

Inserção de nanocargas de prata em superfície de titânio anodizado

Insertion of silver nanofillers on anodized titanium surface

Inserción de nanorrellenos de plata en superficie de titanio anodizado

Recebido: 27/04/2022 | Revisado: 05/05/2022 | Aceito: 13/05/2022 | Publicado: 18/05/2022

Mariane Fernandes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7204-3681>
Universidade Feevale, Brasil
E-mail: mari97fds@hotmail.com

Sandra Raquel Kunst

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8060-3981>
Projeto de Fixação de Recursos Humanos do CNPq - Nível A (RHAE), Brasil
E-mail: tessaro.sandra@gmail.com

Fernando Dal Pont Morisso

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9653-9857>
Universidade Feevale, Brasil
E-mail: morisso@feevale.br

Lauren Arrussul Carús

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5891-1665>
Universidade Feevale, Brasil
E-mail: laucus@gmail.com

Ana Luiza Ziulkoski

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0850-4003>
Universidade Feevale, Brasil
E-mail: analuiza@feevale.br

Cláudia Trindade Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4472-5359>
Universidade Feevale, Brasil
E-mail: ctofeevale@gmail.com

Abstract

Titanium, when kept at ambient atmosphere and room temperature, generates a thin and adherent oxide layer (TiO_2) which promotes corrosion resistance. Due to this characteristic, the anodizing of titanium has been studied for biomedical applications, but despite excellent biocompatibility, titanium prostheses can generate implant-associated infections. The literature describes the incorporation of silver nanofillers (AgNPs) on the titanium surface, increasing the material's antimicrobial activity and, consequently, reducing the occurrence of infections. Thus, the objective of this work was to identify the most suitable process for incorporation of silver nanofillers on the anodized titanium surface. In this sense, titanium samples were (i) anodized in aqueous citric acid containing silver nitrate (AgNO_3), (ii) anodized in aqueous citric acid and subsequently immersed in an aqueous solution of *Psidium guajava* extract + AgNO_3 and (iii) anodized in $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ followed by sealing process conducted in solution containing *Psidium guajava* extract + AgNO_3 . Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) analysis were performed to verify the efficiency of incorporation of the nanofillers by each method. The results showed to be possible incorporate AgNPs over titanium oxide through the process (i) anodization in citric acid + AgNO_3 and (iii) anodization in $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ and sealing in solution containing plant extract + AgNO_3 . Furthermore, potentiodynamic polarization and cytotoxicity trials were performed on samples from process (iii) and revealed that the incorporation of AgNP 's improves the corrosion resistance and favors the antimicrobial effect of the sample's surfaces.

Keywords: Titanium; Anodizing; Silver nanofiller.

Resumo

O titânio quando mantido em temperatura e atmosfera ambiente, produz uma fina e aderente camada de óxido (TiO_2) tornando resistente à corrosão. Por essa característica, a anodização do titânio vem sendo estudada para aplicações biomédicas. Apesar de possuírem excelente biocompatibilidade, as próteses de titânio podem gerar infecções associadas ao implante. Estudos mostram que aliando nanocargas de prata (AgNPs) ao titânio, a atividade antimicrobiana do material é ampliada, o que reduz a taxa de infecções. O objetivo do trabalho foi identificar o processo mais adequado para incorporação de nanocargas de prata em titânio anodizado. Para tanto, amostras de titânio foram (i) anodizadas em ácido cítrico contendo nitrato de prata (AgNO_3), (ii) anodizadas em ácido cítrico e posteriormente imersas em solução de extrato vegetal + AgNO_3 e (iii) anodizadas em $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ e seladas em solução contendo extrato vegetal + AgNO_3 . Análises morfológicas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e análises químicas semiquantitativas por Espectroscopia De Energia Dispersiva (EDS) foram realizadas para verificar a

eficácia de incorporação das nanocargas de cada método. Os resultados mostraram que é possível incorporar AgNPs ao óxido de titânio por meio do processo (i) anodização em ácido cítrico + AgNO₃ e (iii) anodização em H₂SO₄ + H₂O₂ e selagem em solução contendo extrato vegetal + AgNO₃. Além disso, testes de polarização potenciodinâmica e de citotoxicidade foram realizados somente nas amostras do processo (iii) e mostraram que a incorporação de prata melhora o desempenho anticorrosivo do titânio e favorece o efeito antimicrobiano da superfície em bactérias.

Palavras-chave: Titânio; Anodização; Nanocarga de prata.

Resumen

El titanio, cuando se mantiene a temperatura ambiente y atmósfera, produce una capa de óxido delgada y adherente (TiO₂) que lo hace resistente a la corrosión. Debido a esta característica, el anodizado del titanio ha sido estudiado para aplicaciones biomédicas. A pesar de tener una excelente biocompatibilidad, las prótesis de titanio pueden generar infecciones asociadas a los implantes. Los estudios muestran que al combinar nanorrelenos de plata (AgNP) con titanio, se amplifica la actividad antimicrobiana del material, lo que reduce la tasa de infecciones. El objetivo de este trabajo fue identificar el proceso más adecuado para la incorporación de nanorrelenos de plata en titanio anodizado. Para ello, las muestras de titanio fueron (i) anodizadas en ácido cítrico que contenía nitrato de plata (AgNO₃), (ii) anodizadas en ácido cítrico y posteriormente sumergidas en una solución de extracto vegetal + AgNO₃ y (iii) anodizadas en H₂SO₄ + H₂O₂ y selladas en solución que contiene extracto vegetal + AgNO₃. Se realizaron análisis morfológicos por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y análisis químicos semicuantitativos por Espectroscopía de Dispersión de Energía (EDS) para verificar la eficiencia de incorporación de los nanorrelenos de cada método. Los resultados mostraron que es posible incorporar AgNPs al óxido de titanio a través del proceso (i) anodización en ácido cítrico + AgNO₃ y (iii) anodización en H₂SO₄ + H₂O₂ y sellado en solución que contiene extracto vegetal + AgNO₃. Además, las pruebas de polarización potenciodinámica y citotoxicidad se realizaron solo en muestras del proceso (iii) y demostraron que la incorporación de plata mejora el desempeño anticorrosivo del titanio y favorece el efecto antimicrobiano de la superficie para las bacterias.

Palabras clave: Titanio; Anodizado; Nanocarga de plata.

1. Introdução

O titânio é um metal de transição, leve e com grande resistência mecânica. Possui ampla utilização comercial, desde indústrias aeroespaciais até indústrias químicas (Saurabh et al., 2022). Sua excelente biocompatibilidade, baixa toxicidade e densidade adequada, são propriedades que vêm atraindo atenção para estudos na área médica (Rahman et al., 2016). Quando mantido em temperatura e atmosfera ambiente, produz uma fina e aderente camada de óxido (TiO₂) que o torna altamente resistente à corrosão (Saurabh et al., 2022), atributo de extrema importância para aplicações como implantes e ferramentas cirúrgicas.

Por essa característica, a anodização do titânio vem sendo extensivamente estudada para variadas finalidades, como próteses ósseas e dentárias (Acosta et al., 2012), em células fotovoltaicas (Gaur et al., 2021), como fotocatalisador heterogêneo para tratamento de efluentes industriais (Barbosa et al., 2015), entre outras, por ser um processo simples para produção de óxidos, com alta repetibilidade e ótimo controle sobre os resultados, variando o potencial, a corrente, o tempo e o eletrólito para obter formações de filmes diferentes (Indira et al., 2015).

Para uso como biomaterial, apesar de possuírem excelente biocompatibilidade, as próteses de titânio podem gerar infecções associadas ao implante (Van Hengel et al., 2020). Nesse contexto, diversos trabalhos mostram que aliando nanocargas de prata ao titânio a atividade antimicrobiana do material é ampliada, o que reduz a taxa de infecções, ou seja, as complicações mais graves decorrentes da cirurgia ortopédica (Hsueh et al., 2020). Além disso, o impacto mundial recente do Sars-Cov-2 impulsionou estudos com o intuito de desenvolver superfícies metálicas antimicrobianas. O estudo de Shan et al., (2021) mostrou que nanocargas de grafeno reduzidas em ácido cítrico foram incorporadas no titânio diretamente por anodização. Já Flores et al. (2010) apresentaram que é possível a incorporação de nanocargas de prata em superfícies de titânio não anodizadas somente pela imersão da amostra em eletrólitos contendo prata durante 24 horas a 4°C. Além disso, a incorporação de nanocargas de prata foi observada por meio de selagem em amostras porosas de alumínio (Pornnumpa et al., 2019). No entanto, a metodologia de incorporação de prata nessas superfícies não é bem detalhada pelos autores. Além disso, cabe salientar que até o presente momento, não foram identificados trabalhos relatando a incorporação de nanocargas de prata

em superfícies de titânio por meio de anodização, em superfícies de titânio anodizadas por meio de imersão em eletrólitos contendo prata ou por meio de selagem também em eletrólitos contendo prata. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho é identificar o processo mais adequado para a incorporação de nanocargas de prata em superfície de titânio anodizado.

2. Metodologia

Preparação das amostras

Para a realização deste trabalho, utilizou-se uma chapa de titânio grau 2 comercialmente pura fornecida pela Titânio Brasil Ltda. A chapa foi cortada em amostras nas dimensões 2 cm x 4 cm. Antes da anodização, o processo de decapagem foi realizado utilizando uma solução de 60% ácido nítrico (HNO₃) + 40% de ácido fluorídrico (HF) por aproximadamente 5 segundos para retirar qualquer óxido gerado espontaneamente, e então as amostras foram lavadas em água deionizada.

