UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

KÁTIA HELENA DOS SANTOS

**Influência do tratamento por plasma frio na formação de fosfatos de cálcio sobre a
superfície do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$**

Pirassununga

2020

KÁTIA HELENA DOS SANTOS

Influência do tratamento por plasma frio na formação de fosfatos de cálcio sobre a superfície do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$

Versão Corrigida

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciências.

Área de Concentração: Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Materiais Voltados à Agroindústria.

Orientadora: Profa. Dra. Eliria M.J. Agnolon Pallone

Coorientadora: Dra. Julieta Adriana Ferreira

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S237i Santos, Kátia Helena dos
Influência do tratamento por plasma frio na
formação de fosfatos de cálcio sobre a superfície do
nanocompósito de Al₂O₃/ZrO₂ / Kátia Helena dos
Santos ; orientadora Eliria Maria de Jesus Agnolon
Pallone ; coorientadora Julieta Adriana Ferreira. --
Pirassununga, 2020.
144 f.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em
Engenharia e Ciência de Materiais) -- Faculdade de
Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade
de São Paulo.

1. Al₂O₃/ZrO₂. 2. nanocompósito. 3. tratamento
superficial. 4. plasma frio. 5. recobrimento
biomimético. I. Pallone, Eliria Maria de Jesus
Agnolon, orient. II. Ferreira, Julieta Adriana,
coorient. III. Título.

DEDICATÓRIA

A **Deus** por estar sempre a minha frente, nos momentos de fraqueza e também nos momentos de conquista. A sua presença Senhor é quem me dá forças para continuar lutando!

A minha querida e amada **Nossa Senhora Aparecida**, que sempre que eu preciso está ao meu lado, hoje, eu estou aqui para mostrar o quão grata sou por tudo o que já fizestes por mim. Queria poder gritar para o mundo, para eles verem todas as coisas que a Senhora já me ajudou a construir. Mas queria mostrar, principalmente, que minha **Mãezinha** querida está sempre ao meu lado, cuidando e zelando por mim em todos os momentos!

Aos meus pais, **Reginaldo Alberto dos Santos** e **Maria Cristina de Oliveira** ao qual sou infinitamente grata pelo dom da vida. No entanto, vocês não se contentaram em me dar a vida e ainda me ensinaram a vivê-la e a olhá-la sempre com alegria e otimismo, me educando e me auxiliando com a intenção de me fazer seguir o melhor caminho. De vocês, **Reginaldo e Cristina**, recebi ainda valores que me transformaram em uma adulta responsável e consciente. Quantas vezes sacrificaram e ainda sacrificam os seus sonhos em favor dos meus. Meu cansaço foi sentido e compartilhado por vocês, num colo ou mesmo num silêncio. Saibam que o mérito de todas as minhas conquistas lhes pertencem. Eu lhes fui confiada por Deus para ser treinada para a vida. Desta forma o mínimo que posso dizer é que você **PAI** e você **MÃE** são o meu tudo!

Ao meu noivo **Flavio Henrique Mauricio**, que podíamos nem nos ter conhecido, estar em outros lugares completamente diferentes, com outras vidas distintas da que temos, mas quis o acaso que um dia nos juntássemos e sentíssemos um pelo outro o que nunca havíamos sentido. Como é maravilhoso saber que nossos caminhos um dia se cruzaram e que chegamos até aqui e que ainda teremos um longo caminho a percorrer. Agradeço a Deus por ter alguém como você, Flavio, fazendo parte dos meus dias. Você que sempre tem uma palavra de conforto e encorajamento nos momentos difíceis e me compreende como ninguém. Gosto de olhar para o futuro, traçar sonhos e planos sabendo que terei você ao meu lado. A vida tem e sempre terá muitos desafios, tribulações, mas de mãos dadas e com Deus sempre a nossa frente os enfrentaremos a todos. Aquilo que nos une sempre vencerá.

No mundo existem muitos padrinhos, mas nem todos cumprem seu papel tão importante e especial como deveriam. É preciso amar seu afilhado ou afilhada, tratar bem, cuidar, guiar e ensinar. Não basta existir, é preciso amar. Se no mundo todos os padrinhos cumprissem seu papel, como meus queridos e amados padrinhos **João Rodrigues da Silva** e **Sueli dos Santos Silva** cumprem, este mundo seria bem mais colorido!

AGRADECIMENTOS

Há pessoas que marcam a nossa vida, que despertam algo especial em nós, que abrem os nossos olhos de modo irreversível e transformam a nossa maneira de ver o mundo. E a Senhora **Profa. Dra. Eliria Maria de Jesus Agnolon Pallone**, foi uma dessas pessoas. Os seus ensinamentos foram muito além dos conteúdos de um *Currículo Lattes*. Com a Senhora tive aprendizados importantes que vou levar para a vida toda. A sua missão vai muito além da missão de uma PROFESSORA é uma verdadeira MESTRA. A Senhora soube despertar a minha admiração de um modo único, e se tornou uma inspiração para mim. Muito obrigada por toda a sua dedicação e paciência no Mestrado e Doutorado. Só tenho a agradecer a Deus por a Senhora ter feito parte da minha vida, e tenha certeza de que tudo o que aprendi, levarei por toda a vida. A minha Orientadora **Eliria Pallone** toda a minha gratidão, carinho, e **Muito Obrigada!**

Existem pessoas que nos marcam e nos fazem sentir gratidão por causa de algum presente valioso que nos ofereceram. E eu posso dizer que é esse o meu sentimento por tudo o que a Senhora me deu **Dra. Julieta Adriana Ferreira**, durante o tempo em que vivemos juntas a experiência do ensino e da aprendizagem. Foi um privilégio desfrutar da sua experiência e acredite que sairei mais rica do que quando entrei nesta longa jornada. Desejo muitas felicidades para sua vida e que nossos caminhos continuem se cruzando por muito tempo!

Pela nossa vida passam muitos Professores, cada um diferente do outro, mas para o bem ou para o mal, todos deixam sua marca. Hoje eu posso dizer que nenhum deixou marca tão positiva e permanente quanto a Senhora querida **Dra. Denise Osiro**. Por tudo o que aprendi com a Senhora, não apenas sobre a matéria, mas também sobre a vida e como ser uma pessoa melhor, **Muito Obrigada**. A Senhora é um exemplo de **Pessoa e Professora**, uma inspiração que sempre soube me motivar para aprender cada vez mais e ir além do horizonte!

Há pessoas que têm o poder de transformar as nossas vidas, e você é uma destas pessoas, **Prof. Dr. Clodomiro Alves Júnior**. Mais do que um PROFESSOR, o Senhor é um MESTRE, uma pessoa que me inspira a querer ser a melhor versão de mim mesma. Com o Senhor e a Dona Fátima sua esposa, aprendi muito mais do que teoria, aprendi valores humanos para serem colocados em prática. O Senhor é generoso, tem o dom de ensinar com simplicidade. Pelo pouco tempo que convivemos, o Senhor conseguiu despertar em mim, a curiosidade e a vontade de aprender sempre cada vez mais. O Senhor para mim é uma referência de ética e amor pela profissão. **Muito Obrigada** Professor **Clodomiro** por partilhar todo o seu conhecimento e sabedoria, obrigada por me ajudar a sonhar, e acreditar em minha capacidade como Pesquisadora!

Ao **Dr. Gelson José Andrade da Conceição**, o Senhor é o PROFESSOR mais incrível que algum dia eu conheci e por isso eu quero agradecê-lo. Mais do que aquela pessoa que transmite conhecimento na sala de aula, o Senhor cria empatia com seus alunos. O Senhor faz com que eles se interessem com que desejem a próxima aula. Será isso um dom ou somente sensibilidade para a sua profissão? O que é eu não sei, mas tenho plena confiança que seu percurso será sempre marcado pelo sucesso. Para mim, o Senhor é uma autêntica inspiração profissional. Nunca se esquece disso!

À **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, EMBRAPA, pela contribuição nos ensaios de caracterização superficial usando a técnica de espectroscopia de infravermelho médio por Transformada de Fourier, FTIR.

Ao **Dr. Luiz Alberto Colnago** da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA, pela presteza e contribuição nas pesquisas.

Ao **Laboratório de Plasma Aplicado na Agricultura, Saúde e Meio Ambiente**, LabPlasma, da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, pela presteza e contribuição no tratamento superficial por plasma frio realizado.

Ao **Doutorando Jussier de Oliveira Vitoriano**, do Laboratório de Plasma Aplicado na Agricultura, Saúde e Meio Ambiente, LabPlasma, da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, pela contribuição no tratamento superficial por plasma frio.

Ao **Laboratório de Caracterização Microestrutural de Materiais**, DEMA, da Universidade Federal de São Carlos, UFSCAR, pela colaboração nos ensaios de caracterização superficial usando a técnica de microscopia confocal.

Ao **Laboratório de Fenômenos de Superfície**, LFS, do Departamento de Engenharia Mecânica da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, POLI/USP, pela contribuição nos ensaios de caracterização usando a técnica de *micro scratch test*.

Ao **Dr. Newton Kiyoshi Fukumasu** do Laboratório de Fenômenos de Superfície, LFS, do Departamento de Engenharia Mecânica da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, POLI/USP, pela presteza e contribuição na pesquisa.

Ao **Laboratório do Departamento de Fitossanidade, do Núcleo de Estudo e Desenvolvimento em Tecnologia de Aplicação, NEDTA**, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, campus de Jaboticabal, UNESP, pela contribuição nos ensaios de caracterização superficial usando a técnica do método da gota séssil.

Ao **Professor Dr. Marcelo da Costa Ferreira**, do Laboratório do Departamento de Fitossanidade, do Núcleo de Estudo e Desenvolvimento em Tecnologia de Aplicação, NEDTA, pela presteza e contribuição na pesquisa.

A **Mestranda Gabriela Pelegrini** e a **Doutoranda Ana Ana Beatriz Dilena Spadoni**, do Laboratório do Departamento de Fitossanidade, do Núcleo de Estudo e Desenvolvimento em Tecnologia de Aplicação, NEDTA, pela contribuição na caracterização superficial usando o método da gota séssil.

Ao **Laboratório do Centro Multiusuário de Funcionalidade de Macromoléculas**, CEMFUM, da Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, campus Pirassununga, pela contribuição nos ensaios de caracterização superficial usando o método da gota séssil.

A **Dra. Mariangela de Fátima Silva** nunca pensei que pudesse vir a encontrar no Laboratório do Centro Multiusuário de Funcionalidade de Macromoléculas, CEMFUM, uma pessoa tão especial que se tornaria minha amiga. Você foi desde o início uma boa

companheira de laboratório, sempre preocupada em me ajudar no que fosse preciso, pois você tinha as suas análises para fazer e eu as minhas. Nos momentos mais difíceis você sempre esteve presente e eu jamais poderei esquecer tudo o que você fez por mim. **Muito obrigada minha** querida colega e amiga **Mariangela** pela amizade construída!

A **Professora Dra. Rosemary A. de Carvalho** do Laboratório do Centro Multiusuário de Funcionalidade de Macromoléculas, CEMFUM, da Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, campus Pirassununga, pela presteza e contribuição na pesquisa.

Ao **Laboratório de Tecnologia de Alimento**, LTA, da Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, campus Pirassununga, pela contribuição nos ensaios de caracterização microestrutural usando a técnica de microscopia eletrônica de varredura, MEV.

Ao **Laboratório de Cultivo de Células-tronco e Terapia Gênica**, GDTI, da Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, campus Pirassununga, pela contribuição nos ensaios biológicos *in vitro*.

Ao **Dr. Atanasio Serafim Vidane**, do Laboratório de Cultivo de Células-tronco e Terapia Gênica, GDTI, da Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, campus Pirassununga, pela presteza e contribuição na pesquisa.

Aos meus colegas do **Laboratório de Materiais e Modelagem Dinâmica**, MATMOD, da Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, campus Pirassununga, Thauane Sartori, Laís Alecrim, Christiane Ojaimi, Raphael Salem, Fabulo Ribeiro, Isabela Lavagnini, João Vitor Campos, Willian Rigoli, Ludmila Nascimento, Ana Gabriela Storion, Mariana Abreu, e Fabio Nunes, pelo companheirismo, apoio, incentivo e amizade, conquistados ao longo do trabalho.

As alunas de iniciação científica do Laboratório de Materiais e Modelagem Dinâmica, MATMOD, **Ingra Giovanna Soares Perez**, e **Rafaele dos Santos Mano**, pelo apoio, e carinho no desenvolvimento experimental deste trabalho.

As minhas companheiras de casa e amigas do coração, **Adriana Dominique da Costa Rocha de Sá**, **Jéssica Ciola Campos**, **Francisca Eveline dos Santos**, e **Alda Renata dos Santos Martinho Capelo**. A vida deu a cada um de nós diversos encantos. O encanto de aceitar as diferenças, o encanto de poder compartilhar, de amar e ser amada, de perdoar e ser perdoada, e principalmente, o encanto de sempre poder contar com amigas especiais como vocês, **Muito Obrigada!**

Por fim, porém não menos importante agradeço a **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil**, CAPES, Código Financeiro 001. E a **Agência Brasileira de Financiamento à Pesquisa**, FAPESP (Processos n.º 2014/11100-9, e 2015/07319-8), pelo apoio financeiro concedido durante o curso de Doutorado.

“Seja você quem for, seja qual for à posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta, muita força, muita determinação, e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.”

(Ayrton Senna)

RESUMO

SANTOS, K.H. **Influência do tratamento por plasma frio na formação de fosfatos de cálcio sobre a superfície do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$** , 2020. 144f. Tese, Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, SP, 2020.

Devido à natureza bioinerte do nanocompósito de alumina/zircônia ($\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$), recobrimentos superficiais com fosfatos de cálcio são utilizados para melhorar a sua interação com o tecido hospedeiro quando implantado. Visando melhorar a interface nanocompósito/fosfatos, tratamentos superficiais antes do recobrimento são realizados. Nesse sentido, o tratamento por plasma frio se destaca por promover modificações apenas nas propriedades químicas e físicas superficiais do nanocompósito, sem comprometer as suas características intrínsecas. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a influência do tratamento por plasma frio na formação de fosfatos de cálcio sobre a superfície do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$. Para isso, nanocompósitos de Al_2O_3 contendo 5 % em volume de inclusões nanométricas de ZrO_2 foram conformados por prensagem isostática e sinterizados à 1500 °C por 2 h. Em seguida, foram tratados superficialmente usando diferentes proporções de fluxo dos gases de nitrogênio (N_2) e oxigênio (O_2). O fluxo do gás de hidrogênio (H_2) foi mantido constante 50 %. Após essa etapa, os nanocompósitos tratados e não tratado superficialmente foram recobertos biomimeticamente com fosfatos de cálcio durante 14 dias, e então caracterizados usando diferentes técnicas. Os resultados obtidos mostraram que o prévio tratamento, independentemente da atmosfera gasosa, afetou quimicamente aos grupos funcionais superficiais da ZrO_2 e da Al_2O_3 nos nanocompósitos. Observou-se ainda que apesar das espécies ativas do gás N_2 ser predominante, as espécies ativas do gás O_2 também promoveram alterações nesses grupos funcionais superficiais. Ressalta-se que o tratamento favoreceu a formação de três fases de fosfatos de cálcio: α e β -fosfato tricálcico (α e β -TCP) e hidroxiapatita (HA). Além disso, o percentual dessas fases variou em função das diferentes proporções gasosas usadas no tratamento superficial por plasma frio. Dentre as condições estudadas, as superfícies tratadas com maior proporção do fluxo do gás N_2 apresentaram maior formação de fosfatos de cálcio. Os testes *in vitro* demonstraram que os nanocompósitos tratados e recobertos são biocompatíveis, se mostrando promissores para serem usados como substitutos ósseos.

Palavras-chave: $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$, nanocompósito, tratamento superficial, plasma frio, recobrimento biomimético.

ABSTRACT

SANTOS, K.H. **Influence of cold plasma treatment on the formation of calcium phosphates on the surface of the $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ nanocomposite**, 2020. 144f. Doctoral Thesis, Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, SP, 2020.

Due to the bioinert nature of the alumina/zirconia ($\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$) nanocomposite, surface coatings with calcium phosphates are used to improve their interaction with the host tissue when implanted. In order to improve the nanocomposite/phosphate interface, surface treatments before coating have been carried out. In this sense, cold plasma treatment stands out for promoting changes only in the surface chemical and physical properties of the nanocomposite, without compromising its intrinsic characteristics. Thus, the objective of this work was to evaluate the influence of cold plasma treatment on the formation of calcium phosphates on the surface of the $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ nanocomposite. For this, Al_2O_3 nanocomposites containing 5 % by volume of ZrO_2 nanometric inclusions were formed by isostatic pressing and sintered at 1500 °C for 2 h. Then, they were superficially treated using different flow rates of nitrogen (N_2) and oxygen (O_2) gases. The H_2 gas flow was maintained at 50 %. After this stage, the nanocomposites treated and untreated superficially were coated biomimetically with calcium phosphates for 14 days, and then characterized using different techniques. The results obtained showed that the previous treatment, regardless of the gaseous atmosphere, chemically affected the surface functional groups of ZrO_2 and Al_2O_3 in the nanocomposites. It was also observed that although the active species of N_2 gas are predominant, the active species of O_2 gas also promoted changes in these superficial functional groups. It should be noted that the treatment favored the formation of three phases of calcium phosphates: α -tricalcium phosphate (α -TCP), and β -tricalcium phosphate (β -TCP) and hydroxyapatite (HA). In addition, the percentage of these phases varied according to the different gas proportions used in the cold plasma surface treatment. Among the conditions studied, the surfaces treated with a greater proportion of the N_2 gas flow showed greater formation of calcium phosphates. In vitro tests have shown that the treated and coated nanocomposites are biocompatible, showing promise for use as bone substitutes.

Keywords: $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$, nanocomposite, surface treatment, cold plasma, biomimetic coating.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Biomateriais utilizados na antiguidade (a) dentes artificiais, (b) mão e braço de ferro, e (c) mão de madeira.	21
Figura 3.2 – Evolução dos biomateriais em função da ordem cronológica.	22
Figura 3.3 – Esquema da classificação dos materiais nanoestruturados de acordo com sua composição química e dimensionalidade dos seus cristalitos.	25
Figura 3.4 – Esquema de classificação dos nanocompósitos de acordo com a dispersão das partículas na matriz.	26
Figura 3.5 – Representação esquemática do processo de solubilização e mineralização óssea de um biomaterial de HA após ser implantado <i>in vivo</i>	30
Figura 3.6 – Aplicações dos fosfatos de cálcio no corpo humano.	31
Figura 3.7 – Estrutura cristalina da HA utilizando o modelo de esferas rígidas.	32
Figura 3.8 – Estrutura cristalina do fosfato tricálcico (a) para a fase α -TCP projetada ao longo do eixo a, b e (b) para a fase β -TCP projetada ao longo do eixo b, c.	34
Figura 3.9 – Representação esquemática do processo de formação do plasma em uma câmara de reação.	39
Figura 3.10 – Representação esquemática das interações do plasma com a superfície.	42
Figura 4.1 (Continua) – Diagrama da metodologia utilizada ao decorrer do trabalho.	46
Figura 4.1(Continuação) – Diagrama da metodologia utilizada ao decorrer do trabalho.	47
Figura 4.2 – Representação esquemática do equipamento utilizado no tratamento superficial por plasma frio dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e Al_2O_3/ZrO_2	50
Figura 5.1 – Difractogramas obtidos por DRX dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e Al_2O_3/ZrO_2	64
Figura 5.2 – Micrografia obtida por MEV do corpo de prova de Al_2O_3/ZrO_2	65
Figura 5.3 – Espectros de OES dos corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 tratados superficialmente por plasma frio usando (a) pulso I e (b) pulso II.	66
Figura 5.4 – Curvas deconvoluídas dos espectros de OES dos corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 tratados superficialmente por plasma frio usando a composição gasosa 4N5H1O e pulso II.	66
Figura 5.5 – Áreas absolutas totais sob as curvas deconvoluídas dos espectros de OES das espécies ativas do plasma formadas nas superfícies dos corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 tratados superficialmente por plasma frio usando (a) pulso I e (b) pulso II.	69
Figura 5.6 – Espectros de absorbância de FTIR dos corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 tratados superficialmente por plasma frio usando (a) pulso I e (b) pulso II.	72
Figura 5.7 – Curvas deconvoluídas dos espectros de FTIR dos corpos de prova de Al_2O_3 e ZrO_2 tratados superficialmente por plasma frio com a composição gasosa 4N5H1O usando (a) pulso I e (b) pulso II.	73
Figura 5.8 – Área absoluta total dos grupos funcionais da Al_2O_3 , ZrO_2 e Me_xO_y (obtidas por FTIR) dos corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 tratados superficialmente por plasma frio usando (a) pulso I e (b) pulso II.	76

Figura 5.9 – Espectros de XPS na região fotoeletrônica Al2p, N1s, O1s, e Zr3d dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso II.	79
Figura 5.10 – Valores de rugosidade média superficial dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando pulso II....	83
Figura 5.11 – Ângulo de contato característico do método da gota séssil de uma (a) superfície hidrofóbica e de uma (b) superfície hidrofílica.	84
Figura 5.12 – Valores dos ângulos de contato medidos (a) com água e (b) com solução de SBF 5,0x nos intervalos entre 1 e 100 s das superfícies dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso II.	85
Figura 5.13 – Dendrograma obtido a partir de diferentes variáveis obtidos por meio do algoritmo de ligação completa e medida da distância do coeficiente de correlação absoluto.....	90
Figura 5.14 – Espectros de absorvância de FTIR dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio e recobertos biomimeticamente.	92
Figura 5.15 – Curvas deconvoluídas dos espectros de FTIR do corpo de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ tratado superficialmente por plasma frio com a composição gasosa 3N5H ₂ O e recoberto biomimeticamente.	93
Figura 5.16 – Difractogramas de DRX dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio e recobertos biomimeticamente.	99
Figura 5.17 – Curvas deconvoluídas dos espectros de DRX do corpo de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ tratado superficialmente por plasma frio com a composição gasosa 3N5H ₂ O e recoberto biomimeticamente.	99
Figura 5.18 – Áreas absolutas totais dos fosfatos de cálcio formados (obtidas pelos espectros de FTIR) e parcial de cada fase (obtidas pelas áreas percentuais dos difratogramas de DRX) dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio e recobertos biomimeticamente.	102
Figura 5.19 – Dendrograma obtido a partir de quatro variáveis: quantidade de fosfatos de cálcio formados, quantidade das fases α-TCP, β-TCP, e HA obtidos por meio do algoritmo de ligação completa e medida da distância do coeficiente de correlação absoluto.....	104
Figura 5.20 – Micrografias obtidas por MEV da superfície dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio e recobertos biomimeticamente.	105
Figura 5.21 – Valores de carga crítica (L_{cn}) dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio e recobertos biomimeticamente. .	107
Figura 5.22 – Micrografia obtida por MEV da superfície dos corpos de prova tratados superficialmente por plasma frio com as composições gasosas 4N5H ₁ O e 5N5H e recobertos biomimeticamente.....	108
Figura 5.23 – Dendrograma obtido a partir de cinco variáveis: quantidade de fosfatos de cálcio formados, e quantidade das fases α-TCP, β-TCP, HA, e L_{cn} obtidos por meio do algoritmo de ligação completa e medida da distância do coeficiente de correlação absoluto.....	110

Figura 5.24 – Percentual de viabilidade celular das CTMTACs após 72h de cultivo dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio recobertos e não recobertos.	111
Figura 5.25 – Dendrograma obtido a partir de diferentes variáveis obtidos por meio do algoritmo de ligação completa e medida da distância do coeficiente de correlação absoluto.....	114

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Tipos de fosfatos de cálcio e suas razões Ca/P.....	29
Tabela 3.2 – Reações de colisão entre elétrons, espécies neutras, átomos, e moléculas presentes no plasma.	41
Tabela 4.1 – Fluxos dos gases de N ₂ , H ₂ e O ₂ , tensão e corrente elétrica utilizados nos tratamento superficial por plasma frio dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ , ZrO ₂ e Al ₂ O ₃ /ZrO ₂	51
Tabela 4.2 – Concentração (g/L) dos reagentes usados no preparo da solução de SBF 5,0x.	52
Tabela 4.3 – Caracterizações dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ , ZrO ₂ e Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ antes e após o recobrimento biomimético.	53
Tabela 4.4 – Parâmetros de tensão superficial (γ_l), componentes polares (γ_l^p) e componentes dispersivos (γ_l^d) dos líquidos utilizados para determinar a energia superficial dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂	60
Tabela 5.1 – Atribuições das bandas de absorção (cm ⁻¹) observadas nos espectros de FTIR dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso I e pulso II.....	74
Tabela 5.2 – Energia de ligação (EL) e percentual atômica (%) na região dos fotoelétrons do N _{1s} , O _{1s} , Zr _{3d} , e Al _{2p} dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso II.....	81
Tabela 5.3 – Valores de energia superficial (ES) medidos com solução de SBF 5,0x e glicerina no tempo de 100 s das superfícies dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso II.	88
Tabela 5.4 (Continua) – Área absoluta sob as curvas deconvoluídas dos espectros de FTIR das superfícies recobertas dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ na região dos fosfatos de cálcio e suas atribuições.	94
Tabela 5.4 (Conclusão) – Área absoluta sob as curvas deconvoluídas dos espectros de FTIR das superfícies recobertas dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ na região dos fosfatos de cálcio e suas atribuições.	95
Tabela 5.5 – Área percentual (%) sob as curvas deconvoluídas dos difratogramas de DRX das superfícies recobertas dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ /ZrO ₂ na região dos fosfatos de cálcio e suas atribuições.....	98

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. OBJETIVOS	19
2.1. Objetivo Geral	19
2.2. Objetivos Específicos	19
3. REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1. Biomateriais.....	20
3.2. Classificação dos biomateriais quanto à resposta biológica.....	23
3.3. Materiais nanoestruturados e nanocompósitos de matriz cerâmica.....	24
3.4. Fosfatos de cálcio	28
3.4.1. Hidroxiapatita	32
3.4.2. Fosfato tricálcico	33
3.4.3. Recobrimento biomimético	36
3.5. Tratamentos superficiais de biomateriais	38
3.5.1. Tratamento por plasma	38
3.5.2. Relação plasma e mistura de gases na modificação de superfícies	44
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
4.1. Preparação dos pós de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$	48
4.2. Conformação e sinterização dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$	48
4.3. Tratamento superficial por plasma frio dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$	49
4.4. Recobrimento biomimético dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$	51
4.5. Caracterizações dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$	53
4.5.1. Densidade a verde (D.V)	53
4.5.2. Densidade aparente (D.A)	54
4.5.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	55
4.5.4. Difratomia de raios-X (DRX).....	55
4.5.5. Espectroscopia de emissão óptica (OES)	56
4.5.6. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	56
4.5.7. Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS).....	57
4.5.8. Microscopia confocal	58
4.5.9. Ângulo de contato.....	58
4.5.10. Energia superficial.....	59
4.6. Adesão do recobrimento biomimético superficial.....	60

4.7. Ensaios biológicos	60
4.8. Análises estatísticas	61
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	63
5.1. Caracterização dos corpos de prova antes do tratamento superficial por plasma frio	63
5.1.1. Densidade a verde (D.V) e aparente (D.A)	63
5.1.2. Difratomia de raios-X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	63
5.2. Caracterização dos corpos de prova após o tratamento superficial por plasma frio	65
5.2.1. Espectroscopia de emissão ótica (OES)	65
5.2.2. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	71
5.2.3. Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS).....	78
5.2.4. Microscopia confocal	82
5.2.5. Ângulo de contato.....	84
5.2.6. Energia superficial.....	87
5.2.7. Análises estatísticas	89
5.3. Caracterização dos corpos de prova após o recobrimento biomimético	90
5.3.1. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	91
5.3.2. Difratomia de raios-X (DRX).....	98
5.3.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	104
5.4. Adesão do recobrimento biomimético na superfície dos corpos de prova.....	106
5.5. Ensaios biológicos dos corpos de prova	110
5.6. Considerações Gerais	112
6. CONCLUSÕES	117
7. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	118
ANEXO	142
ANEXO A – Curvas deconvoluídas dos espectros de FTIR dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente por plasma frio usando diferentes composições gasosas e recobertos biomimeticamente.....	143
ANEXO B – Curvas deconvoluídas dos difratogramas de DRX dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente por plasma frio e recobertos biomimeticamente	144

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, foram realizados inúmeros avanços no desenvolvimento de novos materiais sintéticos para serem utilizados como substituintes ósseos em implantes e enxertos, em cirurgias ortopédicas, entre outros (RATNER et al., 2013; KUCKO et al., 2017).

Dentre esses materiais sintéticos, as biocerâmicas à base de fosfatos de cálcio vêm sendo amplamente utilizadas para a reposição e regeneração do tecido ósseo (ELIAZ, METOKI, 2017). Essas biocerâmicas apresentam algumas características importantes, como por exemplo, similaridade com a fase mineral do tecido ósseo, biocompatibilidade e habilidade de se ligar ao tecido hospedeiro (KHASKHOUSI et al., 2020). No entanto, um aspecto desfavorável das biocerâmicas de fosfatos de cálcio é sua baixa resistência mecânica e tenacidade à fratura (VALLET-REGÍ, 2013; BONAN et al., 2014; DOROZHUKIN, 2015).

Nesse sentido, o nanocompósito de alumina/zircônia ($\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$) tem se destacado em razão de suas interessantes propriedades mecânicas e de degradação hidrotermal (BAUER et al., 2013; HADJICHARALAMBOUS et al., 2015; OJAIMI et al., 2018). Além disso, tanto a Al_2O_3 quanto a ZrO_2 apresentam maior estabilidade química superficial e maior biocompatibilidade quando comparadas a outros materiais empregados em implantes ósseos (LIN et al., 2015; SPIES et al., 2014; PALMERO et al., 2015; OSMAN et al., 2015; HAGIWARA et al., 2016; KHASKHOUSI et al., 2020). Por esta razão, o nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ é bastante atrativo na aplicação como biomaterial em áreas odontológicas e ortopédicas (BAUER et al., 2013; LIN et al., 2015; HADJICHARALAMBOUS et al., 2015).

No entanto, devido à natureza bioinerte do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ (SANTOS et al., 2017), recobrimentos superficiais com fosfatos de cálcio têm sido utilizados para tornar a sua superfície bioativa (LIN et al., 2015; SILVA et al., 2018; SILVA et al., 2019). Dentre as técnicas capazes de promover a formação de fosfatos de cálcio, encontra-se o método biomimético desenvolvido por Abe et al. (1990). Esse método é caracterizado pela imersão do substrato em uma solução de concentração iônica e pH semelhante ao fluido corpóreo, denominada *Synthetic Body Fluid* (SBF). Uma das grandes vantagens desse método é a formação de um recobrimento homogêneo sobre a superfície de qualquer tipo de substrato, como por exemplo, metálicos, poliméricos, cerâmicos, entre outros (ABE, KOKUBO, YAMAMURO, 1990). Visando melhorar a nanocompósito/fosfatos de cálcio, diferentes tratamentos superficiais têm sido realizados antes do recobrimento. Dentre eles, encontram-se os tratamentos químicos com soluções ácidas e básicas (UCHIDA et al. 2002; FAGA et al., 2012; SANTOS et al., 2017; SARTORI et al., 2018) e o tratamento por plasma frio (SANTOS et al., 2018).

O tratamento por plasma frio é atrativo por sua eficiência energética, por reduzir o tempo de tratamento quando comparado aos tratamentos químicos, e por melhorar a deposição de outros materiais, como por exemplo, fosfatos de cálcio (CHOI et al., 2013; SILVA et al., 2013; SANTOS et al., 2018). Além disso, este tratamento promove alterações apenas na superfície do substrato, mantendo suas propriedades intrínsecas inalteradas (COELHO et al., 2012; KAKLAMANI et al., 2013; NISHIME et al., 2017).

Durante o tratamento por plasma frio, os íons presentes na atmosfera do plasma são acelerados para a superfície do substrato, bombardeando-o e produzindo interações plasma/superfície, responsáveis pelas modificações superficiais (ALVES JÚNIOR et al., 1999; GOLUBOVSKII et al., 2002). Essas modificações dependem da superfície dos materiais tratados. Um exemplo de interação que pode ocorrer, dependendo do material, é a formação de grupos funcionais hidrofílicos (ALVES JÚNIOR et al., 2005; MOURA et al., 2016).

Nesse contexto, diferentes autores relatam que o tratamento por plasma se mostrou promissor para melhorar propriedades superficiais, tais como, energia e caráter hidrofílico, em materiais cerâmicos de ZrO_2 , (SILVA et al. 2011; VALVERDE et al. 2013; SHON et al. 2014; LOPES et al. 2014; WU et al. 2015; ITO et al. 2016; TABARI et al. 2017). Contudo, até o momento, não há estudos detalhados sobre as modificações superficiais por plasma na superfície do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$.

Dessa forma, este trabalho buscou compreender como a variação de parâmetros, como, tempo de duração do pulso aplicado, e composição gasosa, pode promover a interação entre as espécies ativas formadas no plasma e os grupos funcionais na superfície do nanocompósito. E a partir dessa interação, avaliar quais as propriedades superficiais que podem ser mais influenciadas pelo tratamento por plasma frio. E, além disso, como a interação plasma/nanocompósito pode contribuir para melhorar a formação de fosfatos sobre essa superfície.

Assim, os aspectos inovadores do presente trabalho estão relacionados com a modificação superficial do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/5\% \text{ vol. ZrO}_2$ usando o tratamento por plasma frio com diferentes proporções de fluxos de gases de nitrogênio (N_2) e oxigênio (O_2), e 50 % de hidrogênio (H_2).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a influência do tratamento por plasma frio, usando diferentes proporções de fluxo de gases de N_2 e O_2 , na superfície do nanocompósito de $Al_2O_3/5\%vol. ZrO_2$ e na formação de fosfatos de cálcio, visando a aplicação desse material como implante ósseo.

2.2. Objetivos Específicos

- ❖ Determinar os parâmetros usados no tratamento por plasma frio que favorecem a interação das espécies ativas formadas com os grupos funcionais presentes na superfície do nanocompósito de $Al_2O_3/5\%vol. ZrO_2$;
- ❖ Correlacionar a influência do tratamento por plasma frio com a formação de fosfatos de cálcio na superfície do nanocompósito de $Al_2O_3/5\%vol. ZrO_2$;
- ❖ Avaliar a citotoxicidade do nanocompósito de $Al_2O_3/5\%vol. ZrO_2$ tratado por plasma frio e recoberto com fosfatos de cálcio, usando linhagem de células-tronco mesenquimais do tecido adiposo de coelho (CTMTACs).

3. REVISÃO DE LITERATURA

Para melhor entendimento do tema explorado nesse trabalho, a revisão de literatura foi dividida em três tópicos principais: conceito de biomateriais, fosfatos de cálcio e tratamento superficial de biomateriais.

3.1. Biomateriais

Segundo a Conferência de Consenso em Biomateriais para aplicações clínicas que ocorreu no ano de 1982, um biomaterial pode ser definido como (WILLIAMS, 1987):

“Toda substância (exceto drogas) ou combinação de substâncias de origem sintética ou natural, que durante um período de tempo indeterminado é empregado como um todo ou parte integrante de um sistema para tratamento, ampliação ou substituição de quaisquer tecidos, órgãos ou funções corporais”.

