UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

THAUANE APARECIDA INÁCIO DA COSTA SARTORI

**Influência da zircônia na deposição biomimética de fosfatos de cálcio
sobre a superfície de nanocompósitos de alumina-zircônia**

Pirassununga

2019

THAUANE APARECIDA INÁCIO DA COSTA SARTORI

**Influência da zircônia na deposição biomimética de fosfatos de cálcio
sobre a superfície de nanocompósitos de alumina-zircônia**

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: Prof^a Dra. Elíria 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)

AT368i Aparecida Inácio da Costa Sartori , Thauane
Influência da zircônia na deposição biomimética de
fosfatos de cálcio sobre a superfície de
nanocompósitos de alumina-zircônia / Thauane
Aparecida Inácio da Costa Sartori ; orientadora
Dra. Eliria Maria de Jesus Agnolon Pallone ;
coorientadora Dra. Julieta Adriana Ferreira. --
Pirassununga, 2019.
119 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. biocerâmicas. 2. recobrimento biomimético. 3.
FT-MIR. 4. DRX. I. Maria de Jesus Agnolon Pallone,
Dra. Eliria , orient. II. Adriana Ferreira, Dra.
Julieta, coorient. III. Título.

THAUANE APARECIDA INÁCIO DA COSTA SARTORI

**Influência da zircônia na deposição biomimética de fosfatos de cálcio
sobre a superfície de nanocompósitos de alumina-zircônia**

Banca Examinadora:

Elíria Maria de Jesus Agnolon Pallone – Presidente da Banca Examinadora

Profa. Dra. - Universidade de São Paulo - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

Ana Paula Terossi de Godoi

Profa. Dra. - Centro Universitário Hermínio Ometto

Anderson de Oliveira Lobo

Prof. Dr. - Universidade Federal do Piauí

Denise Osiro

Dra. - Universidade de São Paulo - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

Rosemary Aparecida de Carvalho

Profa. Dra. - Universidade de São Paulo - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

Sílvio Henrique de Freitas

Prof. Dr. - Universidade de São Paulo - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

Pirassununga, 28 de fevereiro de 2019.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Espiritualidade pela luz em cada etapa percorrida durante essa jornada de aprendizado científico, mas sobretudo, de desenvolvimento pessoal.

“Entrega o teu caminho ao Senhor. Confia nele e o mais ele fará...”

A minha orientadora, Prof. Dra. Elíria M. J. Agnolon Pallone, pelo incentivo, orelha, disponibilidade e orientação acadêmica. Mas sobretudo, por sempre me impulsionar a crescer no âmbito profissional e pessoal.

A minha coorientadora, Dra. Julieta A. Ferreira, pela prestatividade em meus cursos de mestrado e doutorado.

A professora Denise Osiro, por compartilhar seu vasto conhecimento e abrir portas para novas parcerias do grupo. Agradeço imensamente pelo auxílio na compreensão e discussão dos resultados de FT-MIR deste estudo.

Aos funcionários do departamento de Engenharia de Biosistemas (ZEB) e ao Setor de Pós-graduação, de forma especial, ao Programa de Engenharia e Ciência de Materiais, que sempre me foram gentis no dia-a-dia ao longo dos meus cursos de mestrado e doutorado.

À Kátia, Laís, Christiane, Isabela, João Vitor, Willian, Ludmila, Raphael, Gabriela, Ana Gabriela e Mariana. Meus colegas de laboratório, alguns já se foram, outros são recém-chegados ao nosso grupo de pesquisa. Pela amizade e incentivo no trabalho do dia-a-dia, seja no planejamento e realização de uma etapa experimental ou gestos simples, como a companhia de um almoço.

Ao Professor Dr. Gelson José Andrade da Conceição pelo auxílio no tratamento de superfície e acessibilidade aos equipamentos do Laboratório Integrado de Biocatálise e Síntese. Mais do que um professor, muitas vezes pude contar com sua generosa amizade, com palavras e gestos que me impulsionaram a encarar os desafios e não me esquecer que seria capaz de transpor cada um deles.

Ao laboratório de Tecnologia de Alimentos da FZEA, em especial ao Rodrigo, pela atenção e disponibilidade quanto às caracterizações microestruturais após o recobrimento biomimético.

Ao Laboratório Multiusuário de Análise de Alimentos e a técnica Carla no auxílio às análises de ângulo de contato.

Ao Laboratório Multiusuário de Caracterização de Materiais, e ao técnico Leonardo no auxílio das análises de Difração de Raios-X.

Ao Laboratório de Caracterização Microestrutural de Materiais (DEMA) da Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR, pelas análises microestruturais.

A Embrapa Instrumentação – São Carlos, na pessoa de Luiz Alberto Colnago, pelas análises de Espectroscopia de Infravermelho Médio.

A CAPES pelo auxílio financeiro concedido através de bolsa de estudos, durante todo o curso de doutorado.

“Ter um lugar para ir é lar. Tem alguém para quem voltar, é ser família. Ter os dois, benção.”

Agradeço a minha família, de forma especial, minha mãe Lucimara e avó materna, Vitar Maria. Ao sair de casa para ter melhores oportunidades, nos deparamos com muitos desafios, o maior deles talvez seja a saudade de um lar. Nunca vou me esquecer da carta que encontrei escondida no fundo de minha mochila, onde minha avó em singelas palavras, me disse de seu orgulho em ver seu passarinho voar.

Agradeço aos meus irmãos, e demais familiares que sempre se fizeram importantes de alguma forma em meu cotidiano. Pelo apoio, respeito e afetividade.

Agradeço ao meu namorado Felipe por ser um ponto de equilíbrio e amor.

Agradeço as minhas amigas, Carina, Amália, Gisele e Pâmela, que sempre me apoiaram em meus sonhos e por fazer dos nossos reencontros sempre especiais.

E finalmente, as minhas crianças, Maria, José, Rodrigo e seus vários amiguinhos. O que seria da vida sem a doçura de uma criança. Bom mesmo é viver cercado por todas.

“Não há dificuldade que não traga aprendizado, não há aprendizado sem mudanças e muito menos felicidade sem conquistas.”

Fábio Lima

RESUMO

Nanocompósitos de alumina-zircônia ($\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$) exibem altos valores de tenacidade a fratura (4-8 MPa/m) e resistência a flexão (> 500 MPa), biocompatibilidade e bioatividade, o que propicia seu uso em aplicações biomédicas. Além disso, a literatura indica que altas taxas de formação de fosfatos de cálcio podem ser obtidas mediante associação de tratamento químico de superfície à determinados substratos como, sílica (SiO_2), titânio (TiO_2) e ZrO_2 . No entanto, tal influência não foi verificada em sistemas nanoestruturados com matriz de Al_2O_3 . Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da ZrO_2 em diferentes percentuais de inclusões, quanto a formação dos fosfatos de cálcio sobre a superfície do nanocompósito cerâmico de $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ pelo método biomimético. Para tal, pós cerâmicos foram obtidos pela dispersão de 0, 5, 10 e 15% em volume de ZrO_2 nanométrica em matriz de Al_2O_3 , conformados e sinterizados ($1050^\circ\text{C}/1$ h e 1450° para Al_2O_3 e $1050^\circ\text{C}/1$ h e 1550°C para as demais composições). Após esta etapa, os corpos de prova foram submetidos a tratamento químico superficial com H_3PO_4 durante 4 dias a 90°C e, posteriormente, recobertos biomimeticamente em SBF 1,0x, 1,5x e 5,0x, durante 14, 21 e 28 dias. Ao final deste período, as camadas de fosfatos de cálcio depositadas foram caracterizadas por Infravermelho Médio por Transformada de *Fourier* (FT-MIR) e Difração de Raios-X (DRX), para determinação das áreas de fosfatos totais e fases, em todos os períodos de incubação. De forma geral, observou-se maior deposição de fosfatos de cálcio sobre a superfície dos nanocompósitos com maiores percentuais de inclusões de ZrO_2 . Além disso, os recobrimentos com todas as soluções de SBF propiciaram a formação de grupos fosfatos (PO_4^{3-}) e carbonatos (CO_3^{2-}), Independentemente da concentração de SBF, ou percentual de inclusões de ZrO_2 na matriz de Al_2O_3 , apenas três fases foram observadas em função do período de incubação: hidroxiapatita (HA), alfa e beta-fosfatotricálcico (α -TCP e β -TCP). Aos 28 dias de incubação, em todas as condições, maiores teores de ZrO_2 influíram para formação da fase α -TCP ($r > 0,88$). Os resultados obtidos sugerem que a ZrO_2 influenciou de forma significativa na formação dos fosfatos de cálcio de interesse biológico (α/β -TCP e HA) na superfície dos nanocompósitos, o que proporciona melhores condições de bioatividade, solubilidade e osteocondução às superfícies dos corpos de prova cerâmicos. Nesse sentido, as biocerâmicas de $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ recobertas com promissoras às aplicações de substituição e remodelação do tecido ósseo.

Palavras chave: biocerâmicas, recobrimento biomimético, FT-MIR, DRX.

ABSTRACT

Alumina-zirconia ($\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$) nanocomposites exhibit high values of fracture toughness (4-8 MPa/m) and flexural strength (> 500 MPa), biocompatibility and bioactivity, which favors its use in biomedical applications. Furthermore, the literature indicates that high rates of formation of calcium phosphates can be obtained by associating chemical surface treatment with certain substrates such as silica (SiO_2), titanium (TiO_2) and ZrO_2 . However, such influence was not verified in nanostructured systems with Al_2O_3 matrix. In this sense, the objective of this work was to evaluate the influence of ZrO_2 on different percentages of inclusions, regarding the formation of calcium phosphates on the surface of the ceramic $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ nanocomposite by the biomimetic method. Then, the ceramic powders were obtained by the dispersion of 0, 5, 10 and 15% by volume of nanometer ZrO_2 in Al_2O_3 matrix, conformed and sintered ($1050^\circ\text{C} / 1\text{ h}$ and 1450°C for Al_2O_3 and $1050^\circ\text{C} / 1\text{ h}$ and 1550°C for other compositions). After this step, the test specimens were submitted to superficial chemical treatment with H_3PO_4 for 4 days at 90°C and then, biomimetically coated in 1.0x, 1.5x and 5.0x SBF for 14, 21 and 28 days. At the end of this period, deposited calcium phosphate layers were characterized by Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-MIR) and X-ray Diffraction (XRD) for determination of total phosphate and phase areas in all periods of incubation. In general, higher deposition of calcium phosphates on the surface of nanocomposites with higher percentages of ZrO_2 inclusions was observed. Regardless of the concentration of SBF or percentage of ZrO_2 inclusions in Al_2O_3 matrix, only three layers were observed as a function of incubation period, hydroxyapatite (HA), alpha and beta-phosphate-calcium (α -TCP and β -TCP). At 28 days of incubation, under all conditions, higher ZrO_2 contents influenced the α -TCP phase formation ($r > 0.88$). The results suggest that ZrO_2 significantly influenced the formation of calcium phosphates of biological interest (α / β -TCP and HA) on the surface of the nanocomposites, which provides better conditions of bioactivity, solubility and osteoconduction to the surfaces of the proof ceramic tiles. In this sense, the $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ bioceramics coated with promising to the bone tissue replacement and remodeling applications

Key words: bioceramics, biomimetic recoating, FT-MIR, XRD.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Estrutura cristalina (a) e célula unitária (b) da HA.	33
Figura 3.2 - Estrutura cristalina do TCP para as fases (a) α -TCP representada ao longo do eixo a e (b) β -TCP representada ao longo do eixo b.	35
Figura 4.1 - Fluxograma resumido das etapas metodológicas utilizadas no presente trabalho.	38
Figura 5. 1 – Micrografias obtidas por MEV das superfícies dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.....	47
Figura 5. 2 – Difratomogramas de DRX da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z após a etapa de sinterização.	48
Figura 5. 3 – Espectros de absorvância de FT-MIR ($400-1000\text{ cm}^{-1}$) da superfície dos corpos de prova de Al_2O_3 e ZrO_2 (a) e suas respectivas derivadas de segunda ordem (b).	49
Figura 5. 4 – Espectros de absorvância de FT-MIR ($400-1000\text{ cm}^{-1}$) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z (a) e suas respectivas derivadas de segunda ordem (b).....	50
Figura 5. 5 – Espectros de absorvância de FT-MIR ($400-1000\text{ cm}^{-1}$) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z anterior e posteriormente ao tratamento com H_3PO_4	51
Figura 5. 6 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR ($630-1000\text{ cm}^{-1}$) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z anterior e posteriormente ao tratamento com H_3PO_4	52
Figura 5. 7 – Ângulos médios obtidos pelo ensaio de ângulo de contato para a superfície dos corpos cerâmicos de A, A5Z, A10Z e A15Z anterior e posteriormente ao tratamento com H_3PO_4 para tempos de 1s, 30s e 60s.....	56
Figura 5. 8 – Rugosidade média (R_a) dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z anterior e posteriormente ao tratamento químico com H_3PO_4	57
Figura 5. 9 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR ($400-1000\text{ cm}^{-1}$) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.	59
Figura 5. 10 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR ($1000-1200\text{ cm}^{-1}$) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.	63
Figura 5. 11 – Formação dos grupos funcionais dos fosfatos de cálcio (FT-MIR) sobre a superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.....	67