Definição dos parâmetros de anodização

A anodização foi realizada imediatamente após o processo descrito anteriormente, conectando a amostra como ânodo e utilizando dois fios de platina como cátodo, um de cada lado da amostra. A fonte de tensão utilizada atinge o máximo de 300 V e 0,5 A de corrente. Para definição dos parâmetros de anodização, três amostras foram anodizadas durante 30 minutos com eletrólito de 62% de ácido cítrico (C₆H₈O₇) (Roberge, 1999) aquecido a aproximadamente 50 °C, variando apenas a densidade de corrente, conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros de anodização.

Amostra	Concentração do Eletrólito	Densidade de Corrente	Tempo
Ti-Puro	Titânio puro para referência	-	-
Ti-10	62% de C ₆ H ₈ O ₇ por mL	10 mA/cm ²	30 min
Ti-20	62% de C ₆ H ₈ O ₇ por mL	20 mA/cm ²	30 min
Ti-50	62% de C ₆ H ₈ O ₇ por mL	50 mA/cm ²	30 min

Fonte: Autores.

Anodização com nitrato de prata

Com a definição dos parâmetros de anodização, uma nova amostra foi anodizada por 30 minutos utilizando o eletrólito de 62% de ácido cítrico (C₆H₈O₇) + 0,5 mM de nitrato de prata (AgNO₃) (Shan et al., 2021) em aproximadamente 50 °C e com a densidade de corrente definida anteriormente. O percentual de prata foi escolhido em função da aglomeração da prata no eletrólito. Sabe-se que a prata forma *clusters* quando em solução redutora (Mittal et al., 2013). Portanto, a probabilidade de incorporação de prata como nanocarga pode ocorrer para menor aglomeração de prata no eletrólito.

Incorporação de nanocargas de prata por imersão

Novas amostras foram anodizadas nas condições definidas no item 3.2, e então realizou-se o processo de imersão com extrato vegetal + nitrato de prata por 24 horas em temperatura de aproximadamente 10 °C (Flores et al., 2010), variando a concentração de AgNO₃ entre 0,1 M e 0,25 M. As amostras foram nomeadas conforme Tabela 2.

Tabela 2. Relação de amostras.

Amostra	Parâmetros
Ti-0,1Ag	Titânio anodizado e posterior imersão em 0,1 M de AgNO ₃
Ti-0,25Ag	Titânio anodizado e posterior imersão em 0,25 M de AgNO ₃

Fonte: Autores.

Após a imersão, as curvas de anodização foram discutidas e as amostras foram analisadas no Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). Conforme será apresentado nos resultados e discussões, não houve repetibilidade nas anodizações e não houve incorporação de nanocargas de prata por esse método. Por conta disso, os parâmetros de anodização foram modificados e o processo de incorporação foi substituído pelo método de selagem (Pornnumpa, et al., 2019).

Anodização de titânio em ácido sulfúrico + peróxido de hidrogênio

Para garantir a obtenção de óxidos com repetibilidade, o eletrólito utilizado durante o processo de anodização foi substituído por 1 M de H₂SO₄ (ácido sulfúrico) + 2 M de H₂O₂ (peróxido de hidrogênio) (Asoh et al., 2016), a densidade de corrente foi de 20 mA/cm² durante 30 minutos em temperatura ambiente. Todas as amostras anodizadas foram realizadas em eletrólitos sem uso, ou seja, o eletrólito foi descartado depois de cada anodização.

Incorporação de nanocargas de prata por selagem

A incorporação das nanocargas de prata foi realizada utilizando o processo de selagem (Pornnumpa et al., 2019), que consiste na imersão das amostras em uma solução de extrato vegetal + 0,25 M de AgNO₃, com o auxílio de um agitador magnético com aquecimento para manter a solução homogênea e aquecê-la a 90 °C. Três amostras foram fixadas no fundo do Becker e utilizou-se papel alumínio para fechá-lo, evitando que a solução evaporasse.

Caracterização das amostras

As amostras foram avaliadas ao MEV (Microscópio Eletrônico de Varredura) em vista de topo após a metalização com alvo de ouro, para permitir a condução elétrica e a obtenção das imagens. A espessura da camada de ouro não deve ser maior que 20 nm para evitar a possibilidade de acumular carga negativa e mascarar a topografia da superfície (CANEVAROLO, 2003). Diante disso, as amostras anodizadas em ácido cítrico para definição dos parâmetros de anodização, anodizadas em ácido cítrico + AgNO₃, com prata incorporada pelo processo de imersão, anodizadas em ácido sulfúrico + peróxido de hidrogênio e com prata incorporada pelo processo de selagem foram analisadas no MEV marca Jeol, modelo JSM-6510LV Scanning Electron Microscope para caracterização da morfologia dos óxidos gerados e verificação da eficiência dos processos de incorporação de prata. Além disso, será analisado por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) para identificar os elementos químicos que está emitindo a radiação.

Os testes eletroquímicos foram realizados utilizando o equipamento potenciostato da marca AUTOLAB, modelo PGSTAT 302. Nestas análises, as amostras de titânio foram utilizadas como eletrodo de trabalho, a platina como contra-eletrodo e o calomelano saturado como eletrodo de referência. As propriedades anticorrosivas das amostras foram testadas em Fluido Corporal Simulado (do inglês *Simulated Body Fluid* – SBF) como eletrólito, que foi preparado conforme o protocolo sugerido por Kokubo, 2006. A Tabela 3 apresenta os reagentes utilizados na preparação de um litro de SBF. A solução de ácido clorídrico (1 mol.L⁻¹) foi utilizada para o ajuste do valor de pH para 7,41, referente ao do ambiente corpóreo.

Tabela 3. Reagentes para preparação de 1 litro de solução SBF.

Ordem	Reagente	Fórmula Química	Composição	Pureza (%)
1	Cloreto de sódio	NaCl	8,035 g	99,5
2	Bicarbonato de sódio	NaHCO ₃	0,355 g	99,5
3	Cloreto de potássio	KCl	0,225 g	99,5
4	Fosfato de potássio dibásico	K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0,231 g	99,0
5	Cloreto de magnésio	MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,311 g	98,0
6	Ácido clorídrico	HCl (1,0 M)	39 mL	-
7	Cloreto de cálcio	CaCl ₂	0,292 g	95,0
8	Sulfato de sódio	NaSO ₄	0,072 g	99,0
9	Tris(hidroximetil)aminometano	(OHCH ₂) ₃ CNH ₂	6,118 g	99,0
10	Ácido clorídrico	HCl (1,0 M)	0-5 mL	-

Fonte: Autores.

O ensaio eletroquímico de polarização potenciodinâmica foi realizado com a finalidade de comparar as propriedades anticorrosivas das amostras de titânio decapada, apenas anodizada e anodizada com incorporação de nanocargas de prata. Para isso, foi utilizado a varredura de 1 mV/s iniciando em -200 mV até +400 mV com relação ao potencial de circuito aberto em eletrólito SBF.

Para avaliar a influência das nanocargas de prata na atividade bactericida das amostras, análises de microtitulação por densidade óptica de três tipos de bactérias foram realizadas: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

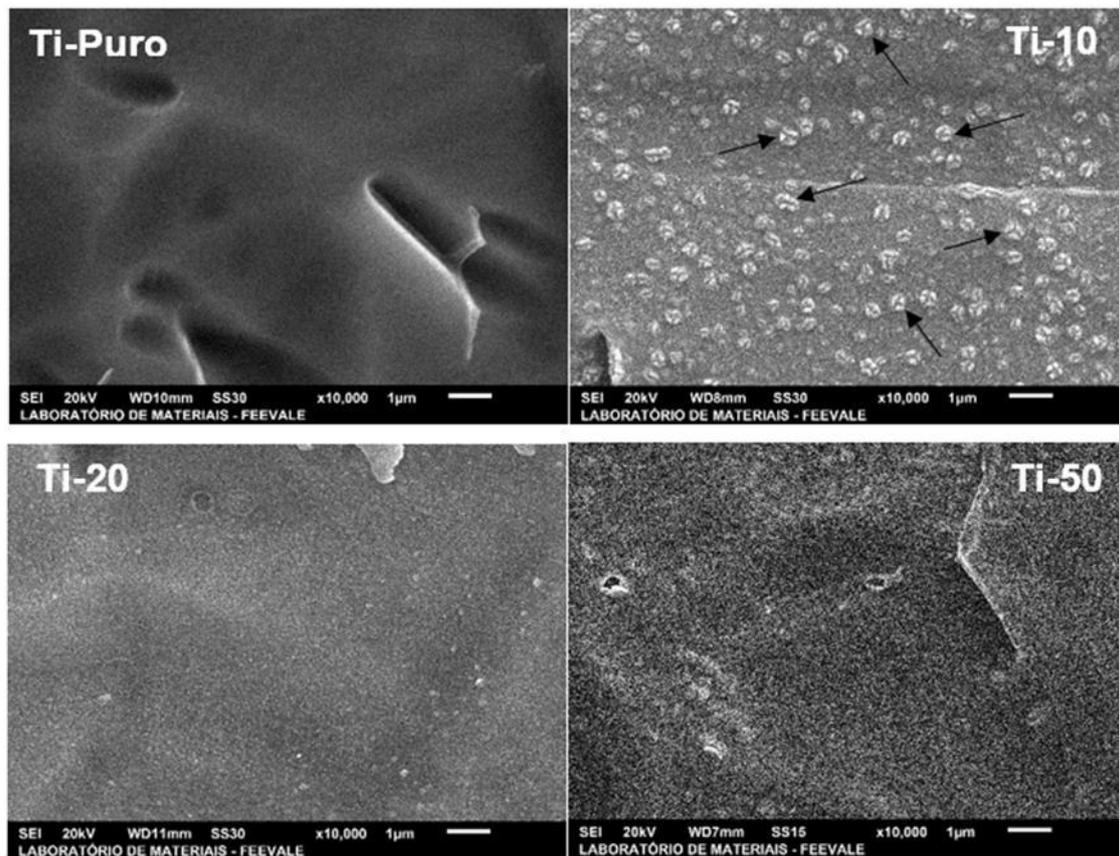
3. Resultados e Discussão

Anodização em ácido cítrico: Definição dos Parâmetros de anodização: 10, 20 ou 50 mA/cm²

A Figura 1 apresenta as micografias em vista de topo obtidas ao MEV das amostras de titânio pura e anodizadas em 62% v/v de ácido cítrico, por 30 minutos, sem limitação de potencial, com densidades de corrente de 10 mA/cm² (Ti-10), 20 mA/cm² (Ti-20) e 50 mA/cm² (Ti-50).

