. Ao realizar o *dip-coating*, em um pH ácido, como o sol Ch1-Z, provavelmente a camada de $\text{Mg}(\text{OH})_2$ tenha se dissolvido, e como a primeira camada é crítica, pela proximidade do substrato, o desprendimento de gás hidrogênio deve ter provocado descontinuidades no revestimento.

Os autores *Fekry et al.* que revestiram a liga de magnésio AZ91E com quitosana, em diferentes concentrações, pela técnica *dip-coating*, observaram que a taxa de corrosão decaiu de $0,953 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ para $0,116 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ para o sistema com 15% quitosana/ácido

acético em comparação com o sistema controle (não revestido), uma mudança que embora seja ~7 vezes menor, é pouco significativa.

O comportamento eletroquímico, da curva de polarização da arquitetura 1 mostra, em princípio, um resultado não coerente com a curva da ZK60-NaOH. A presença de uma camada híbrida parece prejudicar o efeito barreira do sistema arquitetura 1. Embora pareça contraditório, presença de fissuras na camada de hidróxido pode ter proporcionado o acesso do sol ao substrato, e pela reação



Equação 3

Haveria a formação de H_2 gasoso, formando descontinuidades no revestimento híbrido, que somado à tensão presente no filme, comprometeria o efeito barreira do revestimento.

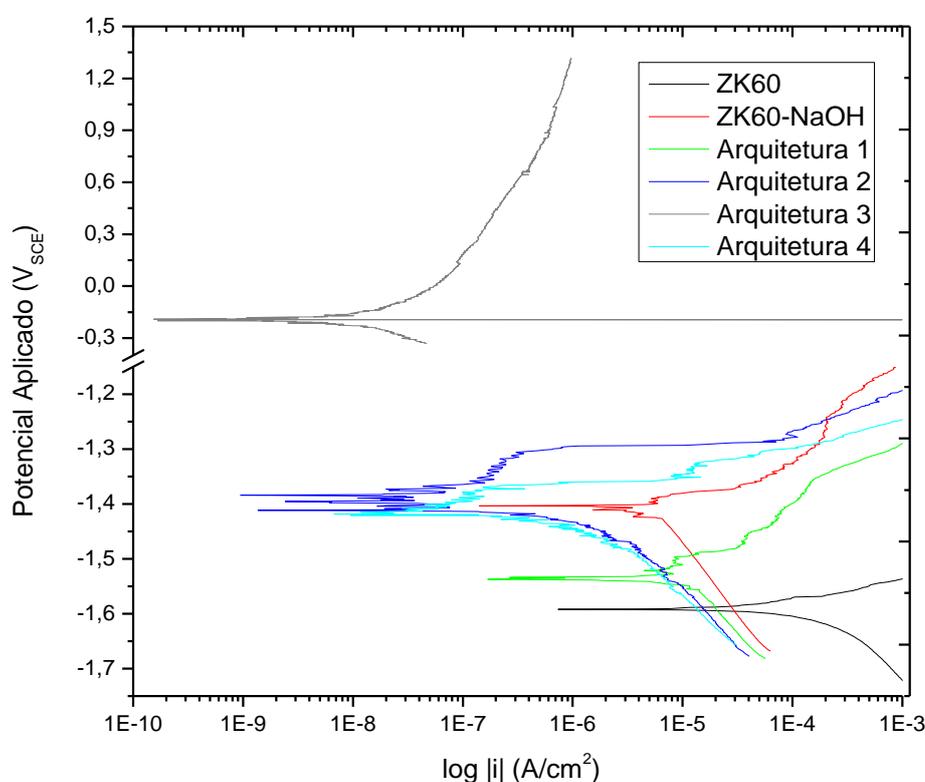


Figura 48 Resultados das curvas de polarização.

Tabela 13 Valores de E_{corr} e i_{corr} dos sistemas estudados.

Sistema	E_{corr} (V _{SCE})	i_{corr} (A.cm ⁻²)
ZK60	-1,59	$2,0 \cdot 10^{-4}$
ZK60-NaOH	-1,40	$5,7 \cdot 10^{-6}$
Arquitetura 1	-1,53	$1,2 \cdot 10^{-5}$
Arquitetura 2	-1,41	$7,9 \cdot 10^{-7}$
Arquitetura 3	-0,20	$1,0 \cdot 10^{-8}$
Arquitetura 4	-1,41	$8,5 \cdot 10^{-7}$

Após os ensaios de polarização potenciodinâmica, os sistemas ZK60 e ZK60-NaOH, apresentaram aspecto semelhante aqueles mostrados pelas imagens do resultado de imersão (Figura 47a2 e Figura 47b2). Pelo aspecto após polarização, se observa que este experimento (Figura 49a e Figura 49b), mesmo sendo de menor duração que o ensaio de imersão, é mais agressivo, por forçar o processo de corrosão através da polarização do sistema.

Os revestimentos obtidos com as as arquiteturas 2 e 4 apresentam-se fissurados (Figura 47d e Figura 47f), enquanto os revestimentos obtidos com as arquiteturas 1 e 3 não apresentam este aspecto (Figura 47c e Figura 47e).