Figura 5. 12 – Curvas deconvoluídas dos difratogramas de DXR da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.....	68
Figura 5. 13 – Área absoluta da quantidade total de fosfatos de cálcio (determinada por FT-MIR) e as áreas absolutas das fases de fosfatos de cálcio (identificadas por DRX) da superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.....	70
Figura 5. 14 – Valores de pH da troca de soluções de SBF 1,0x (n = 3) em função dos períodos de recobrimento biomimético dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.....	72
Figura 5. 15 – Micrografias obtidas por MEV da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em SBF 1,0x.	74
Figura 5. 16 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm ⁻¹) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.	76
Figura 5. 17 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm ⁻¹) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.	80
Figura 5. 18 – Formação dos grupos funcionais dos fosfatos de cálcio (FT-MIR) sobre a superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.....	83
Figura 5. 19 – Curvas deconvoluídas dos difratogramas de DXR da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.....	85
Figura 5. 20 – Área absoluta da quantidade total de fosfatos de cálcio (determinada por FT-MIR) e as áreas absolutas das fases de fosfatos de cálcio (identificadas por DRX) da superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.....	87
Figura 5. 21 – Valores de pH da troca de soluções de SBF 1,5x em função dos períodos de recobrimento biomimético dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.....	88
Figura 5. 22 – Micrografias obtidas por MEV da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.	89

Figura 5. 23 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.	91
Figura 5. 24 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.	95
Figura 5. 25 – Formação dos grupos funcionais dos fosfatos de cálcio (FT-MIR) sobre a superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em SBF 5,0x.....	98
Figura 5. 26 – Curvas deconvoluídas dos difratogramas de DXR da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.....	99
Figura 5. 27 – Área absoluta da quantidade total de fosfatos de cálcio (determinada por FT-MIR) e as áreas absolutas das fases de fosfatos de cálcio (identificadas por DRX) da superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.....	101
Figura 5. 28 – Valores de pH da troca de soluções de SBF 5,0x em função dos períodos de incubação durante o recobrimento biomimético dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.....	102
Figura 5. 29 – Micrografias obtidas por MEV da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.	104
Figura 5. 30 – Formação dos grupos funcionais dos fosfatos de cálcio (FT-MIR) sobre a superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em SBF 1,0x, 1,5x e 5,0x.....	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Classificação das biocerâmicas quanto à resposta interfacial tecido-implante.....	24
Tabela 3.2 – Concentrações iônicas dos diferentes SBF's propostos comparados ao plasma sanguíneo humano.....	28
Tabela 3.3 - Tipos de fosfatos de cálcio, razão Ca/P e estabilidade do pH em solução aquosa a 25 °C.....	31
Tabela 4.1 - Reagentes químicos empregados nas etapas de preparação, tratamento químico de superfície e recobrimento biomimético dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.	39
Tabela 4.2 – Concentrações (mM) dos reagentes utilizados no preparo das diferentes soluções de SBF.....	41
Tabela 4.3 - Caracterizações dos corpos de prova de Al ₂ O ₃ e de Al ₂ O ₃ -ZrO ₂	41
Tabela 5.1 – Valores percentuais de DV e DA para os corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.	46
Tabela 5.2 – Atribuições de bandas de absorção dos espectros de FT-MIR (400 a 1000 cm ⁻¹) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.	50
Tabela 5.3 – Áreas percentuais obtidas pelas curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (630-1000 cm ⁻¹) da superfície dos corpos de prova A, A5Z, A10Z e A15Z anterior e posteriormente ao tratamento com H ₃ PO ₄	53
Tabela 5.4 – Áreas percentuais obtidas pelas curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm ⁻¹) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.	60
Tabela 5.5 – Atribuições das curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm ⁻¹) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.	61
Tabela 5.6 – Áreas percentuais obtidas das bandas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm ⁻¹) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.	64
Tabela 5.7 – Atribuições das curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm ⁻¹) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.....	65
Tabela 5.8 – Atribuições e área absoluta das curvas deconvoluídas dos difratogramas de DRX da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x, segundo padrão JCPD*.	69

Tabela 5.9 – Áreas percentuais obtidas pelas curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.	77
Tabela 5.10 – Atribuições das curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.	78
Tabela 5. 11 – Áreas percentuais obtidas pelas curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.	81
Tabela 5. 12 – Atribuições das curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.	82
Tabela 5.13 – Atribuições e área absoluta das curvas deconvoluídas dos difratogramas de DRX para A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x, segundo padrão JCPD*.	86
Tabela 5. 14 – Áreas percentuais obtidas pelas curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.	92
Tabela 5. 15 – Atribuições das curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.	93
Tabela 5. 16 – Áreas percentuais obtidas pelas curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.	96
Tabela 5. 17 – Atribuições das curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.	97
Tabela 5. 18 – Atribuições e área absoluta das curvas deconvoluídas dos difratogramas de DRX da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x, segundo padrão JCPDS*.	100

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo Geral	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3 REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1 Biomateriais – Contexto Histórico	19
3.2 Propriedades e classificação dos biomateriais	21
3.3 Biocerâmicas	23
3.4 Métodos de recobrimento com fosfatos de cálcio e tratamento químico de superfície	26
3.5 Fosfatos de cálcio de interesse biológico	30
3.5.1 Hidroxiapatita	32
3.5.2 Fosfato Tricálcico	34
3.5 A influência da ZrO_2 na formação dos fosfatos de cálcio	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
Fonte: Própria autoria	39
4.1 Preparação dos pós de Al_2O_3	39
4.2 Preparação dos pós de Al_2O_3 com 5, 10 e 15 % em inclusões nanométricas de ZrO_2	39
4.3 Conformação e sinterização dos corpos de prova	40
4.4 Tratamento Químico de Superfície	40
4.5 Recobrimento biomimético com solução de SBF 1,0x, 1,5x e 5x	41
4.6 Caracterizações dos corpos de prova de Al_2O_3 e de $Al_2O_3-ZrO_2$	41
4.6.1 Densidade a verde e densidade aparente	42
4.6.2 Microscopia Eletrônica de Varredura	43
4.6.3 Difração de Raios-X	43
4.6.4 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier	44
4.6.5 Ângulo de contato	45
4.6.6 Microscopia Confocal	45
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	46
5.1 Caracterização dos corpos de prova de Al_2O_3 e $Al_2O_3-ZrO_2$	46
5.1.1 Densidade à verde e Densidade Aparente	46
5.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura	47
5.1.3 Difractometria de Raios-X	48
5.1.4 Espectroscopia de Infravermelho Médio por Transformada de Fourier	49
5.1.5 Ângulo de contato	55
5.1.6 Microscopia Confocal	56
5.2 Caracterização dos corpos de prova de Al_2O_3 e $Al_2O_3-ZrO_2$ recobertos biomimeticamente	57

5.2.1 Recobrimento pelo Método Biomimético – SBF 1,0x.....	58
5.2.1.1 – Espectroscopia de Infravermelho Médio por Transformada de Fourier	58
5.3.1.2 – Difração de Raios-X.....	67
5.2.1.3 – Variação do pH durante o recobrimento	71
5.2.1.4 – Microscopia Eletrônica de Varredura	73
5.2.2 Recobrimento pelo Método Biomimético – SBF 1,5x.....	75
5.2.2.1 – Espectroscopia de Infravermelho Médio por Transformada de Fourier	75
5.2.2.2 – Difração de Raios-X.....	84
5.2.2.3 – Variação do pH durante o recobrimento	87
5.2.3 Recobrimento pelo Método Biomimético – SBF 5,0x.....	90
5.2.3.1 – Espectroscopia de Infravermelho Médio por Transformada de Fourier	90
5.2.3.2 – Difração de Raios-X.....	98
5.2.3.3 – Variação do pH durante recobrimento	102
5.2.3.4 – Microscopia Eletrônica de Varredura	103
5.2.4 – Considerações Gerais	105
6 CONCLUSÕES	107
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	108
8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da expectativa de vida e da necessidade de reparação de tecidos biológicos, verificou-se um ascendente desenvolvimento de biomateriais sintéticos destinados à substituição óssea com propriedades que atendam funcionalidade, bem como uma melhor integração entre biomaterial e sistema biológico (RATNER et al., 2013).

No âmbito mundial, o segmento de maior expressão é o de implantes ortopédicos, impulsionado principalmente por materiais de natureza metálica, adequados também em outras aplicações médicas, como odontologia (MARKETS AND MARKETS, 2016). Tais materiais apresentam bom desempenho mecânico, como resistência à fratura e à fadiga (RATNER et al., 2013).

Apesar de sua ampla utilização na substituição óssea, os metais apresentam susceptibilidade a variações do ambiente biológico, levando à sua corrosão e ocasionando a liberação de partículas metálicas para o meio (MORAIS; GUIMARÃES; ELIAS, 2007). Outra desvantagem desta classe relaciona-se à perda do estímulo mecânico no sítio do tecido hospedeiro, em razão do atrito direto entre eles, gerando uma eventual falência do tecido e afrouxamento do implante (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006).

Nesse contexto, nas últimas décadas tem sido muito reportada a utilização de biomateriais cerâmicos (biocerâmicas) em substituição aos metais, visto que tais materiais não sofrem corrosão em ambiente biológico (CHEVALIER; GREMILLARD, 2009; PIERRI, 2011). As biocerâmicas a base de fosfatos de cálcio apresentam propriedades relacionadas a estabilidade química superficial, biocompatibilidade e adesão celular (CANILLAS et al., 2017). No entanto, suas principais limitações incluem uma baixa resistência mecânica e tenacidade à fratura, o que tende a ser um fator negativo quanto a sua empregabilidade em locais que demandem grandes esforços físicos (CANILLAS et al., 2017).

Por sua vez, cerâmicas de alumina (Al_2O_3) apresentam elevada dureza ($> 1500 \text{ HV}$), resistência ao desgaste e baixa tenacidade à fratura ($4\text{-}6 \text{ MPa/m}$). Uma nova perspectiva para aumentar suas propriedades mecânicas foi visualizada por Niihara et al. no final da década de 1980, a partir de inclusões nanométricas de carbetto de silício (SiC) em sua matriz (NIIHARA et al., 1989). Desde então, observou-se um ascendente interesse da comunidade científica pelo estudo de sistemas nanoestruturados, ou seja, de materiais que apresentam pelo menos, uma característica microestrutural em dimensões na escala nanométrica ($< 100 \text{ nm}$) (NIIHARA et al., 1989).

Dentre os materiais nanoestruturados, o nanocompósito de matriz de Al_2O_3 com inclusões de zircônia (ZrO_2) apresenta potencial empregabilidade na substituição óssea em razão de suas propriedades mecânicas aperfeiçoadas (tenacidade à fratura e resistência à flexão) em relação a seus elementos de forma individual (KURTZ et al., 2014; MONTANARO et al., 2010; OJAIMI, 2014; SILVA, 2011). Além disso, biologicamente este nanocompósito apresenta comportamento inerte, ou seja, não tende a provocar uma resposta dos tecidos adjacentes (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006).

Materiais de natureza bioinerte são alvo de estudos quanto à modificações físicas e químicas de superfície para a obtenção de melhores condições de afinidade biológica (DEHESTANI; ILVER; ADOLFSSON, 2012). Nesse sentido, métodos de recobrimento são alternativas interessantes ao desenvolvimento de biomateriais que agreguem as propriedades mecânicas dos nanocompósitos de Al_2O_3 - ZrO_2 , por exemplo, com a bioatividade característica aos fosfatos de cálcio.

O recobrimento biomimético é um método que possibilita a formação de camadas de fosfatos de cálcio em superfícies de substratos de diferentes naturezas, morfologias e composições, mediante sua imersão em solução simuladora do fluido corporal (*Simulated Body Fluid* – SBF) (ABE; KOKUBO; YAMAMURO, 1990). Além disso, tal método propicia a formação de diferentes fases de fosfatos de cálcio de interesse biológico, ou seja, que ocorrem em maior frequência em calcificações biológicas. Exemplos destas fases são: fosfato de cálcio amorfo (ACP), fosfato octacálcico (OCP), a hidroxiapatita (HA) e os fosfatos tricálcicos (TCP's) (BARINOV, 2010; CHEVALIER; GREMILLARD, 2009; PAVINATO, 2012)

As fases ACP e OCP se caracterizam por serem precursoras da formação da fase HA, que por sua vez, apresenta propriedades de osteocondução, biocompatibilidade, afinidade biológica e baixa resistência mecânica (LOPES et al., 2018). As principais aplicações da HA são reportadas quanto ao reparo de defeitos ósseos odontológicos e ortopédicas ou ainda, para o recobrimento de implantes de diferentes naturezas (CANILLAS et al., 2017). Por sua vez, os TCP's apresentam biocompatibilidade e elevada taxa de absorção (solubilidade), sendo empregados predominantemente em enxertos de preenchimento (HABRAKEN et al., 2016; LOPES et al., 2018).

Basicamente, a solubilidade determina a direção de muitas reações que envolvem fosfatos de cálcio, tais como dissolução, precipitação, hidrólise e transformação de fase (CHOW, 2001; PAVINATO, 2012). Nesse sentido, distintas fases de fosfatos de cálcio podem conferir diferentes propriedades às biocermâmicas, como por exemplo, maior velocidade de degradação no meio

biológico (CHOW, 2001). É o caso de cerâmicas multifásicas, as quais desempenham papel importante para a osteocondutividade e futura remodelação óssea.

Além disso, a literatura aborda que a ZrO_2 pode apresentar fundamental influência na formação da camada de fosfatos de cálcio sobre a superfície de um determinado substrato. Tal singularidade se dá pela presença do grupo funcional Zr-OH derivado de tratamentos de superfície com espécies ácidas ou básicas (UCHIDA et al., 2002).

O emprego de tratamentos de superfície realizados previamente aos métodos de recobrimento se destaca por estimular uma formação quantitativa de fosfatos de cálcio em sua superfície, pois provocam modificações físicas e químicas que permitem uma maior deposição durante o recobrimento (FAGA, et al., 2012; SANTOS et al., 2017; SARTORI, et al., 2018; UCHIDA et al., 2002). No entanto, são poucos os trabalhos que abordam a influência de diferentes percentuais de inclusões de ZrO_2 na formação da camada de fosfatos sobre a superfície de compósitos de matriz de Al_2O_3 , sobretudo em nanocompósitos.