De acordo com a Figura 1, a amostra Ti-10 apresenta estruturas cristalinas chamadas de “like flowers”, formando aglomerados (clusters) em vários pontos da amostra. O mesmo comportamento foi observado por Fuhr et al., 2020 durante a anodização de titânio em licor pirolenhoso. Os autores atribuíram a formação de “like flowers” como núcleos de óxidos cristalinos obtidos pela evolução de oxigênio. Portanto, observa-se que obtenção das estruturas cristalinas denominadas de “like flowers” são características do óxido de titânio, provavelmente formado em eletrólitos orgânicos. No entanto, para as amostras anodizadas com densidade de corrente maior (20 e 50 mA/cm²) não foram observadas as “like flowers” em suas superfícies. Observam-se superfícies aparentemente homogêneas. De acordo com Xing et al., 2013 as “like flowers” ocorrem devido ao aumento do tempo e do potencial, o que não foi observado para as amostras Ti-20 e Ti-50, uma vez que o tempo de anodização foi o mesmo para ambas. Sabe-se que óxidos formados com maior densidade de corrente implicam em maior quantidade de pontos de ataque químico do óxido favorecendo a dissolução (Young, 1961). Anodizações em alumínio tem sido feitas para obtenção de óxido poroso em modo galvanostático em função da dissolução provocada (Ono et al., 2004). Portanto, o aumento de densidade de corrente pode ter ampliado a formação e dissolução do óxido, sem ter ocorrido a formação de “like flowers”.

Figura 1. Micrografias obtidas ao MEV em vista de topo das amostras Ti-10, Ti-20 e Ti-50.



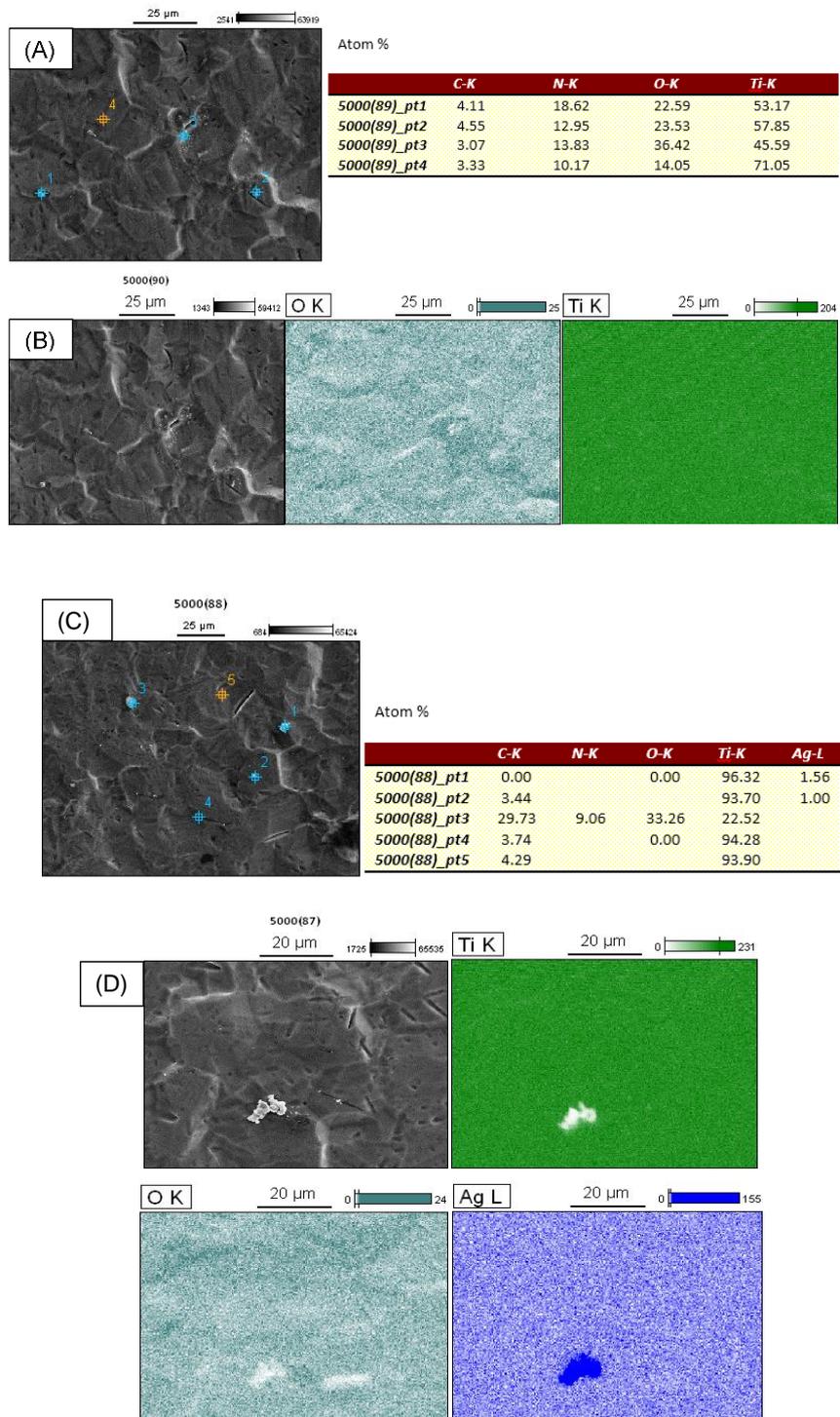
Fonte: Autores.

Dessa forma, como nenhum dos óxidos gerados apresentou estrutura porosa ordenada, a densidade de corrente escolhida para realizar o processo com prata foi a Ti-10, pois foi o óxido que apresentou a estrutura mais heterogênea, o que possibilitará maior adesão das AgNPs.

Anodização em Ácido Cítrico com Nitrato de Prata

A amostra anodizada apresentou aspecto visual semelhante às anodizadas em eletrólito sem adição de AgNO_3 . No entanto, observou-se que os cátodos de platina apresentaram coloração escura, provavelmente devido à migração da prata para o cátodo. Neste caso, o AgNO_3 dissocia-se em íons $\text{Ag}^+ + \text{NO}_3^-$ dentro da solução eletrolítica. Com a aplicação de corrente, os íons Ag^+ migram para o polo negativo do sistema de anodização, que é a platina. Portanto, é possível que o processo de anodização não seja o mais indicado para a inserção de nanocargas de prata. No entanto, as amostras anodizadas nesse eletrólito sem e com adição de AgNO_3 foram analisadas quanto à morfologia ao MEV e quanto análises químicas semiquantitativas por meio de EDS e mapeamento químico. A Figura 2 mostra as imagens do Ti-10 com e sem adição de prata.

Figura 2. (A) Ti anodizado em 62% v/v ácido cítrico e (B) Análise de EDS com mapeamento químico bem como o Ti anodizado em 62% v/v ácido cítrico + 0,5 mM AgNO₃ (C) e Análise de EDS com mapeamento químico (D).



Fonte: Autores.

A quantidade de oxigênio tanto pelo EDS como pelo mapeamento químico indicam a formação de óxido oriundo do processo de anodização (Figura 2-A e Figura 2-B).

Observa-se nas análises de EDS da Figura 2-C e Figura 2-D valores de prata. Por tratar-se de uma análise semiquantitativa, não se pode afirmar o valor observado por EDS, mas pode-se afirmar que ocorre a incorporação da prata. Apesar dos valores do % atômico serem bastante pequenos, não se pode ignorar que provavelmente ocorre a inserção de prata

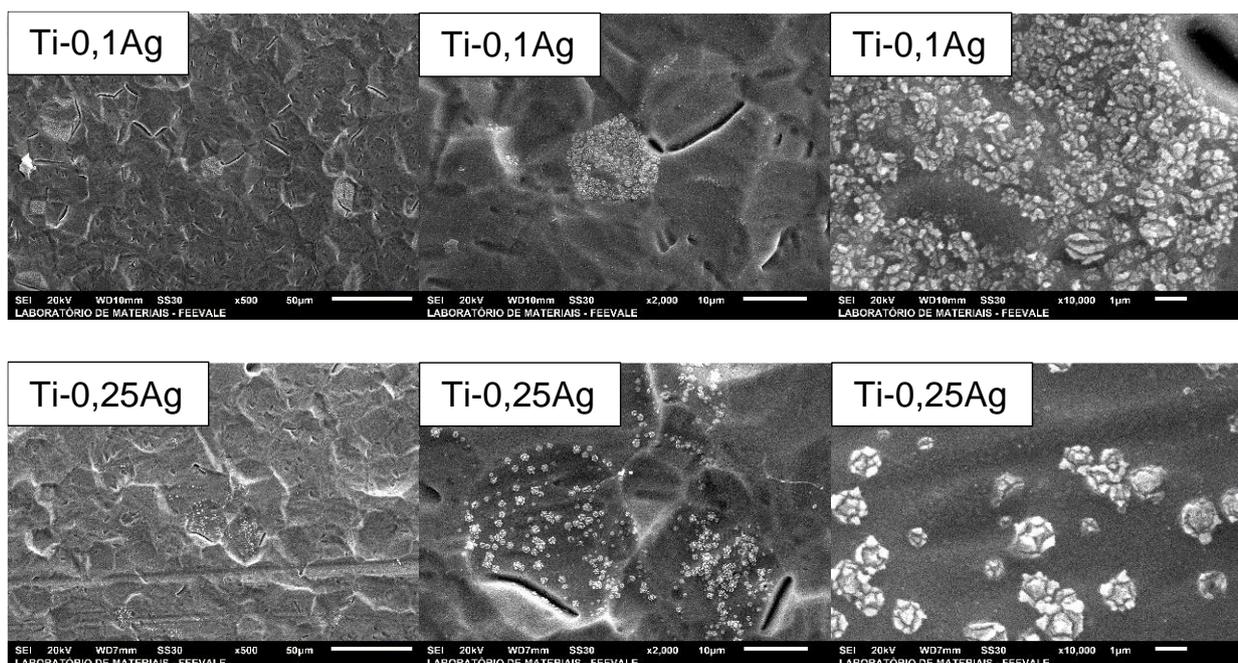
por meio do processo de anodização. As análises de mapeamento também identificam a incorporação de prata. Shan et al., 2021 mostrou a inserção de carbono no titânio anodizado, a partir do pó de grafeno adicionado ao eletrólito de ácido cítrico. Sabe-se que o carbono possui número de oxidação positivo, +2, assim como a prata que também possui número de oxidação positivo, +3. Portanto, é possível que parte da prata dissociada migre para o polo negativo e parte da prata seja incorporada ao óxido, provavelmente na forma de óxido de prata durante a anodização.