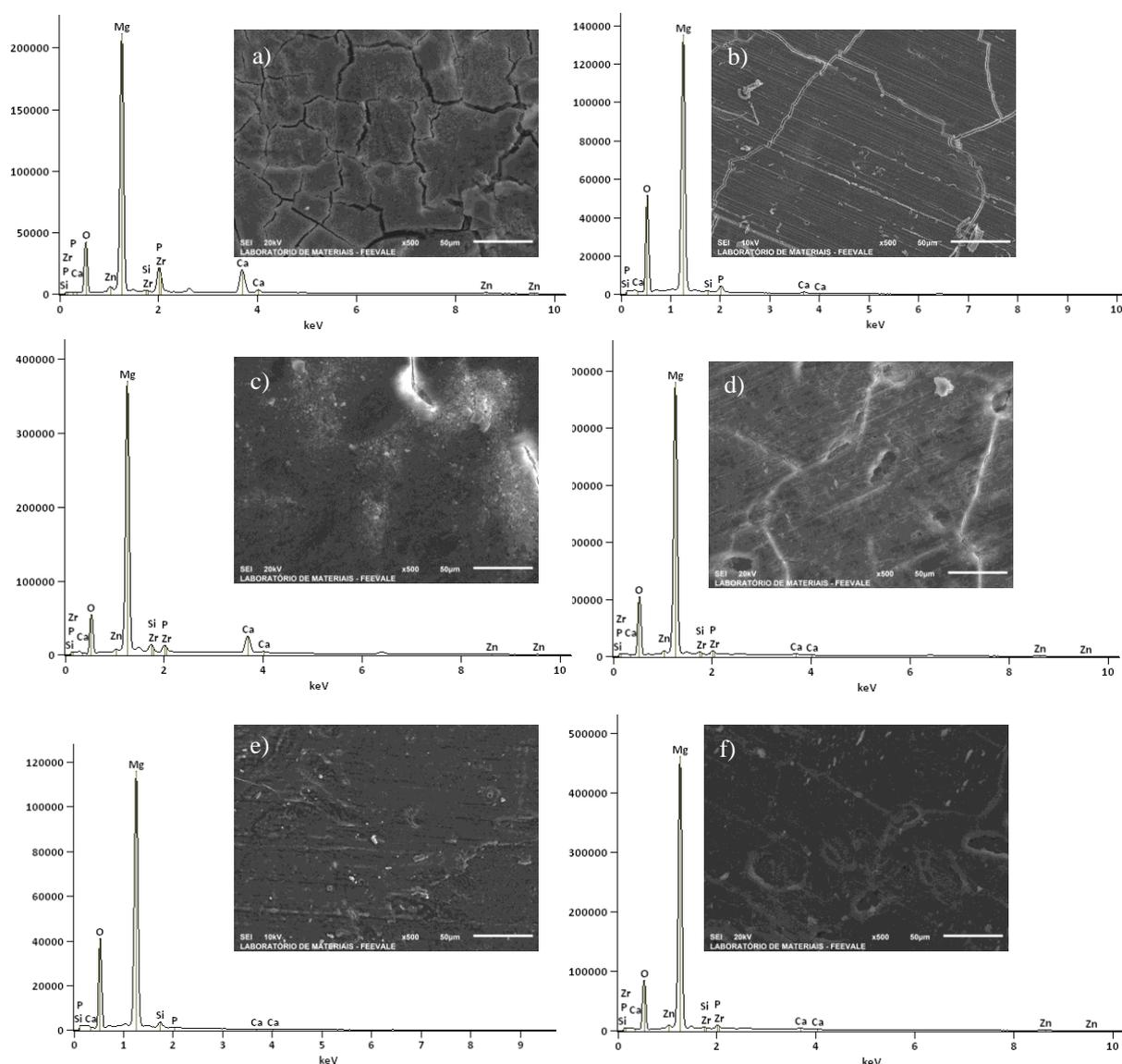


Figura 49 Imagens e espectros de MEV dos sistemas (a) ZK60, (b) ZK60-NaOH, (c) Arquitetura 1, (d) Arquitetura 2, (e) Arquitetura 3 e (f) Arquitetura 4 após a polarização

6. CONCLUSÕES

O estudo do tempo de hidrólise mostra que as reações ocorrem de forma lenta, e que dependem da acidez da solução. Em $\text{pH} = 4,0$, foi observado que 48 h são necessárias para que se observe influência considerável do GPTMS no filme formado, por análise em FTIR de até 96 horas.

O pré-tratamento que melhores resultados obteve foi de 240 horas em imersão na solução aquosa de hidróxido de sódio 3 M a 30 °C. Este tratamento melhor se apresentou face à característica ácida do sol, formando poucas bolhas na superfície da amostra, ao imergir em um sol de $\text{pH} = 4,0$. Tratar a liga de Mg ZK60 com 24, 48 ou 72 horas não foi suficiente para proteger o substrato. Tratar a liga ZK60 com ácido fosfórico, em diferentes concentrações, não se mostrou eficiente, pela imersão das amostras tratadas nos sóis estudados.

Resultados mostraram que as amostras obtidas com três camadas (arquitetura 3) tiveram um deslocamento do potencial de circuito aberto na ordem de 1000 mV em relação à ZK60-NaOH, indicando que o revestimento obtido funciona como uma barreira entre a liga de magnésio e o meio, retardando dessa forma a corrosão da mesma. Entretanto, o revestimento obtido de acordo com a arquitetura 3, apresentou falta de aderência entre a primeira e última (e mais espessa) camada que foi depositada.

Os revestimentos obtidos com a arquitetura 1, arquitetura 2 e arquitetura 4 apresentaram uma boa adesão ao substrato, entretanto, não promoveram deslocamento significativo dos valores e potencial de circuito aberto em relação ao sistema ZK60-NaOH.

Espera-se que diminuindo ainda mais espessura de camada e aumentando o número de camadas, seja possível melhorar a adesão do revestimento à liga ZK60-NaOH, o que provavelmente permitirá dessa forma a obtenção de um revestimento protetor, sem o deslocamento.

Ensaio de imersão, avaliando a perda de massa ou a evolução do gás hidrogênio serão mais representativos para avaliar os sistemas melhor indicados para se dissolver o material em 12 a 18 semanas, que podem ser realizados nas próximas etapas da pesquisa.

7. PERSPECTIVA DE TRABALHO

Estudar outro processo de pré-tratamento que melhore a adesão do revestimento ao substrato.

Estudar a influência da variação da concentração de quitosana na resistência à corrosão do revestimento.

Realizar ensaios de imersão com monitoramento da perda de massa ou da evolução de gás hidrogênio.