Nesse sentido, este trabalho visou compreender a influência de composições com variação percentual de inclusões nanométricas de ZrO_2 na matriz de Al_2O_3 sobre a formação da camada de fosfatos de cálcio avaliada em diferentes soluções de SBF.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência da ZrO_2 nanométrica na matriz de Al_2O_3 sobre a deposição biomimética de fosfatos de cálcio sobre sua superfície, visando o desenvolvimento de biomateriais cerâmicos destinados à substituição óssea.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a influência da ZrO_2 na formação da camada de fosfatos de cálcio sobre a superfície de corpos de prova cerâmicos com diferentes composições, sendo o percentual da fase dispersa (ZrO_2 nanométrica) variante de 5, 10 e 15% em volume de inclusões na matriz de Al_2O_3 .
- Avaliar a formação da camada de fosfatos de cálcio sobre a superfície dos corpos cerâmicos de Al_2O_3 e nanocompósitos de Al_2O_3 - ZrO_2 utilizando diferentes soluções de SBF (1,0x; 1,5x e 5x).

3 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura aborda a utilização de biocerâmicas nanoestruturadas de $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ recobertas biomimeticamente com fosfatos de cálcio para substituição óssea, uma vez que conjugam propriedades mecânicas, físicas, químicas e biológicas que se sobressaem aos seus elementos individuais. Nesse sentido, conceitos de biomateriais, biocerâmicas, fosfatos de cálcio, recobrimentos e tratamentos químicos superficiais são detalhados nos tópicos seguintes.

3.1 Biomateriais – Contexto Histórico

Segundo a Conferência de Consenso em Definições da Sociedade Europeia de Biomateriais, ocorrida em 1986, os biomateriais podem ser definidos como substâncias de origem natural ou sintética que são toleradas de forma transitória ou permanente como um todo ou parte, para fins de tratamento, restauração ou substituição de tecido, órgão ou função corporal (WILLIAMS, 1987).

Historicamente, o uso de biomateriais se faz desde a Antiguidade. Acredita-se que a civilização Egípcia seja uns dos berços do desenvolvimento de materiais destinados à reconstituição estética e funcional de partes do corpo perdidas ou mutiladas (RATNER et al., 2013). No ano de 2007, arqueólogos britânicos encontraram um artefato histórico na cidade de Luxor, ao qual indicam ser a prótese mais antiga do mundo, datada entre 1070 a 660 anos A.C. O “Dedo do Cairo”, como foi denominado, se tratava de um dedo sintético confeccionado em couro e madeira e apresentava indícios de ter sido implementado para fins funcionais (BBC BRASIL, 2007).

No princípio, a abordagem adotada no desenvolvimento e aplicação dos biomateriais era fundamentalmente do tipo tentativa e erro, de propósito estrutural ou meramente estético (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). No entanto, os procedimentos cirúrgicos para implantação destes biomateriais não apresentavam grande sucesso, visto que provocavam respostas infecciosas do organismo no pós-cirúrgico (PARK; BRONZINO, 2002). Foi a partir de meados da década de 1860, que o desenvolvimento de técnica de cirurgia asséptica possibilitou uma progressão destes materiais (PARK; BRONZINO, 2002).

De forma geral, pode-se dizer que a evolução dos biomateriais iniciou-se entre as décadas de 1960 e 1970, conhecida como a primeira geração (GILBERT TRIPLET; BUDINSKAYA, 2017). Esta geração foi marcada pela utilização de materiais com propriedades físicas e mecânicas adequadas à sua empregabilidade, com uma resposta tóxica mínima aos tecidos hospedeiros (GILBERT TRIPLET; BUDINSKAYA, 2017). Com isso, se estabelecia o conceito de materiais com natureza

bioinerte, com destaque para os metais e suas ligas, tais como, aço inox e ligas de titânio, por exemplo (MURUGAN; RAMAKRISHNA, 2004).

Uma característica comum desses materiais é a formação de um tecido fibroso de separação entre o tecido hospedeiro e a superfície do implante (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006). Uma vez que ocorrido a formação desse tecido fibroso, o material fica encapsulado, ocorrendo um impedimento da integração entre o tecido e implante, de forma que a interface não seja biologicamente ligada (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006). Neste contexto, uma melhor integração entre tecido-implante passou a ser requerida, o que instituiu o conceito de materiais com natureza bioativa, da segunda geração de biomateriais. Iniciada a partir de meados da década de 1970, esta classe apresenta como exemplos as biocerâmicas, os biovidros e alguns polímeros (ZAVAGLIA; SILVA, 2016).

O final da década de 1990 foi marcado pela da terceira geração de biomateriais, caracterizada por materiais que agregavam conceitos da Engenharia de Tecidos, para o desenvolvimento de sistemas destinados a regeneração de tecidos biológicos (HENCH; POLAK, 2002). Uma compreensão celular e molecular dos biomateriais de terceira geração fornece uma base científica para o design molecular de materiais para uso em engenharia e reparo de tecidos (HENCH; POLAK, 2002). Pode-se citar como exemplos desta classe, materiais de natureza reabsorvível (polímeros naturais ou sintéticos: quitosana, colágeno, polipropileno, poliuretano, ácido polilactídico, entre outros) e os arcabouços porosos (*scaffolds*).

Atualmente, a quarta geração de biomateriais abrange materiais que se assemelham às condições biológicas a nível celular, os chamados biomateriais inteligentes. Estes tipo de biomaterial pode acarretar efeitos instrutivos/indutivos ou desencadeadores/estimulantes em células e tecidos, através da capacidade de resposta do material a estímulos internos ou externos ou de propriedades e funções adaptadas de forma inteligente que podem promover a reparação e regeneração tecidual (NING; ZHOU; TAN, 2016). Tal conceito se aplica por exemplo a sistemas de distribuição medicamentosa, diagnóstico de imagem, nanotecnologia de regeneração óssea para entrega de moléculas bioativas, fatores de crescimento e material genético, nanoconstrução e modificação de *scaffolds*, entre outras aplicações (HOLZAPFEL et al., 2013).

3.2 Propriedades e classificação dos biomateriais

É de consenso da comunidade científica que os biomateriais devem apresentar duas condições fundamentais para serem admitidos à integração no sistema biológico: biocompatibilidade e biofuncionalidade (LOTFI; NEJIB; NACEUR, 2013).

Segundo definição clássica, a biocompatibilidade pode ser entendida como a capacidade de um material em executar algum tipo de resposta do tecido hospedeiro de forma apropriada a uma aplicação específica (WILLIAMS, 1987). As respostas apropriadas do hospedeiro incluem todos os processos biológicos ocorrentes após o pós-cirúrgico, como por exemplo, respostas imunológicas, adesão de proteínas, neocolonização celular, cicatrização e regeneração do tecido, entre outras (RATNER, et al., 2013).

Por sua vez, a biofuncionalidade refere-se ao conjunto de características que capacitam o biomaterial a executar a finalidade para a qual foi designado (WILLIAMS, 1987). Tais requisitos incluem (i) propriedades mecânicas, tais como resistência à tração, à fratura, resistência à fadiga, módulo de Young; (ii) propriedades físicas, tais como densidade, expansão térmica, rugosidade superficial, permeabilidade, hidrofiliabilidade e (iii) propriedades bioquímicas de superfície, como solubilidade, oxidação, corrosão (BARRERE et al., 2008).

Além disso, é de suma importância que um biomaterial não induza no organismo receptor reações alergênicas, trombogênicas, carcinogênicas ou tóxicas, a não ser que esta seja uma característica desejável. Espera-se ainda que o biomaterial seja de fácil reprodução e com custo relativamente baixo (MURPHY; BLACK; HASTINGS, 2016).

Comumente, os biomateriais são classificados segundo sua origem, natureza química e reação biológica. Quanto à origem, os biomateriais podem ser divididos em autógenos (autólogos), homogêneos (homólogos), heterogêneos (xenógenos) e sintéticos (aloplásticos) (HENCH, 1998; MURPHY; BLACK; HASTINGS, 2016; RATNER et al., 2013).

Segundo Hench (1998) e Ratner (2013), o termo autógeno descreve todo material proveniente de áreas doadoras do próprio indivíduo ao qual será destinado o implante. Já os biomateriais homogêneos procedem de indivíduos de espécie semelhante ao receptor, porém susceptíveis a uma rejeição do mesmo (HENCH, 1998; RATNER, 2013). Biomateriais heterogêneos são naturais de espécies diferentes do indivíduo receptor, comumente obtidos de animais bovinos e eventualmente de suínos e caprinos (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006). E finalmente, os biomateriais sintéticos são materiais sintetizados em diversidade de composição e natureza química de acordo com sua destinação (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006).

Os biomateriais são classificados quanto a sua natureza química em quatro grupos principais: metais, polímeros, cerâmicos e compósitos. Os materiais metálicos (e ligas metálicas) são os biomateriais mais utilizados nas substituições ósseas em razão de suas propriedades mecânicas relacionadas à alta resistência a tração, à fadiga e ao desgaste (CALLISTER, 2014). Dentre os materiais utilizados, pode-se citar o aço inox, o titânio, ligas de titânio-alumínio-vanádio e cromo-cobalto (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

A classe dos polímeros é altamente empregada como implantes devido à sua baixa densidade e biocompatibilidade, além da facilidade de reprodução. Contudo, uma desvantagem destes materiais refere-se aos baixos valores de resistência mecânica (HOLZAPFEL et al., 2013). O polietileno, polipropileno, poliuretano, ácido polilactídico (PLA) e o polimetacrilato de metilo (PMMA) são exemplos de biopolímeros usados em implantes (PUOCI, 2015).

As cerâmicas apresentam propriedades desejadas aos biomateriais de substituição óssea tais como: estabilidade química superficial e biocompatibilidade, inércia química em meio fisiológico e dureza (BEST et al., 2008). Materiais de destaque desta classe incluem Al_2O_3 , ZrO_2 , fosfatos de cálcio, vidros ou vitro-cerâmicas a base de sílica e carbonos pirolíticos (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

E finalmente, os compósitos são materiais extremamente interessantes uma vez que suas características são obtidas mediante combinação de seus constituintes (CHAWLA, 2012). Tais combinações atribuem melhores propriedades ao produto final, quando comparadas aos seus componentes individuais (CHAWLA, 2012). Esta classe apresenta uma vasta diversidade em razão das diferentes composições que podem ser obtidas entre distintos sistemas, como por exemplo: cerâmicas-cerâmicas ($\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$), cerâmicas-metais ($\text{ZrO}_2\text{-Ti}$), cerâmicas-polímeros (HA-PCL), dentre tantos outros.

Uma vez inserido no meio biológico, os biomateriais tendem a gerar respostas do tecido hospedeiro na interface tecido-implante, as quais são utilizadas para classificar o comportamento destes materiais em inertes, toleráveis, ativos e reabsorvíveis (CHAWLA, 2012).

Quando um material de natureza inerte é introduzido nos tecidos, comumente induz a uma reação inflamatória crônica (KORMANN et al., 2013). Ao redor deste material, forma-se uma camada ou cápsula fibrosa não aderente, isolando-o do ambiente biológico com o intuito de minimizar os efeitos adversos (KORMANN et al., 2013). Nesse caso, diz-se que a interface não é biologicamente ligada, havendo um movimento relativo e por sua vez, um desajuste no contanto mecânico desta interface (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006).

Os materiais bioabsorvíveis, por sua vez, caracterizam-se por uma camada de tecido conjuntivo fibroso aderente entre o implante e o tecido ósseo a qual permite que ele seja moderadamente aceito pelos tecidos envoltórios e isolado dos tecidos adjacentes (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006). Este tipo de material pode sofrer degradação, solubilização ou ser fagocitado por células do sistema imunológico. Dessa forma, ocorre uma substituição progressiva ao passo que um novo tecido é constituído no local implantado (HENCH; WILSON, 1993)

Materiais de natureza bioativa são caracterizados por induzir uma reação biológica na interface do tecido-implante, a qual resulta em uma interação entre eles (HENCH; WILSON, 1993). Uma vez que a fronteira entre os materiais bioativos e bioabsorvíveis é muito próxima, a taxa de fixação de um dado material com o meio biológico se estabelece de modo a atingir um estado de equilíbrio dinâmico (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006). Desta forma, quando este estado ocorre a uma taxa rápida, pode-se dizer a reabsorção do implante é favorecida pelos tecidos circundantes. Já quando a taxa de fixação ocorre de forma contínua, semelhante aos tecidos naturais, diz-se que a interface é bioativa (HENCH, 2013).

Ressalta-se que tais respostas apresentam condições que tendem a favorecer um ou outro tipo de ligação entre tecido hospedeiro e implante. Os fatores relativos ao tecido hospedeiro incluem o tipo, saúde e idade do tecido, bem como a circulação sanguínea e movimentação interfacial (HENCH, 2013). Já os fatores associados ao implante incluem sua composição química, tipos de fases, morfologia e porosidade superficiais, bem como, inércia química e hidrofiliabilidade. Contato mecânico (ajuste de proximidade) e carga mecânica são fatores pertencentes à ambos (HENCH, 2013).

3.3 Biocerâmicas

As cerâmicas destinadas particularmente ao reparo e reconstrução de partes doentes ou danificadas de sistemas biológicos são denominadas biocerâmicas (HENCH, 2013). Esta classe de biomateriais se mantém em evidência desde a segunda metade do século XX, tendo em Larry Hench seu principal ponto de referência em pesquisas. Em artigo pioneiro intitulado “*Bioceramics: From Concept to Clinic*” (Biocerâmicas: do Conceito à Clínica) de 1991, Hench abordou os tipos e as generalidade de aplicações das biocerâmicas, bem como, o mecanismo de fixação e a resposta na interface do implante-tecido hospedeiro (HENCH, 1991).