Por outro lado, visando a obtenção de prata por processos alternativos, foi utilizado o método de incorporação de AgNPs por imersão (Flores et al., 2010) após o processo de anodização em 62% de ácido cítrico utilizando densidade de corrente de 10 mA/cm².

Imersão em Solução com Nitrato de Prata

A Figura 3 mostra as imagens obtidas ao MEV das amostras anodizadas em 62% de ácido cítrico utilizando densidade de corrente de 10 mA/cm² e posteriormente imersas em solução de extrato vegetal + AgNO₃.

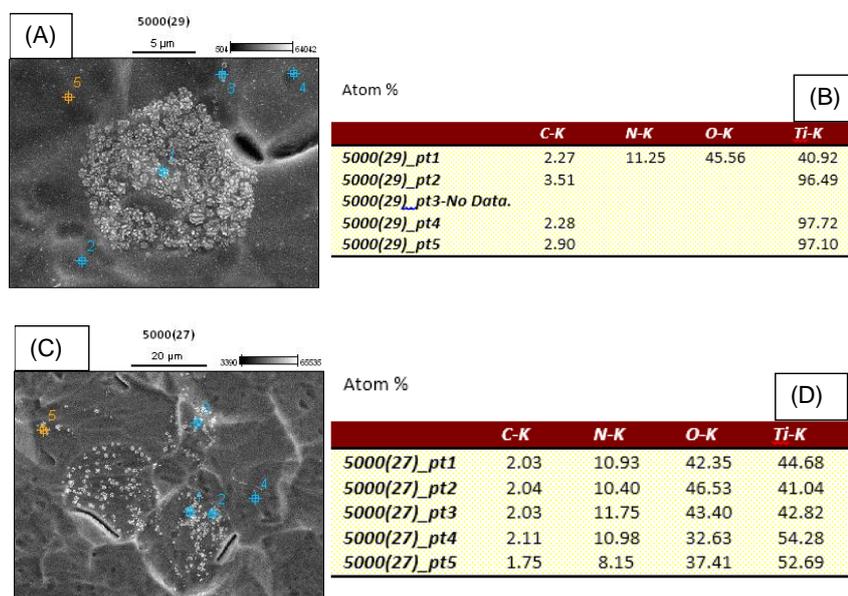
Figura 3. Micrografias das amostras anodizadas em ácido cítrico e posteriormente imersas em extrato vegetal + 0,1M de AgNO₃ (Ti-0,1Ag) e em extrato vegetal + 0,25M de AgNO₃ (Ti-0,25Ag).



Fonte: Autores.

É possível visualizar que houve a ocorrência de “*like flowers*” nas amostras anodizadas, mesmo após o processo de imersão em extrato com nitrato de prata. No entanto, por meio das micrografias obtidas ao MEV não se pode identificar a incorporação de prata. Dessa forma, as amostras foram submetidas a análises químicas semiquantitativas por meio de EDS. A Figura 4 apresenta esses resultados.

Figura 4. (A) Ti anodizado em 62% v/v ácido cítrico e imerso em solução de extrato vegetal + 0,1 M de AgNO_3 e (B) Análise de EDS. (C) Ti anodizado em 62% v/v ácido cítrico e imerso em solução de extrato vegetal + 0,25 M de AgNO_3 e (D) Análise de EDS.



Fonte: Autores.

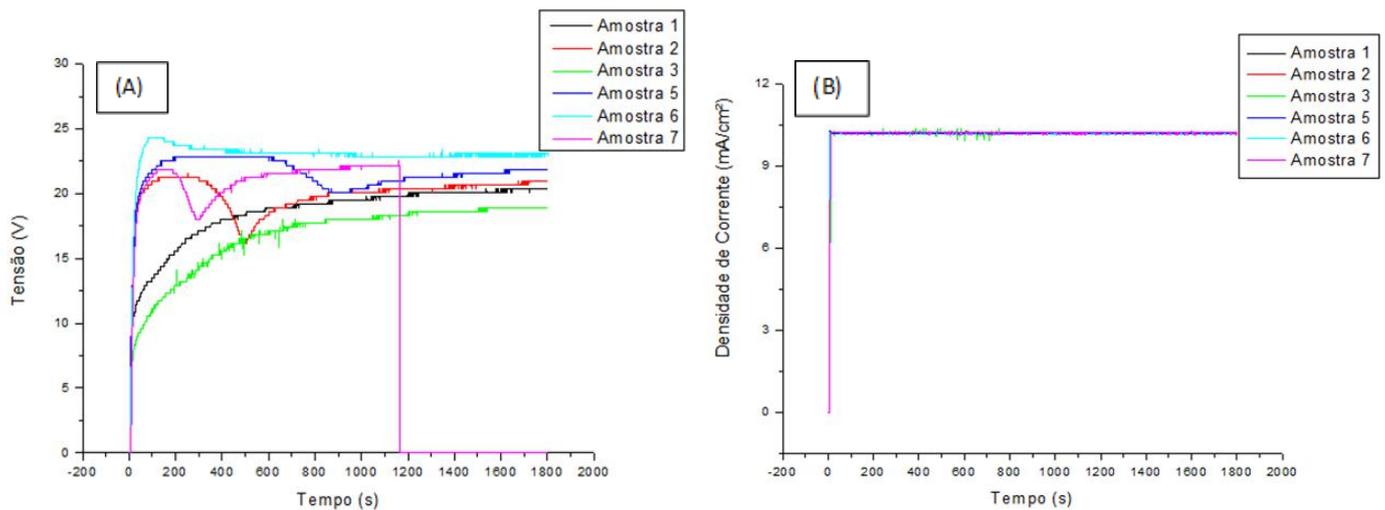
A Figura 4 mostra valores elevados de oxigênio e titânio indicando a formação de óxido. No entanto, não se observa a presença de prata nas análises de EDS, indicando que provavelmente não houve incorporação de prata na superfície do titânio anodizado. Neste caso, supõe-se que a incorporação das partículas possa ser influenciada por estímulos externos tais como aplicação de potencial e corrente por meio de anodização ou talvez por aumento de temperatura, visto que nesse processo não houve nenhum desses estímulos.

Transientes de anodização em ácido cítrico com aplicação de 10 mA/cm²

A partir dos resultados apresentados com uso de ácido cítrico, observou-se que a anodização contendo AgNO_3 pode ser uma alternativa para incorporação de prata no óxido. Com isso, visando entender o comportamento de formação dos óxidos em ácido cítrico, foram anodizadas novas amostras e seus respectivos transientes de anodização foram analisados. A Figura 5 apresenta os transientes de anodização das amostras de titânio anodizadas em ácido cítrico, em 55 ± 2 °C.

Na Figura 5-A, observa-se aumento linear de potencial até aproximadamente 7 V. Depois disso, após aproximadamente 1000 segundos, as amostras variam seu comportamento até atingirem potencial aproximado de 20 V. O aumento de potencial em relação ao tempo está relacionado à espessura do óxido, portanto o valor baixo de 20 V indica um crescimento de camada de óxido pequeno. No entanto, durante todo esse período, a densidade de corrente manteve-se constante (Figura 5-B) indicando um processo de dissolução durante a formação do óxido. Sabe-se que o ácido cítrico é um eletrólito orgânico que tem pouco oxigênio quando comparado a uma solução aquosa (Wan et al., 2009), e, portanto, esse efeito explicaria a densidade de corrente constante observada durante a anodização.

Figura 5. (A) Curvas de Tensão x Tempo e (B) Curvas de Densidade de Corrente x Tempo.