Levando-se em consideração o desenvolvimento de novas substâncias e tecnologias médicas, Willians (2009) sugere que um biomaterial pode ser definido como (WILLIAMS, 2009):

“Toda substância projetada para assumir uma forma que, sozinha ou como parte de um sistema complexo, é usada para direcionar, a partir do monitoramento de interações com componentes biológicos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou de diagnóstico em medicina humana ou veterinária”.

De acordo com Lobo (2011), um biomaterial pode ser classificado ainda como todo material empregado na medicina humana e veterinária, odontologia e farmacologia, além daqueles que entram na forma de implantes em contato direto com o tecido do corpo (LOBO, 2011).

Além disso, um material pode ser classificado como biomaterial quando apresenta duas propriedades fundamentais: biocompatibilidade e biofuncionalidade. A biocompatibilidade está relacionada à capacidade do material desempenhar sua função com uma resposta apropriada do tecido hospedeiro (GARG et al., 2012; CATAURO et al., 2014; RIBEIRO et al., 2014; ELIAZ, METOKI, 2017). Enquanto a biofuncionalidade está associada ao conjunto

de características mecânicas, físico-químicas e biológicas que capacitam o material a cumprir a função ao qual foi projetado (BASU et al., 2009; COELHO et al., 2012; RICCI, 2017).

Nesse contexto, os biomateriais devem ser isentos de produzir qualquer resposta biológica adversa local e/ou sistêmica (RODRIGUES et al., 2012; SOUZA, 2013). Além disso, não devem apresentar toxicidade, carcinogenicidade, mutagenicidade entre o biomaterial e o tecido hospedeiro (MONDAL et al., 2013).

A utilização de biomateriais não é recente, sua aplicação data antes das civilizações antigas. Acredita-se que a civilização Egípcia seja um dos berços da utilização de materiais destinados a sistemas biológicos (RATNER et al., 2013). Chineses e indianos utilizavam ceras, colas e tecidos na reconstrução de partes perdidas e/ou defeituosas do corpo (RATNER et al., 2004; SANTOS, 2016). Há registros ainda do uso de suturas de linho e ouro no Antigo Egito, e suturas de intestino de gato na Europa, durante a Idade Média. Próteses feitas de madeira também foram encontradas no Antigo Egito e na Europa, na Idade Média (RATNER et al., 2013; PIRES et al., 2015). A Figura 3.1 apresenta alguns exemplos de biomateriais que foram utilizados na antiguidade.

Figura 3.1 – Biomateriais utilizados na antiguidade (a) dentes artificiais, (b) mão e braço de ferro, e (c) mão de madeira.

Fonte: ALEXANDRE, 2014.

Nas últimas quatro décadas, diferentes materiais foram desenvolvidos e utilizados com sucesso como substitutos ósseos, como por exemplo, metais e suas ligas metálicas, cerâmicas, polímeros, entre outros (BHAT, KUMAR, 2013). Devido às suas propriedades mecânicas, na maioria dos casos, metais e cerâmicas são usados em aplicações de tecidos duros, enquanto os polímeros em aplicações de tecidos moles (HOLZAPFEL et al., 2013). A evolução dos biomateriais pode ser dividida em quatro gerações principais em função da ordem cronológica, conforme ilustrado esquematicamente na Figura 3.2 (MURUGAN, RAMAKRISHNA, 2005).

Figura 3.2 – Evolução dos biomateriais em função da ordem cronológica.

Fonte: Adaptado de MURUGAN, RAMAKRISHNA, 2005.

A primeira geração de biomateriais, entre as décadas de 1960 e 1970, foi especialmente projetada para ser utilizada no interior do corpo humano, e se tornaram a base para os estudos na área de biomateriais. O objetivo dos biomateriais desenvolvidos inicialmente era obter uma combinação adequada das propriedades físicas para corresponder às do tecido substituído, com uma resposta tóxica mínima no hospedeiro (HENCH, 1980; HENCH, THOMPSON, 2010). A partir desse momento, o conceito de materiais de natureza bioinerte foi então estabelecido no meio científico. Na década de 1980, ocorre uma mudança na ênfase de se atingir exclusivamente a resposta bioinerte do tecido. Com isso, uma segunda geração de biomateriais, a dos de natureza bioativa, foi desenvolvida. Esses materiais tinham como principal característica promover ações e reações controladas no ambiente fisiológico (HENCH, WILSON 1984; HENCH, THOMPSON, 2010). A terceira geração de biomateriais, final da década de 1990, foi projetada para estimular uma resposta celular específica, como por exemplo, a regeneração de tecidos vivos. Além do desenvolvimento de *scaffolds* que possuam características similares em nano escala para imitar a matriz extracelular nativa do hospedeiro (HENCH, POLAK, 2002; HENCH, THOMPSON, 2010). A década atual viu surgir à quarta geração de biomateriais chamados inteligentes ou biomiméticos que buscam reproduzir formas e/ou funções dos tecidos biológicos (HOLZAPFEL et al., 2013). Os biomateriais dessa geração são projetados para atingir dois objetivos principais: (1) manipular sinais bioelétricos celulares para regeneração de tecidos; e (2) monitorar respostas celulares e permitir a comunicação com tecidos hospedeiros usando sinais bioelétricos (NING, ZHOU, TAN, 2016).

3.2. Classificação dos biomateriais quanto à resposta biológica

Existe uma busca por materiais que tenham resposta ao meio inserido e se comportem de maneira semelhante ou bem próxima ao tecido hospedeiro. Nesse sentido, de acordo com o seu comportamento em meio biológico, os biomateriais são classificados como: bioinertes, biotoleráveis, bioativos, e bioreabsorvíveis (HENCH, WILSON, 1993; SINHORETI et al., 2013):

Os materiais bioinertes são caracterizados por exibir o desenvolvimento de uma camada de tecido fibroso não aderente na interface tecido-implante. Além disso, esses biomateriais não provocam qualquer tipo de reação de corpo estranho no organismo (HENCH, THOMPSON, 2010). Como exemplo de materiais bioinertes, tem-se o óxido de alumínio (Al_2O_3), óxido de zircônio (ZrO_2), óxido de titânio (TiO_2), titânio (Ti) e suas ligas metálicas (Ti-6Al-4V) (HENCH, WILSON, 1993; CASTNER, RATNER, 2002; RATNER et al., 2013). Porém, é importante ressaltar que nenhum biomaterial implantado em tecido vivo é considerado totalmente inerte, pois esses podem provocar alguma resposta ao organismo (RATNER et al., 2004; HENCH, THOMPSON, 2010).

Por outro lado, os materiais biotoleráveis são caracterizados pela presença de tecido conjuntivo fibroso entre o implante e o tecido ósseo. Esse tecido fibroso diminui a tolerabilidade dos tecidos ao material. Como exemplo de materiais biotoleráveis tem-se praticamente todos os polímeros sintéticos e a grande maioria dos metais, como, o Ti e ligas metálicas (aço inoxidável) (HENCH, WILSON, 1993; PINTO, SILVA, 2015).

Já os materiais bioativos são caracterizados por promover ligações de natureza química entre o implante e o tecido ósseo, sem a presença do encapsulamento fibroso. Devido a similaridade química entre esses materiais e a parte mineral óssea, os tecidos se ligam a eles, permitindo a osteocondução por meio de recobrimento por células ósseas (HENCH, WILSON, 1993; VALLET-REGÍ, 2010; SANTOS, 2016). Como exemplo de materiais bioativos tem-se a hidroxiapatita (HA), os vidros bioativos, e as vitrocerâmicas (HENCH, WILSON, 1993; HOLZAPFEL et al., 2013).

Por fim, os materiais bioreabsorvíveis são caracterizados por participarem do processo metabólico do organismo e apresentam a característica de sofrerem degradação por ações químicas ou biológicas, sendo lentamente substituídos por células em crescimento. Assim, uma substituição progressiva destes materiais ocorre enquanto um novo tecido é constituído no local implantado, conceito remetido a uma regeneração tecidual. Como exemplo de materiais bioreabsorvíveis tem-se os fosfatos tricálcicos (α -TCP e β -TCP), ácidos poliláticos, e poliglicólicos (HENCH, WILSON, 1993; PIRES et al., 2015).

Destaca-se ainda que a fronteira entre os materiais bioativos e bioreabsorvíveis é tênue. Alguns materiais podem tanto se comportar como bioativos ou serem totalmente reabsorvidos pelo tecido hospedeiro, como por exemplo, os fosfatos de cálcio (VALLET-REGÍ, 2013).

Apesar disso, um aspecto desfavorável dos biomateriais à base de fosfatos de cálcio é a sua baixa resistência mecânica e tenacidade à fratura (DOROZHUKIN, 2015). Assim, para que esses biomateriais possam ser utilizados, o desenvolvimento de materiais que permitam melhorar as suas propriedades mecânicas se faz necessário (SANTOS, 2016).

Com isso, diversos pesquisadores tem demonstrado significativo interesse nos materiais cerâmicos nanoestruturados. Esses sistemas contêm pelo menos uma característica microestrutural com dimensões nanométricas responsável por características peculiares em suas propriedades. Dentre esses materiais, se encontram os nanocompósitos de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ (SARTORI et al., 2018; SILVA et al., 2018; SILVA et al., 2019; SANTOS et al., 2017; SANTOS et al., 2018).

3.3. Materiais nanoestruturados e nanocompósitos de matriz cerâmica

Os materiais nanoestruturados podem ser entendidos como materiais que apresentam microestrutura ultrafina e possuem um tamanho médio de grão ou de fase na ordem nanométrica (SALEM, 2017). Dessa forma, esses materiais podem apresentar uma faixa de tamanho na ordem de 100 nm (SIEGEL, 1993; GREER, 1998; DIVINSKIS et al., 2009; OJAIMI, 2014). Devido ao tamanho reduzido, os materiais nanoestruturados exibem propriedades mecânicas, elétricas, ópticas, e magnéticas diferenciadas quando comparados aos materiais que possuem tamanho de grão convencional (SALEM, 2017).

Segundo Gleiter (1995), os materiais nanoestruturados podem ser classificados em doze grupos. Essa classificação é realizada de acordo com a sua composição química, forma, e elementos constituintes. A Figura 3.3 apresenta um esquema de classificação dos materiais nanoestruturados em função da sua composição química e dimensionalidade de seus cristalitos (GLEITER, 1995).

Figura 3.3 – Esquema da classificação dos materiais nanoestruturados de acordo com sua composição química e dimensionalidade dos seus cristalitos.

Fonte: GLEITER, 1995.

Além disso, de acordo com a sua forma, os materiais nanoestruturados podem ser divididos em três categorias (GLEITER, 1995): (a) cristalitos em camadas planas, (b) cristalitos em cilindros com espessura de camada ou diâmetro do cilindro da ordem de poucos nanômetros, e (c) materiais nanoestruturados compostos de cristalitos equiaxiais.

Dependendo da composição química dos cristalitos, essas três categorias podem ainda ser agrupadas em quatro famílias quando: (1) os cristalitos e as regiões interfaciais têm a mesma composição química, (2) os cristalitos apresentam diferentes composições químicas representadas por diferentes hachuras, (3) é característica da variação composicional que ocorre primeiramente entre os cristalitos e regiões interfaciais, e (4) os cristalitos nanométricos estão dispersos em uma matriz de composição química diferente (GLEITER, 1995).

Conceitualmente, o termo compósito refere-se a qualquer estrutura bifásica ou polifásica. As propriedades cerâmicas resultantes e os requisitos de processo dependem das quantidades relativas, formas, distribuições, e preparações de dois ou mais constituintes (CHIANG, BIRNIE III, KINGERY, 1997; SALEM, 2017). Nesse sentido, o termo

nanocompósito pode ser entendido como um material formado pela combinação de duas ou mais substâncias que possuem dimensões nanométricas ($< 100 \text{ nm}$) (NIIHARA, NAKAHIRA, 1990). Além disso, os nanocompósitos podem ser classificados de acordo com a dispersão das partículas na matriz em: intragranular, intergranular, intra/intergranular, e nano/nano (NIIHARA, 1991). A Figura 3.4 apresenta um esquema de classificação dos nanocompósitos em função da dispersão das partículas na matriz.

Figura 3.4 – Esquema de classificação dos nanocompósitos de acordo com a dispersão das partículas na matriz.

Fonte: NIIHARA, 1991.

Os nanocompósitos intragranulares são materiais que apresentam partículas dispersas dentro do grão da matriz. Já os intergranulares apresentam partículas dispersas no contorno de grão da matriz. Enquanto os intra/intergranulares apresentam partículas dispersas tanto nos contornos de grãos da matriz, como dentro dos grãos da matriz. Por fim, nano/nano são materiais que apresentam as partículas dispersas e a matriz, ambas em escala nanométrica (NIIHARA, 1991).

O interesse por materiais nanoestruturados surgiu após o trabalho pioneiro de Niihara et al. (1989). Segundo esses autores, a adição de 5 % em volume de carbetto de silício (SiC) em matriz de Al_2O_3 aumentou em torno de 300 % a resistência a flexão e 40 % a tenacidade à fratura quando comparado com a Al_2O_3 sem inclusões (NIIHARA, 1989). Apesar disso, trabalhos posteriores não conseguiram reproduzir os resultados obtidos por eles. Porém, a sociedade científica aborda que é de comum consenso que a inclusão de partículas com tamanho nanométrico em matriz micrométrica influencia positivamente as propriedades mecânicas e tribológicas de materiais cerâmicos (STEARNS et al., 1992; ZHAO et al., 1993).

Nesse sentido, trabalhos posteriores usando matriz de Al_2O_3 com inclusões nanométricas de ZrO_2 mostraram melhorias na resistência mecânica do material, quando comparadas com a Al_2O_3 sem inclusões (GUIMARÃES et al., 2009; PIERRI, 2011; CHINELATTO et al., 2012; OJAIMI, 2014).

Liu et al. (1998) investigaram o efeito de inclusões nanométricas de ZrO_2 (5 % em volume) em matriz de Al_2O_3 . Os resultados mostraram um ganho nas propriedades mecânicas do nanocompósito, acompanhados da diminuição na sinterabilidade do sistema (LIU et al., 1998).

Pierrri et al. (2005) investigaram inclusões nanométricas de ZrO_2 em matriz de Al_2O_3 . Os resultados mostraram que a Al_2O_3 com inclusões nanométricas de ZrO_2 apresentou resistência mecânica superior quando comparado à Al_2O_3 sem inclusões nanométricas, possibilitando seu uso em próteses livres de metal (PIERRI et al., 2005).

Guimarães et al. (2009) também verificaram que o uso de inclusões nanométricas de ZrO_2 na matriz de Al_2O_3 apresentou melhorias na resistência mecânica do nanocompósito quando comparado com a Al_2O_3 sem inclusões (GUIMARÃES et al., 2009).

Silva (2011) estudou nanocompósitos de Al_2O_3 com variações de percentuais de inclusões nanométricas de ZrO_2 (5, 10, 15, 30, e 50 %), visando melhorias nas propriedades mecânicas e de desgaste do biomaterial. Os resultados indicaram que os nanocompósitos apresentaram um aumento progressivo (com aumento das inclusões) de tenacidade à fratura quando comparados à Al_2O_3 sem inclusões. Por sua vez, para os testes de compressão diametral, o nanocompósito com 30 % de inclusões de ZrO_2 não apresentou resultados comparáveis as demais condições dos nanocompósitos e de Al_2O_3 pura. Esse fato foi associado ao aumento dos grãos de ZrO_2 na matriz, o qual tende a diminuir as propriedades mecânicas do material (SILVA, 2011).

Dessa forma, o desenvolvimento de biomateriais utilizando a combinação de Al_2O_3 e ZrO_2 é uma alternativa interessante na confecção de dispositivos médicos com propriedades mecânicas otimizadas e desgaste minimizado (AFZAL et al., 2012, SILVA, 2017).

Além disso, o interesse na utilização de biomateriais nanoestruturados na medicina surgiu a partir da evolução nas técnicas de processamento e caracterização das propriedades químicas e biológicas (YANG, ZHANG, WEBSTER, 2011; CALASANS-MAIA et al., 2017).

3.4. Fosfatos de cálcio

Fosfato de cálcio é o nome dado ao grupo de minerais formados por íons de cálcio (Ca^{2+}), junto com íons de ortofosfatos (PO_4^{3-}), metafosfatos ou pirofosfatos ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$), hidrônio (H^+), ou hidroxila (OH^-) (ELIAZ, METOKI, 2017). De acordo com Vallet-Regí e González-Calbet (2004), a similaridade química dos fosfatos de cálcio e a fase mineral óssea permite que esses materiais participem efetivamente no equilíbrio iônico com o fluido biológico, favorecendo a remodelação óssea no sítio do implante (VALLET-REGÍ, GONZÁLEZ-CALBET 2004).

Os fosfatos de cálcio podem ser obtidos por precipitação a partir de soluções que contenham íons de Ca^{2+} e PO_4^{3-} (PIRES et al., 2015). Por exemplo, os fosfatos de cálcio que possuem o grupo funcional diidrogenofosfato (H_2PO_4^-) geralmente são precipitados em meio aquoso ácido. Por outro lado, os fosfatos que apresentam o grupo funcional (PO_4^{3-}) são obtidos somente em meio alcalino. (AOKI, 1991; GUASTALDI, APARECIDA, 2010). Desse modo, os fosfatos de cálcio são classificados de acordo com a razão molar Ca/P, conforme mostrado na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Tipos de fosfatos de cálcio e suas razões Ca/P.

Razão Ca/P	Fórmula química	Composto	Abreviação
2,0	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	Fosfato Tetracálcico	TTCP ^b
1,67	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroxiapatita	HA ^a
1,5	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	α -Fosfato Tricálcico	α -TCP ^b
1,5	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	β -Fosfato Tricálcico	β -TCP ^b
1,4	$\text{Ca}_{10}\text{H}(\text{PO}_4)(\text{PO}_4)_6$	Whitlockite	---
1,3	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Fosfato Octacálcico	OCP ^a
1,0	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Fosfato Bicálcico Dihidratado (Brushita)	DCPD ^a
1,0	CaHPO_4	Fosfato Bicálcico (Monetita)	DCP ^a
0,5	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Fosfato Monocálcico Monohidratado	MCPM ^a

^afosfatos de cálcio precipitados em meio aquoso;

^bfosfatos de cálcio precipitados por decomposição térmica e/ou síntese térmica.

Fonte: Adaptado de HABRAKEN et al., 2016; ELIAZ, METOKI, 2017.

Além disso, a razão molar Ca/P é um parâmetro de fundamental importância, uma vez que, pode refletir a solubilidade química dos fosfatos de cálcio, e consequentemente afetar o seu comportamento *in vivo* (GUASTALDI, APARECIDA 2010). Dessa forma, quanto menor essa razão, maior será a solubilidade/degradação do fosfato de cálcio em meio biológico, como por exemplo, o TCP (Ca/P = 1,5). Destaca-se ainda que a solubilidade dos fosfatos de cálcio também pode ser influenciada pelo pH do meio biológico. De acordo com o diagrama de solubilidade dos fosfatos de cálcio, todos eles são mais solúveis à medida que o pH diminui. Assim, a solubilidade dos fosfatos de cálcio é estabelecida como: MCPM > α -TCP > DCPD > DCP > OCP > β -TCP > HA (CHOW, 1991; GUASTALDI, APARECIDA 2010; PAVINATO, 2012). Nesse sentido, a bioatividade e biodegradação são importantes propriedades associadas aos fosfatos de cálcio (VALENTIM, 2018). A Figura 3.5 ilustra um esquema representativo do processo de solubilização e mineralização óssea de um biomaterial à base de HA após a sua implantação *in vivo*, proposto por Bertazzo et al. (2010) (BERTAZZO et al., 2010).

Figura 3.5 – Representação esquemática do processo de solubilização e mineralização óssea de um biomaterial de HA após ser implantado *in vivo*.

Fonte: BERTAZZO, 2010.

As etapas (1) e (2) são caracterizadas pelo processo de solubilização da superfície da HA após ser implantada no organismo. Na etapa (3), a superfície do biomaterial modificado em contato com os fluidos biológicos entra em equilíbrio promovendo a adsorção de proteínas e de matéria orgânica (etapa 4). Isto favorece a adesão e proliferação celular (etapas 5 e 6). Iniciando assim, a produção de células ósseas (etapa 7) e formando uma nova estrutura óssea na superfície do biomaterial (etapa 8) (BERTAZZO, 2010).

Como apresentado anteriormente, os fosfatos de cálcio não podem ser utilizados em regiões que demandem grande esforço mecânico. Embora isso pareça ser requisito eliminatório, apenas estabelecem limitações ao seu uso, mas não impedem a sua aplicação (FOOK, APARECIDA, 2010; SANTOS, 2016). Desse modo, os fosfatos de cálcio são adequados para diferentes aplicações, que incluem o preenchimento de defeitos ósseos, transportadores de fármacos, revestimentos de próteses metálicas, entre outros (KAWACHI et al., 2000; GUASTALDI, APARECIDA, 2010; SANTOS, 2016). A Figura 3.6 ilustra as diferentes aplicações dos fosfatos de cálcio no corpo humano.

Figura 3.6 – Aplicações dos fosfatos de cálcio no corpo humano.

Fonte: Adaptado de HENCH, WILSON, 1993; VAZ, 2007.

Dentre os diferentes fosfatos de cálcio utilizados como implantes ósseos, a HA e o TCP (α e β) se destacam por facilitar a adsorção de proteínas em suas superfícies favorecendo a osteoindução, osseointegração, e a neoformação óssea quando colocados em meio biológico (SINHORETI et al., 2013; PIRES et al., 2015).

3.4.1. Hidroxiapatita

A HA ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) representa a principal fase mineral constituinte dos ossos e dentes (DOROZHKIN, 2009). É um composto mineral que pertence à classe das apatitas. Segundo Hench e Wilson (1993), o termo apatita compõe uma família de compostos inorgânicos cristalinos que possuem uma estrutura similar entre si, mas que não tem necessariamente uma composição idêntica (HENCH, WILSON, 1993).

As apatitas apresentam a fórmula $\text{M}_{10}(\text{RO}_4)_6\text{X}_2$, onde M é o cálcio (Ca), R é o fósforo (P) e X pode ser uma hidroxila (OH^-), carbonato (CO_3^{2-}), ou um halogênio, como por exemplo, o flúor (F) (VALLESPER, 2001). Essas fases são termodinamicamente estáveis e por isso podem ser consideradas como produto final em muitas reações envolvendo os fosfatos de cálcio (HENCH, WILSON, 1993; LOBO, 2011). A HA é composta, em média, por 39,68 % em peso de Ca e 18,45 % em peso de P (BEST, et al. 2008; RIBEIRO, 2013). A Figura 3.7 apresenta a estrutura da HA a partir do modelo de esferas rígidas.

Figura 3.7 – Estrutura cristalina da HA utilizando o modelo de esferas rígidas.

O hexágono amarelo consiste nos íons OH^- (esferas vermelhas) localizados nos cantos da célula, rodeados por dois grupos de Ca (I - esferas cinza escuro e II - esferas cinza claro) e por dois grupos de PO_4^{3-} tetraédricos (esferas azuis escuras). Os átomos de Ca II e os grupos PO_4^{3-} estão arranados em posições triangulares (laranja e azul claro, respectivamente).

Fonte: Adaptado de LACERDA, 2005; RIBEIRO, 2013.

A HA possui uma peculiaridade se comparada aos demais fosfatos de cálcio. Devido a sua estrutura cristalina, ela pode sofrer grande quantidade de substituições catiônicas e aniônicas, e com isso, incorporar quase metade dos elementos da tabela periódica. Por

exemplo, os íons de Ca^{2+} podem ser substituídos por cátions metálicos mono e divalentes, sendo que o mais comum é o sódio (Na^+). Além disso, a diferença de valência causada pela substituição requer uma redução na carga aniônica para manter a carga formal. Assim, os íons PO_4^{3-} geralmente são substituídos por íons arseniatos (AsO_4^{3-}), sulfatos (SO_4^{2-}), carbonatos (CO_3^{2-}), silicatos (SiO_4^{4-}), e vanadatos (VO_4^{3-}). Enquanto os íons OH^- podem ser substituídos por íons CO_3^{2-} , fluoretos (F^-), e cloretos (Cl^-) (GUASTALDI, APARECIDA, 2010; SANTOS, 2016).

Essa facilidade de trocas faz com que a HA atue como um sistema regulador de diferentes íons nos fluidos biológicos a partir de sua liberação e/ou armazenamento (GUASTALDI, APARECIDA 2010). Além disso, as interações químicas com ligações do tipo dipolo-dipolo fazem com que as moléculas de água, proteínas, e colágeno sejam adsorvidas nessa superfície e induzam a regeneração óssea tecidual (VOLKMER, 2006, RIBEIRO, 2013). Estas características garantem a HA pouca reação tecidual tóxica e uma forte ligação com o osso adjacente (MOREIRA et al., 2003; RIBEIRO, 2013).

Apesar das vantagens apresentadas pela HA, seu uso é limitado por possuir uma lenta velocidade de degradação em meio biológico. Nesse sentido, o processo de degradação ocorre simultaneamente à reposição do osso em formação (PAVINATO, 2012). Estudos relatam que a lenta degradação da HA pode ser usada, por exemplo, como plataforma para liberação controlada de fármacos (ZHANG et al., 2012; RAJESH et al., 2013; GOVINDAN, GIRIJA 2014; LOCA et al., 2015; NAGATA et al., 2016; SZCZEŚ et al. 2017; REY-AIRA, 2018; BI et al., 2019; MA et al., 2020). Nesse caso, o tempo de liberação do medicamento é dependente do tempo de liberação da matriz inorgânica (SUN et al., 2009).

3.4.2. Fosfato tricálcico

O TCP ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) (ELLIOT, 1994) é solúvel na presença de fluídos biológicos, apresentando maior solubilidade quando comparado a HA (HENCH, WILSON, 1993). Essa solubilidade se deve à sua estrutura cristalina e a velocidade de biodegradação. O TCP pode se cristalizar em dois tipos: a fase α -TCP e a fase β -TCP (BOW et al., 2004; MAIA, 2009). A Figura 3.8 apresenta a estrutura cristalina das fases α -TCP e β -TCP.

Figura 3.8 – Estrutura cristalina do fosfato tricálcico (a) para a fase α -TCP projetada ao longo do eixo a, b e (b) para a fase β -TCP projetada ao longo do eixo b, c.

O grupo PO_4^{3-} está arranjado em posição tetraédrica (tetraedros roxos). As esferas azuis claro consistem nos átomos de Ca.

Fonte: Adaptado de YIN et al. 2003.

Com relação às possibilidades de substituições na estrutura do TCP, a presença de magnésio (Mg^{2+}) favorece a formação da fase β tornando-a mais estável (XIN et al., 2005). Este íon tem sido reportado como responsável pelo distúrbio na cristalização das apatitas, favorecendo a formação de TCP substituído por Mg^{2+} , também chamada de fase beta fosfato tricálcico de magnésio (β -Mg-TCP) (ELLIOT, 1994). A estabilidade estrutural deste fosfato de cálcio é responsável pela formação de cálculos dentários, pedras urinárias, cartilagens artríticas, e alguns depósitos de tecidos moles (DOROZHKIN, 2009).

A bioatividade do TCP pode ser caracterizada por sua capacidade osteocondutora, servindo como substrato para o crescimento do novo osso (GONZÁLEZ, GUERRA-LOPEZ, 1993; MAIA, 2009).

Dentre as técnicas capazes de promover a formação de fosfatos de cálcio, encontram-se os recobrimentos por métodos físicos, como, deposição por plasma *spray*, *íon sputtering*, deposição eletrolítica, e sol-gel (DHERT, 1992; JARCHO, 1992).

Deposição por *spray* plasma consiste em injetar o pó do material bioativo em um gás transportador, geralmente argônio (Ar), que é ionizado ao passar por um arco elétrico com

alta temperatura estabelecido entre dois eletrodos. Esse método permite a deposição de várias camadas do material bioativo sobre a superfície do substrato. No entanto, esse método só pode ser utilizado para recobrir substratos metálicos (DHERT, 1992; JARCHO, 1992).

Deposição eletrolítica se baseia na eletrólise convencional (redução catódica da água), representada pela Equação 3.1 (FISHER, 1986):

Esta reação eletrolítica produz um aumento local do pH nas imediações do cátodo, sendo este aproveitado para a precipitação de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} presentes na solução. O substrato a ser recoberto atua como cátodo e um eletrodo de platina como ânodo, sendo imersos em uma solução saturada em Ca^{2+} e PO_4^{3-} . O pH da solução e a densidade da corrente permite determinar a quantidade e o tipo de fosfato de cálcio depositado. Porém, um aspecto desfavorável desse método é a baixa adesão entre a camada formada e a superfície do substrato (FISHER, 1986).

Sol-gel é um método de via úmida que utiliza alcóxidos metálicos ou sais inorgânicos como Fonte de cátions e ânions, água como agente de hidrólise, e álcoois como solventes. As temperaturas de sinterização e calcinação variam de acordo com o tipo de fosfato de cálcio desejado. Como principais vantagens tem-se o controle das características do recobrimento, e utilização de baixas temperaturas de processo. As desvantagens encontradas neste caso são a baixa produtividade e a toxicidade dos reagentes químicos utilizados durante o processamento (PECHINI, 1967; BREME et al., 1995; RUSSELL et al., 1996).

Nesse contexto, os métodos químicos apresentam-se alternativos, devido à facilidade em promover a formação de fosfatos de cálcio em diferentes tipos de substratos, como, densos, porosos, *scaffolds* em 3D. Dentre esses métodos, encontra-se o recobrimento biomimético que consiste na imersão do substrato a ser recoberto em solução de SBF (ABE, KOKUBO, YAMAMURO, 1990). Esse método não necessita de equipamento sofisticado, e os reagentes químicos necessários são de baixo custo. Entretanto, não permite controlar os tipos de fosfatos de cálcio depositados. Outra desvantagem do método de recobrimento biomimético é a baixa adesão entre a camada formada e a superfície do substrato (BARRERE, 2002).

3.4.3. Recobrimento biomimético

O método inicialmente proposto consistia em colocar o substrato a ser recoberto em solução de SBF juntamente com um vidro bioativo, denominado como G. O sistema era mantido a 37 °C por sete dias. Em seguida, o substrato era colocado em uma solução de SBF 1,5x mais concentrada do que a solução de SBF original, que possui concentração similar a do plasma sanguíneo (ABE, KOKUBO, YAMAMURO, 1990).

O mecanismo proposto por Abe et al. (1990) considera que os íons silicatos presentes no vidro G se dissolvem e se adsorvem sobre o substrato na forma de grupos silanóis (Si-OH). Em seguida, o processo de nucleação de HA sobre os íons silicatos adsorvidos se inicia, e os núcleos de HA começam a crescer à custa da solução de SBF supersaturada em relação a HA, e então uma camada é formada sobre o substrato (ABE, KOKUBO, YAMAMURO, 1990).

Desde a sua primeira formulação, o recobrimento biomimético sofreu variações visando melhorar o seu processamento, como por exemplo, redução no tempo de incubação do substrato na solução de SBF (GUASTALDI, APARECIDA, 2010). Nesse sentido, trabalhos posteriores usando solução de SBF mais concentrada que a originalmente proposta por Abe et al. (ABE, KOKUBO, YAMAMURO, 1990) foram realizados (BARRERE et al., 2002). Além disso, tratamentos superficiais também foram realizados visando melhorar a interação fosfatos/substratos (UCHIDA et al., 2002; FAGA et al., 2012).

Barrere et al. (2002) avaliaram alterações na concentração da solução de SBF originalmente 1,5x mais concentrada para SBF 5,0x mais concentrada em placas metálicas de titânio (liga Ti-6Al-4V). Os autores verificaram que a espessura da camada de fosfatos de cálcio formada sobre a superfície foi maior nos substratos submetidos ao recobrimento usando solução de SBF 5,0x se comparados ao recobrimento obtido para a solução de SBF 1,5x (BARRERE et al., 2002).

Cortes et al. (2005) recobriram compósitos de ZrO_2/Al_2O_3 parcialmente estabilizados com magnésio (Mg-PSZ/ Al_2O_3) usando dois métodos de recobrimento diferentes. No primeiro método, os substratos foram imersos em solução de SBF por 21 dias, sem realizar a troca no período. No segundo método, os substratos foram imersos em solução de SBF por 7 dias. Após esse período, foram re-imersos em solução de SBF 1,4x mais concentrada por 14 dias. Segundo os autores, nas superfícies dos substratos recobertos usando o primeiro método (SBF) não foi observado a formação de uma camada de apatita. Por outro lado, uma camada homogênea foi observada nas superfícies dos substratos recobertos pelo segundo método (7 dias em SBF + 14 dias em SBF 1,4x) (CORTES et al., 2005).

Pierre et al. (2006) recobriram compósitos de Al_2O_3 tenacificada com ZrO_2 (ZTA) usando duas etapas. Na etapa 1, os substratos foram imersos em solução de SBF juntamente com solução de silicato de sódio (SS) por 7 dias. Após esse período, os substratos foram lavados em água destilada e deionizada, e secos a temperatura ambiente. Na etapa 2, os substratos foram re-imersos em solução de SBF 1,5x mais concentrada por 6 dias. Os resultados mostraram que o método utilizado promoveu a formação de uma camada uniforme de HA carbonatada sobre a superfície dos substratos (PIERRI et al., 2006).

Faga et al. (2012) recobriram compósitos de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente com soluções de ácido fosfórico (H_3PO_4) e hidróxido de sódio (NaOH) usando concentrações, temperaturas, e tempos distintos. Os substratos tratados foram então imersos em solução de SBF 1,5x mais concentrada por 14 e 28 dias. Os resultados obtidos demonstraram que somente as superfícies dos substratos tratados com solução de H_3PO_4 foram recobertas por uma camada de fosfatos de cálcio (FAGA et al., 2012).

Santos et al. (2017) recobriram nanocompósitos de $\text{Al}_2\text{O}_3/5\% \text{volZrO}_2$ tratados superficialmente usando diferentes soluções de ácido nítrico (HNO_3) 5 mol/L, H_3PO_4 5 mol/L, e NaOH 15 mol/L. Os substratos tratados foram imersos em solução de SBF 5,0x mais concentrada por 7, 14, e 21 dias. Os prévios tratamentos realizados contribuíram na formação de fosfatos de cálcio. Além disso, os autores observaram que as fases formadas variaram em função do prévio tratamento superficial realizado, sugerindo a possibilidade de controlar a razão TCP/HA (SANTOS et al., 2017).

Santos et al. (2018) também recobriram nanocompósitos de $\text{Al}_2\text{O}_3/5\% \text{volZrO}_2$ tratados superficialmente usando plasma frio com diferentes atmosferas gasosas de N_2 , H_2 , e O_2 . Os substratos tratados foram imersos em solução de SBF 5,0x mais concentrada por 14 dias. Nesse estudo, os autores observaram que a quantidade de fosfatos de cálcio formados foi 1000x superior se comparada às superfícies tratadas quimicamente no mesmo período. Além disso, uma melhora considerável na adesão dos fosfatos de cálcio sobre as superfícies tratadas também foi observada (SANTOS et al., 2018).

Dessa forma, a realização de tratamentos superficiais químicos e/ou físicos como etapa que antecede o método de recobrimento biomimético é uma interessante e promissora alternativa para melhorar a bioatividade do substrato.