Segundo este autor, as biocerâmicas podem ser divididas em quatro grupos, segundo as respostas interfaciais entre tecido hospedeiro e implante, conforme é apresentado na Tabela 3.1. De forma geral, as respostas interfaciais existentes entre as biocerâmicas e o sistema biológico obedecem

aos mesmos mecanismos explicados anteriormente. Em complemento, as biocerâmicas porosas destacam-se por interações tecido-implante que podem ocorrer tanto no interior do corpo do implante quanto sobre sua superfície (LEWALLEN et al., 2015). Nesse sentido, se observa uma melhor fixação (adesão) entre os mesmos, quando comparados a materiais morfológicamente distintos (LEWALLEN et al., 2015). Dentre a variedade de cerâmicas destinadas como biomateriais de reparação óssea, algumas apresentam destaque, como a Al_2O_3 , ZrO_2 e os fosfatos de cálcio.

Tabela 3.1 – Classificação das biocerâmicas quanto à resposta interfacial tecido-implante.

Biocerâmicas	Tipo de Adesão	Exemplos
INERTES	Formação de uma camada fibrosa em volta do implante. A interação ocorre por fixação morfológica.	Al_2O_3 e ZrO_2
POROSAS	Intra-crescimento ósseo no interior dos poros do implante. A fixação é do tipo biológica.	Cerâmicas porosas, metalo-cerâmicas porosas e HA porosa.
ATIVAS	Ligação interfacial com o tecido. A fixação é dita como bioativa.	Vidros bioativos, cerâmicas vítreas e hidroxiapatita densa.
REABSORVÍVEIS	Substituição reabsorvível do tecido.	Fosfatos tricálcicos e vidros bioativos.

Fonte: Adaptado de GARVIE; HANNINK; PASCOE, 1975.

Nesse sentido, uma vez que Al_2O_3 e ZrO_2 apresentam individualmente propriedades que são pertinentes a fabricação de implantes. A Al_2O_3 apresenta elevada densidade ($\geq 3,98 \text{ g/cm}^3$) e pureza química ($\geq 99,50 \%$), alta resistência à corrosão em meio biológico, elevada dureza ($> 2000 \text{ HV}$), moderada tenacidade à fratura ($4\text{-}6 \text{ MPa/m}$) (ISO 6474-1, 2010). A ZrO_2 também exibe várias propriedades físicas e mecânicas promissoras, incluindo baixa condutividade térmica, alta resistência à flexão ($900\text{-}1.200 \text{ MPa}$), resistência à fratura favorável ($> 8 \text{ MPa/m}$), bem como resistência ao desgaste e à corrosão (ISO 13356, 2008).

De forma geral, se descreve que os compósitos de matriz de Al_2O_3 com fases dispersas de ZrO_2 ($\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$) são conhecidos como Al_2O_3 tenacificada por ZrO_2 - ZTA da expressão “*Zirconia toughened Alumina*”. Para os compósitos de matriz de ZrO_2 com inclusões de Al_2O_3 ($\text{ZrO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$) a denominação se dá por ATZ derivado de “*Alumina toughened Zirconia*” (SANTANA, 2015).

A utilização de compósitos de $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ se apresenta com alto aproveitamento para as aplicações biomédicas estruturais, sendo muito reportada em estudos nas últimas décadas (ANDREIOTELLI; WENZ; KOHAL, 2009; FABBRI et al., 2014; KURTZ et al., 2015). No entanto,

um melhor desempenho destes materiais foi verificado quando uma das fases se encontra na ordem de nanômetros (TRAYKOVA et al., 2006; WANG et al., 2016).

Conceitualmente, os nanocompósitos podem ser definidos como materiais formados pela combinação de dois ou mais constituintes que diferem entre si em forma e/ou composição química e apresentam pelo menos uma característica microestrutural nanométrica (DURÁN; MATTOSO; MORAIS, 2006).

Ao final da década de 1980, Niihara et al. estudaram os efeitos de inclusões nanométricas de carbeto de silício (SiC) na matriz de Al_2O_3 (NIIHARA et al., 1989). Os autores obtiveram resultados significativos quanto ao aumento de resistência à flexão (300%) e tenacidade à fratura (40%) desse sistema. Este fato despertou um grande interesse da comunidade científica no estudo de materiais cerâmicos desta natureza. Os resultados obtidos por Niihara et al. (1989) nunca foram reproduzidos fielmente por outros autores, no entanto, é de consenso comum que a adição de inclusões nanométricas em sistemas cerâmicos acarreta o aperfeiçoamento das propriedades mecânicas do produto final.

Liu e et al. (1998) foram os pioneiros na investigação dos efeitos das inclusões nanométricas de ZrO_2 em matriz de Al_2O_3 , utilizando para tal, uma composição de 95% Al_2O_3 com 5% em volume de ZrO_2 . Os resultados obtidos indicaram um aumento das propriedades mecânicas do nanocompósito, acompanhado por uma diminuição na sinterabilidade do sistema (LIU et al., 1998). Tais propriedades são obtidas geralmente por dois mecanismos: controle da transformação de fase nas partículas de ZrO_2 e controle da microestrutura a partir da inibição do crescimento de grão da matriz pela fase dispersa (KURTZ et al., 2015).

Além disso, Nono et al. (2006) verificaram que um processamento individual dos pós cerâmicos proporcionava uma melhora na dispersão das partículas nanométricas de ZrO_2 na matriz de Al_2O_3 . Pierri (2011) demonstrou que este tipo de metodologia influi positivamente sobre a homogeneidade das inclusões na matriz, e consequentemente suas propriedades mecânicas.

Silva (2011) estudou nanocompósitos de Al_2O_3 com variações de percentuais volumétricos (5, 10, 15 e 30 %) de inclusões nanométricas de ZrO_2 visando melhorias nas propriedades mecânicas e de desgaste do material. Os resultados indicaram que os nanocompósitos apresentaram um aumento progressivo (com aumento da quantidade de inclusões) de tenacidade à fratura quando comparados a alumina sem inclusões. Por sua vez, para os testes de compressão diametral, o nanocompósito com 30% de inclusões de ZrO_2 não apresentou resultados comparáveis às demais composições dos nanocompósitos e da Al_2O_3 pura. Esse fato foi associado a uma não dispersão das partículas na matriz

e consequentemente ao aumento do tamanho de grãos de ZrO_2 , o qual tende a diminuir as propriedades mecânicas do material (SILVA, 2011).

O nanocompósito de $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ apresenta natureza bioinerte sob condições fisiológicas, ou seja, o implante é circundado por uma cápsula fibrosa do tecido, não ocorrendo uma ligação efetiva entre eles (KORMANN et al., 2013). Dessa forma, nas últimas décadas têm sido desenvolvidos novos materiais que agreguem propriedades mecânicas com melhores condições de bioatividade. Tal fundamentação se baseia por exemplo, na deposição de fases de fosfatos de cálcio sobre diferentes tipos de substratos de natureza inerte ou reabsorvível, a partir de recobrimentos superficiais (ABE, KOKUBO, YAMAMURO, 1990; BARRERE et al, 2002; KOKUBO; TAKADAMA, 2006).

3.4 Métodos de recobrimento com fosfatos de cálcio e tratamento químico de superfície

Abe et al. (1990) sugeriram que o requerimento essencial para um material artificial aderir ao osso baseia-se na formação de uma camada superficial de apatita em sua superfície com características semelhantes ao osso natural. Este fato implica que a bioatividade de um material pode ser avaliada a partir da formação de fosfatos de cálcio sob condições adequadas, a qual leva ao aumento do fenômeno de osseointegração, sem que haja a manifestação de outros tecidos (KOKUBO; TAKADAMA, 2006).

Os métodos de recobrimento superfícies incluem *spray plasma*, *ion sputtering*, sol-gel, biomimético, entre outros (LEON; JANSEN, 2009). Tais processos promovem o revestimento de substratos com filmes altamente densos e homogêneos. No entanto, de modo comum, o uso de equipamentos e metodologias mais sofisticadas tendem a aumentar o custo destas metodologias (LEON; JANSEN, 2009).

O *spray plasma* ou aspersão térmica é uma técnica de deposição de fosfatos de cálcio que permite um recobrimento onde o tipo de ligação entre a camada e o substrato é do tipo mecânica, com espessura final de 40 a 60 μm (GUASTALDI; APARECIDA, 2010). No entanto, devido às elevadas temperaturas de processo, este método pode ser aplicado apenas em substratos de natureza metálica ou cerâmica com uma única fase – HA (GUASTALDI; APARECIDA, 2010).

Por sua vez, o método de *ion sputtering* é um processo de recobrimento mediante bombardeio com um feixe de íons positivos, o qual por transferência de momento dipolares provoca o deslocamento de átomos neutros do alvo, que condensam sobre o substrato desejado na forma de um revestimento fino (WANG et al., 2005). Nesta técnica, a grande maioria de íons empregada deriva de gases nobres devido à sua inércia química (WANG et al., 2005). Uma particularidade deste método

e também sua principal desvantagem está associada ao fluxo de feixes que atinge o substrato, ao qual é direcionado em variados vetores, e, portanto, os pontos mais altos (os picos) tendem a receber mais partículas do que os pontos mais baixos (os vales). Este fenômeno é conhecido na literatura como “efeito sombra”, devido à sombra que os átomos nos picos fazem às regiões dos vales, e resulta em diferença de rugosidade superficial do revestimento (ARAÚJO, 2006).

A deposição por 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 (GUASTALDI; APARECIDA, 2010). Suas vantagens se relacionam ao controle das características do recobrimento, utilização de baixas temperaturas de processo, obtenção de diferentes fases de fosfatos de cálcio, alta cristalinidade e alta força de adesão. No entanto, como desvantagens ocorre um diferencial de retração do revestimento quanto ao substrato durante etapas de secagem e densificação, além de elevado tempo de processo (GUASTALDI; APARECIDA, 2010).

Outro método muito reportado para a formação de fosfatos de cálcio é o recobrimento biomimético. A metodologia deste processo consiste na imersão de substratos de diferentes naturezas e morfologias em solução denominada *Simulated Body Fluid* – SBF, a qual apresenta composição, pH e temperatura similares às condições do plasma sanguíneo (ABE; KOKUBO; YAMAMURO, 1990).

As principais vantagens do método biomimético justificam-se pelo baixo custo operacional e pelas condições de trabalho, que se assemelham às condições do fluido corporal. Além disso, este há possibilidade de ser revestir substratos de diferentes naturezas e morfologias, assim como, a formação de diferentes fases de fosfatos de cálcio de interesse sobre suas superfícies (ABE; KOKUBO; YAMAMURO, 1990; KOKUBO; TAKADAMA, 2006). No entanto, algumas desvantagens se relacionam com uma não uniformidade da espessura da camada depositada. Além disso, a utilização do método em substratos porosos pode acarretar em uma redução da porosidade aberta devido a formação de um revestimento superficial (NISHIGUCHI et al., 2001; SARTORI, 2015).

Desde a década de 1990, o método biomimético sofreu algumas variações a fim de se obter uma homogeneidade do recobrimento, além de reduzir o tempo de processo. As mais significativas modificações propostas por Kokubo e Takadama (2006) são apresentadas na Tabela 3.2 e incluem alterações nas concentrações dos componentes utilizados para elaboração da solução de SBF (KOKUBO; TAKADAMA, 2006).

Tabela 3.2 – Concentrações iônicas dos diferentes SBF's propostos comparados ao plasma sanguíneo humano.

	Concentração Iônica (mM)							
	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
Plasma sanguíneo humano	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5
SBF original	142,0	5,0	1,5	2,5	148,8	4,2	1,0	0
SBF corrigido (c-SBF)	142,0	5,0	1,5	2,5	147,8	4,2	1,0	0,5
SBF revisado (r-SBF)	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5
SBF com melhorias (n-SBF)	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	4,2	1,0	0,5

Fonte: KOKUBO, TAKADAMA, 2006.

A primeira modificação foi proposta ainda em 1990, por Abe, Kokubo e Takadama quanto a correção e inserção dos íons de SO₄²⁻ na solução de SBF, conforme concentração do plasma sanguíneo humano. Em 2003, Oyane et al propuseram um SBF revisado (r-SBF) no qual as concentrações dos íons de Cl⁻ e HCO₃⁻ foram ajustadas em relação ao plasma sanguíneo. No entanto, o íon HCO₃⁻ apresenta uma forte tendência a precipitar na preparação da solução, uma vez que esta é supersaturada quando comparada aos fosfatos de cálcio.

Além disso, Qu e Wei (2008) indicaram que a concentração e a taxa de decomposição do HCO₃⁻ influi diretamente sobre a morfologia, composição e cristalinidade da camada de fosfatos de cálcio formada. Nesse sentido, relacionou-se que um baixo teor de íons HCO₃⁻ tende a formar um recobrimento de alta cristalinidade, já uma camada mais homogênea pode ser formada quando o teor de íons HCO₃⁻ é alto (QU; WEI, 2008).

Em 2004, Takadama et al. propuseram uma nova solução de SBF (n-SBF) diminuindo a concentração do íon Cl⁻ ao nível do plasma sanguíneo humano, e mantendo a concentração de íons HCO₃⁻ conforme a SBF corrigido (c-SBF). De forma a comparar esta solução ao c-SBF, as duas soluções foram submetidas a testes de estabilidade e reprodutibilidade em dez institutos de pesquisa. Os resultados indicaram que as soluções de c-SBF e n-SBF não apresentaram diferenças estatísticas, sendo a preparação do SBF corrigida normatizada sob ISO/TC150 para a formação de fosfatos de cálcio sobre a superfície de materiais destinados como implante (KOKUBO; TAKADAMA, 2006).

Adicionalmente, Barrere (2002) estudou os possíveis efeitos de um aumento na concentração da solução de SBF sobre a superfície de placas de ligas metálicas de titânio-alumínio-vanádio (Ti-6Al-4V). Para tal, soluções com concentrações de 1,5 a 5,0 vezes mais concentradas que a proposta

por Abe et al. (1990) foram avaliadas para o período de 21 dias de incubação. Os resultados indicaram que as placas metálicas recobertas com SBF 5,0 vezes apresentaram maior espessura de camada de fosfatos de cálcio quando comparado ao recobrimento obtido para solução SBF 1,5 vezes mais concentrada (BARRERE, 2002). Nesse sentido, observou-se que soluções de SBF mais concentradas permitiram a deposição de fosfatos de cálcio em um menor período de tempo.