Empregar outros métodos para a obtenção dos revestimentos, como *spin coating* ou a técnica de deposição vapor.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Turrer, Clarissa Leite, and Felipe Pacheco Martins Ferreira. "Biomateriais em cirurgia craniomaxilofacial: princípios básicos e aplicações–revisão de literatura." *Rev Bras Cir Plást* 23.3 (2008): 234-9.
- [2] Puleo DA, Huh WW. "Acute toxicity of metal ions in cultures of osteogenic cells derived from bone marrow stromal cells." *J Appl. Biomater.* 1995;6:109–16.
- [3] Jacobs JJ, Gilbert JL, Urban RM. "Corrosion of metal orthopaedic implants." *J Bone Joint Surg.* 1998; 80:268–82.
- [4] Heublein B, Rohde R, Kaese V, Niemeyer M, Hartung W, Haverich A. "Biocorrosion of magnesium alloys: a new principle in cardiovascular implant technology?" *Heart* 2003;89:651–6.
- [5] Heublein, B., et al. "Degradation of metallic alloys-A new principle in stent technology?." *Journal of the American College of Cardiology.* Vol. 35. No. 2. 655, 2000.
- [6] Nagels J, Stokdijk M, Rozing PM. "Stress shielding and bone resorption in shoulder arthroplasty." *J Shoulder Elbow Surg* 2003;12:35–9.
- [7] Park JB, Kim YK. Metallic biomaterials. In: Park JB, Bronzino JD, editors. Biomaterials principles and application. Boca Raton: CRC Press; 2003.
- [8] Renkema KY, Alexander RT, Bindels RJ, Hoenderop JG. "Calcium and phosphate homeostasis: concerted interplay of new regulators." *Ann Med* 2008; 40(2):82–91.
- [9] Rubin H. "Magnesium: the missing element in molecular views of cell proliferation control." *BioEssays* 2005;27(3):311–20.
- [10] Hartwig A. "Role of magnesium in genomic stability." *Mutat Res* 2001;475(1–2):113-21.
- [11] T. Okuma: "Magnesium and bone strength", *Nutrition*, 2001, 17,679–680.
- [12] Cheng, Ying-liang, et al. "Comparison of corrosion behaviors of AZ31, AZ91, AM60 and ZK60 magnesium alloys." *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* 19.3 (2009): 517-524.
- [13] Lambotte A. "Technique et indications de la prothèse perdue dans la traitement des fractures." *Presse Med Belge* 1909;17:321–3.
- [14] Verbrugge J. "L'utilisation du magnésium dans le traitement chirurgical des fractures." *Bull Mém Soc Nat Cir* 1937;59:813–23.
- [15] Wong, Hoi Man, Kelvin W.K. Yeung, Kin On Lam, Vivian Tam, Paul K. Chu, Keith D.K. Luk, and Kenneth M.C. Cheung. "A Biodegradable Polymer-Based Coating to Control the Performance of Magnesium Alloy Orthopaedic Implants." *Biomaterials* 31, no. 8 (March 2010): 2084–96.
- [16] Hornberger, H., S. Virtanen, and A.R. Boccaccini. "Biomedical Coatings on Magnesium Alloys – A Review." *Acta Biomaterialia* 8, no. 7 (July 2012): 2442–55.
- [17] Liu, Chenglong, Yunchang Xin, Xiubo Tian, and Paul K. Chu. "Corrosion Behavior of AZ91 Magnesium Alloy Treated by Plasma Immersion Ion Implantation and Deposition in Artificial Physiological Fluids." *Thin Solid Films* 516, no. 2–4 (December 2007): 422–27.
- [18] Choi, J., S. Nakao, J. Kim, M. Ikeyama, and T. Kato. "Corrosion Protection of DLC Coatings on Magnesium Alloy." *Diamond and Related Materials* 16, no. 4–7 (April 2007): 1361–64.
- [19] Song, Y.W., D.Y. Shan, and E.H. Han. "Electrodeposition of Hydroxyapatite Coating on AZ91D Magnesium Alloy for Biomaterial Application." *Materials Letters* 62, no. 17–18 (June 2008): 3276–79. doi:10.1016/j.matlet.2008.02.048.
- [20] Fukumoto, Shinji, Kana Sugahara, Atsushi Yamamoto, and Harushige Tsubakino. "Improvement of Corrosion Resistance and Adhesion of Coating Layer for Magnesium Alloy Coated with High Purity Magnesium." *Materials Transactions* 44, no. 4 (2003): 518–23.
- [21] Ivanou, D.K., M. Starykevich, A.D. Lisenkov, M.L. Zheludkevich, H.B. Xue, S.V. Lamaka, and M.G.S. Ferreira. "Plasma Anodized ZE41 Magnesium Alloy Sealed with Hybrid Epoxy-Silane Coating." *Corrosion Science* 73 (August 2013): 300–308.
- [22] Feil, Florian, Wolfram Fürbeth, and Michael Schütze. "Purely Inorganic Coatings Based on Nanoparticles for Magnesium Alloys." *Electrochimica Acta* 54, no. 9 (March 2009): 2478–86.
- [23] Ng, W.F., M.H. Wong, and F.T. Cheng. "Stearic Acid Coating on Magnesium for Enhancing Corrosion Resistance in Hanks' Solution." *Surface and Coatings Technology* 204, no. 11 (February 2010): 1823–30.
- [24] Uhrich, Kathryn E., Scott M. Cannizzaro, Robert S. Langer, and Kevin M. Shakesheff. "Polymeric Systems for Controlled Drug Release." *Chemical Reviews* 99, no. 11 (November 1999): 3181–98.
- [25] I.V. Yannas, H.F. Burke, D.P. Orgill, E.M. Skrabut. Wound tissue can utilise a polymeric template to synthesise a functional extension of skin. *Science*, 215 (1982), p. 174.
- [26] Rinaudo, Marguerite. "Chitin and Chitosan: Properties and Applications." *Progress in Polymer Science* 31, no. 7 (July 2006): 603–32.