3.5. Tratamentos superficiais de biomateriais

As propriedades superficiais dos biomateriais, como composição química, energia, hidrofiliabilidade, rugosidade, entre outras, desempenham papel importante durante os processos de interação entre o biomaterial e o tecido hospedeiro (WU et al., 2011; SHON et al., 2014). Diferentes estudos relatam que o comportamento celular pode ser afetado por modificações realizadas nessas propriedades superficiais (LIN et al., 2014; KULKARNI et al., 2015; FELLER et al., 2015; ANTONIAC et al., 2016; HUANG et al., 2016; CARVALHO et al., 2018; BALDIN, 2018).

Dessa forma, modificações nas superfícies de compósitos e nanocompósitos cerâmicos de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ vem sendo realizadas, visando melhorar sua interação quando implantados (FAGA et al., 2012; DEHESTANI et al., 2012; JOHN et al., 2015; LI et al., 2016; DEHESTANI et al., 2017; SANTOS et al., 2017; SANTOS et al., 2018). Alguns exemplos de tais modificações incluem recobrimentos com fosfatos de cálcio (LIN et al., 2015; SILVA et al., 2018; SILVA et al., 2019), implantação de íons (SIOHANSI, TOBIN, 1996; ZHAO et al., 1999; MURPHY et al., 2004), tratamentos químicos com soluções ácidas e alcalinas (UCHIDA et al., 2002; FAGA et al., 2012; SANTOS et al., 2017; SARTORI et al., 2018), texturização a laser de femtossegundos (AGUIAR et al., 2016; CARVALHO et al., 2018) e tratamentos por plasma frio (SANTOS et al., 2018; SANTOS et al., 2020). Dentre essas modificações, o tratamento por plasma frio vem se destacando.

3.5.1. Tratamento por plasma

Os estudos sobre o plasma foram iniciados por Irving Langmuir, físico-químico e ganhador do Prêmio Nobel de Química de 1932, enquanto analisava descargas elétricas em gases (BARBOSA, 2011). Langmuir associou a maneira que o fluido eletrificado carregava elétrons e íons durante uma descarga elétrica, ao modo que o plasma sanguíneo carrega os glóbulos brancos e vermelhos na corrente sanguínea (FITZPATRICK, 2014; CORRÊA, 2018).

O termo “plasma”, também conhecido como “descarga elétrica”, “descarga gasosa” ou “descarga luminescente”, se aplica a um gás que contém espécies neutras e eletricamente carregadas, como elétrons, íons positivos, íons negativos, átomos, e moléculas (ALVES Jr., 2001).

Num processo artificial, o plasma pode ser produzido quando um volume de gás é introduzido em um sistema fechado e submetido à baixa pressão, conforme esquema representativo mostrado na Figura 3.9 (SAGÁS, 2016; CORRÊA, 2018). A partir da

aplicação de uma diferença de potencial entre dois eletrodos (ânodo (positivo) e cátodo (negativo)), um campo elétrico é gerado promovendo o deslocamento dos íons e elétrons presentes na massa do gás. Esses elétrons, ao colidirem com átomos e moléculas do gás, transferem a energia cinética recebida, gerando mais íons de átomos e moléculas, e mais elétrons livres, conforme mostrado na Equação 3.2 (ALVES Jr., 2001; ARAÚJO FILHO, 2013; BRAZ, 2014).

onde:

G^0 = átomo ou molécula do gás no estado fundamental;

G^{+} = íon do gás;

e^{-} = elétron do gás.

Como resultado, os dois elétrons disponíveis continuam o processo em cascata. Assim, o gás se torna ionizado gerando o movimento de cargas elétricas entre os eletrodos (ALVES Jr., 2001; ARAÚJO FILHO, 2013; BRAZ, 2014).

Figura 3.9 – Representação esquemática do processo de formação do plasma em uma câmara de reação.

Fonte: Adaptado de SAGÁS, 2016; CORREÂ, 2018.

De acordo com Alves Júnior (2001), um parâmetro importante do plasma é o seu grau de ionização, ou seja, relação entre a quantidade de espécies originalmente neutras que foram ionizadas (ALVES Jr., 2001). Dessa forma, na escala própria do plasma, o mesmo pode ser caracterizado pelo seu grau de ionização. Ressalta-se, no entanto que, na física do plasma, a temperatura é dada em unidades de energia (eV); assim, o termo temperatura se refere ao produto (kT) (SAGÁS, 2016). Para um plasma, com um grau de ionização muito menor que a unidade, é dito como fracamente ionizado, ou ainda pode ser denominado como plasma frio (ALVES Jr. 2001; ESPINOZA, 2003). Além disso, as características do plasma se diferem pelos átomos e moléculas constituintes, densidade e energia (SILVA, 2013).

Bárdos e Baránková (2010) relatam ainda que a pressão também é um parâmetro que pode influenciar no processo de formação do plasma. Segundo esses autores, a uma dada temperatura do gás, a pressão define a densidade total das partículas de gás e, conseqüentemente, a frequência de colisão entre as espécies geradas no plasma. Quanto maior a pressão do gás, maior a frequência de colisão, e, portanto, maior a probabilidade das partículas atingirem o equilíbrio termodinâmico, ou seja, o estado fundamental (BÁRDOS, BARÁNKOVÁ, 2010). Nesse sentido, diferentes reações, apresentadas na Tabela 3.2, podem ser causadas por meio dessas colisões, e conseqüentemente promover a formação de espécies ativas no plasma (REMOR, 2010).

Tabela 3.2 – Reações de colisão entre elétrons, espécies neutras, átomos, e moléculas presentes no plasma.

Nome	Reação	Descrição
Ionização	$e^- + A_2 \rightarrow A_2^+ + 2e^-$	Os elétrons energéticos ionizam espécies neutras por meio da liberação de um elétron.
Excitação	$e^- + A_2 \rightarrow A_2^* + e^-$	Os elétrons energéticos excitam átomos e moléculas.
	$e^- + A \rightarrow A^* + e^-$	
Desexcitação	$e^- + A_2^* \rightarrow A_2 + e^- + h\nu$	Os átomos e moléculas excitadas emitem radiação ao retornarem ao seu estado fundamental.
Dissociação	$e^- + A_2 \rightarrow 2A + e^-$	A colisão dos elétrons com as moléculas levam a sua dissociação sem a formação de íons.
União dissociativa	$e^- + A_2 \rightarrow A^- + A$	Íons negativos são formados quando os elétrons livres se ligam as espécies neutras.
Ionização dissociativa	$e^- + A_2 \rightarrow A^+ + A^- + e$	Formação de íons por meio de dissociação.
Dissociação <i>Penning</i>	$M^* + A_2 \rightarrow 2A + M$	As espécies metaestáveis dissociam as espécies neutras.
Ionização <i>Penning</i>	$M^* + A \rightarrow A^+ + M + e^-$	As espécies metaestáveis ionizam as espécies neutras.
Ionização elétron-metaestável	$e^- + A^* \rightarrow 2e^- + A^+$	Os átomos metaestáveis são ionizados por meio da colisão com elétrons.
Troca de carga	$A^+ + B \rightarrow B^+ + A$	A carga de um íon é transferida para uma espécie por meio de colisão.
Recombinação de íons	$A^- + A^+ \rightarrow AB$	Dois íons se recombina formando uma molécula.
Recombinação elétron-íon	$e^- + A_2^+ + M \rightarrow A_2 + M$	O plasma perde partículas carregadas pela recombinação de cargas opostas.
Recombinação íon-íon	$A^+ + B^- + M \rightarrow AB + M$	A recombinação de dois íons ocorre em uma colisão de três corpos (parede do reator).

Fonte: FRIDMAN 2008; NEHRA; KUMAR; DWIVEDI, 2008; CASTRO 2013; NISHIME 2015.

Nesse sentido, diferentes processos de interação entre as espécies formadas no plasma e a superfície do substrato em tratamento podem ocorrer, e consequentemente, influenciar em suas propriedades químicas, físicas, entre outras. No entanto, essa interação é dependente dos

parâmetros utilizados no plasma como: tipo, fluxo e pressão dos gases; tensão e corrente elétricas (contínua ou pulsada); tempo de tratamento; e material do substrato (ARAÚJO FILHO, 2013). A Figura 3.10 apresenta os diferentes eventos que podem ocorrer durante a interação íon/superfície.

Figura 3.10 – Representação esquemática das interações do plasma com a superfície.

Fonte: Adaptado de CHAPMAN, 1980; RICKERBY, MATTHEWS, 1991; SOUZA, 2006; REMOR, 2010.

A interação do plasma com a superfície de um substrato pode promover a ejeção de elétrons secundários, reflexão de espécies energéticas, tais como: íons e espécies neutras; desprendimento de espécies adsorvidas à superfície; *sputtering* de átomos da superfície; redeposição de espécies que sofreram *sputtering* pela recombinação com espécies gasosas no plasma e consequente aceleração de volta à superfície; aumento da reatividade química das espécies adsorvidas na superfície; e picos térmicos. Em caso de alta energia de íons (> 6 kV) pode ocorrer implantação dos íons que se chocam com a superfície, a partir de colisões em cascata que causam deslocamentos dos átomos na rede e criação de defeitos intersticiais; entre outros (SOUZA, 2006; REMOR, 2010).

De modo geral, a interação do plasma com a superfície pode ser distinguida por dois processos: químico e físico (ALVES Jr., 2001; BARBOSA, 2011; DAUDT, 2012). No químico, o plasma é composto por um gás reativo, isto é, capaz de se ligar quimicamente aos elementos do substrato e assim gerar a modificação na sua superfície. Além disso, esse processo também pode favorecer a formação de grupos funcionais antes mesmo das espécies

do plasma atingirem uma determinada região do substrato em tratamento. Já o processo físico é atribuído aos impactos dos íons formados na descarga que são forçosamente endereçados à superfície devido ao campo elétrico originado da diferença de potencial entre os eletrodos. Dessa forma, os dois processos podem acontecer simultaneamente, pois a erosão da superfície é motivada pelo ataque químico da molécula e/ou átomo reativo combinada com o *sputtering* por bombardeamento iônico, que resultam no arrancamento de átomos superficiais, como por exemplo, substratos metálicos (ALVES Jr., 2001; BARBOSA, 2011, DAUDT, 2012).

Nesse sentido, compreender o que realmente ocorre na superfície do substrato durante o processo de interação do plasma não é uma tarefa fácil. De acordo com Czerwicz et al. (2008), quatro processos podem ser considerados em processos termoquímicos auxiliados por plasma: *sputtering*, adsorção, reação superficial e difusão (SOUZA, 2006).

Íons colidindo com os átomos da superfície, transferem momento, podendo arrancar um ou mais átomos. Esse evento é denominado de *sputtering* (AHMED, 1987; WALKOWICZ, 2003; SOUZA, 2006; CAMPOS, 2009).

Os átomos arrancados da superfície podem reagir com espécies do plasma, formando compostos que serão em seguida redepositados na superfície. Como geralmente esses compostos primários são metaestáveis, eles difundem na superfície do substrato, reagem com átomos da superfície, produzindo compostos mais estáveis. Os átomos excedentes difundem para o interior do substrato (AHMED, 1987; WALKOWICZ, 2003; SOUZA, 2006; CAMPOS, 2009).

Para um substrato dielétrico (óxido) como, por exemplo, a alumina, a interação plasma - superfície acontece de uma maneira diferente. A descarga geralmente pode ser produzida parcialmente pela diferença de potencial entre o ânodo e o porta-amstras (cátodo). Íons da atmosfera presentes bombardearão o porta-amstras, aquecendo-o até a temperatura de trabalho. A interação do substrato com espécies do plasma ocorrerá na temperatura de trabalho, onde íons de H_2^+ e H^+ reduzirão óxidos na superfície e, na sequência, espécies de N_2 e/ou O_2 reagirão com a superfície do dielétrico, formando nitretos e óxidos. Por outro lado, poderá ocorrer também a descarga por barreira dielétrica. Nesse caso, micro descargas serão geradas quando a rigidez dielétrica é rompida. Espécies redutoras como o H^+ reduzirá os óxidos presentes no substrato. Por outro lado, mas com menor intensidade, íons pesados como o N^+ serão acelerados para a superfície do substrato, bombardeando-a e causando *sputtering*, podendo dissociar os óxidos. Esses dois eventos são responsáveis pela produção de partículas metálicas da amostra. Quando as mesmas ficam expostas à atmosfera do plasma, novos compostos serão formados dependendo da composição do plasma.

3.5.2. Relação plasma e mistura de gases na modificação de superfícies

Parâmetros que apresentam grande significância no processo a plasma e que são cruciais na seleção de propriedades adquiridas são os tipos e a proporção dos gases utilizados no plasma frio (WAGATSUMA, 2001; KARAKAN et al. 2003; TRENCZEK-ZAJAC et al., 2009).

Dessa forma, o número de publicações que relacionam modificações superficiais de sólidos por plasma com elementos químicos presentes nos gases que compõe a atmosfera do plasma (TAMAKI, 2000; ASAHI, 2007; DAUDT, 2012) vêm sendo exploradas. Há anos ideias estão sendo divulgadas com o intuito de descrever com maior precisão as interações do plasma com a superfície e de que forma estas interações estão relacionadas com as propriedades superficiais obtidas no sólido (ASAHI, 2007; DAUDT, 2012).

O gás Ar é utilizado por ser um gás com conhecido poder de *sputtering*, ou seja, possui facilidade em arrancar os átomos da superfície de sólidos. O N₂ é utilizado para promover a reação para formação dos compostos. O H₂ é utilizado para redução dos óxidos presentes na superfície e na atmosfera do plasma (TAMAKI, 2000; MISHRA, 2003; MUBARACK ALI, 2010).

Mishra (2003) e Mubarak Ali (2010) estudaram a influência da atmosfera do plasma durante a nitretação no comportamento do Ti e suas ligas. Para isso, utilizaram o gás de N₂ puro, mistura dos gases de N₂ e H₂, mistura dos gases N₂ e Ar, e misturas dos três gases em proporções de fluxos diferentes. A adição do gás H₂ no gás de N₂ aumentou a eficiência em termos de solubilidade do gás N₂ no Ti, ou seja, a taxa de nitretação. Por outro lado, a adição do gás Ar na mistura N₂-H₂ reduziu a solubilidade do gás N₂ (MISHRA, 2003; MUBARACK ALI 2010).

Braz (2014) observou que existe uma dependência da dissociação das espécies do gás de N₂ com o aumento da pressão de trabalho (0,02 – 0,4 mbar) em diferentes proporções desse gás (5 a 95 %) em plasma de Ar. Estes resultados demonstram que a dissociação aumenta com o aumento da pressão de trabalho até um ponto ótimo para a geração de espécies ativas, diminuindo com o continuo aumento da mesma. Esse valor ótimo é elevado de acordo com o aumento da quantidade do gás Ar que ocasiona a maior ionização das moléculas de N₂. O decaimento ocorre devido à mudança da concentração de elétrons energéticos com o aumento da pressão de trabalho, como consequência da diminuição do livre caminho médio. A mistura que obteve melhores resultados na modificação das propriedades superficiais do titânio foi a de 95 % de Ar e 5 % de N₂ (BRAZ, 2014).

A mistura de três gases no plasma vem tendo grande utilização atualmente e é considerada como complexa pela comunidade científica. Misturas dos gases metano (CH_4), N_2 e Ar têm sido utilizados na formação de carbonitreto de Ti para aplicações tribológicas (ROCHA, 2012). A mistura dos gases de N_2 , H_2 , e Ar são utilizados no tratamento de peças e deposição de filmes finos de nitreto de Ti por gaiola catódica (DAUDT, 2012). No caso da mistura dos gases de N_2 , O_2 e Ar em processos de esterilização, descontaminação, fotocatalise, entre outros (BRAZ, 2014).

A aplicação de técnicas baseadas em plasma é bastante diversificada, e exemplos de aplicações incluem limpeza/esterilização, recobrimento, e modificação química/física superficial de um substrato. Nesse sentido, diferentes exemplos são descritos na literatura, incluindo a modificação superficial de biomateriais, dispositivos para substituição total de articulações e ossos artificiais, implantes dentários, entre outros (ZHAO et al., 2011; VON WOEDTKE et al., 2013; VALVERDE et al., 2013; WANG et al., 2014; SHON et al., 2014; WU et al., 2015; SEKER et al., 2016; BALKENHOL et al., 2017; NISHIME ET al., 2017; TABARI et al., 2017).

Ressalta-se ainda que a potencialidade do tratamento por plasma é extremamente ampla e conhecida, principalmente na modificação de superfícies metálicas, e poliméricas. No entanto, modificações em superfícies cerâmicas, em especial nanocompósitos de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ ainda são pouco explorado na literatura. Dessa forma, o maior incentivo do presente estudo é avaliar como o plasma frio influencia as propriedades superficiais do nanocompósito e como contribui na formação de fosfatos de cálcio sobre a sua superfície.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A Figura 4.1 apresenta de forma resumida um diagrama dos métodos utilizados na preparação, conformação, tratamento superficial por plasma frio, recobrimento biomimético e caracterização dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$.

Figura 4.1 (Continua) – Diagrama dos métodos utilizados ao decorrer do trabalho.

Figura 4.1(Continuação) – Diagrama dos métodos utilizados ao decorrer do trabalho.

Fonte: Própria autoria.

Os materiais e métodos utilizados durante todo o trabalho são apresentados a seguir. Para facilitar a compreensão, a mesma foi dividida em três etapas principais: obtenção dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$, tratamento superficial por plasma frio e recobrimento biomimético. Por fim, são apresentadas as técnicas usadas nas caracterizações dos corpos de prova antes e após a realização do tratamento e recobrimento superficial.

4.1. Preparação dos pós de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$

Na preparação dos pós de Al_2O_3 , ZrO_2 e Al_2O_3 contendo 5 % em volume de ZrO_2 ($\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$) foram utilizados pós-comerciais de Al_2O_3 AKP-53 (com pureza de 99,9 % e tamanho médio de partículas de 0,2 μm) (SUMITOMO CHEMICAL, 2020), e pós de ZrO_2 parcialmente estabilizada com 3,0 % em mol de ítria (com pureza de 99,9 % e tamanho médio de partículas de 50,0 nm) (NANOSTRUCTURED MATERIALS INC., 2020). O processamento utilizado para a obtenção dos pós de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ foi baseado em estudos anteriores realizados pelo grupo de pesquisa onde esse projeto está inserido (CHINELATTO et al., 2014; OJAIMI et al., 2015; SANTOS, 2016).

Para isso, uma suspensão de Al_2O_3 foi preparada em moinho de bolas convencional usando uma relação de bola/material 5:1, em meio alcoólico contendo 0,2 % em peso de defloculante ácido 4-aminobenzóico (PABA) por 1h. Em seguida, 0,5 % em peso de ácido oleico foi adicionado, e a suspensão foi novamente levada ao moinho por mais 2 h. Simultaneamente uma suspensão de ZrO_2 também foi preparada no mesmo moinho, usando uma relação de bola/material 4:1, em meio alcoólico contendo 0,5 % em peso de PABA, por 12 h (CHINELATTO et al., 2014; OJAIMI et al., 2015). Parte dessas suspensões foi reservada.

Para mistura das suspensões de Al_2O_3 e ZrO_2 , a suspensão de ZrO_2 foi adicionada na proporção de 5 % em volume, por gotejamento à suspensão de Al_2O_3 (mantida sob agitação). A suspensão de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ foi levada ao moinho de bolas por 10 h. Após, 0,5 % em peso de ácido oleico foi adicionado a suspensão, e a mesma foi novamente levada ao moinho por mais 2 h. Por fim, as suspensões de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ foram secas à temperatura ambiente sob fluxo de ar quente e os pós passados em peneira de malha 80 mesh (SANTOS, 2016).

4.2. Conformação e sinterização dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$

Os pós de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ foram conformados em formato cilíndrico de 8 mm de diâmetro e 4 mm de altura, por prensagem uniaxial à 50 MPa em prensa hidráulica

manual (Marcon, modelo MPH-10), seguido por prensagem isostática a frio à 200 MPa em prensa isostática (AIP, modelo CP-360).

Para a eliminação dos resíduos orgânicos incorporados durante o processo de preparação dos pós, os corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ foram calcinados a 400 °C por 1 h em forno mufla (EDG 3PS, modelo 7000) com taxa de aquecimento de 1 °C/min. Na sequência, a sinterização foi realizada em dois patamares de temperatura, sendo o primeiro a 1050 °C por 1 h e o segundo a 1500 °C por 2 h em forno de sinterização convencional (MAITEC, modelo FE50RD) com taxa de aquecimento de 10 °C/min (SANTOS, 2016). A adoção de um patamar de sinterização anterior ao início da densificação de um material cerâmico (1050 °C) proporciona diminuição e homogeneização nos tamanhos de grãos. Dessa forma, os parâmetros de sinterização utilizados visam uma maior densificação com menor crescimento de grãos dos corpos de prova (CHINELLATO et al., 2012; CHINELLATO et al., 2014).

4.3. Tratamento superficial por plasma frio dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$

Na realização do tratamento superficial por plasma frio dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ foi utilizado um equipamento desenvolvido em laboratório (LabPlasma, UFERSA), conforme apresentado na Figura 4.2. Para melhor analisar a influência das diferentes condições de tratamento por plasma frio na superfície dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$, os corpos de prova de Al_2O_3 e ZrO_2 também foram submetidos as mesmas condições de tratamento superficial para posterior comparação com os de corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$.

Figura 4.2 – Representação esquemática do equipamento utilizado no tratamento superficial por plasma frio dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$.

Fonte: Adaptado de BARBOSA, 2011, DAUDT 2012, VITORIANO, 2015, MORAIS, 2017.

O equipamento é composto por uma câmara de vácuo de aço inoxidável, em formato cilíndrico, com 32,00 cm x 50,00 cm (diâmetro x altura), com as paredes aterradas e potencial positivo (ânodo). O porta amostras é um disco de titânio, catodicamente polarizado, com 12,00 cm x 1,20 cm (diâmetro x espessura), e está localizado no interior do reator sobre o flange inferior (Figura 4.2). Nesse aparato há uma câmara de reação (Figura 4.2a), uma fonte de alimentação elétrica (Figura 4.2b), um sensor de pressão (Figura 4.2c) e um medidor de pressão (Figura 4.2d). No flange inferior do reator estão a saída para bomba de vácuo (Figura 4e) e a entrada para gases (Figura 4.2f). Na parte central, está localizado um eletrodo catódico contendo um termopar (Figura 4.2g) para medida de temperatura do porta amostras. Os fluxos

gasosos foram controlados por controladores de fluxo (MKS, modelo 247) (DAUDT, 2012; VITORIANO, 2015; MORAIS, 2017).

Os corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ foram expostos a atmosferas de plasma contendo gases de N_2 , H_2 e O_2 . Diferentes proporções de fluxos dos gases de N_2 e O_2 foram utilizadas, enquanto o fluxo do gás de H_2 foi mantido em 50 %. O fluxo total foi mantido em 20 sccm e a pressão total em 2,0 mbar. Os valores de tensão e corrente elétrica foram ajustados para manter a temperatura de tratamento igual a 400 °C. Durante o tratamento, dois tipos de pulsos quadrados de tensão, denominados como I e II, foram estudados. Nesse sentido, os valores de tensão foram ajustados para manter a razão $t_{\text{on}}:t_{\text{off}}$ igual a 100:50 μs (pulso I) e 50:100 μs (pulso II), respectivamente. A Tabela 4.1 apresenta as nomenclaturas e respectivas condições de tratamento dos corpos de prova.

Tabela 4.1 – Fluxos dos gases de N_2 , H_2 e O_2 , tensão e corrente elétrica utilizados nos tratamento superficial por plasma frio dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$.

Composições gasosas (pulsos I e II)	N_2 (%)	H_2 (%)	O_2 (%)	Tensão elétrica (V)	Corrente elétrica (A)
5N5H	50	50	-	722	0,43
4N5H1O	40	50	10	634	0,48
3N5H2O	30	50	20	677	0,55
2N5H3O	20	50	30	655	0,45
1N5H4O	10	50	40	667	0,40
5H5O	-	50	50	799	0,43

Fonte: Própria autoria.

4.4. Recobrimento biomimético dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$

Para a realização do recobrimento biomimético, os corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados por plasma frio foram imersos em solução de SBF durante 14 dias, segundo o método proposto por Barrere et al. (BARRERE et al., 2002). A escolha do período de recobrimento utilizado foi baseada em estudos realizados por Santos et al. 2018 (SANTOS et al., 2018). De acordo com esses autores, o período de 14 dias de imersão se mostrou adequado para promover a formação de uma camada homogênea de fosfatos de cálcio sobre a superfície do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$.

A solução de SBF 5,0x foi preparada de acordo com as concentrações (g/L) dos reagentes mostrados na Tabela 4.2. Para isso, diferentes reagentes como, cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl₂), cloreto de cálcio (CaCl₂), fosfato de sódio bifásico heptahidratado (Na₂HPO₄) e carbonato de sódio anidro (NaHCO₃) foram utilizados. A concentração dos reagentes da solução de SBF utilizada é 5,0 vezes maior do que a solução originalmente proposta por Abe et al. (ABE, KOKUBO, YAMAMURO, 1990). O pH da solução foi ajustado para 6,10 com ácido clorídrico (HCl 1 mol/L) a temperatura ambiente. Por fim, a solução de SBF foi acondicionada em frasco de polietileno e mantida em refrigeração. Salienta-se, que a solução de SBF tem validade máxima de 30 dias (LOBO, 2011).

Tabela 4.2 – Concentração (g/L) dos reagentes usados no preparo da solução de SBF 5,0x.

Reagentes	NaCl	MgCl ₂	CaCl ₂	Na ₂ HPO ₄	NaHCO ₃
Concentração	40,00	1,52	1,84	0,89	1,76

Fonte: Adaptado de BARRERE et al., 2002.

O volume adequado para a imersão dos corpos de prova na solução de SBF 5,0x foi calculado de acordo com a Equação 4.1 (ISO FDIS 23.317, 2005):

$$V_s = \frac{S_a}{10} \quad (4.1)$$

onde:

V_s = volume da solução de SBF (mm³);

S_a = área superficial do corpo de prova (mm²);

Os corpos de prova de Al₂O₃/ZrO₂ não tratado e tratados por plasma frio foram então imersos em 50 mL de solução de SBF 5,0x durante o período de 14 dias (BARRERE et al., 2002). O recobrimento biomimético de cada corpo de prova foi realizado individualmente em frascos de polipropileno em incubadora refrigerada de bancada (Marconi, modelo MA420) a 36,5 °C e sob agitação de 60 rpm. Após esse período de imersão, os corpos de prova recobertos foram retirados da solução de SBF, lavados em água destilada, secos à temperatura ambiente e armazenados em dessecador por 72 h.

4.5. Caracterizações dos corpos de prova de Al₂O₃, ZrO₂ e Al₂O₃/ZrO₂

As caracterizações dos corpos de prova de Al₂O₃, ZrO₂ e Al₂O₃/ZrO₂ foram realizadas em duas etapas, como mostrado na Tabela 4.3. A etapa I refere-se às caracterizações realizadas nos corpos de prova antes e após o tratamento superficial por plasma frio. Já a etapa II refere-se às caracterizações realizadas nos corpos de prova após o recobrimento biomimético.

Tabela 4.3 – Caracterizações dos corpos de prova de Al₂O₃, ZrO₂ e Al₂O₃/ZrO₂ antes e após o recobrimento biomimético.

Caracterizações	Etapas	
	I	II
* Densidades (D.V) e (D.A)	x	
MEV	x	x
DRX	x	x
Microscopia confocal	x	
Ângulo de contato	x	
Energia superficial	x	
OES	x	
XPS	x	
FTIR	x	x

*Caracterização realizada antes do tratamento superficial por plasma frio.

Fonte: Própria autoria.

4.5.1. Densidade a verde (D.V)

Antes da sinterização, a densidade a verde (D.V) dos corpos de prova de Al₂O₃/ZrO₂ foi calculada geometricamente, de acordo com a Equação 4.2 (ASTM C373-88, 2006). Para isso, foi utilizada a quantidade (n) de dez corpos de prova (n=10):

$$\delta = \frac{m}{v} \quad (4.2)$$

onde:

m = massa do corpo de prova em (g);

v = volume do corpo de prova em (cm³), obtido a partir da medida de suas dimensões;

Em seguida, a porcentagem da densidade teórica (% DT) foi determinada a partir da Equação 4.3 (ASTM C373-88, 2006), que relaciona a densidade do corpo de prova com a densidade teórica (% DT):

$$\%DT = \frac{\delta}{\delta_t} \times 100 \quad (4.3)$$

onde:

δ = densidade a verde (g/cm^3);

$$\delta_t = \text{densidade teórica} \left(\frac{1}{\delta_t} = \frac{XA}{\rho_A} + \frac{XB}{\rho_B} \right), \quad (4.4)$$

XA e XB = porcentagem do material sólido A e B, respectivamente;

ρ_A e ρ_B = densidade do material sólido A e B, respectivamente;

Para isso, o valor de densidade teórica (% DT) usada para a Al_2O_3 foi de $3,98 \text{ g/cm}^3$ (SUMITOMO CHEMICAL, 2020), enquanto o valor da densidade teórica para a ZrO_2 foi de $5,84 \text{ g/cm}^3$ (NANOSTRUCTURED MATERIALS Inc., 2020).

4.5.2. Densidade aparente (D.A)

Após a sinterização, a densidade aparente (D.A) dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ ($n=10$) foi calculada de acordo com a Equação 4.5 (ASTM C373-88, 2006) segundo o Princípio de Arquimedes. Para isso, os corpos de prova sem tratamento superficial por plasma foram imersos em água destilada por 24 h em temperatura ambiente e em seguida, realizadas as medidas das massas úmidas e imersas. Já para as medidas de massas secas, os corpos de prova foram mantidos em estufa durante 24 h a 100°C e posteriormente realizada as medidas.

$$DA = \left(\frac{Ms}{Mu - Mi} \right) \rho_a \quad (4.5)$$

onde:

Ms = massa seca dos corpos de prova (g);

Mu = massa úmida dos corpos de prova após permanência em água durante 24 h (g);

Mi = massa dos corpos de prova imersos em água (g);

ρ_a = densidade da água na temperatura de trabalho (g/cm^3).

Os valores de densidade aparente calculados também foram apresentados como percentual da densidade teórica (% DT).

4.5.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A caracterização microestrutural dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ sem tratamento por plasma frio foi realizada na superfície polida. Para isso, os corpos de prova foram embutidos em resina epóxi e polidos em politriz automática (Buheler, modelo Minimet) com pasta diamantada nas sequências de granulometrias 9, 6, 3 e 1 μm . Após essa etapa, para revelar os contornos de grãos, os corpos de prova foram tratados termicamente a 1450 °C por 10 min, com taxa de aquecimento de 10 °C/min.

Após o tratamento térmico, os corpos de prova foram recobertos com uma fina camada de ouro depositada por meio de uma evaporadora (Balzers, modelo SCD-004), para a caracterização das superfícies por MEV de alta resolução (Philips, modelo XL-30 FEG).

A análise microestrutural usando MEV (Hitachi, modelo TM 3000) também foi realizada após o recobrimento biomimético para avaliar a camada de fosfatos de cálcio formada sobre as superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$. Nesse caso, as superfícies não precisaram ser recobertas, devido ao tipo de feixe de elétrons usado no microscópio.

4.5.4. Difratometria de raios-X (DRX)

As fases cristalográficas dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ sem tratamento superficial por plasma frio foram caracterizadas por DRX usando passo de 0,20 no intervalo entre 20,0 ° e 60,0 °, utilizando um difratômetro de raios-X (Rigaku, modelo Miniflex 600). Os corpos de prova de Al_2O_3 e ZrO_2 também foram analisados por DRX para posterior comparação com os difratogramas de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$.

As fases de fosfatos de cálcio formadas sobre as superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ (não tratado e tratados por plasma frio) após o recobrimento biomimético também foram caracterizados por DRX usando passo de 0,20 no intervalo entre 30,0 ° e 36,0 °. A escolha do intervalo utilizado para identificar as fases de fosfatos de cálcio formadas sobre as superfícies dos corpos de prova foi baseada em estudos anteriores realizados (SANTOS et al., 2017; SANTOS et al., 2018). Segundo esses autores, esse intervalo apresenta maior incidência de formação dos picos característicos dos fosfatos de cálcio.

Os difratogramas de raios-X obtidos após o recobrimento biomimético, foram tratados matematicamente a fim de quantificar o percentual das fases de fosfatos de cálcio formadas nas condições estudadas. Os dados foram tratados para correção de linha de base e obtenção da segunda derivada. Durante os processos de tratamento matemático foram utilizados, sempre que necessário, os filtros de suavização Savitzky-Golay. O ajuste da linha de base e a normalização foram feitos utilizando como referência a célula correspondente ao pico com

maior intensidade, que se encontra em $35,18^\circ$ (pico da Al_2O_3). Em seguida, curvas analíticas deconvoluídas foram obtidas usando uma função Gaussiana ($R^2 > 0,99$). Os tratamentos matemáticos foram realizados no *software* Origin (ORIGINLAB, 2020). As curvas deconvoluídas foram então caracterizadas segundo os índices de Miller (hkl) padrões para as diferentes fases dos fosfatos de cálcio e identificados segundo a base de dados da *Joint Commitee for Powder Diffraction Studies* – JCPDS (JCPDS, 2003).

As correlações entre as diferentes fases dos fosfatos de cálcio observadas por DRX foram analisadas pelos coeficientes de correlação de Pearson (r) (valores de significância estatística menor que 0,05).

4.5.5. Espectroscopia de emissão óptica (OES)

A interação das espécies ativas do plasma com os grupos funcionais superficiais dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ foi analisada usando um espectrômetro de emissão óptica, OES (Ocean Optics, modelo USB 4000). Para cada condição de tratamento, os espectros foram obtidos com uma resolução óptica de 0,3 a 10 nm. Os espectros de OES foram tratados matematicamente, usando filtros Savitzky-Golay, para correção da linha de base. Após isso, a intensidade relativa dos picos das espécies do plasma foi normalizada pela soma das áreas absolutas dos picos atribuídos às espécies atômicas α -hidrogênio (H_α) em 656 nm e β -hidrogênio (H_β) em 486 nm. Esses picos foram escolhidos, pois o gás H_2 foi mantido em proporção constante durante o fluxo. Em seguida, curvas analíticas de deconvolução foram obtidas usando função Gaussiana ($R^2 > 0,99$). Os tratamentos matemáticos foram realizados no *software* Origin. Os espectros de OES foram então analisados a partir da intensidade relativa dos picos das espécies do plasma e identificados segundo o banco de dados de transição atômica do *National Institute of Standards and Technology* – NIST (NIST, 2020).

4.5.6. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização química dos grupos funcionais superficiais dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ antes e após o tratamento por plasma frio foi realizada por FTIR. Os corpos de prova de Al_2O_3 e ZrO_2 também foram submetidos as mesmas condições de tratamento superficial para posterior comparação com os de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$.

Os grupos funcionais superficiais dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados por plasma frio foram caracterizados por FTIR, na região entre 400 e 1000 cm^{-1} , utilizando um espectrômetro de infravermelho (Bruker, modelo Vertex 70, e

acessório de reflectância difusa, DRIFT). Para cada corpo de prova, 32 espectros foram obtidos com uma resolução de 4 cm^{-1} .