Cortes et al. (2005) estudaram duas rotas de recobrimento biomimético na superfície do compósito de ZrO_2 parcialmente estabilizado com magnésio/ Al_2O_3 (Mg-PSZ/ Al_2O_3). Na primeira rota de estudo, o substrato foi tratado durante 21 dias, sem reposição da solução de SBF originalmente proposta por Abe e colaboradores. Já na segunda rota, as amostras foram inicialmente imersas por 7 dias na solução de SBF original e então re-imersas em solução 1,4 vezes mais concentrada de SBF por mais 14 dias, com troca de solução a cada 7 dias. Os resultados indicaram que a segunda rota de estudo indicou uma deposição de camada densa e homogênea (20 μm) sobre a superfície do compósito, fato não observado para as amostras avaliadas na primeira rota (CORTES et al. 2005).

Em 2006, Pierre et al. utilizaram o método biomimético modificado para a obtenção de uma camada de material bioativo sobre a superfície de compósitos densos de $ZrO_2-Al_2O_3$. Os substratos de $ZrO_2-Al_2O_3$ foram incubados por 7 dias em solução SBF original, sendo re-imersos em seguida em SBF 1,5 vezes mais concentrado por mais 6 dias, com troca de solução a cada 2 dias. Após este período, observaram a formação de uma camada de apatita carbonatada de morfologia homogênea, composta por pequenos glóbulos, com tamanhos menores que 2 μm depositada na superfície dos substratos cerâmicos (PIERRI et al., 2006).

Alguns estudos ainda sugerem que o emprego de tratamentos superficiais (químicos, físicos ou por plasma) como etapa que antecede o método biomimético é uma interessante e promissora alternativa na indução da bioatividade da camada de fosfato a ser depositada e sua aderência à superfície de um substrato (UCHIDA et al., 2002; FAGA, et al., 2012). Segundo Uchida et al. (2002), os tratamentos químicos, por exemplo, tendem a estimular um aumento da energia superficial do substrato e sua área específica, e então, promover um crescimento quantitativo de fosfatos de cálcio.

Uchida et al (2002) avaliaram o tratamento químico com soluções de H_3PO_4 , H_2SO_4 , HCl e $NaOH$ na superfície em cerâmicas de $Al_2O_3-ZrO_2$. O estudo sugeriu que todos os tratamentos com soluções ácidas promoveram uma formação de grupos $Zr-OH$ na superfície dos substratos, assumidos como sítios nucleantes para a formação da apatita (UCHIDA et al, 2002). Esta fundamentação se baseia na capacidade de uma maior formação de núcleos de fosfatos de cálcio induzida pela presença

de alguns grupos funcionais como Si-OH, Ti-OH ou Ta-OH (PISAREK, et al., 2012; JEMAT et al., 2015).

Em 2012, Faga et al. avaliaram a influência dos tratamentos químicos com H_3PO_4 e NaOH em diferentes concentrações e temperatura na superfície de compósitos de $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ e recobertos com solução de SBF. Os resultados indicaram que somente os substratos tratados quimicamente com ácido levaram a formação de grupamentos de fosfato de cálcio após o período de 28 dias incubação em SBF, com uma razão cálcio/fósforo de 1,6 (FAGA et al., 2012).

É de consenso da comunidade científica que as propriedades da superfície dos implantes influenciam de forma decisiva no processo de remodelação óssea, de tal forma a provocar algum tipo de resposta biológica (KOKUBO et al., 2009). Ou seja, um aumento das propriedades, como rugosidade, molhabilidade, energia superficial de um implante, por exemplo, pode atuar como sítio de nucleação de cristais de fosfatos de cálcio a partir do recobrimento, e então, favorecer seu crescimento. Dessa forma, um aumento destas propriedades tende a influir diretamente na adesão do implante no tecido hospedeiro, bem como, no crescimento celular e na manutenção da osseointegração (KOKUBO et al., 2009).

Uma vez formada a camada de apatita sobre a superfície dos substratos de estudo, como sugerido por Abe et al. (1990), algumas fases dos fosfatos de cálcio apresentam substancial interesse biológico por suas propriedades de bioatividade e estabilidade química como abordado a seguir.

3.5 Fosfatos de cálcio de interesse biológico

O interesse biomédico pelos fosfatos de cálcio teve seu início no ano de 1926, quando foi observada uma semelhança entre os padrões de difração de Raios-X da fase óssea inorgânica e de uma HA carbonatada (De JONG, 1926). Segundo Vallet-Regí e González-Calbet (2004), as similaridades químicas e estruturais entre os fosfatos e os componentes minerais ósseos sugerem a ocorrência de um equilíbrio iônico destas biocerâmicas quando inseridas no fluido biológico, possibilitando assim a remodelação óssea no sítio do implante.

Os fosfatos de cálcio apresentam substancial importância em aplicações regenerativas ou de reparação óssea, incluindo o preenchimento de defeitos, reconstrução e/ou substituição, transporte de fármacos e revestimento de próteses (BARINOVI, 2010; HABRAKEN, et al., 2016). Tal generalidade de aplicações deve-se à ausência de toxicidade local ou sistêmica destes compostos e, principalmente, pela alta biocompatibilidade da matriz cerâmica ao tecido hospedeiro acompanhada de propriedades osteocondutoras (GUASTALDI; APARECIDA, 2010).

O processo de osteocondução ocorre devido a não interferência dos íons de cálcio (Ca^{2+}) e fosfato (PO_4^{3-}) na função celular e fisiológica dos tecidos adjacentes (LEGEROS, 2002; VALLET-REGÍ; GONZÁLEZ-CALBET, 2004; HABRAKEN, et al., 2016). Nesse sentido, a liberação destes íons tende a induzir a formação de uma camada de apatita carbonatada sobre a superfície do biomaterial, estabelecendo uma melhor ligação com o osso neoformado (LEGEROS, 2002; VALLET-REGÍ; GONZÁLEZ-CALBET, 2004).

Os fosfatos de cálcio podem ser distintos mediante razão molar entre cálcio e fósforo (Ca/P), que pode variar de 0,5 a 2,0 (DOROZHKIN, 2013), conforme observado na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Tipos de fosfatos de cálcio, razão Ca/P e estabilidade do pH em solução aquosa a 25 °C.

Razão Ca/P	Fórmula química	Composto	Intervalo de estabilidade do pH (25°C, meio aquoso)
0,5	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Fosfato Monocálcico Monohidratado* (MCPM)	0-2
0,5	$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$	Metafosfato de Cálcio * (MCP)	<i>b</i>
0,6	$\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$	Fosfato Dihidrogeno Tetracálcico (TDHP)	-
0,7	$\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})_2$	Fosfato Heptacálcico (HCP)	-
1,0	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Fosfato Bicálcico Dihidratado * (DCPD)	2-6
1,0	CaHPO_4	Fosfato Bicálcico * (DCP)	<i>b</i>
1,0	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	Pirofosfato de Cálcio (α , β , γ) (CPP)	-
1,0	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Pirofosfato de Cálcio Dihidratado (CPPD)	-
1,3	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Fosfato Octacálcico *(OCP)	5,5-7
1,5	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Fosfato Tricálcico * (α , β , γ) (TCP)	<i>a</i>
1,5-1,67	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})^{2-x}$ onde ($0 < x < 1$)	Hidroxiapatita deficiente de cálcio (CDHA)	-
1,67	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroxiapatita * (HA)	9,5-12
1,2-2,2	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$ onde $n=3-4,5$; 15-20% H_2O	Fosfato de Cálcio Amorfo * (ACP)	6,5-9,5
2,0	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	Fosfato Tetracálcico *(TTCP)	<i>a</i>

*Compostos de ortofosfatos de cálcio; *a*: compostos que não podem ser obtidos via precipitação em solução aquosa; *b*: estáveis em temperaturas próximas a 100°C.

Fonte: Adaptação de DOROZHKIN, 2013.

De forma geral, quanto menor a razão Ca/P de um determinado fosfato de cálcio, maior será sua acidez e solubilidade em água. Em contrapartida, compostos básicos são menos solúveis (DOROZHKIN, 2009). A solubilidade destes materiais depende inicialmente de sua decomposição em moléculas menores, sendo a velocidade de reabsorção variável mediante aumento da área superficial e diminuição da cristalinidade (DOROZHKIN, 2009).

Alguns fatores biológicos como agentes de fagocitose, leucócitos e mediadores químicos podem influenciar no decréscimo do pH local (DOROZHKIN, 2009). Outros parâmetros como a composição e a cristalinidade também estão relacionados com a solubilidade, propriedades de bioatividade e razão Ca/P (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006).

Dentre a classe dos fosfatos de cálcio, alguns compostos despertam interesse significativo quanto à sua aplicação, ocorrendo em calcificações normais ou patológicas. Particularmente a HA e TCP's são exemplos de fosfato de cálcio de destaque, uma vez que quando utilizados em conjunto, elevam sua solubilidade e consequentemente, sua osteocondutividade (PAVINATO, 2012).

3.5.1 Hidroxiapatita

A HA pura é um composto mineral que pertence à classe das apatitas. De acordo com Hench e Wilson (1993), em sua definição clássica, 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.

A fórmula química definida para estes compostos é $M_{10}(XO_4)_6Y_2$, onde as espécies M são geralmente cátions bivalentes (tais como Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}) ou cátions mono ou trivalentes (tais como Na^+ , K^+ e o Al^{3+}). O íon XO_4^{3-} é comumente substituído por íons trivalentes (como PO_4^{3-} , VO_4^{3-} ou AsO_4^{3-}), mas também incluem possíveis substituições como SiO_4^{4-} , CO_3^{2-} e SO_4^{2-} . Já o Y é um ânion monovalente, como o OH^- , F^- , Cl^- , Br^- (ELLIOT, 1994; SUPOVA, 2015).

No sistema biológico, as apatitas são encontradas como constituintes de ossos e dentes de vertebrados, de forma que os sítios M e X são ocupados pelos elementos Ca e P, respectivamente, e o sítio Y é ocupado pelos íons OH^- , F^- , CO_3^{2-} . Em particular, o íon CO_3^{2-} pode também ocupar o sítio X, originando as chamadas apatitas carbonatadas, que são denominadas pelo tipo A ou B, em razão de sua posição na estrutura cristalina. Quando o íon CO_3^{2-} encontra-se localizado no sítio Y, esta é do tipo A, já quando este íon se encontra no sítio X, a apatita é classificada como do tipo B (ELLIOT, 1994; SUPOVA, 2015).

Estruturalmente, a HA pode ser definida em uma rede cristalina hexagonal (Figura 3.1), com sistema denominado P63/m de parâmetros celulares com a e b iguais a 9.418 Å e c equivalente a 6.884 Å (ELLIOT, 1994). Na Figura 3.1 (b) observa-se que a célula unitária contém 10 íons de Ca^{2+} , sendo que 4 deles se situam alinhados em triângulos equiláteros perpendiculares à direção c (sítio Ca I) e os 6 íons restantes se encontram alinhados em coluna (Sítio Ca II) (ELLIOT, 1994). Já os triângulos equiláteros de íons O^{2-} e de íons Ca^{2+} estão ligados entre si por dois íons PO_4^{3-} situados em planos perpendiculares à direção c e outros dois paralelos a esta direção (ELLIOTT, 1994; RIVERA-MUÑOZ, 2011).

Figura 3.1 - Estrutura cristalina (a) e célula unitária (b) da HA.

Fonte: Adaptado de ELLIOTT, 1994; RIVERA-MUÑOZ, 2011.

Em sua forma estequiométrica, a HA apresenta uma alta estabilidade em solução aquosa (BEST, et al., 2008). Por sua vez, quando produzida sinteticamente à altas temperaturas, esta fase exibe a formação de cristais maiores, enquanto em baixas temperaturas, sua estrutura apresenta baixa cristalinidade com cristais menores, característicos aos do tecido ósseo e dentário, tornando-as mais interessantes para aplicações biológicas (LAONAPAKUL, 2015).

A HA é uma cerâmica biocompatível, o que favorece a troca entre os íons e o meio fisiológico, de forma a induzir o crescimento ósseo (LAONAPAKUL, 2015). Este evento se dá pela superfície deste fosfato que permite interações do tipo dipolo-dipolo, permitindo com moléculas de água, proteínas e colágenos sejam adsorvidas em sua superfície, induzindo a regeneração tecidual (SANTOS, 2002).

Apesar das vantagens apresentadas, a empregabilidade da HA é limitada em razão da baixa taxa de degradação no meio biológico, que ocorre concomitante à remodelação do tecido ósseo (PAVINATO, 2012). Tal característica é aproveitável por exemplo, na liberação controlada de fármacos, uma vez que, o tempo de liberação do medicamento depende do tempo da matriz utilizada.

3.5.2 Fosfato Tricálcico

O TCP apresenta importantes aplicações em preenchimentos de defeitos e extensão de contornos do tecido ósseo, ou ainda como um composto precursor na síntese da HA (BILLOTTE, 2000; PAVINATO, 2012). De forma geral, este fosfato ocorre em várias calcificações patológicas e sua estrutura pode apresentar quatro formas alotrópicas diferentes (α , α' , β e γ) de acordo com a temperatura de transição entre elas, conforme apresentado a seguir (GUASTALDI; APARECIDA, 2010):

A fase γ -TCP ocorre apenas a altas pressões e a fase α' -TCP não é muito conhecida, dado as dificuldades de sua obtenção devido à altas temperaturas de processo – maiores que 1470 °C (CHAAIR; LABJAR; BRITEL, 2017). As fases α e β -TCP são as mais conhecidas e empregadas, e seus sistemas se cristalizam estruturalmente em sistemas diferentes (Figura 3.2), uma vez que apresentam diferenças em seus parâmetros de rede (CHAAIR; LABJAR; BRITEL, 2017).