-
- [27] Kumar, Majeti NV Ravi. "A Review of Chitin and Chitosan Applications." *Reactive and Polymers* 46, no. 1 (2000): 1–27.
- [28] Jeerun Kingkaew, Suchata Kirdponpattara, Neeracha Sanchavanakit, Prasit Pavasant, and Muenduen Phisalaphong. "Effect of Molecular Weight of Chitosan on Antimicrobial Properties and Tissue Compatibility of Chitosan-impregnated Bacterial Cellulose Films." *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 19: 534-544 (2014).
- [29] Riccardo A.A. Muzzarelli. "Chitosan composites with inorganics, morphogenetic proteins and stem cells, for bone regeneration." *Carbohydrate Polymers* 83 (2011) 1433–1445.
- [30] Jun, Zhao, et al. "Effects of chitosan coating on biocompatibility of Mg–6% Zn–10% Ca₃(PO₄)₂ implant." *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* 25.3 (2015): 824-831.
- [31] Yuki Shirosaki. "Preparation of organic–inorganic hybrids with silicate network for the medical applications." *Journal of the Ceramic Society of Japan* 120 [12] 555-559 2012.
- [32] Lei Ren, Kanji Tsuru, Satoshi Hayakawa, Akiyoshi Osaka. "Novel approach to fabricate porous gelatin–siloxane hybrids for bone tissue engineering." *Biomaterials* 23 (2002) 4765–4773.
- [33] S.I. Anderson, S. Downes, C. C. Perry and A. M. Caballero. "Evaluation of the osteoblast response to a silica gel in vitro." *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 9, 731-735 (1998).
- [34] Staiger, Mark P., Alexis M. Pietak, Jerawala Huadmai, and George Dias. "Magnesium and Its Alloys as Orthopedic Biomaterials: A Review." *Biomaterials* 27, no. 9 (March 2006): 1728–34.
- [35] Mordike, B. L., and Tü Ebert. "Magnesium: properties—applications—potential." *Materials Science and Engineering: A* 302.1 (2001): 37-45.
- [36] Luo, A., and M. O. Pekguleryuz. "Cast magnesium alloys for elevated temperature applications." *Journal of Materials Science* 29.20 (1994): 5259-5271.
- [37] Parthiban, G. T., et al. "Cathodic protection of steel in concrete using magnesium alloy anode." *Corrosion science* 50.12 (2008): 3329-3335.
- [38] Avedesian, Michael M., and Hugh Baker. "ASM speciality handbook: magnesium and magnesium alloys." *New York: ASM International* 27 (1999).
- [39] Kammer C. Magnesium Taschenbuch. Düsseldorf: Aluminium-Verlag; 2000.
- [40] Huse EC. "A new ligature?" *Chicago Med J Exam* 1878:172-2.
- [41] Witte, Frank. "The History of Biodegradable Magnesium Implants: A Review." *Acta Biomaterialia* 6, no. 5 (May 2010): 1680–92.
- [42] Maier O. "Über die Verwendbarkeit von Leichtmetallen in der Chirurgie (metallisches Magnesium als Reizmittel zur Knochenneubildung)." *Deut Z Chir* 1940;253:552–6.
- [43] Payr E. "Beiträge zur Technik der Blutgefäß- und Nervennaht nebst Mittheilungen über die Verwendung eines resorbirbaren Metalles in der Chirurgie." *Arch Klin Chir* 1900;62:67–93.
- [44] Payr E. "Blutgefäß- und Nervennaht (nebst Mittheilung über die Verwendung eines resorbirbaren Metalles in der Chirurgie)." *Centralblatt für Chirurgie* 1901;28(Beilage: Bericht über die verhandlungen der deutschen Gesellschaft für Chirurgie, XXIX Kongress, abgehalten vom 18.-21. April 1900 im Langenbeck-Hause); p. 31–37.
- [45] Andrews EW. "Absorbable metal clips as substitutes for ligatures in wound closure." *JAMA* 1917;28:278–81.
- [46] Payr E. "Zur Verwendung des Magnesiums für resorbirbare Darmknöpfe und andere chirurgisch-technische Zwecke." *Centralblatt Chir* 1901;28(20): 513–5.
- [47] Höpfner E. "Ueber Gefäßnaht, Gefäßstransplantation und Replantation von amputirten Extremitäten." *Arch Klin Chir* 1903;70:417–71.
- [48] Payr E, Martina A. "Experimentelle und klinische Beiträge zur Lebernaht und leberresection (Magnesiumplattennaht)." *Arch Klin Chir* 1905;77(4):962–98.
- [49] Payr E. "Ueber Verwendung von Magnesium zur Behandlung von Blutgefässerkrankungen." *Deut Z Chir* 1902;63:503–11.
- [50] Payr E. "Zur Technik der Behandlung kavernöser Tumoren." *Zentralblatt Chir* 1903;30:233–4.
- [51] Payr E. "Weitere Erfahrungen über die Behandlung von Blutgefäßgeschwülsten mit Magnesiumpfeilen." *Zentralblatt Chir* 1905;49:1335–8.
- [52] Wilflingseder P, Martin R, Papp C. "Magnesium seeds in the treatment of lymph- and haemangiomas." *Chir Plastica* 1981;6:105–16.
- [53] Hussl H, Papp C, Höpfel-Kreiner I, Rumpl E, Wilflingseder P. "Resorption time and tissue reactions with magnesium rods in rats and rabbits." *Chir Plastica* 1981;6:117–26.
- [54] Verbrugge J. "La tolérance du tissu osseux vis-à-vis du magnésium métallique." *Presse Med* 1933; 55:1112–4.
- [55] Verbrugge J. "Le matériel métallique résorbable en chirurgie osseuse." *Presse Med* 1934;23:460–5.
- [56] McBride ED. "Magnesium screw and nail transfixion in fractures." *South Med J* 1938;31(5):508–15.
- [57] McBride ED. "Absorbable metal in bone surgery." *JAMA* 1938;111:2464–7.

-
- [58] Tprobwrbq BB, Wbnpby LH. "Paccacsda/obqcz venakkbxecrbq cgakad ocneocbynepbn rar vanepbak lkz crpegkeybz rocnb gpb gepekova." *Xbpypubz* 1948;8:41–4.
- [59] Lambotte A. "Technique et indications de la prothèse perdue dans la traitement des fractures." *Presse Med Belge* 1909;17:321–3.
- [60] Sun Hong-fei, et al. "Microstructures and mechanical properties of pure magnesium bars by high ratio extrusion and its subsequent annealing treatment." *Trans. Nonferrous Met. Soc. China* 22(2012) s445-s449.
- [61] Hideki Yamagishi, Mikio Fukuhara and Akihiko Chiba. "Determination of the Cyclic-Tension Fatigue of Extruded Pure Magnesium Using Multiple Ultrasonic Waves." *Materials Transactions*, Vol. 51, No. 7 (2010) pp. 1255 to 1263.
- [62] Xue-Nan GU, Shuang-Shuang LI, Xiao-Ming LI, and Yu-Bo FAN. "Magnesium based degradable biomaterials: A review." *Front. Mater. Sci.* 2014, 8(3): 200–218.
- [63] I. J. Polmear. "Magnesium alloys and applications." *Materials Science and Technology* January 1994 Vol. 10 1.
- [64] Z. Yang, J.P. Li, J.X. Zhang, G.W. Lorimer and J. Robson. "Review on research and development of magnesium alloys." *Acta Metall. Sin. (Engl. Lett.)* Vol.21 No.5 pp313-328 Oct. 2008.
- [65] Yongjun Chen, Zhigang Xu, Christopher Smith, Jag Sankar. "Recent advances on the development of magnesium alloys for biodegradable implants." *Acta Biomaterialia* 10 (2014) 4561–4573.
- [66] Ding, Yunfei, et al. "Effects of zirconium and strontium on the biocorrosion of Mg–Zr–Sr alloys for biodegradable implant applications." *Journal of Materials Chemistry B* 3.18 (2015): 3714-3729.
- [67] He, Guanping, et al. "Addition of Zn to the ternary Mg–Ca–Sr alloys significantly improves their antibacterial properties." *Journal of Materials Chemistry B* 3.32 (2015): 6676-6689.
- [68] Flaten T. "Geographical associations between aluminium in drinking water and death rates with dementia (including Alzheimer's disease), Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis in Norway." *Environ Geochem Health* 1990;12:152–167.
- [69] Drynda A, Deinet N, Braun N, Peuster M. "Rare earth metals used in biodegradable magnesium based stents do not interfere with proliferation of smooth muscle cells but do induce the upregulation of inflammatory genes." *J Biomed Mater Res A* 2008;91:360–369
- [70] Trumbo, Paula, et al. "Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids." *Journal of the American Dietetic Association* 102.11 (2002): 1621-1630.
- [71] Lee, David BN, et al. "Zirconium: biomedical and nephrological applications." *ASAIO Journal* 56.6 (2010): 550-556.
- [72] Ghosh, Sujita, Archana Sharma, and Geeta Talukder. "Zirconium." *Biological trace element research* 35.3 (1992): 247-271.
- [73] Chen, Yongjuan, et al. "Zirconium Ions Up-Regulate the BMP/SMAD Signaling Pathway and Promote the Proliferation and Differentiation of Human Osteoblasts." *PloS one* 10.1 (2015).
- [74] Josset, Yannick, et al. "In vitro reactions of human osteoblasts in culture with zirconia and alumina ceramics." *Journal of Biomedical Materials Research* 47.4 (1999): 481-493.
- [75] Li, Yuncang, et al. "Mg–Zr–Sr alloys as biodegradable implant materials." *Acta biomaterialia* 8.8 (2012): 3177-3188.
- [76] Unigovski, Ya, et al. "Corrosion fatigue of extruded magnesium alloys." *Materials Science and Engineering: A* 360.1 (2003): 132-139.
- [77] Pan, Fu-Sheng, et al. "Influence of impurities on microstructure and mechanical properties of ZK60 magnesium alloy." *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* 20.7 (2010): 1299-1304.
- [78] Yu, Zhengwen, et al. "High strength and superior ductility of an ultra-fine grained magnesium–manganese alloy." *Materials Science and Engineering: A* 648 (2015): 202-207.
- [79] Gu, Xuenan, et al. "In vitro corrosion and biocompatibility of binary magnesium alloys." *Biomaterials* 30.4 (2009): 484-498.
- [80] Raman, RK Singh, Sajjad Jafari, and Shervin Eslami Harandi. "Corrosion fatigue fracture of magnesium alloys in bioimplant applications: A review." *Engineering Fracture Mechanics* 137 (2015): 97-108.
- [81] ASTM G102. "Standard Practice for Calculation of Corrosion Rates and Related Information From Electrochemical Measurements."
- [82] ASTM G59-97 (2009). "Standard Test Method for Conducting Potentiodynamic Polarization Resistance Measurements." (2009).
- [83] Hofstetter, J., et al. "Processing and microstructure–property relations of high-strength low-alloy (HSLA) Mg–Zn–Ca alloys." *Acta Materialia* 98 (2015): 423-432.