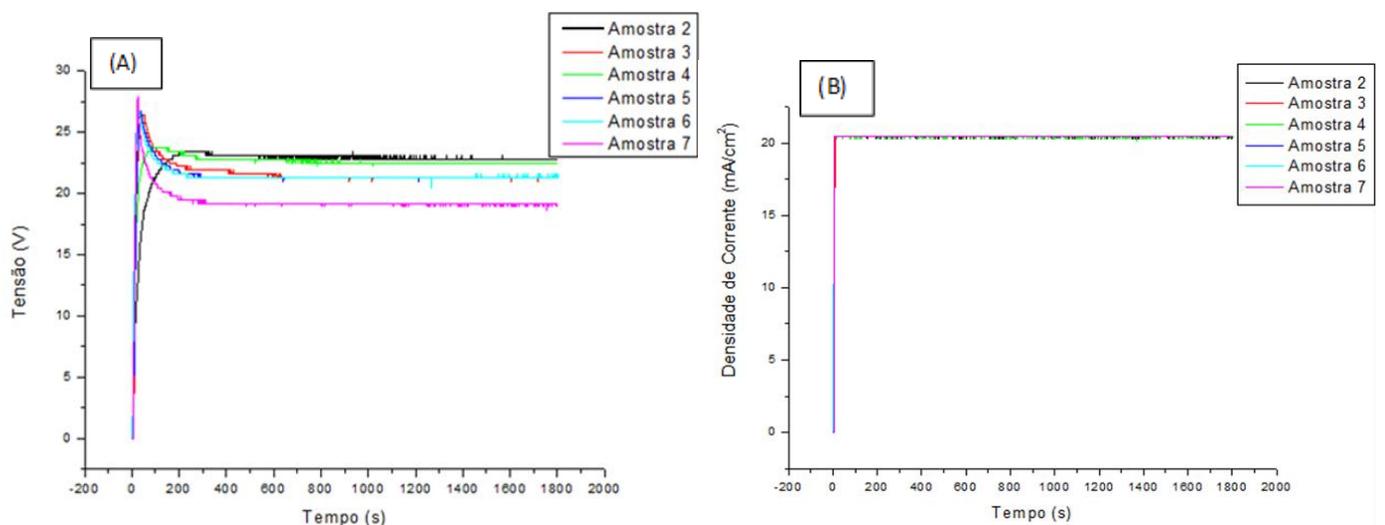
Fonte: Autores.

Apesar de não ter havido repetibilidade no processo durante a anodização das amostras de titânio em ácido cítrico com temperatura, não se pode descartar a incorporação da prata no óxido obtida diretamente no processo de anodização. Portanto, visando a obtenção de uma superfície nanoporosa e outro método de obtenção de nanocargas de prata, serão realizadas as análises de titânio anodizado em ácido sulfúrico + peróxido de hidrogênio e posterior selagem em extrato vegetal + AgNO_3 .

Transientes de anodização em ácido sulfúrico + peróxido de hidrogênio com aplicação de 20 mA/cm²

A Figura 6-A apresenta o transiente de anodização de Potencial x Tempo enquanto que na Figura 6-B é apresentado o transiente da Densidade de Corrente x Tempo das amostras anodizadas em ácido sulfúrico + peróxido de hidrogênio por 30 minutos com densidade de corrente de 20 mA/cm².

Figura 6. (A) Curvas de Tensão x Tempo e (B) Curvas de Densidade de Corrente x Tempo.



Fonte: Autores.

Na Figura 6-A, observa-se um pico inicial de aumento de potencial até aproximadamente 25 V durante os primeiros

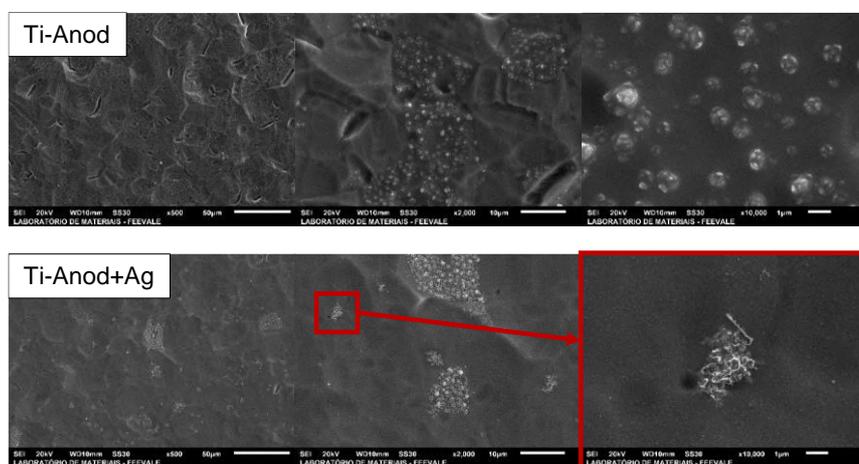
100 segundos do processo. Depois disso, as amostras estabilizam seu comportamento ao atingirem potencial aproximado de 20 V. O aumento de potencial em relação ao tempo está relacionado à espessura do óxido, portanto o valor aproximado de 20 a 25 V indica um crescimento de camada de espessura fina. No entanto, durante todo esse período, a densidade de corrente manteve-se constante (Figura 6-B) indicando um processo de dissolução durante a formação do óxido. O mesmo comportamento foi observado para o eletrólito contendo ácido cítrico. No entanto, as anodizações em ácido cítrico não mostraram repetibilidade como as anodizações em $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$, o que pode estar associado ao eletrólito orgânico e a temperatura durante o processo.

Análise Morfológica ao MEV, EDS e mapeamento

A Figura 7 mostra as imagens obtidas ao MEV da amostra anodizada em ácido sulfúrico + peróxido de hidrogênio e da amostra anodizada no mesmo eletrólito e posteriormente selada em solução de extrato vegetal + AgNO_3 .

É possível visualizar na Figura 7 que houve a ocorrência de “*like flowers*” nas amostras anodizadas. Para eletrólitos orgânicos, foi constatado que a obtenção dos “*like flowers*” está relacionada a formação de óxido cristalino devido à evolução de oxigênio Fuhr et al., 2020. No entanto, como este eletrólito não é orgânico, a ocorrência de “*like flowers*” pode estar associada à densidade de corrente constante durante o processo de anodização aliada a baixa espessura do óxido. Nesse caso, a densidade de corrente constante observada durante o processo pode ter gerado pontos de ataque localizados no óxido originando trincas devido à baixa espessura, resultando nas “*like flowers*”.

Figura 7. Micrografias das amostras somente anodizada em $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ (Ti-Anod) e anodizada em $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ com posterior selagem em extrato vegetal + AgNO_3 (Ti-Anod+Ag).



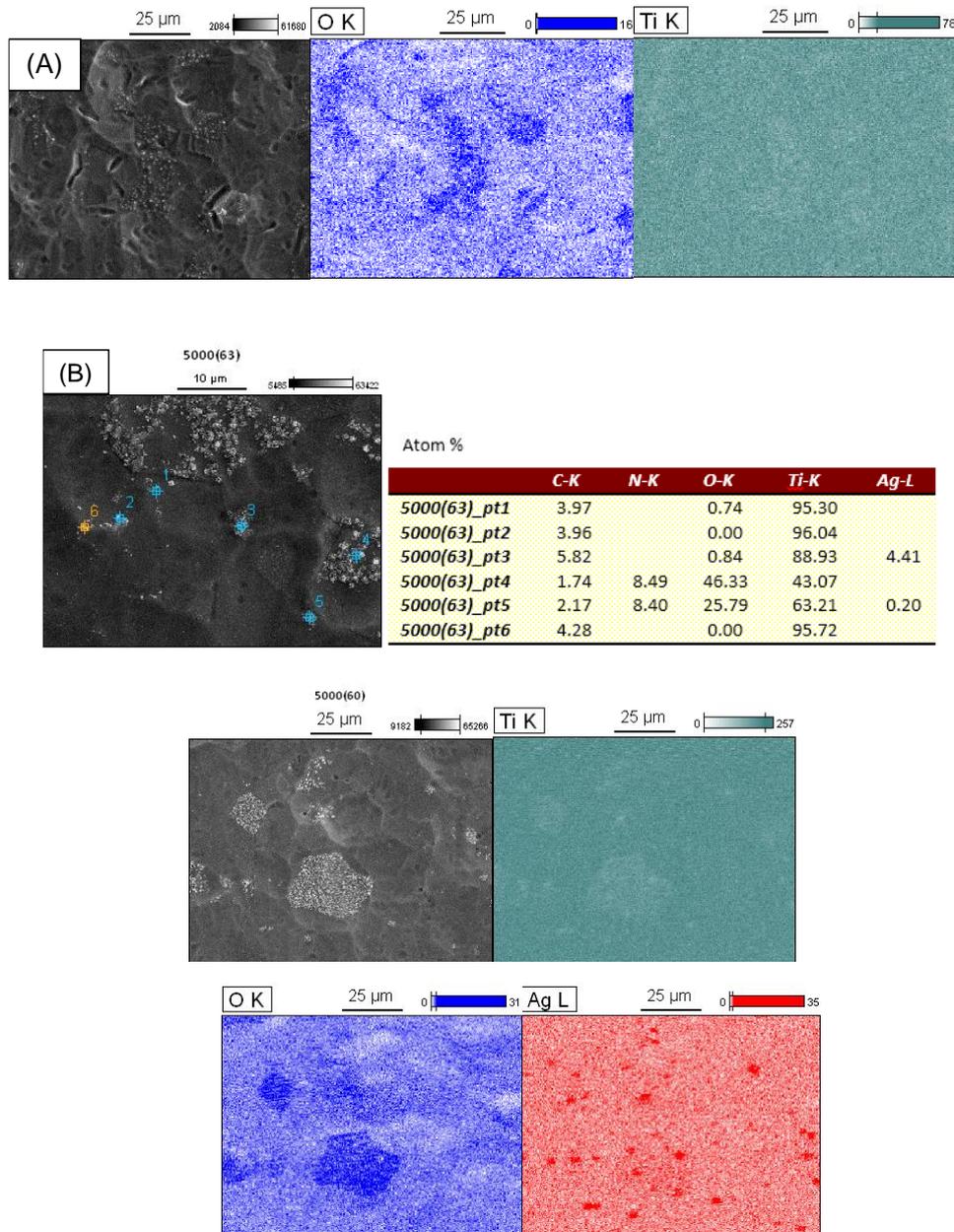
Fonte: Autores.