A fase α -TCP apresenta-se em um sistema monoclinico, com parâmetros de rede a , b e c iguais a 1,287, 2,728 e 1,521 nm, respectivamente. Já a fase β -TCP cristaliza-se no sistema romboédrico, sendo os parâmetros de rede a , b e c equivalentes a 1,043, 1,043 e 3,737 nm, respectivamente (GUASTALDI; APARECIDA, 2010). Ambas as fases apresentam propriedades de osteocondução; no entanto, a fase α -TCP é mais bioativa devido ao seu arranjo estrutural. Este fato possibilita que uma maior quantidade de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} sejam trocados com o meio biológico (GUASTALDI; APARECIDA, 2010).

Figura 3.2 - Estrutura cristalina do TCP para as fases (a) α -TCP representada ao longo do eixo a e (b) β -TCP representada ao longo do eixo b.

Fonte: Adaptado de CHAAIR; LABJAR; BRITEL, 2017.

Em geral, o TCP exibe maior taxa de degradação *in vivo* quando comparado aos cristais de HA. Em estudo sobre a solubilidade destes dois fosfatos de cálcio, Tang et al. (2001) demonstraram que a taxa de dissolução de β -TCP em uma solução aquosa (pH igual a 6) foi cerca de 89 vezes maior do que a de HA carbonatada. No entanto, uma alta taxa de dissolução do TCP pode ocasionar uma redução das propriedades mecânicas de um determinado biomaterial, sendo, portanto, sua aplicação mais eficiente em sistemas de com mais de uma fase (TANG; NANCOLLAS; ORME, 2001).

Além disso, a dificuldade na obtenção de fosfatos de cálcio na forma pura também faz com que seja muito comum seu emprego em sistemas multifásicos de cerâmicas. Em 2012, Pavinato estudou o comportamento de solubilidade de composições bifásicas de HA/TCP, ACP/HA e OCP/DCPD em meios de interesse biológico (água, soro fisiológico e fluido corporal simulado). Os resultados indicaram que a solução de fluido corporal simulado apresentou as maiores taxas de dissolução de Ca^{2+} dentre todos os meios de estudo. Os autores ainda indicaram que a fase TCP colaborou para um aumento na dissolução das composições constituídas por HA, principalmente para meios aquosos e fluido corpóreo simulado (PAVINATO, 2012).

Uma outra vertente utilizada para melhorar a solubilidade e degradação dos fosfatos de cálcio no fluido corporal se baseia na substituição de íons de sua rede cristalina, uma vez que este tipo de substituição já ocorre de forma natural no osso mineralizado (LI; LU; MENG, 2012).

3.5 A influência da ZrO_2 na formação dos fosfatos de cálcio

Em 2002, Uchida et al. investigaram a formação de apatita pelo método biomimético durante 3, 7, 14 e 28 dias em um substrato composto por um hidrogel de ZrO_2 . Os resultados do estudo sugeriram que a formação da camada de apatita na superfície do substrato foi induzida pela formação do grupamento Zr-OH proveniente da liberação de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} na solução de SBF (UCHIDA, et al, 2002).

Tal fundamentação de Uchida et al. (2002) se baseava em estudos de taxas de hidratação de substratos de sílica (SiO_2), TiO_2 e Al_2O_3 recobertos pelo método biomimético. Li (1992) sugeriu que altas taxas de formação de fosfatos de cálcio sobre a superfície dos substratos em estudo foram relacionadas à formação dos grupos Si-OH, Ti-OH e Al-OH após sua hidratação. No entanto, o grupo com menor taxa de hidratação foi o Al-OH, indicando uma menor contribuição na formação de fosfatos de cálcio (LI, 1992).

Na década seguinte, Oh et al. (2002) avaliaram os efeitos da ZrO_2 sobre a formação de fosfatos de cálcio em SBF originalmente proposto por Abe et al. (1990). Para tal, foi realizado uma deposição química de filmes muito finos de ZrO_2 na superfície de amostras de sílica, que logo em seguida foi imersa em SBF por 5 dias, com pH de 7,25, e temperatura de 36,5 °C. Os resultados indicaram que após este período, uma camada de fosfatos foi observada na superfície dos substratos em estudo; no entanto, esta camada também foi encontrada nos substratos controle (sem ZrO_2) (OH et al, 2002).

Por sua vez, Murugan e Ramakrishna (2003) estudaram o efeito de 5 e 10% mol de ZrO_2 em uma matriz de HA (previamente preparada usando um coral tipo goniopora sob irradiação micro-ondas) sobre a formação de fosfatos de cálcio. Os resultados indicaram que a adição da ZrO_2 na matriz de HA foi responsável por uma maior formação da fase β -TCP, após o tratamento térmico, com destaque para a composição de 10% mol de ZrO_2 (MURUGAN; RAMAKRISHNA, 2003).

Uma década depois, Kantana et al. (2013) avaliaram os efeitos da inclusão de nanopartículas de ZrO_2 (0,2; 0,5 e 1 % vol.) na matriz de HA, sinterizada sob uma faixa de temperatura de 1300 a 1450 °C, por 2 h. Os resultados indicaram a presença das fases α e β -TCP, além da fase majoritária da HA, não sendo encontrada com significância para os substratos controle (HA). Essas fases são frequentemente encontradas em cerâmicas de HA que foram submetidas ao tratamento térmico a altas temperaturas (KANTANA et al., 2013).

Em 2015, Pardun et al. avaliaram a influência de diferentes relações de ZrO_2 e HA tanto nas propriedades mecânicas quanto no comportamento biológico dos substratos quando incubados em solução de SBF para 21 dias de recobrimento. Foram estudadas 4 composições: HA pura, e adições

de 3,0; 5,1 e 7,5 % vol de ZrO_2 na matriz de HA. Os resultados indicaram que as composições com maiores percentuais de ZrO_2 mostraram uma melhor adesão do revestimento bifásico de fases HA e TCP's. Considerando tais propriedades e o potencial de bioatividade analisado em cultura *in vitro*, os autores indicaram que as composições de 5 e 7,5% de inclusões em volume de ZrO_2 apresentaram melhores respostas aos testes *in vitro* (PARDUN et al., 2015).

Amin et al. (2016) avaliaram o efeito da ZrO_2 na bioatividade e propriedades mecânicas quando inseridas em matriz cerâmica de silicato-cálcio-magnésio. Os autores estudaram quatro composições, com variação de 5, 15 e 25 % em peso de inclusões de ZrO_2 na matriz, sendo estas, incubadas durante 7 dias em solução de SBF, pH de 7,45 e temperatura de 36,5 °C. Após este período, os autores sugeriram que a composição com 25 % de inclusões nanométricas de ZrO_2 na matriz cerâmica apresentou uma maior contribuição para a formação de fosfatos de cálcio em sua superfície, em comparação com as demais composições (AMIN et al., 2016).

Até o momento, a literatura ainda não abordou de forma coesa a influência da ZrO_2 em matriz de Al_2O_3 na deposição de fosfatos de cálcio sobre a superfície de nanocompósitos. Nesse sentido, um dos propósitos do presente estudo foi verificar se há as relações existentes entre as inclusões nanométricas de ZrO_2 em matriz de Al_2O_3 com a formação da camada de fosfatos de cálcio.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A Figura 4.1 apresenta resumidamente as etapas da metodologia empregada no processamento, tratamento superficial, recobrimento biomimético, e caracterização dos corpos de prova de Al_2O_3 e dos nanocompósitos de Al_2O_3 contendo 5, 10 e 15 % em volume de inclusões nanométricas de ZrO_2 .

Figura 4.1 - Fluxograma resumido das etapas metodológicas utilizadas no presente trabalho.

Fonte: Própria autoria.

Os reagentes químicos empregados na metodologia do presente estudo estão descritos na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Reagentes químicos empregados nas etapas de preparação, tratamento químico de superfície e recobrimento biomimético dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.

Reagente	Fabricante
Alumina AKP-53	Sumitomo Chemical
Zircônia 3% ítria (3Y-TZP)	Nanostructured & Amorphous Materials Inc.
Ácido 4-aminobenzóico (PABA)	Vetec Química Fina Ltda
Ácido oleico	Vetec Química Fina Ltda
Ácido clorídrico P. A. – 37%	Labsynth Produtos para Laboratório Ltda
Álcool etílico P. A. - 99,5%	Labsynth Produtos para Laboratório Ltda
Ácido fosfórico P. A. - 85%	Nuclear – Biotec Produtos Químicos
Carbonato de sódio anidro	Labsynth Produtos para Laboratório Ltda
Cloreto de cálcio	Labsynth Produtos para Laboratório Ltda
Cloreto de sódio	Labsynth Produtos para Laboratório Ltda
Cloreto de potássio	Labsynth Produtos para Laboratório Ltda
Fosfato de sódio bifásico heptahidratado	Labsynth Produtos para Laboratório Ltda
Fosfato de potássio bifásico anidro	Labsynth Produtos para Laboratório Ltda
Sulfato de sódio	Labsynth Produtos para Laboratório Ltda

Fonte: Própria autoria.

4.1 Preparação dos pós de Al_2O_3

Para a preparação dos corpos de prova, os pós de Al_2O_3 foram desaglomerados em moinho de bolas (modelo TE 500/1 – Tecnal), utilizando-se frasco de polipropileno com bolas de ZrO_2 (5 mm de diâmetro), com relação bola/material de 2:1. Os pós foram solubilizados em meio alcoólico por 1 h, usando como defloculante 0,2 % em peso de ácido amino-benzóico (PABA). Em seguida, foi adicionado 0,5 % em peso de ácido oleico e a mistura mantida em moinho por mais 2 h. A suspensão resultante foi seca em fluxo de ar quente e o pó resultante peneirado em malha de 80 *mesh* (CHINELATTO et al., 2014; OJAIME et al., 2014; SARTORI, 2015; SANTOS, 2016).

4.2 Preparação dos pós de Al_2O_3 com 5, 10 e 15 % em inclusões nanométricas de ZrO_2

A preparação dos pós de Al_2O_3 com 5, 10 e 15% em volume de ZrO_2 foi realizada por mistura de suspensões. Para isso foi preparada uma suspensão alcóolica de Al_2O_3 usando as mesmas condições apresentadas no item 4.1, no entanto, o tempo de moagem foi de 14 h. A suspensão de ZrO_2 nanométrica foi preparada em moinho de bolas, com a relação bola/material de 5:1, em frasco de polipropileno com 0,5 % em peso de PABA em meio alcoólico por 12 h.

A mistura das suspensões foi realizada sob gotejamento da fase dispersante (ZrO_2) na suspensão de Al_2O_3 sob agitação constante nas devidas proporções em volume de previamente calculadas. Em seguida, a suspensão resultante foi levada ao moinho de bolas por 10 h com adição de 0,5 % em ácido oleico (PIERRI, et al.; 2006). Os pós cerâmicos obtidos foram secos sob fluxo de ar quente e em seguida peneirados em malha 80 *mesh*.

4.3 Conformação e sinterização dos corpos de prova

Os corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z foram conformados no formato de pastilha cilíndrica, com 10 mm de diâmetro e 5 mm de altura, usando prensagem uniaxial (Marcon, modelo MPH-10), com pressão de 50 MPa, seguida por prensagem isostática (AIP, modelo CP-36) com pressão de 200 MPa (OJAIME et al., 2014).

Para eliminação dos materiais orgânicos incorporados durante a preparação dos pós, foi realizada etapa de calcinação a 400 °C/1h com taxa de aquecimento de 1 °C/min em mufla (EDG 3PS, modelo 7000). Posteriormente, a sinterização dos corpos de prova cerâmicos foi realizada em forno (MAITEC, modelo FE50RD), com taxa de aquecimento de 10 °C/min até 1050 °C/1h elevada para 1500 °C/2h para as amostras de Al_2O_3 e 1550 °C/1h para as composições nanoestruturadas. A opção pela utilização do patamar a 1050 °C decorre de estudos anteriores, onde foi verificado que estabilização à temperatura inicial da retração dos corpos de prova, proporciona melhor homogeneidade no tamanho de grãos da matriz (OJAIME et al., 2014).

4.4 Tratamento Químico de Superfície

Com base em estudos anteriores realizados pelo grupo de pesquisa (SARTORI, 2015; SANTOS, 2016), os corpos de prova cerâmicos foram tratados quimicamente em solução de H_3PO_4 5 M, a 90 °C, durante 4 dias, em banho termostático (FAGA et al., 2012; SARTORI, 2015; SANTOS, 2016). O volume da solução adequado de H_3PO_4 para imersão das amostras foi calculado segundo a equação 4.1, baseado na norma ISO 23317 (2012):

$$Vs = \frac{Sa}{10} \quad (4.1)$$

Onde:

Vs : volume solução (mL);

Sa : área superficial da amostra (m^2).

Ao término do tratamento químico, os corpos de prova foram lavados com água deionizada, secos a temperatura ambiente e armazenados em dessecador.

4.5 Recobrimento biomimético com solução de SBF 1,0x, 1,5x e 5x

Para a preparação das soluções de SBF de concentração 1,0x e 1,5x, a metodologia seguida foi proposta por Abe et al. (1990) e para SBF 5,0x foi seguida metodologia proposta por Barrere (2002). A Tabela 4.2 apresenta os reagentes empregados na preparação de 1 L de solução de SBF.

Tabela 4.2 – Concentrações (mM) dos reagentes para o preparo das diferentes soluções de SBF.