Os grupos funcionais das fases de fosfatos de cálcio formadas sobre as superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ (não tratado e tratados por plasma frio) após o recobrimento biomimético, também foram caracterizadas por FTIR na região entre 1000 e 1650 cm^{-1} . A escolha da região utilizada para identificar os grupos funcionais dos fosfatos de cálcio formados sobre as superfícies dos corpos de prova foi baseada em estudos anteriores realizados (GADALETA et al., 1996; PENEL et al., 1999; KOUTSOPOULOS, 2002; SARKAR et al., 2007; CARRODEGUAS, AZA 2011; BERZINA-CIMDINA, BORODAJENKO 2012; SELVAM et al., 2013; KARTHIK et al., 2013; KOLMAS et al., 2015; AMIRSALARI, SHAYESTEH, 2015). Segundo esses autores, essa região apresenta maior incidência de formação das bandas de absorção características dos fosfatos de cálcio.

Os espectros de FTIR obtidos foram tratados matematicamente, usando filtros de Savitzky-Golay, para o ajuste da linha de base e obtenção de segundas derivadas. A banda de absorção em 445 cm^{-1} (atribuída à vibração de estiramento do grupo funcional Al-O ($\nu_{\text{Al-O}}$)) foi utilizada para normalização dos espectros. Após isso, curvas analíticas de deconvolução de todos os espectros foram obtidas usando função Gaussiana ($R^2 > 0,99$). Os tratamentos matemáticos foram realizados no *software* Origin.

Os resultados obtidos usando as técnicas de OES e FTIR foram determinantes para a escolha do melhor pulso e fluxos gasosos utilizados no tratamento superficial dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$. Em função desses resultados optou-se por continuar as caracterizações dos corpos de prova usando pulso II e tratados com diferentes fluxos dos gases de N_2 e O_2 .

4.5.7. Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS)

A caracterização quantitativa superficial da composição química dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados por plasma frio foi realizada em um espectrômetro de XPS (Thermo Scientific, modelo K-Alpha). Para isso, os corpos de prova foram limpos, a fim de remover impurezas presentes na superfície. Em seguida, os corpos de prova foram expostos a radiação Al (K_α) e a pressão de base da câmara foi mantida durante as análises em níveis inferiores a 10^{-5} Pa . O analisador foi operado a uma energia de passagem (energia mínima dos elétrons que atingem o detector) de $0,025\text{ eV}$ para o espectro exploratório e de 20 eV para o espectro detalhado (Al_{2p} , N_{1s} , O_{1s} e Zr_{3d}). O deslocamento dos picos de energia de ligação do espectro do XPS, o qual ocorre devido ao carregamento elétrico do corpo de prova, foi

corrigido utilizando como base o componente padrão carbono (C_{1s}) (285,0 eV). A análise e o ajuste dos picos foram realizados utilizando o *software* Advantage.

4.5.8. Microscopia confocal

A rugosidade média da superfície dos corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 não tratado e tratados por plasma frio foi medida usando um microscópio confocal a laser (Olympus, modelo LEXT-OLS4100). Para cada condição de tratamento, três corpos de prova ($n = 3$) foram utilizados. Os valores de rugosidade média da superfície foram calculados a partir de quatro regiões de cada corpo de prova.

4.5.9. Ângulo de contato

A molhabilidade superficial dos corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 não tratado e tratados por plasma frio foi avaliada pela medida do ângulo de contato utilizando o método da gota sésil. Para as medidas, um tensiômetro óptico (Attension, modelo Theta Lite, acoplado a uma câmera micro CCD, OneAttension) foi usado. Uma gota de solução de SBF e uma gota de água deionizada (10 μ L) foram depositadas separadamente sobre a superfície dos corpos de prova com o auxílio de uma microseringa. As medidas do ângulo de contato foram realizadas em condição ambiente de temperatura (~ 25 °C). As imagens da gota de solução de SBF e da gota de água deionizada na superfície dos corpos de prova foram capturadas no intervalo entre 1 e 100 s. O ângulo de contato foi medido usando o *software* OneAttension *with drop profile fitting* (Young-Laplace). Para cada condição de tratamento, dez corpos de prova ($n = 10$) foram utilizados. Além disso, as medidas do ângulo de contato foram realizadas em triplicatas. O ângulo de contato foi determinado de acordo o modelo de Young-Laplace mostrado na Equação 4.6 (EID, PAINTH, SOMMERS, 2018).

$$\gamma_{SG} = \gamma_{SL} + \gamma_{LG} \cdot \cos\theta \quad (4.6)$$

onde:

γ_{SG} = tensão superficial na interface sólido/gás;

γ_{SL} = tensão superficial na interface sólido/ líquido;

γ_{LG} = tensão superficial na interface líquido/gás;

$\cos\theta$ = cosseno do ângulo de contato;

4.5.10. Energia superficial

A medida da tensão superficial dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados por plasma frio também foi avaliada pela medida do ângulo de contato utilizando o método da gota sésil. Para as medidas, um tensiômetro automático (Dataphysics Germany, modelo OCA 15-plus acoplado a uma câmera USB 3, SCA) foi usado. Uma gota de solução de SBF e uma gota de glicerina (4 μL) foram depositadas separadamente sobre a superfície dos corpos de prova com o auxílio de uma microseringa. As imagens da gota de solução de SBF e da gota de glicerina na superfície dos corpos de prova foram capturadas no tempo de 100 s. As medidas do ângulo de contato e tensão superficial foram realizadas em condição ambiente de temperatura ($\sim 25^\circ\text{C}$). O ângulo de contato foi medido usando o *software* SCA with drop profile fitting (Young-Laplace). Para cada condição de tratamento, dez corpos de prova ($n = 10$) foram utilizados. As medidas do ângulo de contato foram realizadas em triplicatas.

Os valores do ângulo de contato obtidos foram então utilizados para calcular a energia superficial dos corpos de prova segundo o modelo de Fowkes mostrado nas Equações 4.7 e 4.8 (FOWKES, 1964).

$$\gamma_s = \gamma_s^d + \gamma_s^p \quad (4.7)$$

$$\frac{1+\cos\theta}{2} \cdot \frac{\gamma_l}{\sqrt{\gamma_l^d}} = \sqrt{\gamma_s^p} \cdot \sqrt{\frac{\gamma_l^p}{\gamma_l^d}} + \sqrt{\gamma_s^d} \quad (4.8)$$

onde:

γ_s = energia superficial do substrato;

γ_s^d = componente dispersiva do substrato;

γ_s^p = componente polar do substrato;

γ_l = tensão superficial do líquido (mJ/m^2);

γ_l^p = componente polar do líquido (mJ/m^2);

γ_l^d = componente dispersiva do líquido (mJ/m^2);

$\cos\theta$ = cosseno do ângulo de contato.

Os valores de tensão superficial e dos componentes polares (γ_l^p) e dispersivos (γ_l^d) dos líquidos utilizados para calcular a energia superficial dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ são apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 – Parâmetros de tensão superficial (γ_l), componentes polares (γ_l^p) e componentes dispersivos (γ_l^d) dos líquidos utilizados para determinar a energia superficial dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$.

Líquido	$\gamma_l(\text{mJ/m}^2)$	$\gamma_l^p(\text{mJ/m}^2)$	$\gamma_l^d(\text{mJ/m}^2)$
Glicerol	63,40	26,20	37,20
Solução de SBF	67,15	38,45	28,70

Fonte: FOWKES, 1964; AGUIAR, 2013.

4.6. Adesão do recobrimento biomimético superficial

A adesão entre a camada de fosfatos de cálcio formada e a superfície dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados por plasma frio (exceto a composição gasosa 3N5H2O) foi avaliada pelo teste de *micro scratch test*. Para isso, um tribômetro (Hysitron, modelo Ti950), equipado com uma ponta cono-esférica com 10 μm de diâmetro foi utilizado. A velocidade de carregamento utilizada foi de 15 mN/min, o comprimento da trilha foi de 150 μm , e a carga foi mantida constante durante todo o ensaio. Durante o teste a espessura da camada foi medida por perfilometria, que calcula a diferença de altura no ponto onde a mesma sofreu danos e/ou se desprende totalmente da superfície. Assim, recobrimentos muito espessos ($> 100 \mu\text{m}$) não podem ser analisados, uma vez que a razão entre o diâmetro da ponta e a espessura da camada precisa ser maior que 2 para garantir que o corpo de prova sofra deformações suficientes para promover o destacamento da camada. Por este motivo, o *micro scratch test* não pode ser realizado na superfície dos corpos de prova tratados com a composição 3N5H2O. A identificação do ponto em que ocorreu a primeira falha na trilha foi realizada por MEV (Hitachi, modelo TM 3000).

4.7. Ensaios biológicos

A citotoxicidade dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados por plasma frio (não recobertos e recobertos), foi avaliada pelo método de quantificação indireto, utilizando o teste de brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5difeniltetrazólio (MTT) (ISO 10993-5, 2009; ISO 10993-12, 2005).

A linhagem celular utilizada foi de células-tronco mesenquimais do tecido adiposo de coelho (CTMTACs). Para isso, as CTMTACs foram cultivadas em meio de cultura comercial *alpha modified eagle's medium* (α -MEM), suplementado com 10 % de soro fetal bovino (SFB), 1 % de glutamina, 1 % aminoácido não essencial, 1 % penicilina/estreptomicina e

anfotericina. O cultivo celular das CTMTACs foi realizado em estufa (Thermo Scientif, modelo 310) a 37,5 °C, umidificada com 5 % de dióxido de carbono (CO₂) por 48 h. O acompanhamento do desenvolvimento celular das CTMTACs foi realizado a cada 24h usando um microscópio óptico invertido (Analítica, modelo TCM400).

A avaliação da viabilidade das CTMTACs na presença dos corpos de prova foi realizada usando o teste por MTT. Para isso, os corpos de prova previamente preparados (pesados e esterilizados a 121 °C/2 h) foram imersos em 10 mL de α -MEM suplementado com 10 % de soro fetal bovino por 24 h. O sobrenadante foi separado e incubado com 3.10⁴ células previamente cultivadas em placas de 96 poços, durante 48 h em triplicatas. Como controle negativo foram utilizadas as CTMTACs em cultivo normal, ou seja, sem a presença dos corpos de prova. E como controle positivo as CTMTACs na presença dos corpos de prova e dimetilsulfóxido (DMSO). Após 24 h de incubação, o meio foi removido e a placa com as células lavada com tampão fosfato-salino (PBS) e adicionada a solução MTT (0,5 mg/mL) em cada poço juntamente com meio α -MEM (sem soro) na proporção de 1:5. As células foram incubadas durante 2 h a 37,5 °C. Em seguida, a solução MTT foi descartada e os cristais de formazana formados foram dissolvidos com 0,3 mL de isopropanol puro para análise (P.A).

A absorbância da solução nos poços de cultivo foi mensurada por espectroscopia na região do UV-visível (em 570 nm) usando um espectrômetro ultravioleta visível (BMG Labtech, modelo FluoOstar Omega). A quantificação foi realizada segundo o valor médio de absorbância dos corpos de prova e controles, sendo subtraído o branco (medida do poço contendo apenas as CTMTACs). Por fim, a viabilidade celular foi avaliada considerando o controle positivo como 100 % de células viáveis.

Os resultados obtidos durante os testes *in vitro* foram analisados estatisticamente usando a análise de variância (ANOVA) e pelo teste de Tukey como post hoc teste Newman Keuls, utilizando o programa GraphPad Prism versão 6.00 para Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, Copyright[®]. Para os testes estatísticos, o grupo controle positivo foi comparado aos demais grupos, com valores de significância estatística menor que 0,05.

4.8. Análises estatísticas

Com o objetivo de verificar se se existe influência significativa do tratamento por plasma frio na superfície dos corpos de prova de Al₂O₃/ZrO₂, e na formação de fosfatos de cálcio foram utilizados dois métodos distintos de análise estatística: Coeficiente de correlação de Pearson e Análise de agrupamento. O procedimento foi utilizado para verificar se tais efeitos realmente existem. As correlações de Pearson foram realizadas usando o *software*

Origin (ORIGINLAB, 2020). Enquanto os dendrogramas apresentados no presente trabalho foram obtidos usando um algoritmo de ligação completa e medida de distância do coeficiente de correlação absoluto. Os tratamentos estatísticos foram realizados no *software* Minitab 19 (MINITAB, 2020).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos a partir das caracterizações dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ são apresentados a seguir. Para facilitar a compreensão, os mesmos foram divididos em três etapas: caracterização dos corpos de prova (1) antes e (2) após a realização do tratamento superficial por plasma frio, e (3) após o recobrimento biomimético.

5.1. Caracterização dos corpos de prova antes do tratamento superficial por plasma frio

A seguir serão apresentados os resultados referentes as caracterizações físicas e microestruturais dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ antes de serem submetidos ao tratamento superficial por plasma frio. Essas caracterizações têm por finalidade avaliar se o processamento utilizado para a obtenção dos corpos de prova foi realizado corretamente, uma vez que, suas propriedades mecânicas podem ser afetadas.

5.1.1. Densidade a verde (D.V) e aparente (D.A)

Os valores médios e desvio padrão, apresentados em %DT de D.V e D.A, dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ obtidos foram de $59,45 \pm 0,31$ % e $97,56 \pm 0,49$ %, respectivamente. De maneira geral, os corpos de prova apresentam valores elevados de densidade, sugerindo um bom empacotamento das partículas e consolidação do material durante os processos de conformação e sinterização (SILVA, 2011; OJAIMI, 2014; SANTOS, 2016).

5.1.2. Difractometria de raios-X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Figura 5.1 apresenta difratogramas obtidos por DRX, no intervalo entre $20,0$ e $60,0^\circ$ dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$. Esse intervalo apresenta os picos principais das fases da $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ e da ZrO_2 tetragonal (JCPDS, 2003). É possível observar somente a presença das fases da $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ e ZrO_2 tetragonal nos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$. Além disso, conforme o esperado, os picos referentes à fase de $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ apresentaram maior intensidade, indicando que esta fase é predominante.

Figura 5.1– Difratomogramas obtidos por DRX dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$.

Fonte: Própria autoria.

A Figura 5.2 apresenta uma micrografia obtida por MEV da superfície polida e atacada termicamente do corpo de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ antes de ser submetido ao tratamento superficial por plasma frio. É possível observar que as inclusões nanométricas de ZrO_2 (regiões mais claras) estão bem dispersas na matriz de Al_2O_3 (regiões mais escuras). As inclusões de ZrO_2 nessas posições favorecem o efeito *pinning* nos contornos de grãos da matriz, inibindo assim o seu crescimento (SANTOS et al., 2017). Além disso, é possível observar uma microestrutura densa, e mínima presença de espaços intersticiais vazios ou poros, demonstrando que estão de acordo com os resultados de D.A obtidos.

Figura 5.2 – Micrografia obtida por MEV do corpo de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$.

Fonte: Própria autoria.

5.2. Caracterização dos corpos de prova após o tratamento superficial por plasma frio

A seguir serão apresentados os resultados referentes às caracterizações realizadas nas superfícies dos corpos de prova de Al_2O_3 , ZrO_2 e $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ após serem submetidos ao tratamento por plasma frio, usando diferentes proporções dos fluxos de gases de N_2 e O_2 , e fluxo constante de 50 % de H_2 e dois tipos de pulsos quadrados de tensão, denominados como I e II. As caracterizações realizadas têm por finalidade compreender melhor como ocorre o processo de interação entre as espécies geradas pela descarga de gás do plasma e os grupos funcionais presentes nas superfícies desses corpos de prova.

5.2.1. Espectroscopia de emissão ótica (OES)

As Figuras 5.3 (a) e (b) apresentam, respectivamente, os espectros de OES, na região entre 200 e 900 nm, das espécies ativas do plasma formadas sobre as superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente por plasma frio usando os pulsos I e II. Um exemplo das curvas deconvoluídas dos espectros de OES, na mesma região espectral, da composição gasosa 4N5H1O e usando o pulso II está apresentado na Figura 5.4. Esse intervalo espectral é característico somente dos picos referentes às espécies ativas do plasma na superfície do corpo de prova. As atribuições dos picos nessa região foram realizadas segundo o NIST (NIST, 2020).

Figura 5.3 – Espectros de OES dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente por plasma frio usando (a) pulso I e (b) pulso II.

Fonte: Própria autoria.

Figura 5.4 – Curvas deconvoluídas dos espectros de OES dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente por plasma frio usando a composição gasosa 4N5H1O e pulso II.

Fonte: Própria autoria.

Os picos observados em ~337 e 353 nm (Figuras 5.3 (a) e (b)) podem ser atribuídos a espécie molecular N_2 (QAYYUM et al., 2005; NEHRA et al., 2008). Enquanto os picos em ~391 e 427 nm podem ser associados a espécie iônica N_2^+ (QAYYUM et al., 2007). Já os picos em ~486 e 529 nm e em ~588 e 656 nm correspondem as espécies atômicas H_β e H_α , respectivamente (MÉNDEZ et al., 2006; YOON et al., 2008). Por fim, o pico observado em ~777 nm pode ser relacionado a espécie atômica O (KRSTULOVIC et al., 2006).

De maneira geral, variações nas intensidades luminosas dos picos atribuídos as espécies ativas dos gases de N_2 , H_2 e O_2 foram observadas em todas as composições gasosas. Para o pulso I, a condição 5N5H foi a que apresentou maior intensidade de pico N_2^+ comparativamente ao pico de N_2 , enquanto para o pulso II o máximo aconteceu em 4N5H1O. Para uma atmosfera com pressão constante, a intensidade luminosa do comprimento de onda correspondente àquela espécie, depende da concentração, taxa de colisão e de recombinação da mesma (ALVES JÚNIOR, 2001).

Por outro lado, quando se compara as duas espécies atômicas H_α e H_β , a intensidade luminosa do pico de H_α é maior se comparado à intensidade do pico de H_β em ambas as condições (pulsos I e II). Esse comportamento pode ser explicado pela emissão de radiação em números de onda mais próximos das espécies N_2^+ (391 nm) e H_β (486 nm). Enquanto que a espécie H_α (656 nm) emite radiação em números de onda mais afastados. Além disso, o aumento do número de colisões de maior energia pode aumentar a frequência da radiação de emissão de N_2^+ e H_β , uma vez que essas espécies emitem fótons mais energéticos do que a espécie atômica H_α (HIROHATA et al., 2001; IVKOVIC et al. 2004; MÉNDEZ et al. 2006; SHARMA, SAIKIA 2008).

Méndez et al. (2006) sugerem ainda que a presença de moléculas de H_2 na descarga luminescente tem implicações diretas na energia envolvida no processo de excitação e ionização de suas espécies ativas (MÉNDEZ et al., 2006). De acordo com os mesmos autores, outro fator que também pode contribuir para o aumento da intensidade luminosa das espécies ativas do gás N_2 é a pressão parcial. Segundo eles, menores quantidades de elétrons livres se encontram em pressões parciais menores de um determinado gás, provocando maior luminosidade (MÉNDEZ et al., 2006). Esse comportamento pode ser explicado pela maior força Coulombiana necessária para extrair elétrons nessa situação. Dessa forma, para alcançar a corrente elétrica de trabalho de 0,40 a 0,45 A, a tensão elétrica deve ser aumentada. Consequentemente, portadores de carga que sofrem influência desse maior campo elétrico gerado, sobretudo os elétrons, adquirem maior energia cinética, promovendo colisões com energia suficiente para excitar átomos, moléculas, e íons presentes no plasma. Essas colisões

de maior energia explicam o brilho mais intenso da descarga de N_2 quando pressões parciais são menores (QAYYUM et al., 2005).

A intensidade luminosa das espécies ativas do gás O_2 foi menor se comparado às espécies dos gases N_2 e H_2 em todas as composições gasosas (exceto 5H5O). Segundo Itikawa (2009), a taxa de dissociação das moléculas de O_2 é menor que a taxa de dissociação das moléculas de N_2 . Nesse sentido, a menor intensidade das espécies ativas provenientes do gás O_2 pode estar associada ao seu potencial de dissociação (ITIKAWA, 2009).

Dessa forma, as mudanças observadas nas intensidades luminosas das espécies ativas N_2 , N_2^+ , H_α , H_β e O formadas sobre as superfícies dos corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 (Figura 5.3 (a) e (b)) podem estar associadas tanto ao potencial de ionização dos gases de N_2 , H_2 e O_2 quanto à variação de tensão e correntes elétricas (HIROHATA et al., 2001; GOLUBOVSKY et al. 2002; QAYYUM et al. 2005).

As Figuras 5.5 (a) e (b) apresentam, respectivamente, os gráficos das áreas absolutas totais sob as curvas deconvoluídas dos espectros de OES, na região entre 200 e 900 nm, das espécies ativas do plasma formadas sobre as superfícies dos corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 tratados superficialmente por plasma frio usando os pulsos I e II.

Figura 5.5 – Áreas0 absolutas totais sob as curvas deconvoluídas dos espectros de OES das espécies ativas do plasma formadas nas superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente por plasma frio usando (a) pulso I e (b) pulso II.

Fonte: Própria autoria.

De maneira geral, e independentemente do pulso utilizado, a área absoluta total dos picos atribuídos às espécies N_2^+ foi consideravelmente maior do que das espécies N_2 sobre as superfícies dos corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 , exceto na composição gasosa 5H5O. Segundo Qayyum et al. (2005) e Nehra et al. (2008), a espécie N_2 (C^3II_u) pode ser formada pela excitação direta do impacto de elétrons (com energias acima do limiar de excitação) do estado fundamental de N_2 ($X^1\Sigma_g^+$), conforme Equação 5.1 (QAYYUM et al., 2005; NEHRA et al., 2008).

Já a espécie N_2^+ ($B^2\Sigma_u^+$) geralmente é formada pela dissociação da molécula de N_2 , que ocorre em dois estágios: (i) excitação direta dos elétrons, conforme apresentado na Equação 5.2 (QAYYUM et al. 2007).

ou (ii) via ionização por impacto de elétrons da molécula de N_2 e, em seguida, subsequente excitação de impacto de elétrons do íon molecular, conforme apresentado nas Equações 5.3 e 5.4 (QAYYUM et al. 2007).

Méndez et al. (2006) e Yoon et al. (2008) relatam que as espécies ativas do gás H_2 são formadas, em diferentes estágios, como por exemplo, excitação vibracional e desexcitação por colisões de elétrons ou pela associação de dois átomos de hidrogênio, conforme apresentado nas Equações 5.5 e 5.6 (MÉNDEZ et al., 2006; YOON et al., 2008).

De acordo com as linhas espectrais de Balmer (SKOOG et al., 2006), as espécies ativas do gás H_2 podem ainda ser designadas como H_α para n igual a três ($n = 3 \rightarrow 2$) e H_β para n

igual quatro ($n = 4 \rightarrow 2$), conforme mostrado nas Equações 5.7 e 5.8. As linhas espectrais de Balmer correspondem às transições de níveis superiores de energia com n igual ou superior a três, para o nível inferior n igual a dois do átomo de hidrogênio. (SOUZA CORRÊA, 2009; SILVA, 2013).

A espécie O é formada principalmente pela dissociação das moléculas de O₂, sem a formação de íons, conforme mostrado na Equação 5.9 (KRSTULOVIC et al., 2006).

Em todas as composições gasosas estudadas, a área absoluta total dos picos atribuídos às espécies N₂ e N₂⁺ foi significativamente maior do que a área absoluta total dos picos atribuídos às espécies H_α, H_β e O. Esse fato indica que há maior quantidade das espécies ativas provenientes do gás N₂ do que espécies ativas provenientes do gás H₂ ou O₂ nas superfícies dos corpos de prova de Al₂O₃/ZrO₂. Nesse sentido, nas condições estudadas (pulso I e II), sugere-se que o gás N₂ pode ser o responsável principal pelas modificações químicas nas superfícies dos corpos de prova.

5.2.2. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As Figuras 5.6 (a) e (b) apresentam, respectivamente, os espectros de FTIR, na região entre 400 e 1000 cm⁻¹, dos corpos de prova de Al₂O₃/ZrO₂ tratados superficialmente por plasma frio usando os pulsos I e II.

Figura 5.6 – Espectros de absorção de FTIR dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente por plasma frio usando (a) pulso I e (b) pulso II.

Fonte: Própria autoria.

Para melhor análise dos espectros de FTIR dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$, espectros dos corpos de prova de Al_2O_3 e ZrO_2 submetidos as mesmas condições de tratamento superficial por plasma frio usando os pulsos I e II foram obtidos. Assim, a partir desses espectros foi possível identificar as bandas de absorção características dos grupos funcionais Al-O e Zr-O. Dessa forma, os espectros de FTIR dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ foram analisados e as suas bandas de absorção atribuídas de acordo com as bandas observadas nos espectros de Al_2O_3 e ZrO_2 .

As Figuras 5.7 (a) e (b) apresentam, respectivamente, um exemplo das curvas deconvoluídas dos espectros de FTIR, na região entre 400 e 1000 cm^{-1} , dos corpos de prova de Al_2O_3 e ZrO_2 tratados com a composição 4N5H1O e usando os pulsos I e II.

Figura 5.7 – Curvas deconvoluídas dos espectros de FTIR dos corpos de prova de Al_2O_3 e ZrO_2 tratados superficialmente por plasma frio com a composição gasosa 4N5H1O usando (a) pulso I e (b) pulso II.

Fonte: Própria autoria.

A Tabela 5.1 apresenta as atribuições das bandas de absorção, na região entre 400 e 1000 cm^{-1} , dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso I e o pulso II. As atribuições das bandas de absorção dos corpos de prova foram realizadas segundo observado nas bandas deconvoluídas dos espectros dos corpos de prova de Al_2O_3 e ZrO_2 na região espectral estudada.

Tabela 5.1 – Atribuições das bandas de absorção (cm^{-1}) observadas nos espectros de FTIR dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso I e pulso II.

Pulso I	Pulso II	Atribuições	Referências
412	412	$\vartheta_{\text{Zr-O}}$	(SAHU, RAO 2000)
544	430, 544		*
-	566		(CAVALU et al. 2014a)
586	586		(CAVALU et al. 2014b)
608	608, 649		(VITANOV et al. 2014)
-	681, 688		(VITANOV et al. 2014)
716	716		*
727, 736	-		*
447	447	$\delta_{\text{Zr-O-Zr}}$	(PRAKASHBABU et al. 2014)
496	496	$\vartheta_{\text{aZr-O}}$	(MANIVASAKAN et al. 2013)
427, 443	427, 443	$\vartheta_{\text{Al-O}}$	*
461, 468	461, 468		*
474, 478	474, 478		*
492	492		(BOUMAZA et al. 2009; SHEN et al. 2012)
533, 574	533, 574		(MEHER et al. 2005)
622	622		(LOGHMAN-ESTARKI et al. 2016)
637, 643	637, 643		(PENG et al. 2011)
666	666		(FAVARO et al. 2010)
-	673		(AMIRSALARI, SAYESTEH 2015)
-	705		*
-	720		(FAVARO et al. 2010)
-	768		(SHAHIEN et al. 2013)
781	781		(YELTEN et al. 2012)
794, 835	794, 835		(YELTEN et al. 2012)
844, 856	844, 856		(MEHER et al. 2005)
887, 893	887, 893		*
911	911, 918		*
930, 947	930, 941		*
953	953		(YELTEN et al. 2012)
453, 481	453, 481	$\vartheta_{\text{Me-O}}$	*
653	653, 744		*

ϑ = vibração de estiramento; ϑ_a = vibração de estiramento assimétrico; δ = vibração de deformação angular; ϑ_{Me} = vibração de estiramento metal (Me = Zr ou Al).

*bandas de absorção não encontradas na literatura.

Fonte: Própria autoria.

Nos espectros de FTIR dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados tanto pelo pulso I quanto pelo pulso II, bandas de absorção em $\sim 412, 430, 544, 566, 586, 608, 649, 681, 688, 716, 727, \text{ e } 736 \text{ cm}^{-1}$ atribuídas a vibração de estiramento do grupo funcional Zr-O ($\vartheta_{\text{Zr-O}}$) são observadas. Já a banda em $\sim 447 \text{ cm}^{-1}$ é atribuída a vibração de deformação angular do grupo funcional Zr-O-Zr ($\delta_{\text{Zr-O-Zr}}$). Uma banda resultante da vibração de estiramento assimétrico do grupo funcional Zr-O ($\vartheta_{a\text{Zr-O}}$) é observada em $\sim 496 \text{ cm}^{-1}$. As bandas associadas à vibração de estiramento do grupo funcional Al-O ($\vartheta_{\text{Al-O}}$) são: $\sim 427, 443, 461, 468, 474, 478, 492, 533, 574, 622, 637, 643, 666, 673, 705, 720, 768, 781, 794, 835, 844, 856, 887, 893, 911, 918, 930, 941, 947, 953 \text{ cm}^{-1}$.

As bandas de absorção em $\sim 453, 481, 653 \text{ e } 744 \text{ cm}^{-1}$ foram observadas tanto nos espectros dos corpos de prova de Al_2O_3 quanto nos espectros da ZrO_2 . Por essa razão, essas bandas foram atribuídas tanto a vibração de estiramento Me-O do grupo Al-O quanto a vibração de estiramento Me-O do grupo funcional Zr-O ($\vartheta_{\text{Me-O}}$).

As Figuras 5.8 (a) e (b) apresentam, respectivamente, os gráficos das áreas absolutas totais das bandas de absorção atribuídas aos grupos funcionais da Al_2O_3 , ZrO_2 e Me_xO_y . Essas áreas foram obtidas dos espectros de FTIR, na região entre $400 \text{ e } 1000 \text{ cm}^{-1}$, dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente por plasma frio usando os pulsos I e II.

Figura 5.8 – Área absoluta total dos grupos funcionais da Al_2O_3 , ZrO_2 e Me_xO_y (obtidas por FTIR) dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente por plasma frio usando

(a) pulso I e (b) pulso II.

Fonte: Própria autoria.

De maneira geral, as áreas absolutas dos grupos funcionais atribuídos à Al_2O_3 foram maiores, independentemente da composição gasosa e/ou pulso utilizado. Isso já era esperado, uma vez que a Al_2O_3 está em quantidade majoritária nos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$. Por

outro lado, foi possível observar que tanto os grupos funcionais da Al_2O_3 quanto os da ZrO_2 foram afetados pelo tratamento superficial, conforme mostrado na (Figura 5.8 (b)). No entanto, os grupos funcionais atribuídos a ZrO_2 (presente em menor quantidade) foram mais influenciados pelo tratamento se comparados aos grupos funcionais da Al_2O_3 . Esse comportamento pode ser claramente observado nos corpos de prova tratados pelo pulso II (Figura 5.8b). Isso é bastante interessante, pois se esperava uma maior influência da Al_2O_3 , uma vez que se encontra em maior quantidade. Além disso, os resultados observados nesse estudo estão de acordo com o observado em outros tipos de tratamentos realizados em corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$, como por exemplo, tratamentos químicos. Uchida et al. (2002), Faga et al. (2012) e Santos et al. (2017) realizaram tratamentos superficiais em compósitos e nanocompósitos de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ usando ácido fosfórico (H_3PO_4). Os resultados obtidos demonstraram que os grupos funcionais da ZrO_2 foram mais influenciados pelo tratamento químico do que os grupos funcionais da Al_2O_3 (UCHIDA et al., 2002; FAGA et al. 2012; SANTOS et al., 2017).

Outra característica importante observada foi em relação ao tipo de pulso utilizado durante o tratamento. Segundo o coeficiente de Pearson, não existe nenhuma correlação entre a variação dos gases de N_2 e O_2 e as áreas absolutas atribuídas aos grupos funcionais superficiais dos corpos de prova tratados pelo pulso I. Por outro lado, existe uma forte correlação entre gases/grupos funcionais da ZrO_2 ($r_{\text{área total de ZrO}_2/\text{N}_2} = 0,87$; $r_{\text{área total de ZrO}_2/\text{O}_2} = -0,87$). Esse fato sugere que as composições gasosas utilizadas não são as únicas responsáveis pelas modificações nos grupos funcionais presentes nas superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$. Além disso, pode-se observar que os grupos funcionais da ZrO_2 foram mais afetados pela variação do N_2 na composição usando o pulso II do que os grupos funcionais da Al_2O_3 . Ressalta-se que apesar das espécies ativas do gás O_2 estarem em menor quantidade, elas são suficientes para modificar os grupos funcionais da ZrO_2 .

De acordo com Bredow (2007), durante a nitretação de materiais cerâmicos, como por exemplo, ZrO_2 , pode ocorrer a formação de defeitos. Com isso, supõe-se que dois átomos de nitrogênio podem promover a substituição de três átomos de oxigênio intersticiais. Dessa forma, para manter a neutralidade da carga, uma vacância de oxigênio geralmente pode ser formada (BREDOW, 2007). Segundo esse mesmo autor, diferentes arranjos estáveis de vacância de oxigênio e átomos de nitrogênio substitucionais podem ser formados. Contudo, a formação desses arranjos dependerá da quantidade de N_2 presente na mistura gasosa (BREDOW, 2007).

Nesse sentido, sugere-se que durante o tratamento dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$, uma atmosfera rica em espécies ativas do gás N_2 pode ser formada na vizinhança da superfície. Assim como, a formação de estruturas deficientes em oxigênio também pode ocorrer, uma vez que são termodinamicamente menos estáveis quando comparadas às estruturas que possuem um excesso de oxigênio. Ressalta-se ainda que nos estados fundamentais das moléculas de O_2 e N_2 , a ligação dupla do O_2 ($\text{O} = \text{O}$) é mais fraca do que a ligação tripla em N_2 ($\text{N} \equiv \text{N}$) (BREDOW, 2007). Nesse sentido, mudanças observadas na quantidade dos grupos funcionais da Al_2O_3 e ZrO_2 nas superfícies dos corpos de prova podem estar associadas a presença do gás N_2 , assim como à formação de defeitos intersticiais.

De modo geral, o tratamento por plasma frio usando diferentes parâmetros, como composições gasosas e pulsos, promoveu modificações nos grupos funcionais presentes na superfície dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$, conforme observado nas análises de FTIR. Ressalta-se, no entanto, que essas modificações foram significativamente menores nos corpos de prova tratados usando o pulso I, independentemente da composição gasosa. Dessa forma, o pulso II se mostrou como um parâmetro promissor nas modificações da superfície dos corpos de prova. Com base nos resultados, optou-se pelo pulso II para dar continuidade aos tratamentos realizados. Por este motivo, as caracterizações apresentadas a partir do subitem 5.2.3 são relacionadas apenas aos corpos de prova tratados com diferentes proporções dos fluxos de gases de N_2 e O_2 , e fluxo constante de 50 % de H_2 , usando somente o pulso II.

5.2.3. Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS)

A Figura 5.9 apresenta os espectros de XPS, na região de energia dos fotoelétrons do Al_{2p} , N_{1s} , O_{1s} , e Zr_{3d} , dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso II.

Figura 5.9 – Espectros de XPS na região fotoeletrônica Al_{2p} , N_{1s} , O_{1s} , e Zr_{3d} dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso II.

Fonte: Própria autoria.

De maneira geral, variações nas intensidades dos picos na região fotoeletrônica Al_{2p} , N_{1s} , O_{1s} e Zr_{3d} foram observadas nas diferentes condições estudadas. O pico em ~ 287 eV atribuído ao componente padrão C_{1s} sugere uma possível contaminação na superfície dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ em todas as condições. Levando-se em consideração a intensidade relativa dos picos em todos os corpos de prova, o pico atribuído ao componente O_{1s} apresentou menor intensidade nos corpos de prova tratados com as composições gasosas $2\text{N}5\text{H}3\text{O}$, $3\text{N}5\text{H}2\text{O}$, e $4\text{N}5\text{H}1\text{O}$. Por outro lado, no corpo de prova não tratado o pico desse componente apresentou maior intensidade. Isso sugere que durante o tratamento por plasma frio, existe uma competição entre os processos de redução, *sputtering* e deposição de óxidos/nitretos na superfície dos corpos de prova.