-
- [84] Hofstetter, Joëlle, et al. "Assessing the degradation performance of ultrahigh-purity magnesium in vitro and in vivo." *Corrosion Science* 91 (2015): 29-36.
- [85] Neville, Brad. *Patologia oral e maxilofacial*. Elsevier Brasil, 2011.
- [86] Nair, K. S., et al. "Effect of extrusion parameters on microstructure and mechanical properties of ZK30 Mg Alloy." *Materials Science and Technology* 24.4 (2008): 399-405.
- [87] K. Kubota et al. "Review processing and mechanical properties of fine-grained magnesium alloys." *Journal of materials science* 34 (1999)2255–2262.
- [88] Li, Cheng-jie, et al. "Microstructure, texture and mechanical properties of Mg-3.0 Zn-0.2 Ca alloys fabricated by extrusion at various temperatures." *Journal of Alloys and Compounds* 652 (2015): 122-131.
- [89] Pan, Hucheng, et al. "Enhancing mechanical properties of Mg–Sn alloys by combining addition of Ca and Zn." *Materials & Design* 83 (2015): 736-744.
- [90] Li, Huafang, et al. "Design and characterizations of novel biodegradable ternary Zn-based alloys with IIA nutrient alloying elements Mg, Ca and Sr." *Materials & Design* 83 (2015): 95-102.
- [91] Yandong, Yu, et al. "Effects of Mn Addition on the Microstructure and Mechanical Properties of As-cast and Heat-Treated Mg-Zn-Ca Bio-magnesium Alloy." *Metallography, Microstructure, and Analysis*: 1-11.
- [92] Jeong, Y. S., and W. J. Kim. "Enhancement of mechanical properties and corrosion resistance of Mg–Ca alloys through microstructural refinement by indirect extrusion." *Corrosion Science* 82 (2014): 392-403.
- [93] Sun, Yu, et al. "Preparation and characterization of a new biomedical Mg–Zn–Ca alloy." *Materials & Design* 34 (2012): 58-64.
- [94] Ben-Hamu, G., et al. "Stress corrosion cracking of new Mg–Zn–Mn wrought alloys containing Si." *Corrosion Science* 50.5 (2008): 1505-1517.
- [95] Thirumurugan, M., et al. "Effect of rolling temperature and reduction in thickness on microstructure and mechanical properties of ZM21 magnesium alloy and its subsequent annealing treatment." *Materials Science and Engineering: A* 528.29 (2011): 8460-8468.
- [96] Kraus, Tanja, et al. "Magnesium alloys for temporary implants in osteosynthesis: in vivo studies of their degradation and interaction with bone." *Acta biomaterialia* 8.3 (2012): 1230-1238.
- [97] Zhang, Erlin, et al. "Microstructure, mechanical properties and bio-corrosion properties of Mg–Si (–Ca, Zn) alloy for biomedical application." *Acta biomaterialia* 6.5 (2010): 1756-1762.
- [98] Gao, J. H., et al. "Fabrication and characterization of rod-like nano-hydroxyapatite on MAO coating supported on Mg–Zn–Ca alloy." *Applied Surface Science* 257.6 (2011): 2231-2237.
- [99] Harandi, Shervin Eslami, Mohd Hasbullah Idris, and Hassan Jafari. "Effect of forging process on microstructure, mechanical and corrosion properties of biodegradable Mg–1Ca alloy." *Materials & Design* 32.5 (2011): 2596-2603.
- [100] Gu, X. N., et al. "In vitro degradation performance and biological response of a Mg–Zn–Zr alloy." *Materials Science and Engineering: B* 176.20 (2011): 1778-1784.
- [101] Lin, Xiao, et al. "In vivo degradation and tissue compatibility of ZK60 magnesium alloy with micro-arc oxidation coating in a transcortical model." *Materials Science and Engineering: C* 33.7 (2013): 3881-3888.
- [102] Qi, Zheng-Rong, et al. "Comparison of degradation behavior and the associated bone response of ZK60 and PLLA in vivo." *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 102.5 (2014): 1255-1263.
- [103] Wang, Jingbo, et al. "Effects of gas produced by degradation of Mg–Zn–Zr Alloy on cancellous bone tissue." *Materials Science and Engineering: C* 55 (2015): 556-561.
- [104] Lorenz, Carla, et al. "Effect of surface pre-treatments on biocompatibility of magnesium." *Acta Biomaterialia* 5.7 (2009): 2783-2789.
- [105] G. L. Makar and J. Kruger. "Corrosion of magnesium." *International Materials Reviews* 1993 Vol. 38 No.3.
- [106] Street, Steven R., et al. "Atmospheric pitting corrosion of 304L stainless steel: the role of highly concentrated chloride solutions." *Faraday discussions*(2015).
- [107] Atrens, Andrej, et al. "Review of recent developments in the field of magnesium corrosion." *Advanced Engineering Materials* 17.4 (2015): 400-453.
- [108] A. Froats, T. K. Aune, D. Hawke, W. Unsworth, J. Hillis, in *Metals Handbook*, 9th ed., Vol. 13, ASM Int., Materials Park, OH 1987, pp. 740±754.
- [109] Zander, Daniela, and Naemi A. Zumdick. "Influence of Ca and Zn on the microstructure and corrosion of biodegradable Mg–Ca–Zn alloys." *Corrosion Science* 93 (2015): 222-233.