	Concentração (mM)							
	NaCl	NaHCO ₃	KCl	K ₂ HPO ₄	MgCl	CaCl ₂	Na ₂ SO ₄	Na ₂ HPO ₄
SBF 1,0x	137,50	4,20	3,00	1,00	1,50	2,50	0,50	-
SBF 1,5x	206,25	6,30	4,50	1,50	2,25	3,75	0,75	-
SBF 5,0x	733,50	21,00	-	-	7,50	12,50	-	5,00

Fonte: ABE; KOKUBO; YAMAMURO, 1990; BARRERE et al., 2002.

O recobrimento foi realizado pela imersão dos corpos de prova cerâmicos à temperatura de 36,5 °C e agitação de 65 rpm, em incubadora de bancada (MARCONI, modelo MA420). A cada 48 h foi realizada troca das soluções, sendo mensurada a variação do pH das mesmas. Após o período de incubação de 14, 21 e 28 dias, os substratos foram lavados com água deionizada e secos em estufa a 50 °C por 24 h.

4.6 Caracterizações dos corpos de prova de Al₂O₃ e de Al₂O₃-ZrO₂

As caracterizações dos corpos de prova cerâmicos foram realizadas em três etapas: após a sinterização, tratamento químico de superfície e recobrimento biomimético. A Tabela 4.3 ilustra as caracterizações que foram realizadas nas diferentes etapas.

Tabela 4.3 - Caracterizações dos corpos de prova de Al₂O₃ e de Al₂O₃-ZrO₂.

<i>Caracterização</i> \ <i>Etapas</i>	<i>Após sinterização</i>	<i>Após tratamento químico de superfície</i>	<i>Após recobrimento biomimético</i>
Medida de Densidade	X		
Microscopia eletrônica de varredura	X		X
Difração de Raios-X	X		X
Espectroscopia de infravermelho médio por transformada de <i>Fourier</i>	X	X	X
Ângulo de contato	X	X	
Microscopia confocal	X	X	

Fonte: Própria autoria.

4.6.1 Densidade a verde e densidade aparente

Os corpos de prova ($n = 10$) foram caracterizados quanto a densidade a verde, usando o método geométrico, segundo a equação 4.2 (ASTM C373-88, 2006).

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

Onde:

m : massa do corpo de prova em gramas;

v : volume do corpo de prova em cm^3 .

A densidade teórica em percentual (% DT) foi calculada mediante relação da densidade dos corpos de prova com a densidade teórica, conforme equação 4.3 (ASTM C373-88, 2006).

$$\% DT = \left(\frac{\rho}{\rho_t} \right) \times 100 \quad (4.3)$$

Onde:

ρ : densidade a verde;

ρ_t : densidade teórica.

O valor de ρ_t assumido para a Al_2O_3 foi de $3,98 \text{ g/cm}^3$ (SUMITOMO CHEMICAL, 2018) e para ZrO_2 foi de $6,05 \text{ g/cm}^3$ (TOSOH, 2018). As densidades teóricas dos corpos de prova de Al_2O_3 e $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ foram determinadas quanto às suas densidades e proporções, conforme equação 4.4 (ASTM C373-88, 2006).

$$\% DT = (X_{\text{Al}_2\text{O}_3} \cdot \rho_{\text{Al}_2\text{O}_3}) + (X_{\text{ZrO}_2} \cdot \rho_{\text{ZrO}_2}) \quad (4.4)$$

Onde:

ρ : densidade da Al_2O_3 e ZrO_2 .

X : porcentagens da Al_2O_3 e ZrO_2 .

Para a análise de Densidade Aparente (DA), os corpos de prova cerâmicos foram imersos em água destilada e levados à aquecimento, a 90°C por 5 h, sendo mantidos imersos por mais 24 h a temperatura ambiente. Em prosseguimento, a massa úmida e massa imersa dos corpos de prova foi quantificada em balança analítica. Para pesagem da massa seca, os corpos de prova foram secos em estufa em temperatura de 150°C por 24 h. As medidas de DA e porcentagem de densidade teórica (% DA) foram realizadas usando as equações 4.5 e 4.6, respectivamente (ASTM C373-88, 2006).

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

$$\% DA = \left(\frac{Ms}{Mu - Mi} \right) \rho i \quad (4.6)$$

Onde:

Ms: massa seca da amostra;

Mu: massa úmida da amostra após permanência em água durante 24 h;

Mi: massa imersa da amostra;

ρi : densidade da água na temperatura de trabalho.

4.6.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

As análises microestruturais dos corpos de prova de Al_2O_3 e de Al_2O_3 - ZrO_2 foram realizadas em dois momentos: após a sinterização (microscópio tipo FEG, modelo XL 30, Philips) e após o recobrimento biomimético (microscópio de bancada, TM 3000, Hitachi).

Para a análise da distribuição da dispersão da ZrO_2 na matriz de Al_2O_3 para os nanocompósitos foi realizado polimento da superfície das composições estudadas seguido de ataque térmico. Nesse sentido, os corpos de prova foram polidos em politriz automática (Buheler, modelo Minimet) com pasta de diamante de diâmetro médio de 9, 6, 3 e 1 μm . Em seguida, os corpos de prova foram atacados termicamente em temperatura de 100 °C abaixo da temperatura de sinterização usando taxa de aquecimento de 15 °C/min e patamar de 10 min. Após o recobrimento biomimético, os corpos de prova foram novamente avaliados visando analisar a deposição dos fosfatos de cálcio em sua superfície.

4.6.3 Difração de Raios-X

A técnica de DRX foi utilizada para identificar as fases presentes dos corpos de prova, bem como as fases de fosfatos de cálcio formadas sobre a sua superfície, após o recobrimento biomimético. Utilizou-se um difratômetro RIGAKU MINIFLEX 600, com radiação $K\beta(Cu) = 1,5405 \text{ \AA}$, operando com tensão de 40 kV e corrente de 15 MA.

Anteriormente à etapa de recobrimento biomimético, os corpos de prova foram analisados no intervalo de 20,0 a 60,0 °, operando em passo de 0,20 ° e velocidade de 1 °/min. Após o recobrimento, o intervalo de angulação usado foi de 30,7 a 34,3 °, visando observar os picos característicos dos fosfatos de cálcio.

Os DRX foram tratados matematicamente a fim de se quantificar percentualmente as fases de fosfatos de cálcio presentes nas condições estudadas. Os dados foram tratados com auxílio do *software* Origin (ORIGINLAB, NORTHAMPTON, MA) quanto à correção de linha de base e deslocamento dos picos e normalização dos espectros proporcional à fase de maior composição (Al_2O_3). Em seguida, foi obtida a segunda derivada (filtro *Savitsky-Golay*) para um melhor embasamento à escolha de picos ao procedimento de deconvolução de curvas. Para deconvolução das curvas do espectro foi utilizada função Gaussiana de R^2 equivalente a 0,99 para todas as condições. A interpretação dos picos característicos aos substratos e aos fosfatos de cálcio foi realizada de forma comparativa às fichas padrões (Índices de Miller – *hkl*) presentes na base de dados mantidas pelo *Joint Commitee for Powder Diffraction Studies* (JCPDS).

4.6.4 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

A técnica de Espectroscopia na região do Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (FT-MIR) foi aplicada na caracterização química da superfície dos corpos de prova, submetidos ou não a tratamento químico e após o recobrimento biomimético. Os espectros de FT-MIR foram obtidos em um espectrofotômetro de FT-MIR BRUKER, modelo VERTEX 70 utilizando o acessório de refletância difusa (DRIFT) com 32 espectros e resolução de 4 cm^{-1} . Salienta-se que os corpos de prova analisados foram secos a $100\text{ }^\circ\text{C}$, durante 24 h, para a remoção da umidade de suas superfícies a fim de eliminar as bandas características da água nos espectros.

Foram realizados diferentes tratamentos matemáticos para a análise de FT-MIR, segundo as condições de estudo. Anteriormente ao tratamento químico de superfície e após a sua realização, os espectros de FT-MIR foram tratados para correção de linha de base, normalização pela banda de 460 cm^{-1} e obtenção da segunda derivada, sendo utilizado sempre que necessário o filtro *Savitsky-Golay* para minimização de ruídos. A banda em 460 cm^{-1} foi escolhida por abranger estiramentos Me-O dos corpos de prova em estudos.

Por outro lado, para os espectros de FT-MIR das amostras recobertas com fosfato de cálcio, foram ajustados para correção das linhas de base e obtenção das segundas derivadas, seguida de deconvolução da região espectral entre $1000\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ aplicando a função Gaussiana ($R^2 = 0,99$) e com auxílio da segunda derivada para localização da banda de absorção. Em seguida, as bandas foram identificadas e os picos de absorção do substrato foram utilizados para normalização do espectro de FT-MIR.

4.6.5 Ângulo de contato

O ensaio de ângulo de contato foi realizado no intuito de se obter informações sobre a molhabilidade de uma superfície. A molhabilidade pode ser considerada um fator fundamental em biomateriais, pois está relacionada às interações entre implante e a região interfacial de fosfatos de cálcio do tecido hospedeiro, influenciando nos processos de adesão e crescimento celular (COUTINHO, 2007). Além disso, a molhabilidade depende essencialmente da estrutura química da superfície e da rugosidade de um dado material. Desta forma, o ângulo de contato pode ser útil para identificar se um tratamento químico foi executado com sucesso (COUTINHO, 2007).

A fim de estudar a molhabilidade dos corpos de prova anterior e posteriormente ao tratamento químico de superfície, foram analisados 6 corpos de prova de cada composição e condição. Utilizou-se um goniômetro de bancada de marca ATTENSION - KVS Instrumentals, pelo método de gota sésil, utilizando-se 1 μ L de água ultrapura (Milli-Q) durante 60 s. Os ângulos direito, esquerdo e suas médias foram resultantes do espalhamento da gota foram acompanhados em três períodos: 1, 30 e 60 segundos.

4.6.6 Microscopia Confocal

A rugosidade média (Ra) dos corpos de prova submetidos ou não ao tratamento químico superficial e após o recobrimento biomimético foram mensuradas usando microscópio confocal a laser OLYMPUS, modelo LEXT-OLS4100. Para tal, um grupo de 5 corpos de prova de cada condição foi analisado com 4 imagens de diferentes localizações para cada corpo de prova. O tratamento das imagens foi realizado em um conjunto de 2 linhas paralelas e 2 perpendiculares, resultando em 9 quadrantes para cada imagem. Uma vez tratadas, cada quadrante resultou em um valor de Ra, sendo, cada amostra responsável por 36 valores de Ra.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados apresentados neste tópico abordam as caracterizações das etapas de processamento, tratamento superficial e recobrimento biomimético dos corpos de prova cerâmicos. Para melhor entendimento, as composições em estudo foram nomeadas de A, A5Z, A10Z e A15Z para os corpos de prova de Al_2O_3 e nanocompósitos de Al_2O_3 com 5, 10 e 15% em vol. de inclusões de ZrO_2 , respectivamente.

5.1 Caracterização dos corpos de prova de Al_2O_3 e $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$

Os resultados das caracterizações físicas, microestruturais e químicas seguidas nesse sub-índice são atribuídos às etapas anteriormente ao recobrimento biomimético.

5.1.1 Densidade à verde e Densidade Aparente

A Tabela 5.1 apresenta os percentuais da densidade à verde (DV) e densidade aparente (DA) dos corpos de prova cerâmicos ($n = 10$). As densidades foram determinadas segundo as equações 4.4 e 4.7 que seguiram as metodologias de princípio geométrico e Arquimedes, respectivamente.

Tabela 5.1 – Valores percentuais de DV e DA para os corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.

Composição	% DV	% DA
A	$58,45 \pm 0,01^a$	$96,66 \pm 0,55^a$
A5Z	$58,56 \pm 0,02^a$	$97,50 \pm 0,36^a$
A10Z	$58,74 \pm 0,04^a$	$97,85 \pm 0,54^a$
A15Z	$58,86 \pm 0,02^a$	$98,13 \pm 0,42^a$

* Médias seguidas pela mesma letra não se diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de *Tukey*.

Fonte: Própria autoria

Para todas as composições estudadas, observou-se valores de DV na faixa de 58%, o que indica que a etapa de processamento dos pós cerâmicos foi realizada de forma eficiente à obtenção de corpos de cerâmicos com um bom empacotamento das partículas durante a prensagem (SILVA, 2011). De modo geral, altos percentuais de DV (de 55 a 60 %) podem ser relacionados a fatores como composição, morfologia e tamanho de partícula, distribuição, aditivos orgânicos adicionados e métodos de conformação (REVEL, 2011).

Por sua vez, valores de DA na faixa de 96-98% sugerem que os corpos cerâmicos exibem pouca presença de poros ou vazios, indicando uma eficiência do processamento do pó, bem como, dos parâmetros de sinterização (SILVA, 2011). Salienta-se que em ambas as caracterizações, os valores obtidos para % DV e % DA não apresentaram diferenças significativas entre as composições, segundo teste de *Tukey* para $p < 0,05$.

5.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

A Figura 5.1 apresenta as micrografias obtidas por MEV das superfícies polidas e atacadas termicamente dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.

Figura 5. 1 – Micrografias obtidas por MEV das superfícies dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.

Fonte: Própria autoria.

Observa-se em A5Z uma boa dispersão das inclusões de ZrO_2 como pontos mais claros (indicadas pelas setas vermelhas) na matriz de Al_2O_3 (região acinzentada). No entanto, com o aumento do percentual de inclusões (A10Z e A15Z) verifica-se uma tendência à formação de aglomerados de ZrO_2 na matriz. O sistema nanoestruturado de Al_2O_3 - ZrO_2 pode ser classificado como inter-granular, uma vez que as inclusões de ZrO_2 estão inseridas nos pontos tríplexes dos contornos de grãos da Al_2O_3 (LANGE; HIRLINGER, 1984). Esse tipo de posicionamento das inclusões acarreta um efeito denominado de *pinning*, que descreve o ancoramento e a inibição do crescimento dos grãos

da matriz comparativamente ao sistema monolítico (composição A) (LANGE; HIRLINGER, 1984; PIEERI, 2011; NAGLIERI et al., 2013).