Além disso, à medida que a proporção dos fluxos de gases de N_2 e O_2 aumenta ou diminui na mistura, modificações na cinética de reação da superfície são promovidas. Ressalta-se ainda que as espécies provenientes do gás H_2 têm como função principal reduzir os óxidos presentes na superfície e/ou na atmosfera do plasma, enquanto as espécies dos gases N_2 e O_2 podem ser absorvidas na superfície da Al ou Zr. No entanto, o N_2 também possui função redutora, uma vez que pode promover a dissociação do óxido pelo processo de *sputtering*.

A Tabela 5.2 apresenta as porcentagens atômicas atribuídas aos picos na região de energia dos fotoelétrons do Al_{2p} , N_{1s} , O_{1s} , e Zr_{3d} . Essas porcentagens foram obtidas a partir dos espectros de XPS deconvoluídos, na região entre 0 e 1400 eV, das superfícies dos corpos de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ nas diferentes condições estudadas. As atribuições dos picos foram realizadas segundo a literatura.

Tabela 5.2 – Energia de ligação (EL) e percentual atômica (%) na região dos fotoelétrons do Al_{2p}, N_{1s}, O_{1s}, e Zr_{3d} dos corpos de prova de Al₂O₃/ZrO₂ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso II.

Condições de tratamento														
Região	5N5H		4N5H1O		3N5H2O		2N5H3O		1N5H4O		5H5O		ST	
Fotoeletrônica	EL	(%)	EL	(%)	EL	(%)	EL	(%)	EL	(%)	EL	(%)	EL	(%)
	(eV)	Atôm.	(eV)	Atôm.	(eV)	Atôm.	(eV)	Atôm.	(eV)	Atôm.	(eV)	Atôm.	(eV)	Atôm.
N1s	395	29,7	395	18,4	395	43,5	396	16,2	395	12,7	-	-	396	25,7
	397	37,9	397	12,8	-	-	399	34,2	399	18,9	399	46,9	399	74,3
	399	32,4	399	14,1	400	56,5	-	-	401	59,6	401	22,3	-	-
	-	-	401	54,7	-	-	401	49,5	406	8,9	406	30,8	-	-
O1s	529	28,7	529	41,3	529	28,0	529	46,2	529	68,6	529	58,3	-	-
	530	44,5	530	18,5	530	37,1	530	29,1	530	12,5	530	21,7	530	85,9
	531	22,0	531	24,1	531	24,7	531	18,3	531	16,3	531	10,3	531	5,0
	532	4,8	532	16,1	532	10,2	532	6,5	532	2,7	532	9,7	532	9,3
Zr3d	181	62,6	181	55,6	181	63,7	181	71,8	182	73,4	181	73,3	181	61,3
	183	37,4	184	44,4	184	36,3	184	28,2	184	26,6	184	26,7	184	38,7
Al2p	73	9,6	74	5,5	74	7,0	74	5,8	74	6,3	74	4,9	73	26,2

Fonte: Própria autoria.

No corpo de prova não tratado, o pico observado em ~ 531 eV pode ser associado a ZrO_2 (BASAHHEL et al. 2015), e em ~ 530 eV a Al_2O_3 , enquanto o pico em ~ 532 eV é atribuído ao oxigênio adsorvido (REDDY et al., 2014). Após o tratamento superficial por plasma frio, o pico referente à Al_2O_3 (~ 530 eV) se decompõem, dando origem a um terceiro pico em ~ 529 eV, com maior concentração atômica que os demais picos, exceto nos corpos de prova tratados com as composições gasosas 3N5H2O e 5N5H. Uma vez que durante o tratamento por plasma frio ocorre um processo competitivo de redução dos óxidos pelo H_2 e reabsorção (pela presença do O_2 e/ou N_2), sugere-se que o pico em ~ 529 eV esta associado a formação de óxidos metaestáveis na superfície dos corpos de prova. Quando apenas os gases O_2 e H_2 estão presentes no fluxo (5H5O), um decréscimo de 85,9 % para 21,7 % no percentual atômico do pico em ~ 530 eV é observado. Essa diferença indica que a energia de ligação foi distribuída para os picos em ~ 529 e ~ 531 eV. Por outro lado, se o gás N_2 é adicionado ao fluxo ($1\text{cm}^3/\text{min}$) em substituição a mesma vazão do gás H_2 (1N5H4O), verifica-se que o percentual atômico do pico em ~ 530 eV diminui para 12,5 %. Para maiores fluxos do gás N_2 , os percentuais atômicos variam entre 44,5 % e 18,5 % para esse mesmo pico. Em todos os corpos de prova foi possível observar dois picos relacionados ao componente Zr_{3d} . Segundo a literatura picos em ~ 180 eV pode ser associados a formação de nitreto de zircônio (ZrN) (RIZZO et al., 2010; ROMAN et et al., 2011; RIZZO et al., 2012; RTIMI et al., 2013; CUBILLOS et al., 2014; FREITAS, 2016). Ma et al. (2015) sugerem ainda que o componente Zr_{3d} geralmente varia de fracamente oxidado (~ 179 eV) para mais oxidado (~ 183 eV) (MA et al., 2015). No corpo de prova não tratado, o pico observado em ~ 74 eV no componente Al_{2p} pode ser associado a Al_2O_3 (CAVALU et al., 2014; YANG et al., 2014). Após o tratamento superficial por plasma frio, é possível observar que o percentual atômico desse pico diminui consideravelmente.

5.2.4. Microscopia confocal

A Figura 5.10 apresenta os valores de rugosidade média superficial, obtidos por microscopia confocal, dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado (ST) e tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso II.

Figura 5.10 – Valores de rugosidade média superficial dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando pulso II.

Fonte: Própria autoria.

Nos corpos de prova tratados, os valores de rugosidade média superficial determinada variaram entre $0,051 \pm 0,002 \mu\text{m}$ e $0,065 \pm 0,006 \mu\text{m}$. Dentre as condições estudadas, os corpos de prova tratados com a composição gasosa 5N5H apresentaram maior valor de rugosidade média superficial ($0,065 \pm 0,006 \mu\text{m}$). O corpo de prova não tratado apresentou valor de rugosidade média superficial igual a $0,047 \pm 0,002 \mu\text{m}$. Esses resultados sugerem que a rugosidade na superfície dos corpos de prova tratados foi ligeiramente afetada, visto que os valores de rugosidade não apresentaram variações expressivas.

Geralmente a rugosidade média superficial está associada ao conjunto de desvios micro geométrico, caracterizado pela presença de saliências nas superfícies (BRUNETE, 1988; RIBEIRO et al., 2014). Além disso, a presença de defeitos, definidos em termos de rugosidade superficial, garante uma adesão mais efetiva quando se idealiza o recobrimento superficial do substrato (SANTOS, 2016; SANTOS et al., 2018). Consequentemente, as diferenças observadas na rugosidade superficial podem atuar como sítios iniciantes para nucleação e posterior crescimento de cristais de fosfatos de cálcio (UCHIDA et al., 2002).

5.2.5. Ângulo de contato

Diferenças na molhabilidade de superfícies lisas e rugosas são observadas, uma vez que, a rugosidade afeta diretamente a forma como a superfície pode ser molhada (OLIVEIRA, 2010). Por exemplo, ângulos de contato menores que 90° indicam que o substrato é molhado por um líquido polar, ou seja, a superfície apresenta caráter hidrofílico. Por outro lado, ângulos de contato maiores que 90° indica que o substrato não é molhado pelo líquido polar, neste caso a superfície é considerada hidrofóbica (KIMURA et al., 2016). As Figuras 5.11 (a) e (b) apresentam, respectivamente, imagens do ângulo de contato de uma gota de água deionizada depositada sobre superfície hidrofóbica e hidrofílica usando o método da gota séssil estática.

Figura 5.11 – Ângulo de contato característico do método da gota séssil de uma (a) superfície hidrofóbica e de uma (b) superfície hidrofílica.

Fonte: Própria autoria.

O ângulo de contato, bem como a tensão superficial de uma gota pode ser determinado pelo seu comportamento quando em contato com um líquido e/ou sólido (BERTHIER, BRAKKE, 2012). Dessa forma, uma medida quantitativa da afinidade entre a superfície e o líquido é obtida (LOPES, 2012). Para isso, geralmente dois ou mais líquidos são utilizados (EID, PANTH, SOMMERS, 2018).

No presente trabalho, os valores de ângulo de contato e tensão superficial foram medidos utilizando dois líquidos. A molhabilidade dos corpos de prova foi avaliada usando água deionizada e solução de SBF 5,0x. Já a tensão superficial foi determinada usando glicerina e solução de SBF 5,0x.

As Figuras 5.12 (a) e (b) apresentam, respectivamente, os valores de ângulo de contato medidos, no intervalo entre 1 e 100 s, das superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado (ST) e tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso II. A escolha dos dois

intervalos de tempo utilizado foi para avaliar o período de acomodação da gota de água, bem como da solução de SBF na superfície dos corpos de prova. É possível observar que para o tempo de 1s de análise, a gota de água já atingiu praticamente o equilíbrio, uma vez que em 100 s, o ângulo de contato não apresentou variações expressivas. No entanto, a gota da solução de SBF em 100 s possui valor diferente do obtido no tempo de 1 s, tendendo para ângulos de contato, no equilíbrio, menores que o da água deionizada.

Figura 5.12 – Valores dos ângulos de contato medidos (a) com água e (b) com solução de SBF 5,0x nos intervalos entre 1 e 100 s das superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso II.

Fonte: Própria autoria.

Nas superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ avaliados usando água deionizada, os valores de ângulo de contato medidos no tempo de 1 s variaram entre $70,23 \pm 0,16^\circ$ e $117,00 \pm 0,26^\circ$. Dentre as condições de tratamentos estudadas, os corpos de prova tratados com a composição 4N5H1O apresentaram menor valor de ângulo de contato ($70,23 \pm 0,16^\circ$). Enquanto os valores de ângulo de contato determinados nas demais superfícies foram de: $82,02 \pm 0,04^\circ$ (2N5H3O), $85,84 \pm 1,90^\circ$ (3N5H2O), $87,23 \pm 0,14^\circ$ (5N5H), $94,02 \pm 0,37^\circ$ (5H5O) e $117,00 \pm 0,26^\circ$ (1N5H4O).

Já os valores de ângulo de contato determinados no tempo de 100 s para o mesmo líquido variaram entre $66,91 \pm 1,08^\circ$ e $99,04 \pm 1,45^\circ$. Além disso, os valores de ângulo determinados seguem a mesma ordem de tratamento observada no tempo de 1 s: $66,91 \pm 1,08^\circ$ (4N5H1O), $76,67 \pm 1,02^\circ$ (2N5H3O), $80,57 \pm 0,48^\circ$ (3N5H2O), $83,04 \pm 1,01^\circ$ (5N5H), $91,62 \pm 0,46^\circ$ (5H5O) e $99,04 \pm 1,45^\circ$ (1N5H4O). Nas superfícies não tratadas, os valores de ângulo de contato variaram entre $96,85 \pm 1,43^\circ$ (100 s) e $109,50 \pm 1,39^\circ$ (1 s).

Nas superfícies dos corpos de prova avaliados usando solução de SBF 5,0x, os valores de ângulo de contato medidos no tempo de 1 s variaram entre $61,07 \pm 2,96^\circ$ e $93,59 \pm 1,56^\circ$. Sendo que os corpos de prova tratados com a composição gasosa 1N5H4O apresentaram menor valor de ângulo de contato ($61,07 \pm 2,96^\circ$). Os valores de ângulo de contato medidos nas demais superfícies foram de: $62,84 \pm 0,43^\circ$ (3N5H2O), $75,68 \pm 1,56^\circ$ (5H5O), $85,24 \pm 1,53^\circ$ (4N5H1O), $89,10 \pm 1,29^\circ$ (5N5H) e $93,59 \pm 1,56^\circ$ (2N5H3O).

Os valores de ângulo de contato observados no tempo de 100 s para o mesmo líquido variaram entre $48,62 \pm 1,59^\circ$ e $80,92 \pm 2,23^\circ$. No entanto, os valores de ângulos obtidos não seguem a mesma ordem de tratamento observada no tempo de 1 s: $48,62 \pm 1,59^\circ$ (1N5H4O), $54,86 \pm 2,01^\circ$ (3N5H2O), $55,72 \pm 0,17^\circ$ (4N5H1O), $65,96 \pm 0,50^\circ$ (5H5O), $77,95 \pm 0,75^\circ$ (2N5H3O) e $80,92 \pm 2,23^\circ$ (5N5H). Por fim, nas superfícies não tratadas os ângulos de contato variaram entre $54,64 \pm 0,93^\circ$ (100 s) e $63,36 \pm 0,76^\circ$ (1 s).

De maneira geral, variações nos valores de ângulo de contato na superfície dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ foram observadas em todas as condições de tratamento. Ressalta-se, no entanto, que dependendo do líquido usado, aumento e/ou diminuição do ângulo de contato são observados. Por exemplo, nas superfícies avaliadas com água deionizada e no tempo de 1 s, os corpos de prova tratados com a composição gasosa 4N5H1O apresentaram menor valor de ângulo de contato ($70,23 \pm 0,16^\circ$) se comparados às superfícies não tratadas ($109,50 \pm 1,39^\circ$). No entanto, para o mesmo período e usando solução de SBF 5,0x, esses corpos de prova exibiram maior ângulo ($85,24 \pm 1,53^\circ$) do que as superfícies que não receberam tratamento ($63,36 \pm 0,76^\circ$).

Dessa forma, as mudanças observadas nos valores de ângulos de contato sugerem que a superfície dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ possuem afinidade com os líquidos usados (SOARES et al., 2013). Segundo Brandão et al. (2010) uma superfície com maior molhabilidade, apresenta melhor afinidade por adsorção, o que pode determinar o tipo de comportamento dessa superfície, hidrofílica ou hidrofóbica (BRANDÃO et al., 2010).

Outra característica importante observada foi em relação ao tipo de gás presente na composição durante o tratamento. As superfícies tratadas em composições gasosas com N_2 e O_2 apresentaram maior molhabilidade quando o gás N_2 está presente em quantidade superior. Apesar disso, nenhuma correlação entre a variação dos gases de N_2 e O_2 e a molhabilidade dos corpos de prova foi observada. Assim como, aparentemente, a molhabilidade dos corpos de prova tratados não foi afetada pelo sutil aumento de rugosidade ($r_{\text{rugosidade/molhabilidade}} = -0,49$). Esse fato sugere que as composições gasosas utilizadas não são as únicas responsáveis pelas modificações nos grupos funcionais presentes nas superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$. De maneira geral, trabalhos publicados na literatura relatam apenas a modificação superficial de cerâmicas de ZrO_2 . Diferentes autores relatam a formação de grupos hidrofílicos após a realização de tratamentos superficiais por plasma. Assim, a presença de tais grupos polares pode aumentar a energia livre da superfície, e, conseqüentemente, aumentar a molhabilidade da superfície (SILVA et al. 2011; VALVERDE et al. 2013; SHON et al. 2014; LOPES et al. 2014; WU et al. 2015; ITO et al. 2016; TABARI et al. 2017).

5.2.6. Energia superficial

Considerando que 100 s foram suficientes para a gota entrar em equilíbrio, foi utilizado esse tempo para medir o ângulo de contato (AC) e a energia superficial (ES) dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso II. Para essas medidas, foram utilizados a solução de SBF e glicerol, que são líquidos de coordenadas polares e dispersivas conhecidas, e foram baseadas no método da média geométrica, desenvolvido por Fowkes (FOWKES, 1964). Os valores dos ângulos de contato e energia superficial dos corpos de prova são apresentados na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Valores de energia superficial (ES) medidos com solução de SBF 5,0x e glicerina no tempo de 100 s das superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando o pulso II.

Condições de tratamento	Ângulo de contato (θ°)		Energia superficial (mN/m)	
	SBF	Glicerina	SBF	Glicerina
5N5H	80,92	84,97	31,74	32,82
4N5H1O	65,96	78,81	30,31	33,61
3N5H2O	55,72	85,01	33,56	38,42
2N5H3O	54,86	53,78	30,04	32,43
1N5H4O	77,95	82,52	24,09	30,06
5H5O	48,62	60,91	23,79	25,53
ST	54,64	52,56	29,89	23,65

Fonte: Própria autoria.

Nas superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ avaliados usando solução de SBF 5,0x, os valores de energia superficial medidos variaram entre 23,79 mN/m e 31,74 mN/m. Os corpos de prova tratados com a composição 1N5H4O apresentaram menor valor de energia superficial (24,09 mN/m). Enquanto os valores de energia superficial determinado nas demais superfícies foram superiores ao valor do corpo não tratado.

Nas superfícies dos corpos de prova avaliados usando glicerina, os valores de energia superficial medido variaram entre 23,65 mN/m e 38,42 mN/m. Os corpos de prova tratados com a composição 5H5O apresentaram menor valor de energia superficial (25,53 mN/m). No corpo de prova não tratado o valor de energia superficial observado foi de 23,65 mN/m.

De maneira geral, variações nos valores de energia superficial dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ foram observados em todas as condições de tratamento. Pode-se observar ainda na Tabela 5.3, que conforme aumenta à quantidade do fluxo do gás N_2 , a energia de superfície também aumenta. Esse fato corrobora com o que já foi observado anteriormente na análise de OES e FTIR, sugerindo que o N_2 pode ser o principal responsável pelas modificações na superfície dos corpos de prova.

De acordo com Hao, et al. (2005) quanto maior a energia superficial, maior a tendência de adsorção química de átomos e moléculas na superfície do substrato. Isto ocorre devido ao

fato de que quanto maior a energia por unidade de superfície do substrato cerâmico, maior é a possibilidade de surgirem reações superficiais (HAO et al., 2005).

Além disso, é preciso levar em consideração a fundamentação envolvida nas medidas de ângulo de contato. Segundo Wenzel (1936) uma superfície ideal deve apresentar natureza lisa, plana, quimicamente homogênea, inerte e estável nas condições medidas (WENZEL, 1936). No entanto, as superfícies dos materiais sólidos, como por exemplo, os cerâmicos não são perfeitas. Nesse sentido, alterações locais podem ocorrer e consequentemente afetar a energia superficial do substrato. Dessa forma, diferentes valores de ângulo de contato de uma condição de equilíbrio para cada região do substrato podem ser obtidos. Por este motivo, foram realizadas três medidas durante a análise, sendo adotadas triplicatas para cada condição de tratamento (ZHAO et al., 2005).

De acordo com os resultados obtidos para os ângulos de contato medidos, em ambos os líquidos (solução de SBF e glicerina), todos os corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ apresentam caráter hidrofílico. Isso sugere que a fase líquida tem a capacidade de aderir e se espalhar de forma espontânea, sobre a superfície desses corpos de prova. Assim, os valores de energia superficial medido usando solução de SBF pode sugerir uma maior interação da superfície dos corpos de prova em meio biológico (RIBEIRO et al., 2014b). Além disso, esse comportamento também sugere que a hidrofiliabilidade pode estar associada à presença de grupos funcionais na superfície que favorecerem a reatividade na interface do substrato. Por exemplo, a HA apresenta maior afinidade química em superfície mais hidrofílica se comparada aos fosfatos tricálcicos (α -TCP e β -TCP). Esse fato pode estar relacionado à presença do grupo funcional OH na sua estrutura que favorece a reatividade na superfície e, sobretudo na molhabilidade (REDEY et al., 2000; AMARAL et al., 2002; RIBEIRO et al., 2014b).

5.2.7. Análises estatísticas

Os dados obtidos a partir das diferentes técnicas utilizadas para caracterizar os corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio foram analisados estatisticamente usando o método da análise de grupo.

A Figura 5.13 apresenta um dendrograma obtido a partir de diferentes variáveis usando um algoritmo de ligação completa e medida de distância do coeficiente de correlação absoluto.

Figura 5.13 – Dendrograma obtido a partir de diferentes variáveis obtidos por meio do algoritmo de ligação completa e medida da distância do coeficiente de correlação absoluto.

Fonte: Própria autoria.

A partir do dendrograma da Figura 5.13, é possível observar um primeiro grupo formado por três variáveis: espécies ativas N_2 e N_2^+ , e energia superficial (ES). As espécies ativas N_2 e N_2^+ apresentam similaridade significativa entre si (95,49 %); e espécies ativas N_2 e N_2^+ com energia superficial usando glicerina (83,07 %). O segundo grupo é formado por duas variáveis: espécie ativa $H\alpha$ com Al_{2p} com similaridade de 90,91 %. Esse fato sugere que há uma relação entre as espécies ativas do gás H_2 com os grupos funcionais da Al_2O_3 . Por fim, são observados dois grupos formados por duas variáveis: gás N_2 com a ZrO_2 ; e o gás O_2 com a energia superficial usando solução de SBF. Valores de similaridade consideráveis foram observados entre o gás N_2 e a ZrO_2 (95,38 %). Isso indica que há uma relação entre as espécies ativas do gás N_2 , assim como a sua variação no fluxo, e os grupos funcionais da ZrO_2 . Enquanto a relação entre o gás O_2 e a energia superficial foi igual a 75,81 %, sugerindo que a energia superficial é mais influenciada pelo gás O_2 .

5.3. Caracterização dos corpos de prova após o recobrimento biomimético

A seguir serão apresentados os resultados referentes às caracterizações realizadas nas superfícies dos corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 não tratado e tratados por plasma frio usando diferentes proporções dos fluxos de gases de N_2 e O_2 , e fluxo constante de 50 % de H_2 (pulso II), após recobrimento biomimético com solução de SBF 5,0x por 14 dias. Em 2018, Santos et al. verificaram que esse período é o suficiente para promover a formação de fosfatos de cálcio

sobre a superfície do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratado por plasma frio (SANTOS et al., 2018). As caracterizações realizadas têm por finalidade compreender como a interação entre as espécies ativas geradas pela descarga de gás no plasma na superfície desses corpos de prova contribui para a formação dos fosfatos de cálcio.

5.3.1. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 5.14 apresenta os espectros de FTIR, na região entre 1000 e 1650 cm^{-1} , dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando diferentes composições gasosas, e recobertos biomimeticamente.

Figura 5.14 – Espectros de absorvância de FTIR dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio e recobertos biomimeticamente.

Fonte: Própria autoria.

A Figura 5.15 apresenta um exemplo das curvas deconvoluídas dos espectros de FTIR, na região entre 1000 e 1650 cm^{-1} , do corpo de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratado com a composição gasosa 3N5H₂O e recobertos biomimeticamente. As curvas deconvoluídas das demais condições de tratamento estão apresentadas no Anexo A.

Figura 5.15 – Curvas deconvoluídas dos espectros de FTIR do corpo de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratado superficialmente por plasma frio com a composição gasosa 3N5H₂O e recoberto biomimeticamente.

Fonte: Própria autoria.

A Tabela 5.4 apresenta as áreas absolutas totais das bandas de absorção atribuídas aos grupos funcionais dos fosfatos de cálcio. Essas áreas foram obtidas a partir dos espectros de FTIR, na região entre 1000 e 1650 cm^{-1} , dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ nas diferentes condições estudadas. As atribuições das bandas de absorção dos fosfatos de cálcio foram realizadas segundo a literatura na região espectral estudada.

Tabela 5.4 (Continua) – Área absoluta sob as curvas deconvoluídas dos espectros de FTIR das superfícies recobertas dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ na região dos fosfatos de cálcio e suas atribuições.

Posição das bandas (cm^{-1})	Atribuições	Referências	Condições de tratamento – Área absoluta (10^3)						
			5N5H	4N5H1O	3N5H2O	2N5H3O	1N5H4O	5H5O	ST
1017-1019	$\nu_{1\text{PO}_4^{3-}}$	(BERZINA-CIMDINA, BORODAJENKO, 2012)	-	-	0,95	-	0,38	1,12	$115,85 \times 10^{-2}$
1020-1028	$\nu_{3\text{PO}_4^{3-}}$ em HA não estequiométrica	(FOWLER et al., 1993, GADALETA et al., 1996; KOUTSOPOULOS, 2002)	-	6,68	2,66	2,14	1,19	2,49	$10,35 \times 10^{-2}$
1101-1106			2,05	2,46	-	-	0,27	0,04	$0,64 \times 10^{-2}$
1110-1119			0,62	0,94	0,38	0,99	0,11	0,33	$4,31 \times 10^{-2}$
1031-1039	$\nu_{3\text{PO}_4^{3-}}$	(FOWLER et al., 1993; SAUER et al., 1994; GADALETA et al., 1996; AZA et al., 1997)	6,49	3,74	-	1,72	0,95	7,69	$19,75 \times 10^{-2}$
1050-1059			-	5,38	-	3,54	2,35	2,16	-
1040-1049	$\nu_{3\text{PO}_4^{3-}}$ em β -TCP	(BERZINA-CIMDINA, BORODAJENKO, 2012)	6,37	8,57	13,25	-	2,35	4,09	$23,06 \times 10^{-2}$
1060-1068	$\nu_{3\text{PO}_4^{3-}}$ em α -TCP	(CARRODEGUAS, AZA, 2011; KOLMAS et al., 2015)	4,05	3,06	4,30	1,03	-	4,96	$22,47 \times 10^{-2}$
1070-1078	$\nu_{3\text{aPO}_4^{3-}}$	(KOUTSOPOULOS, 2002)	3,41	1,52	1,67	0,39	0,46	-	$1,88 \times 10^{-2}$
1081-1089	$\nu_{3\text{HPO}_4^{2-}}$	(FOWLER et al., 1993; KOUTSOPOULOS, 2002)	0,62	5,10	2,19	0,34	0,63	1,67	$14,18 \times 10^{-2}$
1191-1196			6,25	7,65	-	-	9,07	29,08	$214,92 \times 10^{-2}$
1201-1208			-	1,46	38,41	-	23,64	-	-
1095-1099	$\nu_{3\text{HPO}_4^{2-}}$ em HA não estequiométrica	(REY et al., 1991; KOUTSOPOULOS, 2002; APARECIDA et al., 2009)	1,10	1,46	1,90	0,80	-	-	$2,13 \times 10^{-2}$
1149-1155			-	-	-	1,81	2,81	4,93	$11,75 \times 10^{-2}$
1160-1178, 1188	$\nu_{1\text{PO}_4^{3-}}$ em HA	(FOWLER et al., 1993; BADDIEL, BERRY, 1996)	4,74	15,31	10,08	54,85	15,63	26,56	$133,35 \times 10^{-2}$

Tabela 5.4 (Conclusão) – Área absoluta sob as curvas deconvoluídas dos espectros de FTIR das superfícies recobertas dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ na região dos fosfatos de cálcio e suas atribuições.

Posição das bandas (cm^{-1})	Atribuições	Referências	Condições de tratamento – Área absoluta (10^3)						
			5N5H	4N5H1O	3N5H2O	2N5H3O	1N5H4O	5H5O	ST
1211-1217	$\delta_{\text{PO}_4^{3-}}$ em ligações de hidrogênio	(BAILEY, HOLT, 1989; KOUTSOPOULOS, 2002)	-	1,37	-	35,25	-	-	$93,64 \times 10^{-2}$
1222-1244			18,74	26,57	10,12	1,03	8,54	44,22	$166,01 \times 10^{-2}$
1253-1399	$\delta_{\text{PO}_4^{3-}}$	(FOWLER, MORENO, BROWN, 1966)	226,85	239,98	285,69	233,84	80,63	115,85	$18,01 \times 10^{-2}$
1403-1417	$\vartheta_{3\text{CO}_3^{2-}}$ em HA carbonatada	(BERZINA-CIMDINA, BORODAJENKO, 2012; TRIPATHI et al., 2015)	3,25	-	-	1,54	2,21	0,72	-
1421-1424	$\vartheta_{s\text{CO}_3^{2-}}$	(BERZINA-CIMDINA, BORODAJENKO, 2012)	6,65	-	-	6,42	-	-	$5,24 \times 10^{-2}$
1432-1543	$\delta_{\text{CO}_3^{2-}}$ em HA carbonatada do tipo B	(KOUTSOPOULOS, 2002; BERZINA-CIMDINA, BORODAJENKO, 2012; TRIPATHI et al., 2015)	92,02	88,18	85,63	55,47	12,19	36,24	$472,93 \times 10^{-2}$
1550-1598	$\delta_{\text{CO}_3^{2-}}$ em HA carbonatada do tipo A	(GARCIA et al., 1997; KOUTSOPOULOS, 2002; BERZINA-CIMDINA, BORODAJENKO, 2012)	90,77	38,28	48,69	60,62	2,99	20,03	$328,40 \times 10^{-2}$
1601-1627	$\delta_{\text{CO}_3^{2-}}$ em HA carbonatada	(BERZINA-CIMDINA, BORODAJENKO, 2012)	13,19	11,86	22,80	9,91	1,10	6,94	$59,16 \times 10^{-2}$

ϑ = vibração de estiramento; ϑ_a = vibração de estiramento assimétrico; ϑ_s = vibração de estiramento simétrico; δ = vibração de deformação angular;

Fonte: Própria autoria.

Nos espectros de FTIR dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados, as bandas de absorção observadas em $\sim 1017 - 1019 \text{ cm}^{-1}$ são atribuídas a vibração de estiramento do grupo funcional fosfato ($\nu_{1\text{PO}_4^{3-}}$). Enquanto a vibração de estiramento triplamente degenerado ($\nu_{3\text{PO}_4^{3-}}$) associado a esse grupo funcional é observado em $\sim 1031 - 1039$ e em $\sim 1050 - 1059 \text{ cm}^{-1}$. Bandas resultantes da vibração de estiramento triplamente degenerado do grupo funcional fosfato ($\nu_{3\text{PO}_4^{3-}}$) na HA não estequiométrica são observadas em $\sim 1020 - 1028$, $\sim 1101 - 1106$, e em $\sim 1110 - 1119 \text{ cm}^{-1}$. As bandas de absorção em $\sim 1040 - 1049 \text{ cm}^{-1}$ indicam a presença do grupo funcional $\nu_{3\text{PO}_4^{3-}}$ na fase β -TCP. Por sua vez, as bandas em $\sim 1060 - 1068 \text{ cm}^{-1}$ podem ser atribuídas a esse grupo funcional na fase α -TCP. Já a vibração de estiramento assimétrico triplamente degenerado do grupo funcional PO_4^{3-} ($\nu_{3a\text{PO}_4^{3-}}$) está associada as bandas em $\sim 1070 - 1078 \text{ cm}^{-1}$. Bandas em $\sim 1081 - 1089$, $\sim 1191 - 1196$, e $\sim 1201 - 1208 \text{ cm}^{-1}$ são atribuídas ao grupo funcional hidrogenofosfato ($\nu_{3\text{HPO}_4^{2-}}$). Enquanto em $\sim 1095 - 1099$ e em $\sim 1149 - 1155 \text{ cm}^{-1}$ são observadas bandas atribuídas a esse grupo na HA não estequiométrica. As bandas em $\sim 1160 - 1178$ e em $\sim 1188 \text{ cm}^{-1}$ indicam a presença da vibração de estiramento do grupo funcional PO_4^{3-} na HA ($\nu_{1\text{PO}_4^{3-}}$). A vibração de deformação angular do grupo funcional PO_4^{3-} ($\delta_{\text{PO}_4^{3-}}$) é observada em $\sim 1253 - 1399 \text{ cm}^{-1}$. Em $\sim 1211 - 1217$ e em $\sim 1222 - 1244 \text{ cm}^{-1}$ são observadas bandas associadas a vibração de deformação angular do grupo $\delta_{\text{PO}_4^{3-}}$ em ligações de hidrogênio. Já as bandas em $\sim 1403 - 1417 \text{ cm}^{-1}$ são atribuídas a vibração de estiramento triplamente degenerado do grupo funcional CO_3^{2-} ($\nu_{3\text{CO}_3^{2-}}$) na HA carbonatada. Bandas resultantes da vibração de estiramento simétrico do grupo funcional CO_3^{2-} ($\nu_{s\text{CO}_3^{2-}}$) são observadas em $\sim 1421 - 1424 \text{ cm}^{-1}$. As bandas em $\sim 1432 - 1543$ e em $\sim 1550 - 1598 \text{ cm}^{-1}$ indicam a vibração de deformação angular do grupo funcional CO_3^{2-} ($\delta_{\text{CO}_3^{2-}}$) na HA carbonatada do tipo B e A, respectivamente. Por fim, as bandas em $\sim 1601 - 1627 \text{ cm}^{-1}$ são atribuídas a vibração de deformação angular do grupo funcional CO_3^{2-} ($\delta_{\text{CO}_3^{2-}}$) na HA carbonatada.

As áreas absolutas do grupo funcional PO_4^{3-} , das bandas em $\sim 1017 - 1019$, em $\sim 1031 - 1039$, e em $\sim 1060 - 1068 \text{ cm}^{-1}$ na fase α -TCP foi maior nos corpos de prova tratados com 5H5O. Enquanto as áreas absolutas atribuídas ao mesmo grupo funcional, das bandas em $\sim 1050 - 1059 \text{ cm}^{-1}$ e em $\sim 1070 - 1078 \text{ cm}^{-1}$ foi maior nos corpos de prova tratados com as composições gasosas 4N5H1O e 5N5H. Já as áreas atribuídas ao grupo funcional PO_4^{3-} na fase β -TCP em $\sim 1040 - 1049 \text{ cm}^{-1}$ foi consideravelmente maior nos corpos de prova tratados

com a composição gasosa 3N5H2O. Ressalta-se ainda que as superfícies tratadas com essa mesma composição gasosa também apresentaram maior área absoluta atribuída ao grupo funcional HPO_4^{2-} nas bandas em $\sim 1201 - 1208 \text{ cm}^{-1}$. As maiores áreas atribuídas aos grupos funcionais HPO_4^{2-} ($\sim 1095 - 1099 \text{ cm}^{-1}$) e PO_4^{3-} ($\sim 1020 - 1028 \text{ cm}^{-1}$) presentes na HA não estequiométrica foram observados nos corpos de prova tratados com a composição gasosa 4N5H1O. Enquanto os corpos de prova tratados com a composição gasosa 2N5H3O apresentaram maiores áreas do grupo funcional PO_4^{3-} na HA ($\sim 1160 - 1178 \text{ cm}^{-1}$). Por outro lado, as áreas atribuídas ao grupo PO_4^{3-} ($\sim 1211 - 1217$ e $\sim 1222 - 1244 \text{ cm}^{-1}$) foram maiores nos corpos de prova tratados com as composições gasosas 2N5H3O e 5H5O. Já as áreas atribuídas ao mesmo grupo funcional ($\sim 1253 - 1399 \text{ cm}^{-1}$) foram consideravelmente maiores nos corpos de prova tratados com a composição gasosa 3N5H2O. As áreas atribuídas ao grupo funcional CO_3^{2-} na HA ($\sim 1403 - 1417$ e $\sim 1421 - 1424 \text{ cm}^{-1}$), e na HA carbonatada dos tipos B e A ($\sim 1432 - 1543$ e $\sim 1550 - 1598 \text{ cm}^{-1}$) foram maiores nos corpos de prova tratados com a composição gasosa 5N5H. Por fim, as áreas atribuídas ao grupo funcional CO_3^{2-} na HA carbonatada ($\sim 1601 - 1627 \text{ cm}^{-1}$) foi maior nos corpos de prova tratados com a composição gasosa 3N5H2O.