Já para as amostras anodizadas e seladas, se observa também a ocorrência de “*like flowers*” e de aglomerados na superfície da amostra. Além disso, parece que os aglomerados depositaram-se em cima das “*like flowers*”. Esses aglomerados podem ser em decorrência da selagem, por meio da hidratação do óxido, principalmente das “*like flowers*” ou devido à incorporação de prata na superfície do óxido. Dessa forma, as amostras foram submetidas a análises químicas semiquantitativas por meio de EDS e mapeamento químico, Figura 8.

Conforme é possível observar na Figura 8-A, a amostra somente anodizada apresentou oxigênio na análise de mapeamento químico, o que indica a formação de óxido oriundo do processo de anodização. Da mesma forma, a Figura 8-B da amostra anodizada e selada com prata, mostra a presença de oxigênio tanto pelo EDS como pelo mapeamento químico. Além

disso, também apresenta valores de prata nas análises de EDS. Por tratar-se de uma análise semiquantitativa, não se pode afirmar que a quantidade de prata depositada seja exatamente o valor indicado na análise de EDS, mas pode-se afirmar que ocorre a incorporação de prata. As análises de mapeamento química também corroboram com a incorporação da prata no óxido.

Figura 8. (A) Análise por EDS com mapeamento químico da amostra de Ti anodizado em 1 M de H_2SO_4 + 2 M de H_2O_2 e (B) Análise por EDS com mapeamento químico e composição da amostra Ti anodizado em 1 M de H_2SO_4 + 2 M de H_2O_2 com posterior selagem de extrato vegetal + $AgNO_3$.

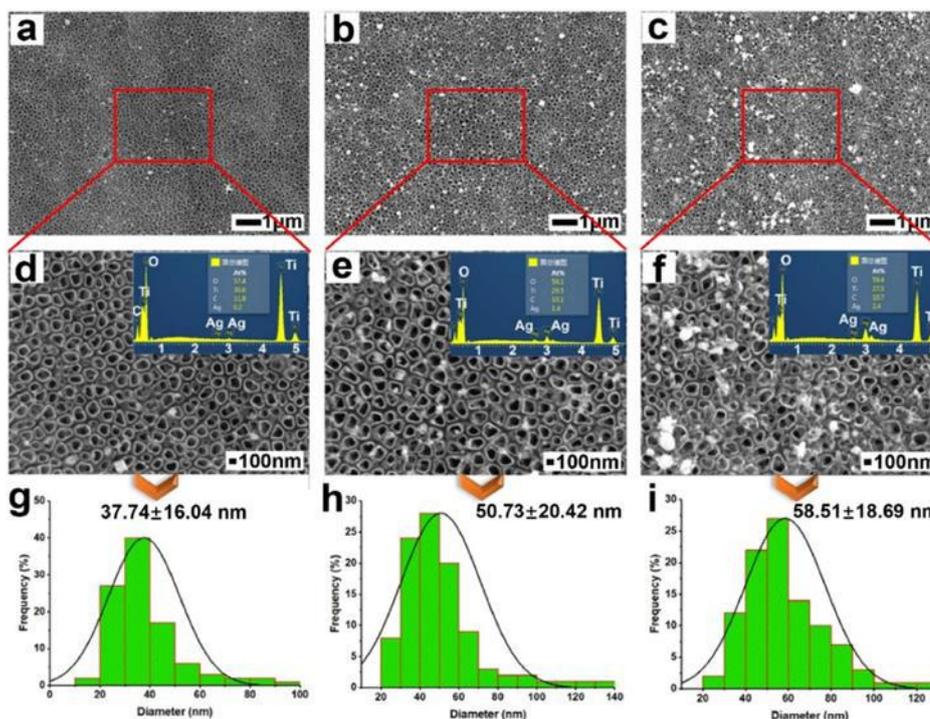


Fonte: Autores.

Segundo Di et al., 2020 a inserção de nanocargas de prata ocorre preferencialmente em superfícies rugosas. Além disso, a concentração de $AgNO_3$ na solução, influencia diretamente no tamanho, distribuição e quantidade de AgNPs que foram incorporadas ao óxido. A Figura 9 apresenta os resultados deste estudo.

Como pode ser observado na Figura 9, a amostra tratada com solução contendo 0,1 M de AgNO_3 exibe AgNPs distribuídas de forma mais uniforme na superfície do que quando comparada à amostra tratada com 0,05 M de AgNO_3 , que apresenta poucos pontos contendo AgNPs. Já a amostra tratada com 0,2 M de AgNO_3 apresenta aglomerações de AgNPs e formação de *clusters*. Dessa forma, a quantidade de 0,25 de AgNO_3 utilizada no processo de selagem deste trabalho resultou na incorporação de prata na forma de aglomerados e teve uma distribuição mais uniforme (com ocorrência de *clusters*) na superfície do titânio anodizado, semelhante ao observado por Di et al., 2020.

Figura 9. Imagens de MEV, análises de EDS e diâmetro de nanopartículas de Ag das amostras após imersão em diferentes concentrações de solução: (a, d, g) 0,05 M de AgNO_3 ; (b, e, h) 0,1 M de AgNO_3 e (c, f, i) 0,2 M de AgNO_3 .



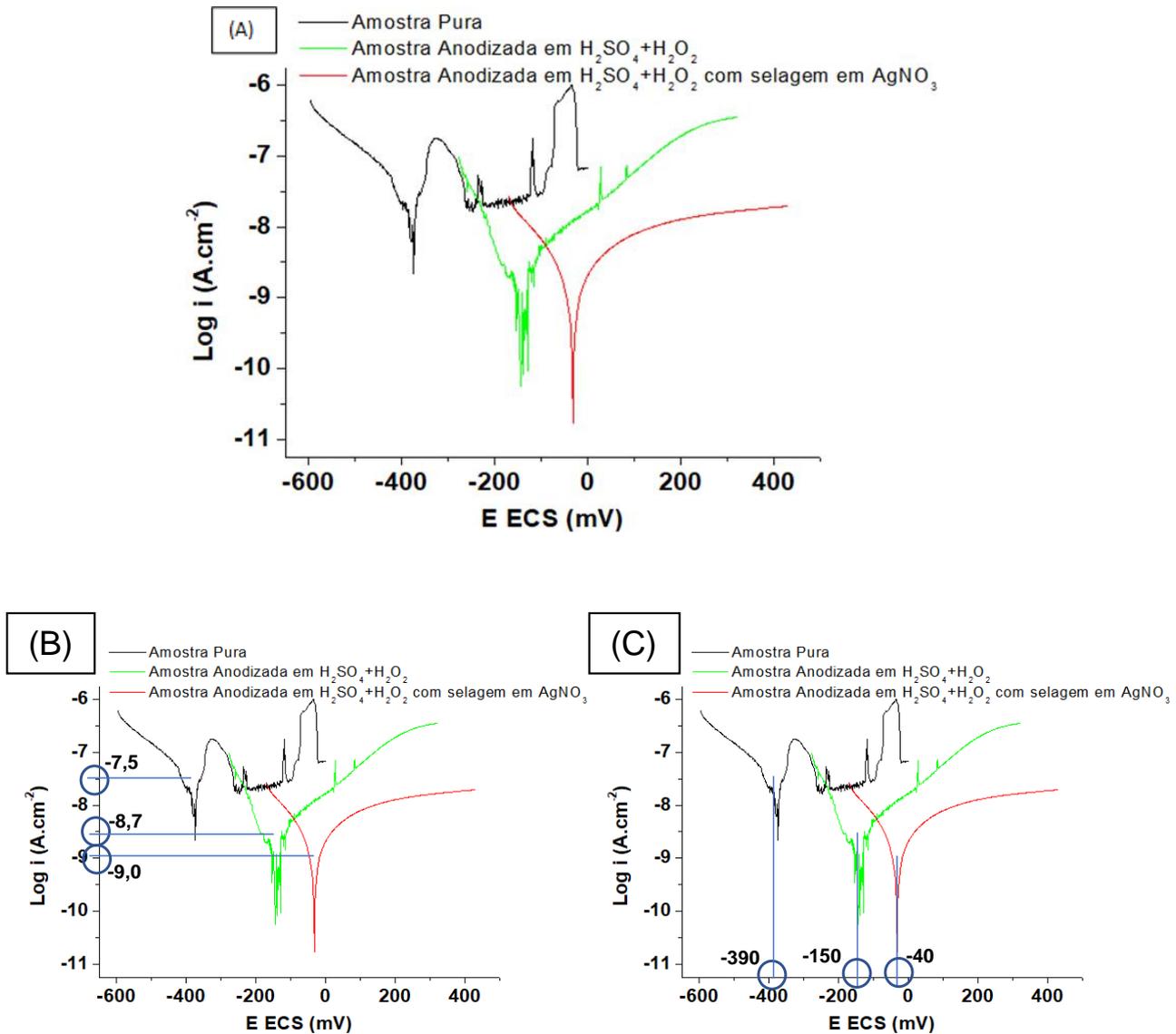
Fonte: Autores.

Polarização Potenciodinâmica

Na Figura 10 é apresentado o gráfico de polarização das amostras pura, anodizada em ácido sulfúrico + peróxido de hidrogênio e anodizada nas mesmas condições + selagem em extrato vegetal com AgNO_3 .

Observa-se na amostra de titânio pura as áreas catódicas e anódicas a partir do potencial de corrosão (Figura 10-A). Na curva anódica visualiza-se um aumento da densidade de corrente a partir do potencial de corrosão, indicando o início do processo corrosivo por meio de uma zona de ativação em que ocorre transferência de carga (-400 até -300 mV). A partir disso ocorre aumento do potencial (entre -300 V e 100 V) com picos de aumento de densidade de corrente. Esse aumento de potencial está relacionado com a formação de camada passiva por meio de processo de transferência de massa seguido da formação de pites, decorrentes de filmes passivos (Wolyneć, 2013).