-
- [110] Ming Liua, Patrik Schmutzb, Peter J. Uggowitzerc, Guangling Songa, Andrej Atrensa. "The influence of yttrium (Y) on the corrosion of Mg–Y binary alloys." *Corr. Sci.* Volume 52, Issue 11, November 2010, Pages 3687–3701.
- [111] Zeng, Rongchang, et al. "Corrosion of an extruded magnesium alloy ZK60 component—The role of microstructural features." *Journal of Alloys and Compounds* 509.13 (2011): 4462-4469.
- [112] Z. G. Huan, M. A. LeeFlang, J. Zhou L. E. Fratila-Apachitei • J. Duszczyk. "In vitro degradation behavior and cytocompatibility of Mg–Zn–Zr alloys." *J Mater Sci: Mater Med* (2010) 21:2623–2635.
- [113] K. Kubota et al. "Review processing and mechanical properties of fine-grained magnesium alloys." *Journal of materials science* 34 (1999)2255–2262.
- [114] Nair, K. S., et al. "Effect of extrusion parameters on microstructure and mechanical properties of ZK30 Mg Alloy." *Materials Science and Technology* 24.4 (2008): 399-405.
- [115] Erinc M, Sillekens WH, Mannens R, Werkhoven RJ. "Applicability of existing magnesium alloys as biomedical implant materials." In: Nyberg EA, Agnew SR, Neelameggham NR, Pegguleryuz MQ, editors. *Magnesium Technology*. San Francisco. Warrendale, PA: Minerals, Metals and Materials Society; 2009. p. 209–14.
- [116] S. Lebouil a, A. Duboin b, F. Monti b, P. Tabeling b, P. Volovitch a, K. Ogle. "A novel approach to on-line measurement of gas evolution kinetics: Application to the negative difference effect of Mg in chloride solution." *Electrochimica Acta* 124 (2014) 176–182.
- [117] Willumeit R, Fischer J, Feyerabend F, Hort N, Bismayer U, Heidrich S, et al. Chemical surface alteration of biodegradable magnesium exposed to corrosion media. *Acta Biomater* 2011;7:2704-15.
- [118] Feyerabend F, Wendel H-P, Mihailova B, Heidrich S, Agha NA, Bismayer U, et al. Blood compatibility of magnesium and its alloys. *Acta Biomaterialia* 2015; 25:384-94.
- [119] Jemimah Walker, Shaylin Shadanbaz, Timothy B. F. Woodfield, Mark P. Staiger, George J. Dias. "Magnesium Biomaterials for Orthopedic Application: A Review From a Biological Perspective." *Journal of biomedical materials research b: applied biomaterials*, Aug 2014 Vol 102b, Issue 6.
- [120] Erdmann N, Angrisani N, Reifenrath J, Lucas A, Thorey F, Bormann D, et al. "Biomechanical testing and degradation analysis of MgCa0.8 alloy screws: A comparative in vivo study in rabbits." *Acta Biomater* 2011;7:1421–1428.
- [121] Wang H, Guan S, Wang Y, Liu H, Wang H, Wang L, et al. "In vivo degradation behavior of Ca-deficient hydroxyapatite coated MgZn-Ca alloy for bone implant application." *Colloids Surf B Biointerfaces* 2011;88:254–29.
- [122] Yang JX, Cui FZ, Lee I-S, Zhang Y, Yin QS, Xia H, et al. "In vivo biocompatibility and degradation behavior of Mg alloy coated by calcium phosphate in a rabbit model." *J Biomater Appl* 2012; 27:153–164.
- [123] Yu K, Chen L, Zhao J, Li S, Dai Y, Huang Q, et al. "In vitro corrosion behavior and in vivo biodegradation of biomedical Ca₃(PO₄)₂/Mg–Zn composites." *Acta Biomater* 2012;8:2845–2855.
- [124] Krause A, Von der Hoh N, Bormann D, Krause C, Bach FW, Windhagen H, et al. "Degradation behaviour and mechanical properties of magnesium implants in rabbit tibiae." *J Mater Sci* 2010;45:624–632.
- [125] Huehnerschulte TA, Angrisani N, Rittershaus D, Bormann D, Windhagen H, Meyer-Lindenberg A. "In vivo corrosion of two novel magnesium alloys ZEK100 and AX30 and their mechanical suitability as biodegradable implants." *Materials* 2011;4:1144–1167.
- [126] Remennik S, Bartsch I, Willbold E, Witte F, Shechtman D. "New, fast corroding high ductility Mg–Bi–Ca and Mg–Bi–Si alloys, with no clinically observable gas formation in bone implants." *Mater Sci Eng B* 2011;176:1653–1659.
- [127] Cho SY, Chae SW, Choi KW, Seok HK, Han HS, Yang SJ, et al. "Load-bearing capacity and biological allowable limit of biodegradable metal based on degradation rate in vivo." *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater* 2012;100:1535–1544.
- [128] Huehnerschulte TA, Reifenrath J, Von Rechenberg B, Dziuba D, Seitz JM, Bormann D, et al. "In vivo assessment of the host reactions to the biodegradation of the two novel magnesium alloys ZEK100 and AX30 in an animal model." *Biomed Eng Online* 2012; 11:14.
- [129] Li Z, Gu X, Lou S, Zheng Y. "The development of binary Mg–Ca alloys for use as biodegradable materials within bone." *Biomaterials* 2008;29:1329–1344.
- [130] Orlov, Dmytro, et al. "Enhanced corrosion resistance of Mg alloy ZK60 after processing by integrated extrusion and equal channel angular pressing." *Acta Materialia* 59.15 (2011): 6176-6186.