Segundo Kokubo et al. (2009) e Berzina-Cimdina e Borodajenko (2012), geralmente o grupo funcional HPO_4^{2-} é proveniente de fases termodinamicamente menos estáveis durante o processo de formação dos fosfatos de cálcio sobre a superfície do substrato. Assim, a presença dessas fases é importante, pois, ao sofrerem hidrólise, podem levar a formação de HA (KOKUBO et al., 2009; BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012). Além disso, os grupos funcionais PO_4^{3-} e HPO_4^{2-} são considerados como cálcios ortofosfatos, e nos sistemas biológicos são encontrados principalmente na parte mineral óssea e dos dentes (NETO, 2009; SARTORI, 2019).

A HA sintética é similar à apatita carbonatada biológica, e pode apresentar em sua composição entre 6 a 9 % em peso de íons CO_3^{2-} , que podem ser substituídos em sua estrutura (ELLIOT et al., 1991; LIN et al., 2001; THAMARAISELVI et al., 2004; HUANG et al., 2016; LINDAHL et al., 2012; TSURU et al., 2017; SARTORI, 2019). Nesse sentido, a presença do grupo funcional CO_3^{2-} sugere a formação de HA carbonatada, e confirmado pelas bandas de absorção desses grupos funcionais nos espectros de FTIR dos corpos de prova e apresentadas na Tabela 5.4.

No entanto, o que irá determinar a formação da HA é o tipo de íon substituído em sua estrutura cristalina. Por exemplo, quando as substituições iônicas ocorrem pela troca de íons OH^- por CO_3^{2-} , a HA carbonatada é denominada como A ($\sim 1550 - 1598 \text{ cm}^{-1}$). Se as

substituições ocorrem pela troca de íons PO_4^{3-} por CO_3^{2-} , a HA formada é denominada como B ($\sim 1432 - 1543 \text{ cm}^{-1}$) (BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012).

Em todas as composições gasosas estudadas, a área absoluta total dos grupos funcionais PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , e CO_3^{2-} atribuídos à fase da HA foi significativamente maior do que a área absoluta total desses grupos nas fases α -TCP e β -TCP. Esse fato sugere que há maior quantidade de fosfatos provenientes da fase HA do que fosfatos provenientes das fases α -TCP ou β -TCP nas superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$.

As fases α -TCP e β -TCP apresentam um importante papel durante o processo de biomineralização óssea, favorecendo o crescimento do novo osso (ELLIOT, 1994). Ressalta-se que essas fases exibem a mesma habilidade de osteocondução, contudo a α -TCP apresenta maior bioatividade, devido ao seu arranjo estrutural. Por outro lado, a β -TCP permite substituições iônicas, sem alterar essencialmente sua estrutura, de forma a estabilizá-la (XIN et al., 2005). A HA também favorece a troca entre íons de sua estrutura com o meio biológico (LIN et al., 2001).

Além disso, pode-se observar que a quantidade de fosfatos de cálcio formados sobre as superfícies foi consideravelmente maior nos corpos de prova tratados. Por exemplo, nos tratados com a composição gasosa 1N5H4O, a quantidade de fosfatos de cálcio formada foi 5000 vezes maior do que na superfície do corpo de prova não tratado. Por outro lado, os tratados com a composição gasosa 5H5O apresentaram 8000 vezes mais fosfatos de cálcio formados sobre a sua superfície se comparado ao que não foi tratado. Enquanto os tratados com as composições gasosas 2N5H3O, 4N5H3O, e 5N5H apresentaram em torno de 13000 vezes a quantidade de fosfatos formados do que na superfície do corpo de prova não tratado. Por fim, os tratados com a composição gasosa 3N5H2O apresentaram em torno de 15000 vezes fosfatos de cálcio do que o não tratado.

5.3.2. Difratometria de raios-X (DRX)

A Figura 5.16 apresenta os difratogramas de DRX, no intervalo entre $30,0$ e $36,0^\circ$, das superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando diferentes composições gasosas, e recobertos biomimeticamente. Um exemplo das curvas deconvoluídas dos difratogramas de DRX, no mesmo intervalo, do corpo de prova tratado com a composição gasosa 3N5H2O é apresentado na Figura 5.17. As curvas deconvoluídas das demais condições de tratamento estão apresentadas no Anexo B.

Figura 5.16 – Difrátogramas de DRX dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio e recobertos biomimeticamente.

Fonte: Própria autoria.

Figura 5.17 – Curvas deconvoluídas dos difratogramas de DRX do corpo de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratado superficialmente por plasma frio com a composição gasosa 3N5H2O e recoberto biomimeticamente.

Fonte: Própria autoria.

A Tabela 5.5 apresenta as áreas percentuais sob as curvas deconvoluídas dos picos atribuídos as fases de fosfatos de cálcio. Essas áreas foram obtidas a partir dos difratogramas de DRX, no intervalo entre 30,0 e 36,0 °, dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ nas diferentes condições estudadas. As atribuições das fases de fosfatos de cálcio formadas foram realizadas segundo o JCPDS (JCPDS, 2003).

Tabela 5.5 – Área percentual (%) sob as curvas deconvoluídas dos difratogramas de DRX das superfícies recobertas dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ na região dos fosfatos de cálcio e suas atribuições.

Índice de Miller	Atribuições	Condições de tratamento – Área percentual (%)						
		5N5H	4N5H1O	3N5H2O	2N5H3O	1N5H4O	5H5O	ST
(511)	α -TCP	3,27	2,74	5,41	15,13	22,22	4,67	4,25
(211)	HA	52,36	37,49	28,19	46,78	46,53	43,01	47,33
(112)		16,23	35,74	50,87	16,60	8,86	17,66	14,23
(128)	β -TCP	28,15	24,04	15,53	21,50	22,39	34,66	34,19

^a Índice de Miller de reflexão segundo as fichas padrões JCPDS n°: 09-348; 09-169; 09-432 e 73-1731.

Fonte: Própria autoria.

Nos difratogramas de DRX (Figura 5.16) de todos os corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$, foi possível observar a formação de apenas três fases de fosfatos: α -TCP no plano (511), β -TCP no plano (128), e HA nos planos (211 e 112). Além disso, variações nas áreas percentuais dessas fases de fosfatos foram observadas em todas as condições. Por exemplo, os corpos de prova tratados com a composição gasosa 1N5H4O apresentaram maior quantidade da fase α -TCP sobre as superfícies (22,22 %) se comparados aos tratados com a composição gasosa 4N5H1O (2,74 %). No corpo de prova não tratado, o percentual de formação da fase α -TCP foi igual a 3,27 %. Já a fase β -TCP foi observada em maior quantidade nas superfícies dos corpos de prova tratados com a composição gasosa 5H5O (34,66 %). Os corpos de prova tratados com a composição gasosa 3N5H2O exibiram menor percentual de formação dessa fase (15,35 %) se comparados ao corpo de prova que não foi tratado (34,19 %). Por outro lado, uma quantidade significativa da fase de HA foi observada sobre as superfícies dos corpos de prova tratados com essa mesma composição gasosa (79,06 %).

De maneira geral, a formação da fase β -TCP foi consideravelmente maior do que a fase α -TCP sobre as superfícies dos corpos de prova. Isso é bastante interessante, pois a fase β -

TCP é obtida somente pelo tratamento térmico da fase α -TCP (THAMARAISELVI et al., 2004). Quando a razão molar entre Mg^{2+} e Ca^{2+} é maior do que 0,05, substituições iônicas entre os dois íons ocorrem na estrutura da fase β -TCP. Este tipo de substituição iônica favorece a formação de β -Mg-TCP (LEGEROS, 1991, ELLIOT et al., 1994). Consequentemente, nas condições estudadas, a formação da fase β -TCP pode ter sido favorecida pela alta razão Mg^{2+}/Ca^{2+} (0,83) presente na solução de SBF 5,0 x utilizada.

Além disso, a formação de diferentes fases de fosfato de cálcio na superfície pode estar associada à sua solubilidade. Os fosfatos tricálcicos (α -TCP e β -TCP) possuem maior solubilidade se comparados a HA (CHOW, 1991). Ressalta-se ainda que o α -TCP e β -TCP são considerados fases precursoras da HA (ELLIOT et al., 1994). Portanto, a hidrólise de α -TCP e β -TCP podem ser responsáveis pela formação dessa fase (LIN et al., 2001).

Outra característica importante a ser considerada é a afinidade química entre os fosfatos de cálcio e a superfície do corpo de prova. Por exemplo, a HA apresenta maior afinidade em uma superfície mais hidrofílica, por isso, essa fase foi observada em maior quantidade, conforme apresentado na Tabela 5.3. Isso sugere que a maior quantidade da fase HA formada sobre as superfícies dos corpos de prova tratados com as composições gasosas 3N5H2O, 4N5H1O, e 5N5H pode estar associada ao caráter hidrofílico apresentado por essas superfícies.

A Figura 5.18 apresenta a área total dos fosfatos de cálcio formada (obtidas pelas áreas absolutas dos espectros de FTIR) e a área parcial de cada fase (obtida pela porcentagem das fases nos difratogramas de DRX) de todos os corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 . O gráfico menor apresenta uma ampliação da área total e parcial dos fosfatos de cálcio formados sobre a superfície do corpo de prova não tratado.

Figura 5.18 – Áreas absolutas totais dos fosfatos de cálcio formados (obtidas pelos espectros de FTIR) e parcial de cada fase (obtidas pelas áreas percentuais dos difratogramas de DRX) dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio e recobertos biomimeticamente.

O gráfico menor apresenta uma ampliação da área total e parcial dos fosfatos de cálcio formados sobre a superfície do corpo de prova não tratado.

Fonte: Própria autoria.

A partir da Figura 5.18, foi possível observar que o tratamento por plasma frio contribuiu significativamente para a formação de fosfatos de cálcio sobre as superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$. Quando comparada as composições com apenas dois gases no fluxo (5N5H e 5H5O), os corpos de prova tratados com 5N5H apresentaram maior quantidade de fosfatos de cálcio do que os tratados com 5H5O. Apesar das quantidades das espécies ativas do gás O_2 ser menor do que as espécies ativas do gás N_2 formado (Figura 5.5b), as espécies do gás O_2 também promoveram mudanças nas superfícies, favorecendo a formação de fosfatos de cálcio. Dentre as composições gasosas usando três gases no fluxo, os corpos de prova tratados com 3N5H2O apresentaram maior quantidade de fosfatos de cálcio sobre as suas superfícies. Por outro lado, os corpos de prova tratados com a composição gasosa 1N5H4O exibiram menor quantidade de fosfatos de cálcio formados se comparados aos tratados com as demais composições gasosas. Isso sugere que à medida que o gás N_2 diminui no fluxo, o tratamento perde eficiência para promover modificações nas superfícies

dos corpos de prova, devido ao processo de competição que se inicia entre o N_2 e O_2 na atmosfera do plasma.

Ressalta-se ainda que a variação na quantidade das fases α -TCP, β -TCP, e HA influenciam na quantidade total de fosfatos de cálcio formados sobre as superfícies dos corpos de prova. Segundo o coeficiente de Pearson, quanto maior a quantidade das fases β -TCP e HA, maior a quantidade de fosfatos de cálcio formados sobre as superfícies dos corpos de prova ($r_{\text{área da fase } \beta\text{TCP}/\text{área total de fosfatos de cálcio}} = 0,86$ e $r_{\text{área da fase HA}/\text{área total de fosfatos de cálcio}} = 0,98$). No entanto, nenhuma influência da fase α -TCP na formação dos fosfatos de cálcio foi observada.

De acordo com Ribeiro et al. (2014), em meio biológico a fase β -TCP favorece o processo de hidratação, além de promover maior difusão de água durante a interação do biomaterial com o tecido hospedeiro. No entanto, esse comportamento dificulta a deposição de proteínas de adesão o que pode justificar o mecanismo diferenciado de dissolução em meio biológico. Por outro lado, a HA apresenta maior facilidade de adsorção proteica, fator determinante para o seu comportamento bioativo (RIBEIRO et al., 2014b).

Nesse sentido, quando comparada a outras cerâmicas a base de fosfatos de cálcio, a HA e o β -TCP são considerados potenciais substitutos ósseos em razão de suas propriedades de dissolução, HA não reabsorvível, e β -TCP reabsorvível (MAIA, 2009; SANTOS, 2016).

A Figura 5.19 apresenta um dendrograma obtido a partir de diferentes variáveis: áreas absolutas dos fosfatos de cálcio, fases HA, α -TCP, e β -TCP usando um algoritmo de ligação completa e medida de distância do coeficiente de correlação absoluto. Nesse gráfico é possível observar o nível de similaridade entre as variáveis e o seu número de grupos.

A similaridade para os grupos unidos em cada passo corrobora com o que foi observado nas correlações de Pearson. A partir do dendrograma, há dois grupos com similaridade significativa formados na partição final: fosfatos de cálcio total com HA (98,40 %); e β -TCP com fosfato de cálcio e HA (79,57 %). Não há similaridade significativa entre α -TCP e as demais variáveis (18,89 %), sugerindo que as fases β -TCP e HA são determinantes na formação dos fosfatos de cálcio sobre os corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 .

Figura 5.19 – Dendrograma obtido a partir de quatro variáveis: quantidade de fosfatos de cálcio formados, quantidade das fases α -TCP, β -TCP, e HA obtidos por meio do algoritmo de ligação completa e medida da distância do coeficiente de correlação absoluto.

Fonte: Própria autoria.

5.3.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Figura 5.20 apresenta micrografias obtidas por MEV da superfície dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando diferentes composições gasosas, e recobertos biomimeticamente.

Figura 5.20 – Micrografias obtidas por MEV da superfície dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio e recobertos biomimeticamente.

Os círculos indicam as regiões na superfície do corpo de prova que não foram recobertas pela camada de fosfatos de cálcio formada. As setas identificam as regiões na superfície do corpo de prova em que ocorreu a sobreposição da camada de fosfatos de cálcio.

Fonte: Própria autoria.

De maneira geral, o tratamento por plasma frio contribuiu para a formação de fosfatos de cálcio sobre as superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$. Em todas as condições gasosas estudadas, as superfícies foram recobertas pela camada de fosfatos de cálcio. Ressalta-se ainda que nos corpos de prova tratados com as composições gasosas 1N5H4O, 2N5H3O, e 5H5O, foi possível observar ainda a sobreposição de camadas sobre as suas superfícies (identificadas por setas), conforme mostrado na Figura 5.20. Apesar disso, a quantidade de fosfatos de cálcio formados sobre as superfícies tratadas com a composição gasosa 1N5H4O foi muito menor se comparada às demais composições gasosas. Por outro lado, no corpo de prova não tratado, houve regiões na superfície (indicadas por círculos) que não foram recobertas pela camada de fosfatos de cálcio formada.

Pela morfologia da camada de fosfatos de cálcio formada sobre a superfície dos corpos de prova (Figura 5.20), pode-se observar ainda que os glóbulos são constituídos de um arranjo de camadas sobrepostas. Wu e Nancollas (1996) sugerem que durante o processo de precipitação de uma fase sólida a partir de uma solução, como por exemplo, SBF, existe uma competição entre as etapas de nucleação e crescimento dos glóbulos. A ocorrência dessas etapas, em diferentes estados de saturação pode determinar o tamanho e o formato do glóbulo (WU, NANCOLLAS, 1996b). Ribeiro (2003) e Legeros et al. (2006) relatam ainda que o período de incubação é outro fator que também pode influenciar na morfologia dos glóbulos de fosfatos (RIBEIRO, C., 2003; LEGEROS et al., 2006).

5.4. Adesão do recobrimento biomimético na superfície dos corpos de prova

A Figura 5.21 apresenta os valores de carga crítica (L_{cn}) obtidos pelo *micro scratch test* das superfícies dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando diferentes composições gasosas (exceto 3N5H2O), e recobertos biomimeticamente durante 14 dias. Devido ao tamanho da ponta do riscador utilizada no equipamento e a espessura da camada formada na superfície dos corpos de prova tratados com essa composição gasosa, medida por perfilometria, não foi possível realizar o teste.

Figura 5.21 – Valores de carga crítica (L_{cn}) dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio e recobertos biomimeticamente.

Fonte: Própria autoria.

Nos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados, os valores de carga crítica variaram entre 8,1 e 15 μN . Dentre as condições analisadas, os tratados com a composição gasosa 4N5H1O apresentaram maior valor de carga crítica (15 μN). Enquanto os valores carga crítica determinados nas demais condições foram iguais a 8,1 μN (5N5H), 8,2 μN (2N5H3O), 8,9 μN (1N5H4O), e 9,2 μN (5H5O). No corpo de prova que não recebeu tratamento, o valor de carga crítica foi de 8,3 μN .

De modo geral, os corpos de prova tratados apresentaram valores de carga crítica maiores do que o corpo de prova não tratado, exceto as composições gasosas 5N5H e 2N5H3O. Quanto maior o valor de carga crítica, maior é a adesão da camada de fosfatos de cálcio sobre a superfície do corpo de prova. Destaca-se que o tratamento por plasma frio com a composição gasosa 4N5H1O apresentou maior valor de carga crítica entre a superfície do substrato/fosfato.

Além disso, o tipo de mecanismo de ruptura observado na trilha formada pela ponta do riscador na camada de fosfatos de cálcio formada sobre as superfícies dos corpos de prova pode ser classificado em dois tipos: falha coesiva ou adesiva, conforme indicado na Figura 5.21. Geralmente após o *micro scratch test* na superfície, tanto as tensões residuais quanto as

tensões induzidas devido à flexão podem permanecer na camada do recobrimento em torno do risco, ou seja, nas bordas. Dessa forma, quando a tensão acumulada na borda do risco excede um valor crítico, uma falha coesiva pode ocorrer no recobrimento. Por outro lado, se a tensão de compressão for atingida à frente da ponta do riscador, a falha resultante é adesiva. Ressalta-se ainda que as falhas coesiva e adesiva também podem ocorrer simultaneamente (LARA, 2012; CHAVES FILHO, 2017).

A Figura 5.22 apresenta micrografias obtidas por MEV da camada de fosfatos de cálcio formada sobre as superfícies dos corpos de prova tratados com as composições gasosas 4N5H1O e 5N5H, mostrando respectivamente, falhas coesiva e adesiva.

Figura 5.22 – Micrografia obtida por MEV da superfície dos corpos de prova tratados superficialmente por plasma frio com as composições gasosas 4N5H1O e 5N5H e recobertos biomimeticamente.

A linha retangular pontilhada na superfície do corpo de prova tratado com a composição gasosa 4N5H1O mostra a região em que ocorreu a falha coesiva formada na camada de fosfatos de cálcio. A linha circular pontilhada na superfície do corpo de prova tratado com a composição gasosa 5N5H identifica a região em que ocorreu a falha adesiva na camada de fosfatos de cálcio.

Fonte: Própria autoria.

A partir da Figura 5.22, foi possível observar que as falhas coesivas ocorrem ao longo da espessura do recobrimento, mantendo a camada aderida ao substrato, conforme destacado na superfície do corpo de prova tratado com a composição gasosa 4N5H1O. Por outro lado, as falhas adesivas são relacionadas a uma baixa adesão do recobrimento ao substrato. Esse tipo de falha é caracterizado principalmente pelo desprendimento total da camada e exposição do substrato, como indicado na superfície do corpo de prova tratado com a composição gasosa 5N5H. De acordo com os valores de carga crítica observados no gráfico da Figura 5.21, sugere-se que as superfícies tratadas com a composição gasosa 2N5H3O, assim como a não tratada apresentam falhas adesivas. Enquanto nas superfícies tratadas com as composições gasosas 1N5H4O e 5H5O apresentam falhas do tipo coesivas.

Outra característica importante observada foi em relação à influência das fases α -TCP, β -TCP, e HA na adesão dos fosfatos de cálcio a superfície dos corpos de prova. Segundo o coeficiente de Pearson, não há correlação entre a variação das áreas parciais das fases de fosfatos formadas e a adesão. Isso indica que não há influência dessas fases sobre a adesão dos fosfatos de cálcio a superfície dos corpos de prova tratados.

A Figura 5.23 apresenta um dendrograma obtido a partir de cinco variáveis: áreas absolutas dos fosfatos de cálcio, fases α -TCP, β -TCP, HA, e L_{cn} usando um algoritmo de ligação completa e medida de distância do coeficiente de correlação absoluto.

A baixa similaridade para os grupos em cada passo também corrobora com o que foi observado nas correlações de Pearson. Não há similaridade significativa entre α -TCP e L_{cn} (18,94 %) ou entre α -TCP com as demais variáveis (14,91 %). Esse fato sugere que as diferentes fases de fosfatos de cálcio não apresentam influência significativa no processo de adesão sobre a superfície dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$.

Figura 5.23 – Dendrograma obtido a partir de cinco variáveis: quantidade de fosfatos de cálcio formados, e quantidade das fases α -TCP, β -TCP, HA, e L_{cn} obtidos por meio do algoritmo de ligação completa e medida da distância do coeficiente de correlação absoluto.

Fonte: Própria autoria.

5.5. Ensaio biológicos dos corpos de prova

Os resultados referentes ao teste de citotoxicidade realizado nos corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 não tratado e tratados superficialmente por plasma frio usando diferentes composições gasosas, e recobertos e não recobertos biomimeticamente durante 14 dias são apresentados na Figura 5.24. É apresentado o percentual de viabilidade celular das CTMTACs obtidos pelo teste por MTT, após 72h de cultivo na presença dos corpos de prova.

Figura 5.24 – Percentual de viabilidade celular das CTMTACs após 72h de cultivo dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio recobertos e não recobertos.

*Para os testes estatísticos, o grupo controle positivo foi comparado aos demais grupos, com valores de significância estatística menor que 0,05.

Fonte: Própria autoria.

De maneira geral foi possível observar que o corpo de prova não tratado e os tratados superficialmente por plasma frio usando diferentes composições gasosas (recobertos e não recobertos) apresentaram valores de viabilidade celular acima de 90 %. Esses valores sugerem que os corpos de prova apresentam biocompatibilidade (BOSE, TARAFDER, 2010; WEBLER et al., 2014; BEN-NISSAN, 2014; ANTONIAC, 2016; SANTOS, 2016). Dessa forma, independentemente da composição gasosa usada durante o tratamento, ausência de toxicidade foi observada em todas as condições avaliadas.

5.6. Considerações Gerais

Os dados obtidos a partir das diferentes técnicas utilizadas para caracterizar os corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ não tratado e tratados superficialmente por plasma frio (não recoberto e recobertos) foram analisados estatisticamente. Para tal, foram utilizados dois métodos distintos: correlação de Pearson e análise de grupo.

A partir do coeficiente de Pearson, foi possível verificar que há uma forte correlação entre as espécies ativas do gás N_2 com os grupos funcionais da ZrO_2 ($r_{\text{área total de ZrO}_2/\text{N}_2} = 0,81$). Observou-se também uma forte correlação entre a espécie ativa N_2^+ e esses mesmos grupos funcionais ($r_{\text{área total de ZrO}_2/\text{N}_2^+} = 0,87$). Outra correlação observada foi entre a espécie ativa N_2^+ e a molhabilidade medida usando água ($r_{\text{molhabilidade}/\text{N}_2^+} = -0,86$). Além disso, observou-se ainda uma correlação entre as espécies ativas N_2 e N_2^+ com a energia superficial medida usando solução de SBF ($r_{\text{energia superficial}/\text{N}_2} = 0,83$; e $r_{\text{energia superficial}/\text{N}_2^+} = 0,88$). Por outro lado, uma forte correlação também foi observada entre as espécies ativas do gás H_2 com os grupos funcionais da Al_2O_3 ($r_{\text{área total de Al}_2\text{O}_3/\text{H}_\alpha} = -0,91$ e $r_{\text{área total de Al}_2\text{O}_3/\text{H}_\beta} = -0,90$). Todas as correlações observadas entre essas variáveis sugerem maior interação das espécies ativas provenientes dos gases N_2 e H_2 com os grupos funcionais da Al_2O_3 e ZrO_2 presentes na superfície dos corpos de prova.

Observou-se ainda a correlação entre as espécies ativas N_2 e N_2^+ e a quantidade de fosfatos de cálcio formados sobre a superfície dos corpos de prova ($r_{\text{área total de fosfatos de cálcio}/\text{N}_2} = 0,77$; e $r_{\text{área total de fosfatos}/\text{N}_2^+} = 0,82$). Além de uma forte correlação entre a espécie N_2^+ e a área percentual da fase HA ($r_{\text{área da fase HA}/\text{N}_2^+} = 0,83$). Pode-se então considerar que a formação dos fosfatos de cálcio, assim como o percentual da fase HA também foi influenciada pelas espécies ativas do gás N_2 . Além disso, uma correlação entre as espécies ativa H_α e H_β com a quantidade de fosfatos formados

também foi observada ($r_{\text{área total de fosfatos de cálcio}/H_2} = 0,83$). Assim como correlação entre a espécie ativa H_b e as áreas percentuais das fases β -TCP e HA ($r_{\text{área da fase } \beta\text{TCP}/H_b} = 0,85$; e $r_{\text{área da fase } \beta\text{TCP}/H_b} = 0,77$). Essas correlações sugerem que a formação das fases β -TCP e HA também foram influenciadas pelas espécies ativas dos gases N_2 e H_2 .

Outra correlação entre a espécie ativa N_2^+ e a molhabilidade usando água foi observada ($r_{\text{molhabilidade}/N_2^+} = -0,85$). Além disso, correlação foi também observada entre a molhabilidade usando água e a quantidade de fosfatos de cálcio formados sobre a superfície dos corpos de prova ($r_{\text{molhabilidade}/\text{área total de fosfatos}} = -0,81$). Pode-se observar ainda uma forte correlação entre a molhabilidade e a fase HA ($r_{\text{molhabilidade}/\text{área total de fosfatos}} = -0,82$). Isso indica que tanto os fosfatos de cálcio formados quanto a HA apresentam caráter hidrofílico, sugerindo que os corpos de prova recobertos apresentam capacidade de interagir em meio biológico, favorecendo o processo de mineralização e osseointegração.

Observou-se também a correlação entre as espécies ativas do gás N_2 e a energia superficial usando solução de SBF e glicerina ($r_{\text{energia superficial}/N_2} = 0,84$; e $r_{\text{energia superficial}/N_2^+} = 0,89$). Outra correlação observada foi entre a energia superficial usando solução de SBF e a quantidade de fosfatos de cálcio formados ($r_{\text{energia superficial}/N_2} = 0,83$). Observou-se ainda a correlação entre a energia superficial e a fase HA ($r_{\text{energia superficial}/HA} = 0,88$). Outras duas correlações entre a energia superficial usando solução de SBF e o gás N_2 ($r_{\text{energia superficial}/N_2} = 0,83$), e entre os gases N_2 e O_2 e a glicerina também foram observados ($r_{\text{energia superficial}/N_2} = 0,88$; e $r_{\text{energia superficial}/N_2} = -0,75$). As correlações observadas entre essas variáveis sugerem que a energia superficial dos corpos de prova foi afetada tanto pela presença das espécies ativas provenientes do gás N_2 quanto pelas espécies ativas do gás H_2 .

A Figura 5.25 apresenta um dendrograma obtido a partir de diferentes variáveis: áreas usando um algoritmo de ligação completa e medida de distância do coeficiente de correlação absoluto.

Figura 5.25 – Dendrograma obtido a partir de diferentes variáveis obtidos por meio do algoritmo de ligação completa e medida da distância do coeficiente de correlação absoluto.

Fonte: Própria autoria.

A partir do dendrograma da Figura 5.25 é possível observar um grupo formado por quatro variáveis: espécies ativas N_2 e N_2^+ , grupos funcionais da ZrO_2 , e o ângulo de contato usando água. Esse grupo apresenta similaridade significativa entre si: espécies ativas N_2 e N_2^+ (95,49 %); espécies ativas N_2 e N_2^+ com os grupos funcionais da ZrO_2 (80,64 %); e entre os grupos funcionais ZrO_2 e o ângulo de contato (72,14 %). A similaridade para os grupos em cada passo corrobora com o que foi observado nas correlações de Pearson. Esse fato sugere que as espécies ativas do gás N_2 apresentam influência significativa nas modificações químicas observadas nos grupos funcionais da ZrO_2 dos corpos de prova de Al_2O_3/ZrO_2 .

O segundo grupo é formado cinco variáveis: energia superficial usando glicerina, HA, fosfatos de cálcio total, grupos funcionais ZrO_2 , e variação percentual do gás N_2 . A similaridade observada entre a energia superficial e a fase HA foi igual a 83,69 %; enquanto a similaridade entre a fase HA e os fosfatos de cálcio total foi de 98,40 %; e entre os grupos funcionais ZrO_2 e o gás N_2 foi igual a 95,38 %. Isso indica que a quantidade de fosfatos pode ter sido favorecida tanto pelos grupos funcionais da ZrO_2 quanto pela fase HA.

Um terceiro grupo formado por dois grupos de variáveis: espécie ativa $H\alpha$ e grupos funcionais da Al_2O_3 ; e espécie ativa $H\beta$ com a fase β -TCP. Esse grupo apresenta similaridade significativa entre si: espécie ativa $H\alpha$ com os grupos funcionais da Al_2O_3 (90,91 %); e espécie ativa $H\beta$ com a fase β -TCP (84,93 %). A similaridade observada entre essas variáveis sugerem maior interação das espécies ativas provenientes do gás H_2 com os grupos funcionais da Al_2O_3 , bem como favorecem a formação da fase β -TCP.

Por fim, um quarto grupo formado por dois grupos de variáveis também foi observado: citotoxicidade das superfícies não recobertas, grupos funcionais da Al_2O_3 , energia superficial usando solução de SBF, e variação do gás O_2 . A similaridade observada entre as variáveis foi: citotoxicidade com os grupos funcionais da Al_2O_3 (75,41 %); e energia superficial com a variação do gás O_2 (75,81 %). Esse fato sugere que a citotoxicidade na superfície dos corpos de prova sem tratamento é mais influenciada pelos grupos funcionais da Al_2O_3 . Enquanto a similaridade observada entre o gás O_2 e a energia superficial sugere que é mais influenciada pela presença desse gás. Nas demais variáveis não foi observada similaridade significativa. Ressalta-se ainda que todas as similaridades observadas para esses grupos estão de acordo com as correlações de Pearson realizadas.

De maneira geral, os resultados aqui apresentados sugerem que o prévio tratamento superficial por plasma frio contribui tanto para aumentar a molhabilidade quanto para promover alterações químicas nos grupos funcionais presentes nas superfícies dos nanocompósitos de Al_2O_3/ZrO_2 .

Além disso, os resultados também mostraram que o tratamento por plasma frio favorece a formação de fosfatos de cálcio na superfície do nanocompósito. Independentemente da composição gasosa usada, apenas três fases de fosfatos de cálcio foram identificadas: α -TCP, β -TCP, e HA. Dentre as diferentes condições estudadas, destacam-se as superfícies que foram tratadas superficialmente por plasma frio usando as composições gasosas: 3N5H2O, 4N5H1O, e 5N5H. Esse fato corrobora com o que foi observado na Figura 5.18, de que o tratamento por plasma frio com menor quantidade de N₂ na composição é menos efetivo para promover alterações na superfície dos corpos de prova. Assim, pode-se sugerir que os grupos funcionais da ZrO₂ são os responsáveis pela formação dos fosfatos de cálcio na superfície dos corpos de prova.

Ressalta-se ainda que os testes por MTT apresentaram valores acima de 90 % de viabilidade celular sobre as superfícies tratadas e recobertas. Dessa forma, os resultados aqui apresentados sugerem que o tratamento superficial por plasma frio é uma interessante e promissora alternativa para melhorar a bioatividade do nanocompósito de Al₂O₃/ZrO₂.

6. CONCLUSÕES

Baseado no que se verificou nos resultados obtidos durante o desenvolvimento do trabalho, pode-se concluir que:

- ❖ O tratamento por plasma frio influenciou mais nas características superficiais químicas do que alterações na rugosidade superficial do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/5 \text{ vol. ZrO}_2$;
- ❖ Os grupos funcionais atribuídos a Al_2O_3 e a ZrO_2 foram afetados pelo tratamento superficial, independentemente da atmosfera de plasma utilizada. No entanto, os grupos funcionais da ZrO_2 foram mais influenciados pelo tratamento superficial se comparados aos grupos funcionais da Al_2O_3 ;
- ❖ O gás N_2 promoveu maiores alterações químicas nos grupos funcionais da ZrO_2 devido à maior quantidade de espécies ativas desse gás formada nas superfícies do nanocompósito. Ressalta-se que, apesar das espécies ativas do gás O_2 estarem em menor quantidade na superfície do nanocompósito, também pode promover modificações químicas nos grupos funcionais tanto da Al_2O_3 quanto da ZrO_2 .
- ❖ Os nanocompósitos tratados em misturas gasosas com maior proporção do gás N_2 apresentaram maior molhabilidade, sugerindo maior caráter hidrofílico nas suas superfícies;
- ❖ O tratamento por plasma frio favoreceu a formação de maior quantidade de fosfatos de cálcio sobre a superfície do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/5 \text{ vol. ZrO}_2$;
- ❖ Independentemente da composição gasosa usada no tratamento por plasma frio, foi observada a formação de apenas três fases de fosfatos de cálcio sobre a superfície do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/5 \text{ vol. ZrO}_2$: α -TCP, β -TCP, e HA;
- ❖ Na camada de fosfatos de cálcio formada sobre a superfície do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/5 \text{ vol. ZrO}_2$, as fases β -TCP, e HA foram observadas em maior quantidade ;
- ❖ A quantidade de fosfatos de cálcio formados nas superfícies dos nanocompósitos tratados com as composições gasosas: $3\text{N}5\text{H}2\text{O}$, $4\text{N}5\text{H}1\text{O}$, e $5\text{N}5\text{H}$ foram significativamente maiores se comparados às demais composições gasosas;
- ❖ Os ensaios *in vitro* de viabilidade celular mostraram a não citotoxicidade do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/5 \text{ vol. ZrO}_2$.

7. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões para trabalhos futuros têm-se:

- ❖ Estudar a composição química superficial do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/5$ %vol. ZrO_2 por espectroscopia de fotoelétrons por raios-X (XPS), utilizando como padrão, o nanocompósito sem prévio tratamento superficial, além daqueles submetidos ao tratamento por plasma frio. Dessa forma, poderiam ser avaliados separadamente os efeitos provocados pelo tratamento na superfície.
- ❖ Testar e implementar metodologias de avaliação da citotoxicidade *in vitro* em $\text{Al}_2\text{O}_3/5$ %vol. ZrO_2 tratado superficialmente por plasma frio e recoberto com fosfatos de cálcio, de acordo com as normas da ISO 10993-5 e ISO 10993-3 (2009);
- ❖ Analisar modificações químicas e morfológicas superficiais do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/5$ %vol. ZrO_2 tratado superficialmente por plasma frio e recoberto, após exposição às condições fisiológicas;
- ❖ Realizar estudos sobre o comportamento metabólico e morfológico das células expostas ao nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/5$ %vol. ZrO_2 tratado superficialmente por plasma frio e recoberto com fosfatos de cálcio;
- ❖ Avaliar a toxicidade, citotoxicidade, e mutagenicidade do nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3/5$ %vol. ZrO_2 tratado superficialmente por plasma frio e recoberto com fosfatos de cálcio, pelo método do *Allium cepa*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, Y.; KOKUBO, T.; YAMAMURO, T. Apatite coating on ceramics, metals and polymers utilizing a biological process. *Journal of materials science: Materials in medicine*, v. 1, p.233-238, 1990.