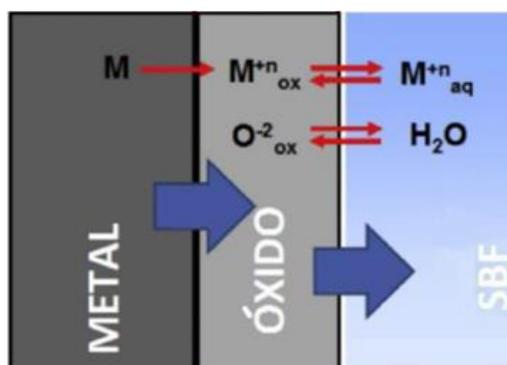
Figura 10. (A) Gráfico de polarização das amostras pura, anodizada em $H_2SO_4 + H_2O_2$ e anodizada e selada em extrato vegetal + $AgNO_3$. (B) Gráfico com indicação da densidade de corrente de corrosão e (C) gráfico com indicação do potencial de corrosão.



Fonte: Autores.

Alguns autores sugerem que isso ocorre no titânio é devido à oxidação dos óxidos TiO e Ti_2O_3 ou pelo crescimento do filme TiO_2 (Ramires et al., 2002), ou seja, pela dissolução passiva e o crescimento da película de óxido (Dalmau et al., 2013), conforme ilustrado na Figura 11. Outros autores explicam esta variação na densidade de corrente como sendo uma ruptura do óxido passivo ou do revestimento (Geetha et al., 2009; Barranco et al., 2011).

Figura 11. Representação do crescimento da película de óxido e da dissolução passiva.



Fonte: Autores.

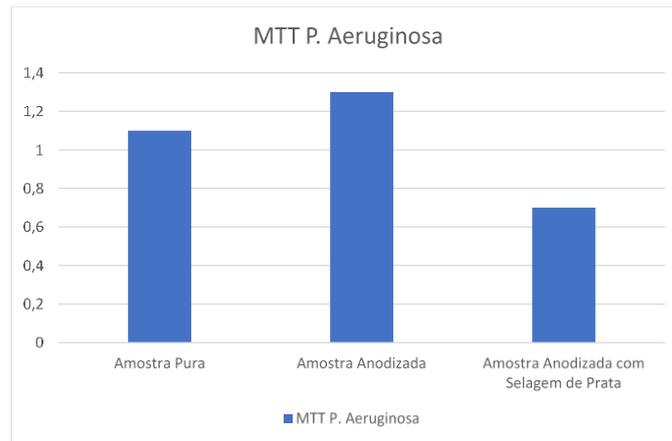
A deterioração começa com a ruptura do filme passivo e com a exposição ao meio biológico de um ponto na superfície do metal, onde a tendência para o ataque é elevada. O mecanismo de destruição pode ser dividido em dois tipos: químico e mecânico. O íon cloreto é um dos maiores responsáveis pela destruição química da passividade, muito abundante em fluidos corpóreos. Por outro lado, a destruição mecânica acontece quando o filme é rompido em decorrência da tensão no implante ou do desgaste abrasivo. Entretanto, competindo com isso, existe o processo de repassivação. Por conta disso, os materiais metálicos mais requisitados para finalidades biomédicas são aqueles que possuem a capacidade de formar um fino filme passivo que resiste ao processo inicial, e que são capazes de se autorregenerar a uma taxa consideravelmente alta. No caso do titânio, mesmo que a corrosão localizada tenha ocorrido, a autorregeneração impede a exposição do metal para o meio (Dalmau et al., 2013).

Além disso, conforme Figura 10-C, o processo de anodização desloca o potencial para valores mais positivos (-390 até -150 mV) e desloca a densidade de corrente de corrosão para valores menores (log -7,5 até log -8,7) em função do óxido existente na superfície do metal (Figura 10-B). Esse comportamento indica que a anodização teve efeito benéfico na resistência à corrosão do titânio. Observa-se na Figura 10-C que a amostra anodizada e selada em eletrólito contendo prata apresenta potenciais mais nobres (mais próximos de zero), bem como a menor densidade de corrente de corrosão (Figura 10-B) denotando melhor desempenho desta amostra em relação a resistência à corrosão. Este resultado pode ser devido à hidratação do óxido decorrente da selagem, originando uma superfície mais compacta. Por outro lado, apesar de haver pouca incorporação de prata na superfície do óxido, não se pode ignorar o seu efeito sobre o desempenho eletroquímico da amostra anodizada e selada. Autores verificaram que a presença de prata aumenta a resistência à corrosão e auxilia a manter a atividade antibacteriana por longos períodos de imersão no SBF, o que significa que em situações reais a prata diminui a probabilidade de rejeição da prótese (Mazare et al., 2018). De acordo com Akhavan, 2009 o excesso de prata representa um tempo de saturação (o tempo que a quantidade de íons de prata necessita para atingir aproximadamente 80% da quantidade de saturação na solução). No entanto, após este tempo de saturação, o processo de liberação de íons de prata pode não ser controlado tendo uma maior liberação e consequentemente diminuindo o seu desempenho eletroquímico e ocasionando uma contaminação do corpo humano com resíduos de prata. A concentração utilizada neste trabalho demonstrou não ser excessiva ao ponto de diminuir a resistência à corrosão e ocasionar essa contaminação do corpo humano.

Testes de Citotoxicidade

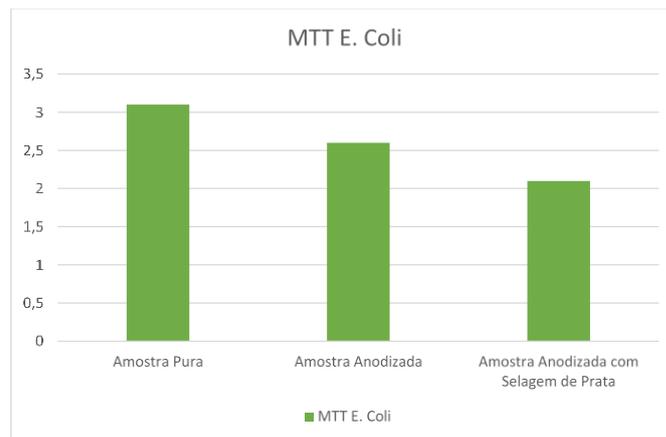
As Figuras 12, 13 e 14 apresentam os resultados do teste de proliferação e citotoxicidade medindo a atividade celular metabólica das bactérias *Pseudomonas aeruginosa* (P. Aeruginosa) ATCC 27853, *Escherichia coli* (E. Coli) ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* (S. Aureus) ATCC 25923, respectivamente.

Figura 12. Resultados do teste de proliferação e citotoxicidade da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* (*P. Aeruginosa*).



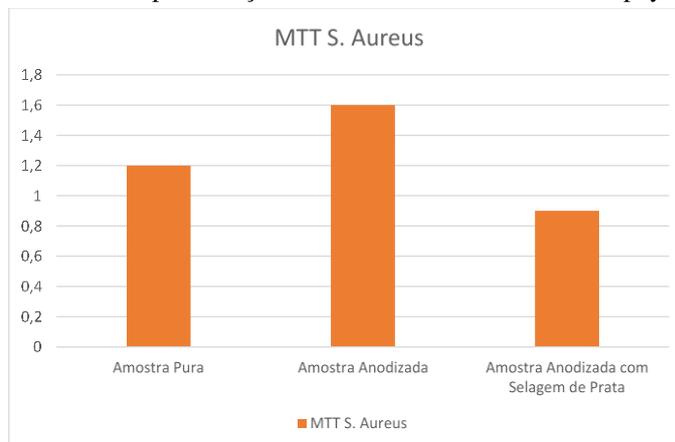
Fonte: Autores.

Figura 13. Resultados do teste de proliferação e citotoxicidade da bactéria *Escherichia coli* (*E. Coli*).



Fonte: Autores.

Figura 14. Resultados do teste de proliferação e citotoxicidade da bactéria *Staphylococcus aureus* (*S. Aureus*).



Fonte: Autores.

É possível visualizar que para as bactérias *P. Aeruginosa* e *S. Aureus*, as amostras anodizadas apresentaram resultados menos bactericidas do que as amostras puras, mas quando os testes foram realizados nas amostras anodizadas com selagem de prata a atividade antimicrobiana do material foi ampliada. Por outro lado, para a bactéria *E. Coli* o processo de anodização já

foi suficiente para aumentar a característica bactericida da amostra, e essa característica foi ainda maior quando aliada à inserção de nanocargas de prata no óxido do titânio. Os resultados comprovam que realmente ocorre a incorporação de prata nas amostras anodizadas por meio do processo de selagem e corroboram com seu efeito bactericida.

4. Conclusão

Amostras de titânio foram anodizadas em 10, 20 e 50 mA/cm² em eletrólito de 62% de ácido cítrico (C₆H₈O₇) com temperatura de aproximadamente 55 °C. A densidade de corrente de 10 mA/cm² foi a que apresentou maior rugosidade por meio de “*like flowers*” e portanto foi a escolhida para a anodização em ácido cítrico com AgNO₃ e para a anodização em ácido cítrico com posterior imersão em extrato vegetal + AgNO₃.

A anodização de titânio em 62% de ácido cítrico + 0,5 mM de AgNO₃ com densidade de corrente de 10 mA/cm² resultou no depósito de prata no cátodo e no óxido de titânio, o que foi comprovado por meio de EDS.

A anodização de titânio em 62% de ácido cítrico com densidade de corrente de 10 mA/cm² seguida por imersão em extrato vegetal + AgNO₃ não apresentou resultados satisfatórios de incorporação das nanocargas de prata nas análises realizadas por meio de EDS.