-
- [131] Song, Guan Ling, and Andrej Atrens. "Corrosion mechanisms of magnesium alloys." *Advanced engineering materials* 1 (1999): 11-33.
- [132] K. G. Davis, W. S. Marras and T. R. Waters: 'Evaluation of spinal loading during lowering and lifting', *Clin. Biomech.*, 1998, 13, (3), 141–152.
- [133] Erinc M, Sillekens WH, Mannens R, Werkhoven RJ. "Applicability of existing magnesium alloys as biomedical implant materials." In: Nyberg EA, Agnew SR, Neelameggham NR, Pekguleryuz MQ, editors. *Magnesium Technology*. San Francisco. Warrendale, PA: Minerals, Metals and Materials Society; 2009. p. 209–14.
- [134] FC Mills. Zinc in human biology. *Human nutrition reviews*. 1989.
- [135] Kirkland, Nicholas Travis. "Magnesium biomaterials: past, present and future." *Corrosion Engineering, Science and Technology* 47.5 (2012): 322-328.
- [136] G. Song: "Control of biodegradation of biocompatible magnesium alloys", *Corros. Sci.*, 2007, 49, (4), 1696–1701.
- [137] R. Zeng, W. Dietzel, F. Witte, N. Hort and C. Blawert: "Progress and challenge for magnesium alloys as biomaterials", *Adv. Eng. Mater.*, 2008, 10, (8), B3–B14.
- [138] Wang, Juan, et al. "Flow-induced corrosion behavior of absorbable magnesium-based stents." *Acta biomaterialia* 10.12 (2014): 5213-5223.
- [139] Wang, Zengjin, et al. "Chronic exposure to aluminum and risk of Alzheimer's disease: A meta-analysis." *Neuroscience letters* 610 (2016): 200-206.
- [140] Krewski, Daniel, et al. "Human health risk assessment for aluminium, aluminium oxide, and aluminium hydroxide." *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* 10.S1 (2007): 1-269.
- [141] Willhite, Calvin C., et al. "Systematic review of potential health risks posed by pharmaceutical, occupational and consumer exposures to metallic and nanoscale aluminum, aluminum oxides, aluminum hydroxide and its soluble salts." *Critical reviews in toxicology* 44 (2014): 1-80.
- [142] Al Zubaidy, Essam AH, Fathia S. Mohammad, and Ghada Bassioni. "Effect of pH, salinity and temperature on aluminum cookware leaching during food preparation." *International Journal of Electrochemical Science* 6.12 (2011): 6424-6441.
- [143] Rajwanshi, Poonam, et al. "Leaching of aluminium from cookwares--a review." *Environmental Geochemistry and Health* 19.1 (1997): 0-0.
- [144] Karbouj, Rim, I. Desloges, and Patrice Nortier. "A simple pre-treatment of aluminium cookware to minimize aluminium transfer to food." *Food and chemical toxicology* 47.3 (2009): 571-577.
- [145] Hakimi, O., E. Aghion, and J. Goldman. "Improved stress corrosion cracking resistance of a novel biodegradable EW62 magnesium alloy by rapid solidification, in simulated electrolytes." *Materials Science and Engineering: C* 51 (2015): 226-232.
- [146] Luffy, Sarah A., et al. "Evaluation of magnesium-yttrium alloy as an extraluminal tracheal stent." *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 102.3 (2014): 611-620.
- [147] Durisin, M., et al. "A novel biodegradable frontal sinus stent (MgNd₂): a long-term animal study." *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* (2015): 1-13.
- [148] Mao, Lin, et al. "Enhanced Bioactivity of Mg–Nd–Zn–Zr Alloy Achieved with Nanoscale MgF₂ Surface for Vascular Stent Application." *ACS applied materials & interfaces* 7.9 (2015): 5320-5330.
- [149] Shi, Ling-ling, et al. "Mechanical properties and corrosion behavior of Mg–Gd–Ca–Zr alloys for medical applications." *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* 47 (2015): 38-48.
- [150] Willbold, Elmar, et al. "Effect of the addition of low rare earth elements (lanthanum, neodymium, cerium) on the biodegradation and biocompatibility of magnesium." *Acta biomaterialia* 11 (2015): 554-562.
- [151] Weizbauer, Andreas, et al. "Novel magnesium alloy Mg–2La caused no cytotoxic effects on cells in physiological conditions." *Materials Science and Engineering: C* 41 (2014): 267-273.
- [152] Grillo, Claudia A., Florencia Alvarez, and Mónica A. Fernández Lorenzo de Mele. "Cellular response to rare earth mixtures (La and Gd) as components of degradable Mg alloys for medical applications." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 117 (2014): 312-321.
- [153] Wang, Jiali, et al. "Surface modification of magnesium alloys developed for bioabsorbable orthopedic implants: a general review." *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 100.6 (2012): 1691-1701.
- [154] Rettig, Ralf, and Sannakaisa Virtanen. "Composition of Corrosion Layers on a Magnesium Rare-Earth Alloy in Simulated Body Fluids." *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 88A, no. 2 (February 2009): 359–69.