AFZAL, M.A.F.; KESARWANI, P.; REDDY, K.M.; KALMODIA, S.; BASU, B., BALANI, K. Functionally graded hydroxyapatite-alumina-zirconia biocomposite: Synergy of toughness and biocompatibility. *Materials Science and Engineering C*, v.32, n.5, 1164-1173, 2012.

AGUIAR A.A. Avaliação do recobrimento biomimético em compósitos de alumina-zircônia texturizadas superficialmente com laser de femtossegundo. 2013. 152p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear - Materiais) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Autarquia associada à Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2013.

AGUIAR, A.A.; ROSSI, W.; COUTO, A.A.; BALDAN, R. Evaluation of biomimetic coatings on femtosecond laser treated alumina and alumina - zirconia composite surfaces. In A. ANDREAS ÖCHSNER, SOUTHPORT QUEENSLAND, G. LUCAS F.M. DA SILVA, Porto, Portugal Holm Altenbach, Magdeburg (Orgs.), *Machining, Joining and Modifications of Advanced Materials*, v.61, p.3-7, 2016.

AHMED, N.A.G. Ion plating technology: Developments and applications. New York, Wiley-Blackwell, 1987.

ALVES JÚNIOR, C.; RODRIGUES, J.A.; MARTINELLI, A.E. The effect of pulse width on the microstructure of d.c.-plasma-nitrided layers. *Surface and Coatings Technology*, v.122, p.112-117, 1999.

ALVES JÚNIOR, C. Nitretação a plasma - Fundamentos e Aplicações. Rio Grande do Norte: Editora UFRN, 2001.

ALVES JÚNIOR, C.; GUERRA NETO, C.L.B.; MORAIS, G.H.S.; SILVA, C.F.; HAJEK, V. Nitriding of titanium disks and industrial dental implants using hollow cathode discharge. *Surface and Coatings Technology*, v.194, p.196-202, 2005.

AMARAL, M.; LOPES, M.A.; SANTOS, J.D.; SILVA, R.F. Wettability and surface charge of Si₃N₄-bioglass composites in contact with simulated physiological liquids. *Biomaterials*, v.23, p. 4123-4129, 2002.

AMIRSALARI, A.; FARJAMI SHAYESTEH, S. Effects of pH and calcination temperature on structural and optical properties of alumina nanoparticles. *Superlattices and Microstructures*, 82, p.507-524, 2015.

ANTONIAC, I.; SINESCU, C.; ANTONIAC, A. Adhesion aspects in biomaterials and medical devices. *Journal of Adhesion Science and Technology*, v.30, n.16, p.1711-1715, 2016.

AOKI, H. Science and medical applications of hydroxyapatite. Tokyo: Takayama Press System Center, p.230, 1991.

APARECIDA, A.H.; FOOK, M.V.L.; GUASTALDI, A.C. Biomimetic apatite formation on ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) using modified biomimetic solution. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v.20, p.1215-1222, 2009.

ARAÚJO FILHO, L. Desenvolvimento e teste de um protótipo de reator de plasma com gaiola catódica rotatória para nitretação em lote de pequenas peças. 2013. 58p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Natal, 2013.

ASAH, R.; MORIKAWA, T. Nitrogen complex species and its chemical nature in TiO₂ for visible-light sensitized photocatalysis. *Chemical Physics*, v.339, p.57-63, 2007.

ASTM C373-88 (2006), Standard test method for water absorption, bulk density, apparent porosity, and apparent specific gravity of fired whiteware products, in: 2006: 1-2.

AZA, P.N.; GUTIÁN, F.; SANTOS, C. Vibrational properties of calcium phosphate compounds. 2. Comparison between Hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate. *Chemistry of Materials*, v.9, p.916-922, 1997.

BADDIEL, C.B.; BERRY, E.E. Spectra structure correlations in hydroxy and fluorapatite. *Spectrochimica Acta*, v.22, p.1407-1416, 1966.

BAILEY, R.T.; HOLT, C. Fourier transform infrared spectroscopy and characterisation of biological calcium phosphates. Calcified Tissue, in: David W.L. Huckins, Stephen Neidle, Watson Fuller (Eds.), London, p. 93-119, 1989.

BALDIN, E.K.K. Efeito do processo de esterilização sobre as propriedades de revestimentos híbridos e sobre a diferenciação osteogênica de células-tronco mesenquimais. 2018. 191p. Tese (Doutorado em Engenharia - modalidade Acadêmica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, 2018.

BALKENHOL, M.; NOTHDURFT, F.P.; HANNING, M.; SCHINDLER, A.; LEHMANN, A.; ARNOLD, T.; KNAUBER, A.; RUPF, S. Bonding to zirconia ceramic: The effect of cold plasma treatment and 4-META. *Clinical Plasma Medicine*, v.5-6, p.8-13, 2017.

BARBOSA, J.C.P. Diagnóstico das espécies ativas do plasma usado em tratamentos termoquímicos do titânio. 2011. 142p. Tese (Doutorado Engenharia e Ciência dos Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Natal, 2011.

BÁRDOS, L.; BARÁNKOVÁ, H. Cold atmospheric plasma: Sources, processes, and applications. *Thin Solid Films*, v.518, p.6705-6713, 2010.

BARRERE F.; VAN BLITTERSWIJK, C.A.; GROOT, K.; LAYROLLE, P. Influence of ionic strength and carbonate on the Ca-P coating formation from SBF×5 solution. *Biomaterials*, v.23, n.29, p.1921-1930, 2002.

BASAHHEL, S.; ALI, T.T.; MOKHTAR, M.; NARASIMHARAO, K. Influence of crystal structure of nanosized ZrO₂ on photocatalytic degradation of methyl orange. *Nanoscale Research Letters*, v.10, n.73, 2015.

BASU, B.; NATH, S. Fundamentals of biomaterials and biocompatibility. Advanced Biomaterials: Fundamentals, Processing, and Applications, Section I, *The American Ceramic Society*, p.1-17, 2009.

BAUER, S.; SCHIMUKI, P.; VON DER MARK, K.; PARK, J. Engineering biocompatible implant surfaces Part I: Materials and surfaces. *Progress in Materials Science*, v.58, p.261-326, 2013.

BEN-NISSAN, B. Advances in calcium phosphate biomaterials. In: Biomaterials Science And Engineering. Springer, p.1-511, 2014.

BEST, S.M.; PORTER, A.E.; THIAN, E.S.; HUANG, J. Bioceramics: Past, present and for the future. *Journal of the European Ceramic Society*, n.28, p.1319-1327, 2008.

BERTAZZO, S.; ZAMBUZZI, W.; CAMPOS, D.D.P.; OGEDA, T.L.; FERREIRA, C.V.; BERTRAN, C.A. Hydroxyapatite surface solubility and effect on cell adhesion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v.78, p.177-184, 2010.

BERTHIER, J.; BRAKKE, K.A. The Physics of Microdroplets. *John Wiley & Sons*, p.392, 2012.

BERZINA-CIMDINA, L.; BORODAJENKO, N. Research of calcium phosphates using fourier transform infrared spectroscopy. Infrared spectroscopy - Materials Science. Engineering and Technology, Prof. Theophanides Theophile, p.123-149, 2012.

BHAT, S.; KUMAR, A. Biomaterials and bioengineering tomorrow's healthcare. *Biomatter*, v.3, n.3., p. e247171 - e247172, 2013.

BI, Y-G.; LIN, Z-T.; DENG, S. Fabrication and characterization of hydroxyapatite/sodium alginate/ chitosan composite microspheres for drug delivery and bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering C*, v.100, p.576-583, 2019.

BONAN, R.F.; BONAN, P.R.F.; BATISTA, U.D.; OLIVEIRA, J.E.; MENEZES, R.R. MEDEIROS, E.S. Métodos de reforço microestrutural da hidroxiapatita. *Cerâmica*, v.60, p.402-410, 2014.

BOSE, S.; TARAFDER, S. Calcium phosphate ceramic systems in growth factor and drug delivery for bone tissue engineering: A review. *Acta Biomaterialia*, v.8, p.1401-1421, 2010.

BOUMAZA, A.; FAVARO, L.; LÉDION, J.; SATTONNAY, G.; BRUBACH, J.B.; BERTHET, P.; HUNTZ, A.M.; ROY, P.; TÉTOT, R. Transition alumina phases induced by heat treatment of boehmite: An X-ray diffraction and infrared spectroscopy study. *Journal of Solid State Chemistry*, v.182, p.1171-1176, 2009.

BOW, J.S.; LIOU, S.C.; CHEN, S.Y. Structural characterization of room-temperature synthesized nano-sized β -tricalcium phosphate. *Biomaterials*, v.25, n.16, p.3155-3161, 2004.

BRANDÃO, M.L.; ESPOSTI, T.B.D.; BISOGNIN, E.D.; HARARI, N.D.; VIDIGAL JÚNIOR, G.M.; CONZ, M.B. Surface of dental implants x biological response. *Implant News Magazine*, v.7, n.1, p.95-101, 2010.

BRAZ, D.C. Modificação de superfícies de titânio tratadas por plasma de Ar-N₂-O₂ visando aplicações biomédicas. 2014. 107p. Tese (Doutorado Engenharia e Ciência dos Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Natal, 2014.

BREDOW, T. Theoretical investigation of nitrogen substitution in cubic zirconia. *Physical Review B*, v.75, n.14, 2007.

BREME, J.; ZHOU, Y.; GROH, L. Development of a titanium alloy suitable for an optimized coating with hydroxyapatite. *Biomaterials*, v.16, n.3, p.239-244, 1995.

BRUNETTE, D.M. The effects of implant surface topography on the behavior of cells. *International Journal of Oral and maxillofacial implants*, v.3 p.124-131, 1988.

CALASANS-MAIA, M.D.; MOURÃO, C.F.A.B.; RESENDE, R.F.B.; NASCIMENTO, J.R.B.; ROSSI, A.M.; GRANJEIRO, J.M. Avaliação clínica de compósito constituídos por fosfato de cálcio nanoestruturado e biopolímero associado à células osteoprogenitoras como alternativa à biocerâmica para a uso na rede SUS na regeneração óssea. *Comunicação em Ciências da Saúde*, n.28, v.1, p.79-84, 2017.

CAMPOS, M. Investigação por espectroscopia MossBauer das fases formadas e sua influência na resistência à corrosão do aço inoxidável austenítico AISI 316L nitretado. 2009. 126p. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos, 2009.

CARRODEGUAS, R.G.; AZA, S. α -Tricalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications. *Acta Biomaterialia*, v.7, p.3536-3546, 2011.

CARVALHO, A.; CANGUEIRO, L.; OLIVEIRA, V.; VILAR, R.; FERNANDES, M.H.; MONTEIRO, F.J. Femtosecond laser microstructured alumina toughened zirconia: A new strategy to improve osteogenic differentiation of hMSCs. *Applied Surface Science*, v.435, p.1237-1245, 2018.

CASTNER, D.G.; RATNER, B.D. Biomedical surface science: foundations to frontiers. *Surface Science*, v.500, n.1-3, p.28-60, 2002.

CASTRO, A.H.R. Tratamento de polímeros com jato de plasma em pressão atmosférica. 2013. 88p. Dissertação (Mestrado em Física na Área de Física Aplicada) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá, UNESP, Guaratinguetá, 2013.

CATAURO, M.; PAPALE, F.; ROVIELLO, G.; FERONE, C.; BOLLINO, F.; TRIFUOGGI, M.; AURILIO, C. Synthesis of SiO₂ and CaO rich calcium silicate systems via sol-gel process: Bioactivity, biocompatibility, and drug delivery tests. *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*, n.102A, p.3087-3092, 2014.

CAVALU, S.; RATIU, C.; PONTA, O.; SIMON, V.; RUGINA, D.; MICLAUS, V.; AKIN, I.; GOLLER, G. Improving osseointegration of alumina/zirconia ceramic implants by fluoride surface treatment. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, v.9, n.2, p.797-808, 2014a.

CAVALU, S.; BANICA, F.; SIMON, V.; AKIN, I.; GOLLER, G. Surface modification of alumina/zirconia ceramics upon different fluoride-based treatments. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, v.11, n.2, p.402-411, 2014b.

CUBILLOS, G.I.; BETHENCOURT, M.; OLAYA, J.J.; ALFONSO, J.E.; MARCO, J.F. The influence of deposition temperature on microstructure and corrosion resistance of ZrO_xN_y/ZrO_2 coatings deposited using RF sputtering. *Applied Surface Science*, v.309, p.181-187, 2014.

CHAPMAN, B. Glow discharge processes: sputtering and plasma etching. New York: *John & Sons*, 1980.

CHAVES FILHO, O.F. Avaliação dos processos de fratura em filmes finos através da simulação de ensaios de indentação com penetradores esféricos. 2017. 87p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, 2017.

CHIANG, Y.; BIRNIE III, D. P.; KINGERY, W. D. Physical Ceramics: Principles for Ceramic Science and Engineering. New York: *John Wiley and Sons*, 1997.

CHINELATTO, A.S.A.; PALLONE, E.M.J.A.; SOUZA, A.M.S.; MANOSSO, M.K.; CHINELATTO, A.L.; TOMASI, R. Mechanisms of Microstructure Control in Conventional Sintering. In: LAKSHMANAN, A. (Ed.) *Sintering of ceramics-new emerging techniques. Intech*, p.401-422, 2012.

CHINELATTO, A.S.A.; CHINELATTO, A.L.; OJAIMI, C.L.; FERREIRA, J.A.; PALLONE, E.M.J.A. Effect of sintering curves on the microstructure of alumina-zirconia nanocomposites. *Ceramics International*, v.40, p.14669-14676, 2014.

CHOI, Y-R.; KWON, J-S.; SONG, D-H.; CHOI, E.H.; LEE, Y-K.; KIM, K-N.; KIM, K-M. Surface modification of biphasic calcium phosphate scaffolds by non-thermal atmospheric pressure nitrogen and air plasma treatment for improving osteoblast attachment and proliferation. *Thin Solid Films*, v.547, p.235-240, 2013.

CHOW, L.C. Development of self-setting calcium phosphate cements. *The Centennial Memorial Issue of The Ceramic Society of Japan*, n.99, v.10, p.954-964, 1991.

COELHO, P.G.; GIRO, G.; TEIXEIRA, H.S.; MARIN, C.; WITEK, L.; THOMPSON, V.P.; TOVAR, N.; SILVA, R.F.A. Argon-based atmospheric pressure plasma enhances early bone response to rough titanium surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*, n.100A, p.1901-1906, 2012.

CORRÊA, F.H. Funcionalização de fibras de carbono por plasma pulsado em gaiola catódica. 2018. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC, Joinville, 2018.

CORTES, D.A.; NOGIWA, A.A.; ALMANZA, J.M.; ORTEGA, S. Biomimetic apatite coating on Mg-PSZ/ Al_2O_3 composites. Effect of the immersion method. *Materials Letter*, v.59, p.1352-1355, 2005.

DAUDT, N.D.F. Influência dos parâmetros de processo na deposição de nitreto de titânio por plasma em gaiola catódica. 2012. 122p. Dissertação (Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Natal, 2012.

DEHESTANI, M.; ILVER, L.; ADOLFSSON, E. Enhancing the bioactivity of zirconia and zirconia composites by surface modification. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B*, v.100B, p.832-840, 2012.

DEHESTANI, M.; ZEMLYANOV, D.; ADOLFSSON, E., STANCIU, L.A. Improving bioactivity of inert bioceramics by a novel Mg-incorporated solution treatment. *Applied Surface Science*, v.425, p.564-575, 2017.

DHERT, W.J.A. Plasma-sprayed coatings and hard-tissue compatibility: a comparative study. In: Fluorapatite, magnesium whitlockite and hydroxyapatite. *Ablasserdam*, p.4-6, 1992.

DIVINSKIS, S.; RÖSNER, H.; WILDE, G. Functional nanostructured materials – microstructure, thermodynamic stability and atomic mobility. In: WILDE, G. Nanostructured Materials. Great Britain: *Elsevier*, 2009. cap.1. p.1-50. (Series Frontiers of Nanoscience).

DOROZHKIN, S.V. Calcium orthophosphates in nature, biology and medicine. *Materials*, v.2, p.399-498, 2009.

DOROZHKIN, S.V. Calcium orthophosphate deposits: Preparation, properties and biomedical applications. *Materials Science and Engineering C*, v.55, p.272-326, 2015.

EID, K.F.; PANTH, M.; SOMMERS, A.D. The physics of water droplets on surfaces: exploring the effects of roughness and surface chemistry. *European Journal of Physics*, v.39, p. 025804 (21pp), 2018.

ELIAZ, N.; METOKI, N. Calcium Phosphate Bioceramics: A review of their history, structure, properties, coating technologies and biomedical applications. *Materials*, v.10, n.334, p.1-104, 2017.

ELLIOT, J.C. Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates, studies in inorganic chemistry. *Elsevier*, 1994.

ESPINOZA, V.A.A. Incorporação superficial de nitrogênio em filmes DLC tratados em plasmas de radio frequência. 2003. 89p. Dissertação (Mestrado em Física) - Pontifícia Universidade Católica, PUC, Rio de Janeiro, 2003.

FOWKES, F.M. Attractive forces at interfaces. *Industrial and Engineering Chemistry*, v.56, n.12, p.40-52, 1964.

FOWLER, B.O.; MORENO, E.C.; BROWN, W.E. Infra-red spectra of hydroxyapatite, octacalcium phosphate and pyrolysed octacalcium phosphate. *Archives of Oral Biology*, v.11, p.477-492, 1966.

FOWLER, B.O.; MARKOVIC, M.; BROWN, W.E. Octacalcium Phosphate. 3. Infrared and raman vibrational spectra. *Chemistry of Materials*, v.5, n.10, p.1417-1423, 1993.

GADALETA, S.J.; PASCHALIS, E.P.; BETTS, F.; MENDELSON, R; BOSKEY, A.L. Fourier transform infrared spectroscopy of the solution-mediated conversion of amorphous

calcium phosphate to hydroxyapatite: new correlations between x-ray diffraction and infrared data. *Calcified Tissue International*, v.58, p.9-16, 1996.

GRAPHPAD SOFTWARE, San Diego California USA, Copyright©.

FAGA, M.G.; VALLÉE, A.; BELLOSI, A.; MAZZOCCHI, M.; THINH, N.N.; MARTRA, G.; COLUCCIA, S. Chemical treatment on alumina-zirconia composites inducing apatite formation with maintained mechanical properties. *Journal of the European Ceramic Society*, v.32, p.2113-2120, 2012.

FAVARO, L.; BOUMAZA, A.; ROY, P.; LÉDION, J., SATTONNAY, G., BRUBACH, J. B., TÉTOT, R. Experimental and ab initio infrared study of χ -, κ - and α -aluminas formed from gibbsite. *Journal of Solid State Chemistry*, v.18, n.4, p.901-908, 2010.

FELLER, L.; JADWAT, Y.; KHAMMISSA, R.A.G.; MEYEROV, R.; SCHECHTER, I.; LEMMER, J. Cellular responses evoked by different surface characteristics of intraosseous titanium implants. *BioMed Research International*, v.2015, p.1-8, 2015.

FISHER, G. Ceramic coating enhance performance engineering. *Ceramic Bulletin*, v.65 n.2, p.283-287, 1986.

FITZPATRICK, R. Plasma physics: An introduction. *CRC Press*, 2014.

FREITAS, F.G.R. Influência do Teor de Silício em Filmes Finos de Nitreto de Zircônio Depositados por Magnetron Sputtering Reativo. 118p. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, 2016.

FRIDMAN, A. Plasma chemistry. *Cambridge University Press*, 2008.

FOOK, A.C.B.M.; APARECIDA, A.H.; FOOK, M.V.L. Desenvolvimento de biocerâmicas porosas de hidroxiapatita para utilização como *scaffolds* para regeneração óssea. *Revista Matéria*, v.15, n.3, p.392-399, 2010.

GARCÍA, F.; ARIAS, J.L.; MAYOR, B.; POU, J.; REHMAN, I.; KNOWLES, J.; BEST, S.; LEÓN, B.; PÉREZ-AMOR, M.; BONFIELD, W. Effect of heat treatment on pulsed laser deposited amorphous calcium phosphate coatings. *Journal of Biomedical Material Research (Appl Biomater)*, v.43, p.69-76, 1998.

GARG, T.; SINGH, O.; ARORA, S.; MURTHY, R.S.R. Scaffold: A novel carrier for cell and drug delivery. *Critical Review in Therapeutic Drug Carrier Systems*, n.29, v.1, p1-63, 2012.

GLEITER, H. Nano presented. In: 2nd International Conference on Nanostructured Materials, Germany, 1995.

GOLUBOVSKII, Y.; MAIOROV, V.A.; BEHNKE, J.; BEHNKE, J.F. Influence of interaction between charged particles and dielectric surface over a homogeneous barrier discharge in nitrogen. *Journal of Physics D: Applied Physics*, v.35, p.751-761, 2002.

GONZÁLEZ, R.; GUERRA-LOPEZ, J.G. Materiales bioactivos para implantes óseos. Características y aplicaciones. Laboratorio de Biomateriales, Centro Investigaciones científicas, Cuba, 1993.

GOVINDAN, R.; GIRIJA, E.K. Drug loaded phosphate glass/hydroxyapatite nanocomposite for orthopedic applications. *Journal of Materials Chemistry B*, v.2 ,p.5468-5477, 2014.

GREER, A. L. Nanostructured materials – from fundamentals to applications. *Materials Science Forum*, v.269-272, p.3-10, 1998.

GUASTALDI, A.C.; E APARECIDA, A.H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. *Química Nova*, v.33, n.6, p.1352-1358, 2010.

GUIMARÃES, F.A.T.; SILVA, K.L.; TROMBINI, A, V.; PIERRI, J.J.; RODRIGUES, J.A., TOMASI, R.; PALLONE, E.M.J.A. Correlation between microstructure and mechanical properties of Al_2O_3 - ZrO_2 nanocomposites. *Ceramics International*, v.35, n.2, p.741-745, 2009.

HAO, L.; MA, D.R.; LAWRENCE, J.; ZHU, X. Enhancing osteoblast functions on a magnesia partially stabilised zirconia bioceramic by means of laser irradiation. *Materials Science and Engineering C*, v.25, p.496-502, 2005.

HADJICHARALAMBOUS, C.; PRYMAK, O.; LOZA, K.; BUYAKOV, A.; KULKOV, S.; CHATZINIKOLAIDOU, M. Effect of porosity of alumina and zirconia ceramics toward pre-osteoblast response. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v.3, p.1-10, 2015.

HAGIWARA, Y.; NAKAJIMA, K. Application of Ce-TZP/ Al_2O_3 nanocomposite to the framework of an implant-fixed complete dental prosthesis and a complete denture. *Journal of Prosthodontic Research*, v.60, p.337-343, 2016.

HABRAKEN, W.; HABIBOVIC, P.; EPPLE, M.; BOHNER, M. Calcium phosphates in biomedical applications: materials for the future? *Materials Today*, v.19, n.2, p.69-87, 2016.

HENCH, L.L. Biomaterials. *Science*, v.208, n.4446, p.826-831, 1980.

HENCH, L.L.; WILSON, J. Surface-active biomaterials. *Science*, v.226, p.630-636, 1984.

HENCH, L.L.; WILSON, J. Introduction to bioceramics. Singapore: Word Scientific Publishing, p.402, 1993.

HENCH, L.L.; POLAK, J.M. Third-generation biomedical materials, *Science*, v.295, p.1014-1017, 2002.

HENCH, L.L.; THOMPSON, I. Twenty-first century challenges for biomaterials. *Journal of the Royal Society Interface*, v.7, p. S379-S391, 2010.

HIROHATA Y.; TSUCHIYA N.; HINO T. Effect of mixing of hydrogen into nitrogen plasma. *Applied Surface Science*, v.169-170, p.612-616, 2001.

HOLZAPFEL, B.M.; REICHERT, J.C.; SCHANTZ, J.T., GBURECK, U; RACKWITZ, L.; NÖTH, U.; HUTMACHER, D.W. How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view. *Advanced Drug Delivery Reviews*. v.65, p.581-603, 2013.

<https://historiablog.org/2014/03/27/a-evolucao-das-proteses/>.ALEXANDRE, (2014). Acesso em 16 de julho de 2020.

HUANG, Z.; ZHOU, Q.; WANG X.; LIU, Z. A biomimetic synthesis process for Sr^{2+} , HPO_4^{2-} , and CO_3^{2-} substituted nanohydroxyapatite. *Materials and Manufacturing Processes*, v.31, p.217-222, 2016.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO FDIS 23.317:2005 Implants for surgery-In vitro evaluation for apatite-coating ability of implants materials, 2005.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 10993-12:2005. Biological evaluation of medical devices - Part 12: Sample preparation and reference materials. 2005.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 10993-5:2009. Biological evaluation of medical devices-Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. 2009.

ITO, Y.; OKAWA, T.; FUJI, T.; TANAKA, M. Influence of plasma treatment on surface properties of zirconia. *Journal of Osaka Dental University*, v.50, n.2, p.79-84, 2016.

ITIKAWA, Y. Cross sections for electron collisions with oxygen molecules. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, v.38, n.1, p.1-20, 2009.

IVKOVIC, M.; JOVICEVIC, S.; KONJEVIC, N. Low electron density diagnostics: development of optical emission spectroscopic techniques and some applications to microwave induced plasmas. *Spectrochimica Acta Part B*, v.59, p.591-605, 2004.

JOINT COMMITTEE FOR POWDER DIFFRACTION STUDIES. JCPDS, Diffraction Data Base, 2003.

JARCHO, M. Retrospective analysis of hydroxyapatite development for oral implant applications, *Dental Clinics of North America*, v.36, n.1, p. 19-26, 1992.

JOHN, A.A.; SUBRAMANIAN, A.P.; VELLAYAPPAN, M.V.; BALAJI, A.; JAGANATHAN, S.K.; MOHANDAS, H.; PARAMALINGGAM, T.; SUPRIYANTO, E.; YUSOF, M. Review: physico-chemical modification as a versatile strategy for the biocompatibility enhancement of biomaterials. *RSC Advances*, v.5, p. 39232-39244, 2015.

KAKLAMANI, G.; MEHRBAN, N.; BOWEN, J.; DONG, H.; GROVER, L.; STAMBOULIS, A. Nitrogen plasma surface modification enhances cellular compatibility of aluminosilicate glass. *Materials Letters*, v.111, p.225-229, 2013.

KHASKHOUSI, A.; CALABRESE, L.; CURRÒ, M.; LENTILE, R.; BOUAZIZ, J.; PROVERBIO, E. Effect of the compositions on the biocompatibility of new alumina-zirconia-titania dental ceramic composites. *Materials*, v.13, n.1374, p.1-14, 2020.

KARAKAN, M.; ALSARAN, A.; ÇELİK, A. Effects of various gas mixtures on plasma nitriding behavior of AISI 5140 steel. *Materials Characterization*, v.49, n.3, p.241-246, 2003.

KARTHIK, A.; MANIVASAKAN, P.; ARUNMETHA, S.; YUVAKKUMAR, R.; RAJENDRAN, V. Production of Al₂O₃-stabilized tetragonal ZrO₂ nanoparticles for thermal barrier coating. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, v.10, n.6, p.887-899, 2013.

KAWACHI, E.Y.; BERTRAN, C.A.; REIS, R.R.; ALVES, O.L. Biocerâmicas, tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. *Química Nova*, v.23, n.4, p.518-522, 2000.

KIMURA, V.T.; REDIGUIERI, C.F.; ZANIN, M.H.A., WANG, S.H. Molhabilidade de 'scaffolds' biodegradáveis obtidos por eletrofição. In: 9º Congresso Latino Americano de Órgãos e Biomateriais, Foz do Iguaçu, 2016.

KINGERY, W. D.; BOWEN, H. K.; UHLMANN, D. R. Introduction to ceramics. 2 ed. New Jersey: Wiley Interscience, 1976.

KOLMAS, J.; KAFLAK, A.; ZIMA, A.; ŚLÓŚARCZYK, A. Alpha-tricalcium phosphate synthesized by two different routes: Structural and spectroscopic characterization. *Ceramics International*, v.41, p.5727-5733, 2015.

KOUTSOPOULOS, S. Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods. *Journal of Biomedical Materials Research*, v.62, n.4, p.600-612, 2002.

KRSTULOVIC, N.; LABAZAN, I.; MILOSEVIC, S.; CVELBAR, U.; VESEL, A.; MOZETIC, M. Optical emission spectroscopy characterization of oxygen plasma during treatment of a PET foil. *Journal of Physics D: Applied Physics*, v.39, p.3799-3804, 2006.

KUCKO, N.W.; HERBER, R-P.; LEEUWENBURGH, S.C.G.; JANSEN, J.A. Calcium phosphate bioceramics and cements. Principles of Regenerative Medicine, Third Edition, Chapter 34, *Elsevier*, 2017.

KULKARNI, M.; PATIL-SEM, Y.; JUNKAR, I.; KULKARNI, C.V.; LORENZETTI, M.; IGLIC, A. Wettability studies of topologically distinct titanium surfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v.129, p.47-53, 2015.

KOKUBO, T.; MATSUSHITA, T.; TAKADAMA, H.; KIZUKI, T. Development of bioactive materials based on surface chemistry. *Journal of the European Ceramic Society*, v.29, p.1267-1274, 2009.

LACERDA, K.A. Obtenção de matrizes bioabsorvíveis à base de hidroxiapatita para aplicação em braquiterapia. 2005. 95p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia das Radiações, Minerais e Materiais) - Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, Comissão Nacional de Energia Nuclear, Belo Horizonte, 2005.

LARA, L.O.C. Otimização de tribo revestimentos multifuncionais: Uma abordagem experimental/computacional. 171p. 2012. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Universidade Federal de Uberlândia, UFU, 2012.

LEGEROS, R.Z. Calcium phosphates in oral biology and medicine, Monographs in Oral Science 15, p.1-201, 1991.

LEGEROS, R.; DACULSI, Z.; LEGEROS, G.; JOHN, P. Orthopedic Biology and Medicine: Musculoskeletal Tissue regeneration, biological materials and methods. In: Pietrzak, W.S.(Ed.). Bioactive Bioceramics. Totowa: Humana Press. Cap.8, p.153-178, 2006.

LI, J.; HASTINGS, G.W. Oxide bioceramics: inert ceramic materials in medicine and dentistry. Chapter 5. *Handbook of Biomaterial Properties Second Edition*, Springer, 2016.

LINDAHL, C.; XIA, W.; LAUSMAA, J.; ENGQVIST, H. Incorporation of active ions into calcium phosphate coatings, their release behavior and mechanism. *Biomedical Materials*, v.7, 045018, p.1-14, 2012.

LIN, F-H.; LIAO, C-J.; CHEN, K.S.; SUN, J-S.; LIN, C-H. Petal-like apatite formed on the surface of tricalcium phosphate ceramic after soaking in distilled water. *Biomaterials*, v.22, p.2981-2992, 2001.

LIN, L.; WANG, H.; NI, M.; RUI, Y.; CHENG, T-Y.; CHENG, C-K.; PAN, X.; LI, G.; LIN, C. Enhanced osteointegration of medical titanium implant with surface modifications in micro/nanoscale structures. *Journal of Orthopaedic Translation*, v.2, n.1, p.35-42, 2014.

LIN, X.; GROOT, K.; WANG, D.; HU, Q.; WISMEIJER, D.; LIU, Y. A review paper on biomimetic calcium phosphate coatings. *The Open Biomedical Engineering Journal*, v.9, (Suppl 1-M4), p.56-64, 2015.

LIU, G.J.; QUI, H.B.; TODD, R.; BROOK, R.J.; GUO, J.K. Processing and mechanical behavior of Al₂O₃-ZrO₂ nanocomposite. *Materials Research Bulletin*, v.33, n.2, p.281-288, 1998.

LOBO, A.O. Obtenção de super-hidrofiliçidade em nanotubos de carbono alinhados e sua aplicação como nanobiomaterial. 2011. 209p. Tese (Doutorado em Engenharia Aeronáutica e Mecânica) - Instituto Tecnológico de Aeronáutica, (ITA), São José dos Campos, 2011.

LOCA, D.; LOCS, J.; DUBNIKA, A.; ZALITE, V.; BERZINA-CIMDINA, L. 9 - Porous hydroxyapatite for drug delivery. *Hydroxyapatite (HAp) for Biomedical Applications*, p.189-209, 2015.

LOGHMAN-ESTARKI, M.R.; DAVAR, F.; GHORBANI, S.; ZENDEHDEL, M.; TAHERIAN, M.H. Synthesis and characterization of aluminium oxynitride (AlON) from the nanosized gel precursor. *Ceramics International*, v.42, p.16861-16866, 2016.

LOPES, B.B. Utilização de plasmas em pressão atmosférica para modificação de polímeros biocompatíveis. 42p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais) - Universidade Estadual Paulista, UNESP, Sorocaba, 2012.

LOPES, B.B.; AYRES, A.P.A.; LOPES, L.B.; NEGREIROS, W.M.; GIANNINI, M. The effect of atmospheric plasma treatment of dental zirconia ceramics on the contact angle of water. *Applied Adhesion Science*, v.2, n.17, p.1-8, 2014.

MAIA, M.D.C. A hidroxiapatita contendo zinco a 0,5% como substituto ósseo. Caracterização físico-química e análise normatizada da biocompatibilidade. 2009. 240p. Tese (Doutorado em Patologia Bucodental) - Universidade Federal Fluminense, UFF, Niterói, 2009.

MA, Y.; WANG, A.; LI, J.; LI, Q.; HAN, Q.; CHEN, Y.; WANG, S.; ZHENG, X.; CAO, H.; BAI, S. Preparation of hydroxyapatite with high surface area and dispersity templated on calcium carbonate in dipeptide hydrogels. *Colloids and Surfaces A*, v.596, n.124740, p.1-7, 2020.

MA, W.; HERBERT, F.W.; SENANAYAKE, S.D.; YILDIZ, B. Non-equilibrium oxidation states of zirconium during early stages of metal oxidation. *Applied Physics Letters*, v.106, p.101603-1-101603-5, 2015.

MANIVASAKAN, P.; KARTHIK, A.; RAJENDRAN, V. Mass production of Al_2O_3 and ZrO_2 nanoparticles by hot-air spray pyrolysis. *Powder Technology*, v.234, p.84-90, 2013.

MEHER, T.; BASU, A.K.; GHATAK, S. Physicochemical characteristics of alumina gel in hydroxyhydrogel and normal form. *Ceramics International*, v.31, p.831-838, 2005.

MEATZ, J. Interpretação de clusters gerados por algoritmos de *clustering* hierárquico. 2006. 152p. Dissertação (Mestre em Ciências de Computação e Matemática Computacional) - Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação, USP/ICMC, São Carlos, 2006.

MÉNDEZ, I.; F.J.; GORDILLO-VÁZQUEZ, V.J.; HERRERO, V.J.; TANARRO, I. Atom and ion chemistry in low pressure hydrogen dc plasmas. *The Journal of Physical Chemistry A*, v.110, n.18, p.6060-6066, 2006.

MINITAB Inc. Statistical Software Data Analysis Software. *Version 19*.