Visando entender o comportamento de formação dos óxidos de titânio, novas amostras foram anodizadas em 62% em ácido cítrico, com densidade de corrente de 10 mA/cm² e seus transientes de anodização foram analisados, mostrando que não houve repetibilidade no processo.

Diante disso, novas amostras de titânio foram anodizadas em 1 M de H₂SO₄ (ácido sulfúrico) + 2 M de H₂O₂ (peróxido de hidrogênio), visando a obtenção de superfície porosa. As análises dos transientes de anodização mostraram que o processo apresentou repetibilidade. Dessa forma, as amostras anodizadas foram seladas em extrato vegetal + AgNO₃ com agitação em aproximadamente 95 °C, o que resultou em incorporação das nanocargas de prata no óxido de titânio, verificado por meio de EDS.

Portanto, de acordo com os estudos mostrados neste trabalho, observa-se que as alternativas viáveis para inserção de nanocargas de prata são por meio de anodização em ácido cítrico + AgNO₃ e por anodização em 1 M de H₂SO₄ + 2 M de H₂O₂ com posterior selagem em extrato vegetal + AgNO₃.

Somado a esses resultados, foi avaliada a resistência à corrosão e efeito bactericida somente da amostra de titânio anodizada em 1 M de H₂SO₄ + 2 M de H₂O₂ e selada em extrato vegetal contendo prata. As conclusões destas análises estão descritas a seguir.

Os resultados obtidos por meio de Polarização Potenciodinâmica mostraram que a amostra de titânio anodizada em eletrólito de 1 M de H₂SO₄ + 2 M de H₂O₂ desloca o potencial de corrosão para valores mais positivos e desloca a densidade de corrente de corrosão para valores menores quando comparada a amostra de titânio pura. Esse comportamento indica que a anodização teve efeito benéfico na resistência à corrosão do titânio. A amostra anodizada em mesmo eletrólito e selada em extrato vegetal contendo AgNO₃ apresenta potenciais mais nobres (mais próximos de zero), bem como a menor densidade de corrente de corrosão, denotando melhor desempenho desta amostra em relação a resistência à corrosão das amostras apenas anodizada e pura.

As análises do teste de proliferação e citotoxicidade para as bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* mostraram que a incorporação de prata por selagem nas amostras anodizadas em H₂SO₄ + H₂O₂ favoreceu o efeito antimicrobiana da superfície.

Como sugestão para trabalhos futuros indica-se estudar o efeito de incorporação das nanocargas de prata por meio do processo de anodização em ácido cítrico contendo nitrato de prata bem como a testagem de amostras (i) anodizadas em ácido cítrico contendo nitrato de prata (AgNO₃) e (ii) anodizadas em ácido cítrico e posteriormente imersas em solução de extrato

vegetal + AgNO₃, quanto ao desempenho anticorrosivo e antimicrobiana.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o apoio da CNPq, entidade do governo brasileiro focada na formação de recursos humanos. Os autores também agradecem ao apoio financeiro de agências brasileiras: CAPES, FAPERGS e FINEP.

Referências

- Acosta, T., Mendieta, Nunez, A., Cajero, J. M., & Castanho, V. M. (2012). Cytocompatible antifungal acrylic resin containing silver nanoparticles for dentures. *International Journal of Nanomedicine*, 20212(7), 4777.
- Akhavan, O. (2009). Lasting antibacterial activities of Ag–TiO₂/Ag/a-TiO₂ nanocomposite thin film photocatalysts under solar light irradiation. *Journal of Colloid And Interface Science*, 336(1), 117-124.
- Asoh, H., Nakatani, M., & Ono, S. (2016). Fabrication of thick nanoporous oxide films on stainless steel via DC anodization and subsequent biofunctionalization. *Surface and Coatings Technology*, 307, 441-451.
- Barbosa, L. V., Marçal, L., Nassar, E. J., Calefi, P. S., Vicente, M. A., Trujillano, R., Rives, V., Gil, A., Korili, S. A., & Ciuffi, K. J. (2015). Kaolinite-titanium oxide nanocomposites prepared via sol-gel as heterogeneous photocatalysts for dyes degradation. *Catalysis Today*, 246, 133-142.
- Barranco, V., Escudero, M. L., & García-Alonso, M. C. (2011). Influence of the microstructure and topography on the barrier properties of oxide scales generated on blasted Ti6Al4V surfaces. *Acta Biomaterialia*, 7(6), 2716-2725.
- Dalmáu, A., Pina, V. G., Devesa, F., Amigó, V., & Muñoz, A. I. (2013). Influence of fabrication process on electrochemical and surface properties of Ti–6Al–4V alloy for medical applications. *Electrochimica Acta*, 95, 102-111.
- Di, H., Qiaoxia, L., Yujie, Z., Jingxuan, L., yan, W., Yinchun, H., Xiaojie, L., Song, C., & Weiyi, C. (2020). Ag nanoparticles incorporated tannic acid/nanoapatite composite coating on Ti implant surfaces for enhancement of antibacterial and antioxidant properties. *Surface and Coatings Technology*, 399, p. 126169.
- Flores, C. Y., Diaz, C., Rubert, A., Benítez, G. A., Moreno, M. S., Mele, M. A. F. L. de, Salvarezza, R. C. Schilardi, P. L., & Vericat, C. (2010). Spontaneous adsorption of silver nanoparticles on Ti/TiO₂ surfaces. Antibacterial effect on *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Colloid And Interface Science*, 350(2), 402-408.
- Fuhr, L. T., Moura, A. B. D., Carone, C. L. P., Morisso, F. P., Scheffel, L. F., Kunst, S. R., Ferreira, J. Z., & Oliveira, C. T. (2020). Colored anodizing of titanium with pyrolytic solutions of black wattle. *Matéria (Rio de Janeiro)*, 25(2), 104-122.
- Gaur, D., Sharma, S., & Ghoshal, S. K. (2021). Modified structures, optical and photovoltaic characteristics of low energy ions beam irradiated TiO₂/TiO₂-Graphene thin films as electron transport layer in perovskite solar cell. *Materials Today: Proceedings*, 43(6), p. 3826-3832.
- Geetha, M., Singh, A. K., Asokamani, R., & Gogia, A. K. (2009). Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. *Progress in Materials Science*, 54(3), 397-425.
- Hsueh, Y. H., Cheng, C. Y., Chien, H. W., Huang, X. H., Huang, C. W., Wu, C. H., Chen, S. T., & Ou, S. F. (2020). Synergistic effects of collagen and silver on the deposition characteristics, antibacterial ability, and cytocompatibility of a collagen/silver coating on titanium. *Journal of Alloys and Compounds*, 830, p. 15-25.
- Indira, K., Mudali, U. K., Nishimura, T., & Rajendran, N. (2015). A Review on TiO₂ Nanotubes: influence of anodization parameters, formation mechanism, properties, corrosion behavior, and biomedical applications. *Journal of Bio-and Tribo-Corrosion*, 1(4), 127-134.
- Kokubo, T., & Takadama, H. (2006). How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 27, 2907–2915.
- Mazare, A., Anghel, A., Surdu-Bob, C., Totea, G., Demetrescu, I., & Ionita, D. (2018). Silver doped diamond-like carbon antibacterial and corrosion resistance coatings on titanium. *Thin Solid Films*, 657, 16-23.
- Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, 31(2), p. 346-356.
- Ono, S., Saito, M., & Asoh, H. (2004). Self-Ordering of Anodic Porous Alumina Induced by Local Current Concentration: burning. *Electrochemical and Solid-State Letters*, 7(7), 21-24.
- Pornnumpa, N., & Jariyaboon, M. (2019). Antibacterial and corrosion resistance properties of anodized AA6061 aluminum alloy. *Engineering Journal*, 23(4), p. 171-181.
- Rahman, Z. U., Haider, W., Pompa, L., & Deen, K. M. (2016). Electrochemical & osteoblast adhesion study of engineered TiO₂ nanotubular surfaces on titanium alloys. *Materials Science and Engineering: C*, 58, 160-168.
- Ramires, I., & Guastaldi, A. C. (2002). Estudo do biomaterial Ti-6Al-4V empregando-se técnicas eletroquímicas e XPS. *Química Nova*, 25(1), 10-14.
- Roberge, P. R. (1999). *Handbook of corrosion engineering*. McGraw-Hill Education, 1130 p.
- Saurabh, A., Meghana, C. M., Singh, P. K., & Verma, P. C. (2022). Titanium-based materials: synthesis, properties, and applications. *Materials Today: Proceedings*, 56 (1), 412-419.

Shan, D., Tao, B., Fang, C., Shao, H., Xie, L., Feng, J., & Yan, G. (2021). Anodization of titanium in reduced graphene oxide-citric acid electrolyte. *Results in Physics*, 24, 104060.

Van Hengel, I. A. J., Putra, N. E., Tierolf, M. W. A. M., Minneboo, M., Fluit, A. C., Fratila-Apachitei, L. E., Apachitei, I., & Zadpoor, A. A. (2020). Biofunctionalization of selective laser melted porous titanium using silver and zinc nanoparticles to prevent infections by antibiotic-resistant bacteria. *Acta Biomaterialia*, 107, 325-337.

Wan, J., Yan, X., Ding, J., Wang, M., & Hu, K. (2009). Self-organized highly ordered TiO₂ nanotubes in organic aqueous system. *Materials Characterization*, 60, p.1534–1540.

Wolyneć, S. (2013). *Técnicas Eletroquímicas em Corrosão*. Edusp, 176 p.

Xing, J., Xia, Z., Hu, J., Zhang, Y., & Zhong, L. (2013) Time dependence of growth and crystallization of anodic titanium oxide films in potentiostatic mode. *Corrosion Science*, 75, 212-219.

Young, L. (1961). *Anodic Oxid Films*. Londres: Academic Press, 337