-
- [155] Chen, X.-B., N. Birbilis, and T.B. Abbott. "A Simple Route towards a hydroxyapatite–Mg(OH)₂ Conversion Coating for Magnesium." *Corrosion Science* 53, no. 6 (June 2011): 2263–68.
- [156] Chiu, K.Y., M.H. Wong, F.T. Cheng, and H.C. Man. "Characterization and Corrosion Studies of Fluoride Conversion Coating on Degradable Mg Implants." *Surface and Coatings Technology* 202, no. 3 (December 2007): 590–98.
- [157] Walsh, F. C., C. T. J. Low, R. J. K. Wood, K. T. Stevens, J. Archer, A. R. Poeton, and A. Ryder. "Plasma Electrolytic Oxidation (PEO) for Production of Anodised Coatings on Lightweight Metal (Al, Mg, Ti) Alloys." *Transactions of the IMF* 87, no. 3 (May 2009): 122–35.
- [158] Srinivasan, P. Bala, J. Liang, C. Blawert, M. Störmer, and W. Dietzel. "Characterization of Calcium Containing Plasma Electrolytic Oxidation Coatings on AM50 Magnesium Alloy." *Applied Surface Science* 256, no. 12 (April 2010): 4017–22.
- [159] Kannan, M Bobby, and Lynnley Orr. "In Vitro Mechanical Integrity of Hydroxyapatite Coated Magnesium Alloy." *Biomedical Materials* 6, no. 4 (August 1, 2011): 045003.
- [160] L.D. Landau, B.G. Levich. Dragging of a liquid by a moving plate, *Acta Physicochim.* 17 (1942) 42-54.
- [161] Duhua Wang, Gordon. P. Bierwagen. "Sol–gel coatings on metals for corrosion protection." *Progress in Organic Coatings* 64 (2009) 327–338.
- [162] Bumgardner, JDea, et al. "Contact angle, protein adsorption and osteoblast precursor cell attachment to chitosan coatings bonded to titanium." *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 14.12 (2003): 1401-1409.
- [163] Hahn, Byung-Dong, et al. "Aerosol deposition of hydroxyapatite–chitosan composite coatings on biodegradable magnesium alloy." *Surface and Coatings Technology* 205.8 (2011): 3112-3118.
- [164] Chandy, Thomas, and Chandra P. Sharma. "Chitosan-as a biomaterial." *Artificial Cells, Blood Substitutes and Biotechnology* 18.1 (1990): 1-24.
- [165] Xynos, I. D., et al. "Bioglass 45S5 stimulates osteoblast turnover and enhances bone formation in vitro: implications and applications for bone tissue engineering." *Calcified Tissue International* 67.4 (2000): 321-329.
- [166] Xynos, Ioannis D., et al. "Gene-expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass 45S5 dissolution." *Journal of biomedical materials research* 55.2 (2001): 151-157.
- [167] Connell, Louise S., et al. "Chemical characterisation and fabrication of chitosan–silica hybrid scaffolds with 3-glycidoxypropyl trimethoxysilane." *Journal of Materials Chemistry B* 2.6 (2014): 668-680.
- [168] Liu, Ying-Ling, Yu-Huei Su, and Juin-Yih Lai. "In situ crosslinking of chitosan and formation of chitosan–silica hybrid membranes with using γ -glycidoxypropyltrimethoxysilane as a crosslinking agent." *Polymer* 45.20 (2004): 6831-6837.
- [169] Gabrielli, Luca, et al. "Epoxide opening versus silica condensation during sol–gel hybrid biomaterial synthesis." *Chemistry-A European Journal* 19.24 (2013): 7856-7864.
- [170] J. M. Blanding, c. L. Osborn and S. L. Watson, *J. Radiation Curing* 13 (1978).
- [171] Francis, L. F., et al. "Development and measurement of stress in polymer coatings." *Journal of Materials Science* 37.22 (2002): 4717-4731.
- [172] Volume, ASM Handbook. "9, Metallography and Microstructures." *ASM International, Materials Park, OH* 644 (2004).
- [173] Yuki Shirotsaki. "Preparation of organic–inorganic hybrids with silicate network for the medical applications." *Journal of the Ceramic Society of Japan* 120 [12] 555-559 2012.
- [174] Gutierrez, Murillo, and Noé Verner. Protection contre la corrosion d'alliages de magnésium par des revêtements issus de la voie sol-gel. *Diss. Toulouse* 3, 2014.
- [175] Gaur, Swati, RK Singh Raman, and A. S. Khanna. "In vitro investigation of biodegradable polymeric coating for corrosion resistance of Mg–6Zn–Ca alloy in simulated body fluid." *Materials Science and Engineering: C* 42 (2014): 91-101.
- [176] Tadashi Kokubo, Hiroaki Takadama. "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?" *Biomaterials*. Volume 27, Issue 15, May 2006, Pages 2907–2915.
- [177] Jamesh, Mohammed Ibrahim, et al. "Electrochemical corrosion behavior of biodegradable Mg–Y–RE and Mg–Zn–Zr alloys in Ringer's solution and simulated body fluid." *Corrosion Science* 91 (2015): 160-184.
- [178] César, Augusto Stüpp, et al. "Powder Metallurgical Synthesis of Biodegradable Mg-hydroxyapatite Composites for Biomedical applications." *Materials Science Forum*. 2015.
- [179] Stuart B., *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, West Sussex, 2004.

-
- [180] Al-Sagheer, F., and S. Muslim. "Thermal and mechanical properties of chitosan/SiO₂ hybrid composites." *Journal of Nanomaterials* 2010 (2010): 3.
- [181] Zhu, Yanping, et al. "Electrochemical behaviors of the magnesium alloy substrates in various pretreatment solutions." *Applied Surface Science* 256.9 (2010): 2988-2994.
- [182] Shirotsaki, Yuki, et al. "Physical, chemical and in vitro biological profile of chitosan hybrid membrane as a function of organosiloxane concentration." *Acta Biomaterialia* 5.1 (2009): 346-355.
- [183] Narayanan, TSN Sankara, Il Song Park, and Min Ho Lee. "Strategies to improve the corrosion resistance of microarc oxidation (MAO) coated magnesium alloys for degradable implants: Prospects and challenges." *Progress in Materials Science* 60 (2014): 1-71.
- [184] Ko, Young Gun, Seung Namgung, and Dong Hyuk Shin. "Correlation between KOH concentration and surface properties of AZ91 magnesium alloy coated by plasma electrolytic oxidation." *Surface and Coatings Technology* 205.7 (2010): 2525-2531.
- [185] Degner, Julia, et al. "Electrochemical investigations of magnesium in DMEM with biodegradable polycaprolactone coating as corrosion barrier." *Applied Surface Science* 282 (2013): 264-270.
- [186] Fekry, A.M., A.A. Ghoneim, and M.A. Ameer. "Electrochemical Impedance Spectroscopy of Chitosan Coated Magnesium Alloys in a Synthetic Sweat Medium." *Surface and Coatings Technology* 238 (January 2014): 126-32.
- [187] Zhang, Jie, Changsong Dai, Zhaohui Wen, and Jie Wei. "Study on the Effect of the Coating Thickness on Corrosion Behavior of AZ91D Magnesium Alloy in M-SBF." *Int. J. Electrochem. Sci* 10 (2015): 6002-13.
- [188] Bohner, Marc, and Jacques Lemaitre. "Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution?" *Biomaterials* 30.12 (2009): 2175-2179.
- [189] Gu, X N, Y F Zheng, Q X Lan, Y Cheng, Z X Zhang, T F Xi, and D Y Zhang. "Surface Modification of an Mg-1Ca Alloy to Slow down Its Biocorrosion by Chitosan." *Biomedical Materials* 4, no. 4 (August 2009): 044109.