MISHRA, S.C.; NAYAK, B.B.; MOHANTHY, B.C.; MILLS, B. Surface nitriding of titanium in arc plasma. *Journal of Materials Processing Technology*, v.132, p.143-148, 2003.

MONDAL, D.; SO-RA, S.; SARKAR, S.K.; MIN, Y.K.; YANG, H.M.; LEE, B.T. Fabrication of multilayer ZrO_2 -biphasic calcium phosphate-poly-caprolactone unidirectional channeled scaffold for bone tissue formation. *Journal of Biomaterials Applications*, n.28, v.3, p.462-472, 2013.

MORAIS, P.B. Deposição de filmes de TiO_2 usando plasma em gaiola catódica. 2017. 85p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, UFERSA, Mossoró, 2017.

MOREIRA, A.S.B.; PASTORELI, M.T.; DAMASCENO, L.H.F.; DEFINO, H.L.A. Estudo experimental da influência das dimensões dos grânulos de hidroxiapatita na integração óssea. *Acta Ortopédica Brasileira*, n.11, v.4, 2003.

MOURA, C.E.B.; SILVA, N.B.; SA, J.C.; CAVALCANTI JÚNIOR, G.B.; MEDEIROS, S.R.B.; ROCHA, H.A.O.; PAPA, P.C.; ALVES JÚNIOR, C. MC3T3-E1 cells behavior on

surfaces bombarded by argon ions in planar cathode discharge. *Artificial Organs*, v.40, n.5, p.497-504, 2016.

MUBARACK ALI, A.; RAMAM, S.G.S.; PATHAK, S.D.; GANANAMOORTHY, R. Influence of plasma nitriding on fretting wear behaviour of Ti-6Al-4V. *Tribology International*, v.43, p.152-160, 2010.

MURPHY, M.E.; INSLEY, G.M.; LAUGIER, M.T.; SUTTON, D.; NEWCOMB, S.B. A microstructural and mechanical study on the effects of carbon ion implantation on zirconia-toughened-alumina. *Journal of Materials Science*, v.39, p.619-630, 2004.

MURUGAN, R.; RAMAKRISHNA, S. Development of nanocomposites for bone grafting. *Composites Science and Technology*, n.65, p.2385-2406, 2005.

MUKAKA, M.M. Statistics Corner: A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal*, v.24, n.3, p.69-71, 2012.

NAGATA, F.; MIYAJIMA, T.; KATO, K. Preparation of phylloquinone-loaded poly(lactic acid)/hydroxyapatite core-shell particles and their drug release behavior. *Advanced Powder Technology*, v.27, p.903-907, 2016.

NANOSTRUCTURED MATERIALS Inc. (NANOAMOR). Disponível em: <<https://www.nanoamor.com/products>>. Acesso em: 28.03.2020.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. NIST. Atomic Spectra Database Lines Form, 2020.

NEHRA, V.; KUMAR, A.; DWIVEDI, H.K. Atmospheric non-thermal plasma sources. *International Journal of Engineering*, v.2, n.1, p.53-68, 2008.

NETO, J.S.R. Hidroxiapatita sintética nanoestruturada e esmalte dental aquecidos e irradiados por laser de Er, Cr:YSGG. Caracterização por FTIR e por DRX. 2009. 120p. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Materiais) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Autarquia Associada à Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2009.

NIIHARA, K.; NAKAHIRA, A.; SASAKI, G.; HIRABAYASHI, M. Development of strong Al₂O₃-SiC composites. In: Materials Research Society Symposium Proceedings on International Meeting on advanced Materials. *Materials Research*, v.4, p.129-134, 1989.

NIIHARA, K.; NAKAHIRA, A. Particulate strengthened oxide nanocomposites. In: Advanced Structural Inorganic Composites. *Elsevier Science Publishers*, p.637-664, 1990.

NIIHARA, K. New design concept of structural ceramics: ceramic nanocomposites. *The Centennial Memorial Issue of the Ceramic Society of Japan*, v.99, n.10, p.974-982, 1991.

NING, C.; ZHOU, L.; TAN, G. Fourth-generation biomedical materials, *Materials Today*, v.19, n.1, p.1-3, 2016.

NISHIME, T.M.C. Jato de plasma frio em pressão atmosférica para tratamento de materiais e esterilização. 2015. 114p. Dissertação (Mestrado em Física na Área de Física de Plasmas e Descargas Elétricas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá, 2015.

NISHIME, T.M.C.; BORGES, A.C.; KOGA-ITO, C.Y.; MACHIDA, M.; HEIN, L.R.O.; KOSTOV, K.G. Non-thermal atmospheric pressure plasma jet applied to inactivation of different microorganisms. *Surface and Coatings Technology*, v.312, p.19-24, 2017.

OJAIMI, C.L. Compósito nanoestruturados de alumina-zircônia para prótese odontológica. 2014. 132p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Materiais) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, UEPG, 2014.

OJAIMI, C.L.; CHINELATTO, A.S.A.; CHINELATTO, A.L.; PALLONE, E.M.J.A.; SALEM, R.P. Microstructural evolution of alumina-zirconia nanocomposites. *Materials Science Forum*, v.805, p.621-626, 2015.

OJAIMI, C.L.; FERREIRA, J.A.; SANTOS, F.A.; CHINELATTO, A.L.; PALLONE, E.M.J.A.; CHINELATTO, A.S.A. Mechanical characterisation and hydrothermal degradation of Al_2O_3 -15vol% ZrO_2 nanocomposites consolidated by two-step sintering. *Ceramics International*, v.44, p.16128-16136, 2018.

OLIVEIRA, L.R. Modelagem bidimensional de hidrofobicidade e superhidrofobicidade em superfície de pilares, 2010. 96p. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, 2010.

ORIGINLAB, Northampton.

OSMAN, R.B.; SWAIN, M.V. A critical review of dental implant materials with an emphasis on titanium versus zirconia. *Materials*, v.8, p.932-958, 2015.

PALMERO, P.; FORNABAIO, M.; MONTANARO, L.; REVERON, H.; ESNOUF, C.; CHEVALIER, J. Towards long lasting zirconia-based composites for dental implants. Part I: Innovative synthesis, microstructural characterization and *in vitro* stability. *Biomaterials*, v.50, p.38-46, 2015.

PAVINATO, V.P. Estudo da solubilidade de apatitas em meios de interesse biológico. 2012. 81p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual Paulista, UNESP, Araraquara, 2012.

PECHINI, M.P.; US pat. 3,330,697 1967.

PENEL, G.; LEROY, N.; VAN LANDUYT, P.; FLAUTRE B.; HARDOUIN, P.; LEMAÎTRE, J. LEROY, G. Raman microspectrometry studies of brushite cement: In vivo evolution in a sheep model. *Bone*, v.25, n.2, Supplement, p.81S-84S, 1999.

PENG, W.W.; ROY, P.; FAVARO, L.; AMZALLAG, E.; BRUBACH, J.B.; CONGEDUTI, A.; TÉTOT, R. Experimental and ab initio study of vibrational modes of stressed alumina films formed by oxidation of aluminium alloys under different atmospheres. *Acta Materialia*, v.59, n.7, p.2723-2730, 2011.

PIERRI, J.; MAESTRELLI, S.C.; PALLONE, E.M.J.A.; TOMASI, R. Dispersão de nanopartículas de ZrO_2 visando produção de nanocompósitos de ZrO_2 em matriz de Al_2O_3 . *Cerâmica*, v.51, p.08-12, 2005.

PIERRI, J.; ROSLINDO, E.B.; TOMASI, R.; PALLONE, E.M.J.A.; RIGO, E.C.S. Alumina-zirconia composite coated by biomimetic method. *Journal of Non-Crystalline Solids*, v.352, p.5279-5283, 2006.

PIERRI, J. Determinação da dureza, da tenacidade e da fadiga flexural de infraestruturas para prótese odontológicas livres de metal reforçadas com zircônia nanométrica. 2011. 106p. Tese (Doutorado em Reabilitação Oral) - Universidade Estadual Paulista, UNESP, Araraquara, 2011.

PINTO, F.A.M.; SILVA, V.V. Aplicação de Biomateriais em Ortopedia. 9p. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Biomédica e Engenharia Clínica), Instituto Nacional de Telecomunicações, INATEL, Santa Rita do Sapucaí, Minas Gerais, 2015.

PIRES, A.L.R.; BIERHALZ, A.C.K.; MORAES, A.M. Biomateriais, tipos, aplicações e mercado. *Química Nova*, p.1-38, 2015.

PRAKASHBABU, D.; KRISHNA, R.H.; NAGABHUSHANA, B.M.; NAGABHUSHANA, H.; SHIVAKUMARA, C.; CHAKRADAR, R.P.S.; RAMALINGAM, H.B.; SHARMA, S.C.; CHANDRAMOHAN, R. Low temperature synthesis of pure cubic ZrO_2 nanopowder: Structural and luminescence studies. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular*, v.118, p.847-851, 2014.

QAYYUM, A.; AHMAD, R.; WAHEED, A.; ZAKAULLAH, M. Spectroscopic optimization of abnormal glow conditions for plasma ion nitriding. *The European Physical Journal Applied Physics*, v. 32, p.45-52, 2005.

QAYYUM, A.; ZEB, S.; NAVEED, M.A.; REHMAN, N.U.; GHOURI, S.A.; ZAKAULLAH, M. Optical emission spectroscopy of Ar- N_2 mixture plasma. *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer*, v.107, p.367-371, 2007.

RAJESH, P.; MOHAN, N.; YOKOGAWA, Y.; VARMA, H. Pulsed laser deposition of hydroxyapatite on nanostructured titanium towards drug eluting implants. *Materials Science and Engineering C*, v.33, p.2899-2904, 2013.

RATNER, B.D.; HOFFMAN, A.S.; SCHOEN, F.J.; LEMON, J.E. Biomaterials science: a multidisciplinary endeavor. In: Ratner B.D, Hoffman A.S, Schoen F.J, Lemons J.E (Eds). Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. Elsevier, 2004.

RATNER, B.D.; HOFFMAN, A.S.; SCHOEN, F.J.; LEMONS, J.E. Biomaterials science an introduction to materials in medicine, 3rd edition. *Elsevier*, 2013.

REMOR, M.A. Extração térmica assistida por plasma de ligantes orgânicos de componentes injetados. 2010. 72p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, 2010.

REY-AIRA, B.; GÓMEZ-GRATÀCOS, A.; FREIRE-DAPENA, A.; BLANCO-MÉNDEZ, J.; LUZARDO-ÁLVAREZ, A.; OTERO-ESPINAR, F.J. Hydroxyapatite functionalized with

1,2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin as scaffolds for antibiotic release in bone tissue. *International Journal of Clinical Pharmacology and Pharmacotherapy*, v.3, n.135, p.1-7, 2018.

RIBEIRO, I.I.A. Estudo da implantação *in vivo* de biomateriais compósitos de fosfato de cálcio e polímero. 2013. 79p. Dissertação (Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) - Universidade Federal da Bahia, UFB, Salvador, 2013.

RIBEIRO, I.I.A.; ALMEIDA, R.S.; ROCHA, D.N.; SILVA, M.H.P.; MIGUEL, F.B.; ROSA, F.P. Biocerâmicas e polímero para a regeneração de defeitos ósseos críticos. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, v.13, n.3-especial, p.298-302, 2014.

RICCI, V.P. Obtenção e caracterização do recobrimento biomimético do titânio com hidroxiapatita dopada com nitrato de prata e recoberta com filme de quitosana. 2017. 82p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia dos Materiais) - Universidade Federal de Alfenas, UFA, Poços de Caldas, 2017.

RICKERBY, D.S.; MATTHEWS, A. Advanced surface coatings: A handbook of surface engineering. *Springer*, 1991.

ROCHA, R.C.S. Propriedades tribomecânicas de superfícies de titânio carbonitretadas por plasma. 100p. Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciência de Materiais) - Universidade Federal Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

RODRIGUES, P.L.; ALMEIDA, F.S.; MOTISUKE, M.; SOUZA, E. Efeito da adição de alumina nas propriedades físicas e mecânicas do β -fosfato tricálcico. *Cerâmica*, n.58, p.368-373, 2012.

RUSSELL, S.W.; LUPTAK, K.A.; SUCHICITAL, C.T.A.; ALFORD, T.L.; PIZZICONI, V.B. Chemical and structural evolution of sol-gel-derived hydroxyapatite thin films under rapid thermal processing. *Journal of the American Ceramic Society*, v.79, p.837-842, 1996.

REDEY, S.A.; NARDIN, M.; BERNACHE-ASSOLANT, D.; REY, C.; DELANNOY, P.; SEDEL, L.; MARIE, P.J. Behavior of human osteoblastic cells on stoichiometric hydroxyapatite and type A carbonate apatite: role of surface energy. *Journal of Biomedical Materials Research*, v.50, n.3, p.353-364, 2000.

REDDY, N.; BERA, P.; REDDY, V.R.; SRIDHARA, N.; ANANDAN, C.; SHARMA, A.K. XPS study of sputtered alumina thin films. *Ceramics International*, v.40, p.11099-11107, 2014.

REY, C.; SHIMIZU, M.; COLLINS, B.; GLIMCHER, M.J. Resolution-Enhanced fourier transform infrared spectroscopy study of the environment of phosphate ion in the early deposits of a solid phase of calcium phosphate in bone and enamel and their evolution with Age: 2. Investigations in the ν_3 PO_4 domain. *Calcified Tissue International*, v.49, p.383-388, 1991.

RIBEIRO C. Processamento e caracterização de cerâmicas a base de hidroxiapatita e fosfato de cálcio. 2003. 112p. Dissertação (Mestre em Tecnologia Nuclear - Materiais) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Autarquia associada à Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2003.

RIBEIRO, C.; BARROS, G.S.; BRESSANI, A.H.A.; BRESSIANI, J.C. Avaliação das propriedades superficiais de cerâmicas biocompatíveis a base de fosfatos de cálcio. In: 58º Congresso Brasileiro de Cerâmica, Brasil, 2014b.

RIZZO, A.; SIGNORE, M.A.; MIRENGHI, L.; CAPELLO, A.; TAPFER, L. Nano-crystalline Zr_2ON_2 thin films deposited by reactive magnetron sputtering. *Surface and Coatings Technology*, v.204, p.2019-2022, 2010.

RIZZO, A.; SIGNORE, M.A.; MIRENGHI, L.; TAPFER, L.; PISCOPIELLO, E.; SALERNITANO, E.; GIORGI, R. Sputtering deposition and characterization of zirconium nitride and oxynitride films. *Thin Solid Films*, v.520, p.3532-3538, 2012.

ROMAN, D.; BERNARDI, J.; AMORIM, L.G.; SOUZA, F.S.; SPINELLI, A.; GIACOMELLI, C.; FIGUEROA, C.A.; BAUMVOL, I.J.R.; BASSO, R.L.O. Effect of deposition temperature on microstructure and corrosion resistance of ZrN thin films deposited by DC reactive magnetron sputtering. *Materials Chemistry and Physics*, v.130, p.147-153, 2011.

RTIMI, S.; PASCU, M.; SANJINES, R.; PULGARIN, C.; BEN-SIMON, M.; HOUAS, A.; LAVANCHY, J.-C.; KIWI, J. ZrNO–Ag co-sputtered surfaces leading to E. coli inactivation under actinic light: Evidence for the oligodynamic effect. *Applied Catalysis B: Environmental*, v.138-139, p.113-121, 2013.

SAGÁS, J.C. Mini curso: Introdução a plasma. In: XVI Semana da Física, 2016. Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC, Joinville, 2016.

SAHU, H.R.; RAO, G.R. Characterization of combustion synthesized zirconia powder by UV-vis, IR and other techniques. *Bulletin of Materials Science*, v.23, n.5, p.349-354, 2000.

SALEM, R.E.P. Desenvolvimento de ZrO_2/Al_2O_3 e ZrO_2/Al_2O_3-NbC usando sinterização convencional e não convencional. 2017. 159p. Tese (Doutor em Engenharia e Ciência de Materiais) Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP/FZEA, Pirassununga, 2017.

SANTOS, K.H. Estudo da adesão e uniformidade do revestimento de fosfato de cálcio no nanocompósito de alumina-zircônia. 2016. 156p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP/FZEA, Pirassununga, 2016.

SANTOS, K.H.; FERREIRA, J.A.; OSIRO, D.; CONCEIÇÃO, G.J.A.; BERNARDES FILHO, R.B.; COLNAGO, L.A.; PALLONE, E.M.J.A. Influence of different chemical treatments on the surface of Al_2O_3/ZrO_2 nanocomposites during biomimetic coating. *Ceramics International*, v.43, p.4272-4279, 2017.

SANTOS, K.H.; FERREIRA, J.A.; OSIRO, D.; CONCEIÇÃO, G.J.A.; COLNAGO, L.A.; ALVES Jr., C.; PALLONE, E.M.J.A. Plasma surface treatments of Al_2O_3/ZrO_2 nanocomposites and their influence on the formation and adhesion of calcium phosphates. *Applied Surface Science*, v.456, p.552-560, 2018.

SANTOS, K.H.; FERREIRA, J.A.; OSIRO, D.; CARVALHO, R.A.; COLNAGO, L.A.; ALVES JÚNIOR, C.; PALLONE, E.M.J.A. Influence of the cold plasma treatment on the Al_2O_3/ZrO_2 nanocomposites surfaces. *Applied Surface Science*, v.531, p.147206, 2020.

SARKAR, D.; MOHAPATRA, D.; RAY, S.; BHATTACHARYYA, S.; ADAK, S.; MITRA, N. Nanostructured $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ composite synthesized by sol-gel technique: powder processing and microstructure. *Journal of Materials Science*, v.42, n.5, p.1847-1855, 2007.

SARTORI, T.A.I.C.; FERREIRA, J.A.; OSIRO, D.; COLNAGO, L.A.; PALLONE, E.M.J.A. Formation of different calcium phosphate phases on the surface of porous $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ nanocomposites. *Journal of the European Ceramic Society*, n.38, p.743-751, 2018.

SARTORI, T.A.I.C. Influência da zircônia na deposição biomimética de fosfatos de cálcio sobre a superfície de nanocompósitos de alumina-zircônia. 2019. 119p. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP/FZEA, Pirassununga, 2019.

SAUER, G.R.; ZUNIC, W.B.; DURIG, J.R.; WUTHIER, R.E. Fourier transform raman spectroscopy of synthetic and biological calcium phosphates. *Calcified Tissue International*, n.54, p.414-420, 1994.

SEKER, E.; KILICARSLAN, M.A.; POLAT, S.; OZKIR, E.; PAT, S. Non-Thermal Atmospheric Plasma: can it be taken as a common solution for the surface treatment of dental materials? *Plasma Science and Technology*, v.18, n.4, p.417-423, 2016.

SELVAM, N.C.S.; MANIKANDAN, A.; KENNEDY, L.J.; VIJAYA, J.J. Comparative investigation of zirconium oxide (ZrO_2) nano and microstructures for structural, optical and photocatalytic properties. *Journal of Colloid and Interface Science*, v.389, p.91-98, 2013.

SHAHIEN, M.; YAMADA, M.; YASUI, T.; FUKUMOTO, M. Synthesis of cubic aluminum nitride coating from Al_2O_3 powder in reactive plasma spray process. *Materials Transactions*, p.1-8, 2013.

SHARMA, M.K.; SAIKIA, B.K. Discharge conditions and emission spectroscopy of N_2 and N_2^+ active species in a variable power *dc* pulsed plasma used for steel nitriding. *Indian Journal of Pure & Applied Physics*, v.46, p.463-470, 2008.

SHEN, L.; HU, C.; SAKKA, Y.; HUANG, Q. Study of phase transformation behaviour of alumina through precipitation method. *Journal of Physics D*, v.45, p.1-6, 2012.

SHON, W-J.; CHUNG, S.H.; KIM, H-K.; HAM, G-J.; CHO, B-H.; PARK, Y-S. Peri-implant bone formation of non-thermal atmospheric pressure plasma-treated zirconia implants with different surface roughness in rabbit tibiae. *Clinical Oral Implants Research*, n.25, p.573-579, 2014.

SIEGEL, R.W. Nanostructured materials. In: MORÁN-LÓPES, J. L.; SANCHEZ, J. M. *Advanced Topics in Materials Science and Engineering*. New York: Plenum, p. 1-10, 1993

SKOOG D.A.; WEST D.M.; HOLLER F.J.; CROUCH S.R. Fundamentos de Química Analítica, tradução da 8ª Edição norte-americana. Editora Thomson, 2006.

SILVA, B.F.C. Diagnostico de plasma de cátodo oco: análise da ação de plasma de argônio e Ar-H_2 para a deposição de filmes finos de titânio em pós-descarga. 64p. Dissertação

(Mestrado em Engenharia Mecânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Natal, 2013.

SILVA, A.D.R. Obtenção de cerâmicas porosas de alumina-zircônia pelo método da réplica recobertas com fosfato de cálcio. 2017. 119p. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Materiais) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP/FZEA, Pirassununga, 2017.

SILVA, A.D.R.; RIGOLI, W.R.; OSIRO, D.; MELLO, D.C.R.; VASCONCELLOS, L.M.R.; LOBO, A.O.; PALLONE, E.M.J.A. Surface modification using the biomimetic method in alumina-zirconia porous ceramics obtained by the replica method. *Journal of Biomedical Materials Research Part B*, v.106B, p.2615-2624, 2018.

SILVA, A.D.R.; RIGOLI, W.R.; MELLO, D.C.R.; VASCONCELLOS, L.M.R.; LOBO, A.O.; PALLONE, E.M.J.A. Porous alumina scaffolds chemically modified by calcium phosphate minerals and their application in bone grafts. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, v.16, p.p.562-573, 2019.

SILVA, B.F.C. Diagnostico de plasma de cátodo oco: análise da ação de plasma de argônio e Ar-H₂ para a deposição de filmes finos de titânio em pós-descarga. 2013. 65p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Natal, 2013.

SILVA, K.L. Obtenção de nanocompósitos de alumina- zircônia para aplicação como Biomaterial. 2011. 76p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, 2011.

SILVA, M.A.M.; GUERRA NETO, C.L.B.; NUNES FILHO, A.; FREITAS, D.O.; BRAZ, D.C.; ALVES JÚNIOR, C. Influence of topography on plasma treated titanium surface wettability. *Surface and Coatings Technology*, v.235, p.447-453, 2013.

SILVA, N.R.F.A.; COELHO, P.G.; VALVERDE, G.B.; BECKER, K.; IHRKE, R.; QUADE, A.; THOMPSON, V.P. Surface characterization of Ti and Y-TZP following non-thermal plasma exposure. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 99B, p.199-206, 2011.

SINHORETI, M.A.C.; VITTI, R.P.; CORRER-SOBRINHO, L. Biomateriais na odontologia: Panorama atual e perspectivas futuras. *Revista da Associação Paulista de Cirurgões Dentistas*, v.67, n.3, p.178-186, 2013.

SIOSHANSI, P.; TOBIN, E.J. Surface treatment of biomaterials by ion beam process. *Surface and Coatings Technology*, v.83, n.1-3, p.175-182, 1996.

SOARES, A.M.L.; ALMEIDA, F.S.; FERREIRA, M.C.; LASMAR, O. Determinação da retenção de líquido, tensão superficial e ângulo de contato de gotas a partir de caldas com oxicloreto de cobre sobre folhas de laranja. In: Congresso Brasileiro de Fitossanidade, 2, Jaboticabal, 2013.

SOUZA, A.P.O. Avaliação da associação de uma biocerâmica de fosfato de cálcio com células-tronco mesenquimais de cordão umbilical humano na bioengenharia do tecido ósseo.

2013. 56p. Dissertação (Mestrado Odontologia com área de concentração em Clínica Integrada) - Universidade Federal de Pernambuco, UFP, Recife, 2013.

SOUZA CORRÊA, J.A. Construção e caracterização de microtochas de plasma em radiofrequência para misturas de argônio-hidrogênio. 189p. Tese (Doutorado em Física) - Instituto Tecnológico de Aeronáutica, ITA, São José dos Campos, 2009.

SOUZA, R.R.M. Nitretação iônica sem efeito de borda: desenvolvimento e avaliação de uma nova técnica. 2006. 80p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Natal, 2006.

SPIES, B.C.; SAUTER, C.; WOLKEWITZ, M.; KOHAL, R-J. Alumina reinforced zirconia implants: Effects of cyclic loading and abutment modification on fracture resistance. *Dental Materials*, v.31, p.262-272, 2014.

STEARNS, L.C.; ZHAO, J.; HARMER, M.P. Processing and microstructure development in Al_2O_3 -SiC 'nanocomposites'. *Journal of the European Ceramic Society*, v.10, p.473-477, 1992.

SUMITOMO CHEMICALS. Product Databook (Excerpt: High Purity Alumina – HPA). Disponível em: <<http://www.sumitomo-chem.co.jp>>. Acesso em: 28.03.2020.

SUN, R.; CHEN, K.; LU, Y. Fabrication and dissolution behavior of hollow hydroxyapatite microspheres intended for controlled drug release. *Materials Research Bulletin*, v.44, p.1939-1942, 2009.

SZCZEŚ, A.; HOLYSZ, L.; CHIBOWSKI, E. Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, v.249, p.321-330, 2017.

TABARI, K.; HOSSEINPOUR, S.; MOHAMMAD-RAHIMI, H. The impact of plasma treatment of cercon® zirconia ceramics on adhesion to resin composite cements and surface properties. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, v.8(Suppl 1), p.S56-S61, 2017.

TAMAKI, M.; TOMII Y.; YAMOTO, M. The role of hydrogen in plasma nitriding: Hydrogen behavior in the titanium nitride layer. *Plasma and Ions*, v.3, p.33-39, 2000.

THAMARAISELVI, T.V.; RAJESWARI, S. Biological evaluation of bioceramic materials - A review. *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, v.18, n.1, p.9-17, 2004.

TRENCZEK-ZAJAC, A.; RADECKA, M.; ZAKRZEWSKA, K.; BRUDNIK, A.; KUSIOR, E.; BOURGEOIS, S.; MARCO DE LUCAS, M.C.; IMHOFF, L. Structural and electrical properties of magnetron sputtered Ti(ON) thin films: The case of TiN doped in situ with oxygen. *Journal of Power Sources*, v.194, n.1, p.93-103, 2009.

TRIPATHI, H.; HIRA, S.K.; KUMAR, A.S.; GUPTA, U.; MANNA, P.P.; SINGH, S.P. Structural characterization and in vitro bioactivity assessment of SiO_2 -CaO- P_2O_5 - K_2O - Al_2O_3 glass as bioactive ceramic material. *Ceramics International*, v.41, p.11756-11769, 2015.

TSURU, K.; YOSHIMOTO, A.; KANAZAWA, M.; SUGIURA, Y.; NAKASHIMA, Y.; ISHIKAWA, K. Fabrication of carbonate apatite block through a dissolution-precipitation reaction using calcium hydrogen phosphate dihydrate block as a precursor. *Materials*, v.10, n.4, p.374-384, 2017.

UCHIDA, M.; KIM, H.M.; KOKUBO, T.; NAWA, M.; ASANO, T.; TANAKA, K.; NAKAMURA, T. Apatite-forming ability of a zirconia-alumina nanocomposite induced by chemical treatment. *Journal Biomedical Materials Research*, v.60, p.277-282, 2002.

VALLET-REGÍ, M.; GONZÁLEZ-CALBET, J.M. Calcium phosphate as substitution of bone tissues. *Progress in Solid state Chemistry*, v.32, p.1-31, 2004.

VALLET-REGÍ, M. Evolution of bioceramics within the field of biomaterials. *CRC Press*, n.13, p. 174-18, 2010.

VALLET-REGÍ, M, SALINAS, A.J. Bioactive ceramics: from bone grafts to tissue Engineering. *RSC Advances*, v.3, p.11116-11131, 2013.

VALENTIM, R.M.B. Síntese e caracterização de cerâmicas bifásicas de fosfatos de cálcio (HA/ β -TCP) a partir de nanocelulose do tegumento do açai (*Euterpe oleracea* Mart.). 2018. 103p. Tese (Doutorado em Engenharia de Recursos Naturais) - Universidade Federal do Pará, UFP, Belém, 2018.

VALLESPIR, G.P. Clavos de fijación externa recubiertos de hidroxiapatita. Estudio clínico en alargamientos de extremidades. 2001. 388p. Tese (Doutorado em Medicina e Cirurgia) - Universitat Autònoma de Barcelona, UAB, Departamento de cirurgia, Barcelona, 2001.

VALVERDE, G.B.; COELHO, P.G.; JANAL, M.N.; LORENZONI, F.C.; CARVALHO, R.M.; THOMPSON, V.P.; WELTEMANN, K-D.; SILVA, N.R.F.A. Surface characterisation and bonding of Y-TZP following non-thermal plasma treatment. *Journal of Dentistry*, v.41, p.51-59, 2013.

VAZ, G.J.O. Propriedades de biocerâmicas porosas de fosfatos de cálcio obtidos com matérias-primas de origem orgânica e sintética. 2007. 108p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Ouro Preto, UFOP, Belo Horizonte, 2007.

VICINI, L. Análise multivariada da teoria à prática. 2005. 215p. Monografia (Especialização) - Universidade Federal de Santa Maria, UFS, Santa Maria, 2005.

VITANOV, P.; HARIZANOVA, A.; IVANOVA, T. Characterization of ZrO_2 and $(ZrO_2)_x(Al_2O_3)_{1-x}$ thin films on Si substrates: effect of the Al_2O_3 component. *Journal of Physics: Conference Series*, v.514, p.012011, 2014.

VITORIANO, J.O. Influência da superfície do titânio nitretado a plasma em diferentes atmosferas na ativação de plaquetas sanguíneas. 2015. 71p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Natal, 2015.

VOLKMER, T.M. Obtenção e caracterização de hidroxiapatita porosa pelo método gelcasting de espumas para uso como implantes. 2006. 139p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de

Minas, Metalúrgica e de Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, 2006.

VON WOEDTKE, T.; REUTER, S.; MASUR, K.; WELTMANN, K-D. Plasmas for medicine. *Physics Reports*, v.530, p.291-320, 2013.

XIN, R.; LENG, Y.; CHEN, J.; ZHANG, Q. A comparative study of calcium phosphate formation on bioceramics in vitro and in vivo. *Biomaterials*, n.26, p.6477-6486, 2005.

WAGATSUMA, K. Emission characteristics of mixed gas plasmas in low-pressure glow discharges. *Spectrochimica Acta Part B*, v.56, n.5, p.465-486, 2001.

WANG, M.; CHENG, X.; ZHU, W.; HOLMES, B.; KEIDAR, M.; ZHANG, G.L. Design of biomimetic and bioactive cold plasma-modified nanostructured scaffolds for enhanced osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Tissue Engineering: Part A*, v.20, n.5-6, p.1060-1071, 2014.

WALKOWICZ, J. On the mechanisms of diode plasma nitriding in N₂-H₂ mixtures under DC-pulsed substrate biasing. *Surface and Coatings Technology*, v.174-175, p.1211-1219, 2003.

WEBLER, G.D.; ZAPATA, M.J.M.; AGRA, L.C.; BARRETO, E.; SILVA, A.O.S.; HICKMANN, J.M.; FONSECA, E.J.S. Characterization and evaluation of cytotoxicity of biphasic calcium phosphate synthesized by a solid state reaction route. *Current Applied Physics*, v.14, p.876-880, 2014.

WENZEL, N. Resistance of solid surfaces to wetting by water. *Industrial and Engineering Chemistry*, v.28, p.988-994, 1936.

WILLIAMS, D.F. Definitions in biomaterials. Amsterdam: *Elsevier*, 1987.

WILLIAMS, D.F. On the nature of biomaterial. *Biomaterials*, n.30, p.5897-5909, 2009.

WU, C-C.; WEI, C-K.; HO, C-C.; DING, S-J. Enhanced hydrophilicity and biocompatibility of dental zirconia ceramics by oxygen plasma treatment. *Materials*, v.8, p.684-699, 2015.

WU, S.; LIU, X.; YEUNG, A.; YEUNG, K.W.K.; KAO, R.Y.T.; WU, G.; HU, T.; XU, Z.; CHU, P.K. Plasma-modified biomaterials for self-antimicrobial applications. *Applied Materials and Interfaces*, v.3, p.2851-2860, 2011.

WU, W.; NANCOLLAS, G.H. Interfacial free energies and crystallizations in aqueous media. *Journal of Colloid and Interface Science*, v.182, p.365-373, 1996.

YANG, L.; ZHANG, L.; WEBSTER, T.J. Nanobiomaterials: State of the art and future trends. *Advanced Engineering Materials*, v.13, n.6, p. B225-B233, 2011.

YANG, J.; ESCONJAURENGUI, S.; XIE, R.; SUGIME, H.; MAKARYAN, T.; D'ARSIÉ, L.; ARELLANO, D.L.G.; BHARDWAJ, S.; CEPEK, C.; ROBERTSON, J. Effect of Oxygen Plasma Alumina Treatment on Growth of Carbon Nanotube Forests. *The Journal Physical Chemistry C*, v.118, p.18683-18692, 2014.

YELTEN, A.; YILMAZ, S.; OKTAR, F.N. Sol-gel derived alumina-hydroxyapatite-tricalcium phosphate porous composite powders. *Ceramics International*, v.38, p.2659-2665, 2012.

YIN, X.; STOTT, M.J.; RUBIO, A. α - and β -tricalcium phosphate: A density functional study. *Physical Review B*, v.68, p.205205-1-205205-8, 2020.

YOON, J-K.; SONG, M-Y.; HAN, J-M.; HWANG, S.H.; CHANG, W-S.; LEE, B.J. ITIKAWA, Y. Cross Sections for Electron Collisions with Hydrogen Molecules. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 39, n.2, v.37, p.913-931, 2008.

ZHANG, X.; ZHANG, W.; YANG, Z.; ZHANG, Z. Nanostructured hollow spheres of hydroxyapatite: preparation and potential application in drug delivery. *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, v.6, n.3, p.246-252, 2012.

ZHAO, J. et al. Mechanical behavior of alumina – silicon carbide “nanocomposites”. *Journal of the American Ceramic Society*, v.76, n.2, p.503-510, 1993.

ZHAO, Q.; ZHAI, G-J.; NG, D.H.L.; ZHANG, X-Z.; CHEN, Z-Q. Surface modification of Al_2O_3 bioceramic by NH_2^+ ion implantation. *Biomaterials*, n.20, p.595-599, 1999.

ZHAO, G.; SCHWARTZ, Z.; WIELAND, M.; RUPP, F.; GEIS-GERSTORFER, J.; COCHRAN, D.L.; BOYAN, D.L. High surface energy enhances cell response to titanium substrate microstructure. *Journal of Biomedical Materials Research A*, v.74, n.1, p.49-58, 2005.

ZHAO, G.; GAO, J.; GAO, Q.; CHEN, Y. Surface modification of biodegradable poly(D,L-lactic acid) by nitrogen and nitrogen/hydrogen plasma for improving surface hydrophilicity. *Plasma Science and Technology*, v.13, n.2, p.231-234, 2011.

ANEXO

ANEXO A – Curvas deconvoluídas dos espectros de FTIR dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente por plasma frio usando diferentes composições gasosas e recobertos biomimeticamente

Fonte: Própria autoria.

ANEXO B – Curvas deconvoluídas dos difratogramas de DRX dos corpos de prova de $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ tratados superficialmente por plasma frio e recobertos biomimeticamente

Fonte: Própria autoria.