5.1.3 Difractometria de Raios-X

A Figura 5.2 apresenta os difratogramas de Raios-X dos corpos de prova cerâmicos após a etapa de sinterização. A identificação das fases de Al_2O_3 e ZrO_2 foram realizadas segundo as fichas 24-1165, 81-1546 e 82-1467 da base de dados do *Joint Commitee for Powder Diffraction Studies* (JCPDS).

Figura 5. 2 – Difratomogramas de DRX da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z após a etapa de sinterização.

Fonte: Própria autoria.

Foram observadas apenas fases correspondentes à $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ e ZrO_2 tetragonal, como esperado. Uma vez que a fase monoclinica da ZrO_2 sofre transformação para fase tetragonal acima de temperaturas de 1170°C , a regressão entre tais fases durante o resfriamento é caracterizada por uma variação de volume de 3 a 5% (BIRRER, 2009; WANG, 2010). No entanto, devido a estabilização com agentes metaestáveis como a ítria, esta transformação de fase pode ser suprimida. Além disso, tamanhos de grãos relativamente pequenos ($< 0,2 \mu\text{m}$) também tendem a inibir tal transformação (BIRRER, 2009; WANG, 2010).

5.1.4 Espectroscopia de Infravermelho Médio por Transformada de Fourier

A Figura 5.3 apresenta os espectros de absorbância (5.3a) de FT-MIR para corpos de prova de Al_2O_3 e ZrO_2 puros na região do espectro entre 400 a 1000 cm^{-1} e suas respectivas derivadas de segunda ordem (5.3b) que foram utilizados para controle dos espectros dos corpos de prova de A5Z, A10Z e A15Z.

Figura 5.3 – Espectros de absorbância de FT-MIR ($400\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$) da superfície dos corpos de prova de Al_2O_3 e ZrO_2 (a) e suas respectivas derivadas de segunda ordem (b).

Fonte: Própria autoria.

Esta região abrange uma sobreposição de bandas atribuídas aos modos de deformação angular e estiramento axial do grupo Al-O, ou ainda, ao modo de estiramento assimétrico do grupo Zr-O. Basicamente, a ZrO_2 apresenta maior incidência de bandas de absorção entre 400 a aproximadamente 780 cm^{-1} , no entanto, acima de 800 cm^{-1} a ZrO_2 não são verificados sinais de intensidade de absorção. Já a Al_2O_3 toda a região espectral de $400\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ exibe bandas de absorção no FT-MIR.

A Figura 5.4 apresenta os espectros de absorbância de FT-MIR dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z na região do espectro entre 400 a 1000 cm^{-1} (Figura 5.4a) e suas respectivas derivadas de segunda ordem (Figura 5.4b). As atribuições das bandas encontradas nessa região são indicadas na Tabela 5.2.

Figura 5.4 – Espectros de absorvância de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z (a) e suas respectivas derivadas de segunda ordem (b).

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.2 – Atribuições de bandas de absorção dos espectros de FT-MIR (400 a 1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.

Banda (cm^{-1})	Atribuição (grupamento)	Referência
420	$\delta_{\text{Al-O}}$ em coordenação do octaédrico de AlO_6 da formação da fase $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$	BOUMAZZA; DJELLOUL; GUERRAB, 2010; CAVALU; et al., 2013.
443, 474 e 493	$\delta_{\text{Al-O}}$ em coordenação do octaédrico de AlO_6 ou $\nu_a \text{ Zr-O}$ na ligação Zr-O-Zr	CAVALU; et al., 2013; MANIVASAKAN, et al., 2011.
520	$\nu \text{ Zr-O}$ da fase tetragonal da ZrO_2	MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017; SARKAR, et al, 2007.
565, 584, 661, 879 e 914	$\nu \text{ Al-O}$ em coordenação do octaédrico de AlO_6	MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017; VOL'KHIN; ZHARNYL'SKAYA; LEONT'EVA, 2009.
620, 640, 678, 748, 813	$\nu \text{ Al-O}$ em coordenação do octaédrico de AlO_6 ou $\nu \text{ Zr-O}$ em ZrO_2	BOUMAZZA; DJELLOUL; GUERRAB, 2010.

* ν = vibração de estiramento axial; ν_a = vibração de estiramento assimétrico e δ = vibração de deformação angular.
Fonte: Própria autoria.

As principais bandas de absorção observadas no espectro de FT-MIR em compostos de Al_2O_3 e ZrO_2 podem estar relacionadas a cinco tipos de vibrações: (a) estiramento (*stretching* - ν) do grupo OH ligado à superfície de Me (onde Me: Al ou Zr); (b) deformação (*bending* - δ) do grupo -OH ligado à superfície de Me; (c) estiramento do grupo -OH de água estrutural ou água adsorvida; (d) deformação do grupo -OH de água estrutural ou água adsorvida e (e) estiramento do grupo Al-O ou Zr-O.

A Figura 5.5 apresenta os espectros de absorção de FT-MIR da superfície dos corpos de prova cerâmicos após 4 dias de tratamento químico de superfície com solução de H_3PO_4 a 90 °C. Uma vez que todos os espectros da absorção foram normalizados (Figura 5.4a), observa-se que as intensidades relativas das bandas entre 400 e 600 cm^{-1} não apresentam diferenças significativas entre as composições cerâmicas. No entanto, a adição da ZrO_2 nanométrica à matriz de Al_2O_3 modificou o perfil do espectro quanto à intensidade e/ou deslocamento das bandas na região acima de 630 cm^{-1} . Observa-se que após o tratamento com H_3PO_4 , o perfil espectral de todas as composições também foi modificado, principalmente acima da região 650 cm^{-1} .

Figura 5.5 – Espectros de absorbância de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z anterior e posteriormente ao tratamento com H_3PO_4 .

Fonte: Própria autoria.

Nesse sentido, a região de $630\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ foi determinada como uma região de interesse ao estudo das modificações provocadas pelo tratamento de superfície mediante tratamento matemático de deconvolução de curvas, conforme apresentado na Figura 5.6, e suas áreas percentuais na Tabela 5.3. O método de deconvolução de curvas realizado na região de $630\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ baseou-se na segunda derivada dos espectros de absorção previamente ajustados segundo linha de base e normalização, ao qual foi empregada função Gaussiana ($R^2 = 0,99$) para efetuação do método.

Figura 5. 6 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR ($630\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z anterior e posteriormente ao tratamento com H_3PO_4 .

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.3 – Áreas percentuais obtidas pelas curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (630-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova A, A5Z, A10Z e A15Z anterior e posteriormente ao tratamento com H_3PO_4 .

<i>Condições de estudo – Áreas percentuais das bandas deconvoluídas</i>															
<i>Sem tratamento</i> <i>Banda (cm^{-1}) - Área (%)</i>								<i>Tratamento H_3PO_4</i> <i>Banda (cm^{-1}) - Área (%)</i>							
<i>A</i>		<i>A5Z</i>		<i>A10Z</i>		<i>A15Z</i>		<i>A</i>		<i>A5Z</i>		<i>A10Z</i>		<i>A15Z</i>	
Banda	Área	Banda	Área	Banda	Área	Banda	Área	Banda	Área	Banda	Área	Banda	Área	Banda	Área
638	0,93	638	0,85	638	1,12	638	1,23	637	0,63	638	0,98	639	1,22	639	1,43
646	2,01	645	1,70	646	2,31	645	2,53	649	3,55	646	2,12	646	2,62	646	2,89
659	3,45	657	3,47	658	3,95	657	4,28	662	3,81	659	3,52	660	4,46	658	4,98
681	6,32	679	6,32	678	6,95	676	7,77	682	6,11	680	5,50	681	7,30	679	7,40
722	16,12	722	20,23	717	21,65	714	19,23	717	11,60	723	22,10	723	20,54	726	21,96
807	32,87	826	36,24	827	35,93	830	36,14	824	28,88	828	36,06	829	35,23	837	36,02
881	24,70	888	18,59	879	8,07	893	18,79	867	30,87	887	16,31	891	17,90	890	14,09
919	6,22	918	6,78	907	10,19	918	7,48	-	-	919	7,19	919	7,55	917	8,88
944	7,38	942	7,08	925	9,83	937	2,55	929	14,56	943	6,22	940	3,18	936	2,35

Fonte: Própria autoria.

Em geral, as bandas de absorção entre 637-639, 641-646, 657-662 cm^{-1} , 676-682 cm^{-1} , 784-837 cm^{-1} , 807-837 cm^{-1} e 907-919 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento axial da ligação Al-O do octaédrico de AlO_6 (VOL'KHIN; ZHARNYL'SKAYA; LEONT'EVA, 2009; MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017). Com o método de deconvolução de curvas foi possível observar dois intervalos de bandas de absorção que anteriormente não foram verificados para os espectros sem tratamento matemático (Figura 5.4a). Os intervalos de absorção entre ~714-726 cm^{-1} e ~925-944 cm^{-1} também são atribuídos ao modo de estiramento ligação Al-O para a coordenação do octaédrico AlO_6 (FERNÁNDEZ-CARRASCO, et al., 2012; DJEBAILI et al., 2015).

Os intervalos em ~637-639, 641-646, 676-682 cm^{-1} apresentaram uma redução da área percentual da composição. A tratada, frente a mesma composição sem tratamento superfície. Para as composições nanométricas se observa um aumento da área percentual destas bandas após o tratamento químico de superfície, o que sugere que a adição de ZrO_2 influenciou na modificação no estiramento vibracional da ligação Al-O destas bandas de absorção. No entanto, as bandas absorção entre ~925 e 944 cm^{-1} (atribuídas ao modo de estiramento da ligação Al-O) apresentaram um aumento da área percentual da composição A após o tratamento com H_3PO_4 . No entanto, para o mesmo intervalo, as áreas percentuais dos nanocompósitos tratados superficialmente apresentaram uma redução.

Observa-se ainda a ausência da banda de estiramento da ligação Al-O em coordenação do octaédrico de AlO_6 próxima a 917 e 919 cm^{-1} para a composição A tratada superficialmente. No entanto, para a mesma composição observa-se que a área relativa ao estiramento da ligação Al-O em ~944 cm^{-1} apresentou um crescimento duas vezes maior comparada aos corpos de prova sem tratamento, indicando uma modificação no perfil do espectro de FT-MIR quanto ao deslocamento de bandas. E finalmente, as bandas de absorção de maiores intensidades estão localizadas no intervalo de ~784-837 cm^{-1} da coordenação do octaédrico em AlO_6 para todas as condições estudadas. No entanto, após o tratamento químico de superfície observa-se um decréscimo percentual da área destas bandas.

Em estudo de 2017, Muhammad, Kumar e Chaskar sugeriram que a introdução da ZrO_2 nanométrica (íons Zr^{4+} da fase tetragonal) na matriz cerâmica tende a interagir fortemente com os grupos polares da superfície, de forma a criar uma força de atração assimétrica ao estiramento Al-O. Nesse sentido, ocorre uma redução do momento dipolo vibracional e da área absoluta espectral em razão da alta força de ligação de tais grupos, o que fica evidente com o aumento do teor percentual de ZrO_2 na matriz de Al_2O_3 (MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017).

Além disso, uma solução ácida, tende a sofrer ionização em água, que pode ocorrer em uma ou mais etapas, dependendo do seu número de hidrogênio ionizáveis. À medida que a concentração de um eletrólito diminui, seu grau de dissociação ou ionização aumenta, evento estabelecido como a lei da diluição de Ostwald (PEREIRA, 2015). O H_3PO_4 é um tipo de ácido poliprótico e, portanto, durante o tratamento de superfície, o H_3PO_4 apresenta diferentes ionizações (dissociações) que dependem de alguns fatores, como o pH. Em suma, segundo o pH de trabalho, o H_3PO_4 ácido pode realizar uma ionização, liberando íons H^+ para a solução e tendo como produto H_2PO_4^- . Dehestani, Ilver e Adolfsson (2012) propuseram que não apenas os grupos funcionais Me-OH na superfície que iniciam e facilitam o processo de biomineralização no corpo de prova de ZrO_2 .

Nesse sentido, o H_3PO_4 poderia influir sobre a destes grupos em razão de suas espécies químicas ionizáveis por meio de química de superfície ou carga de superfície. Ou seja, suas espécies podem se ligar aos grupos iônicos presentes na superfície dos corpos de prova de Al_2O_3 e nanocompósitos de $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$, o que reforça a ideia protonação de mais grupos funcionais distintos do Me-OH (MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017).

Esse fato também foi observado em estudos de Uchida et al. (2012) por análises de Espectroscopia fotoelétrons excitados por raios-X (XPS) e por Faga et al. (2012), onde os autores sugeriram por resultados de que a solução de H_3PO_4 foi responsável por contribuir no aumento das espécies Me-OH de compósitos de $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$. Hsu et al. (2015) indicaram por resultados de FT-MIR e ângulo de contato que tal comportamento pode ser relacionado à uma alta taxa de liberação de íons H^+ em solução aquosa do H_3PO_4 (K_a igual a $7,52 \times 10^{-3}$), e portanto, há mais espécies H^+ que podem interagir com espécies Me-O superficiais do corpo de prova.

5.1.5 Ângulo de contato

A Figura 5.7 apresenta os resultados de ângulo médio obtido pelo ensaio de ângulo de contato para a superfície de A, A5Z, A10Z e A15Z ($n = 6$) anterior e posteriormente ao tratamento de superfície. Para tal, o perfil de molhabilidade das superfícies foi avaliado em três tempos: 1s, 30s e 60s pelo método de gota séssil com água ultra pura.

Estudos de molhabilidade indicam o grau de interação entre uma superfície sólida e líquido molhante, de forma que tais interações apresentem um perfil hidrofílico ou hidrofóbico (YUAN; LEE, 2013). Mais especificamente, um ângulo de contato menor que 90° indica que o espalhamento do fluido sobre uma área superficial ocorre de maneira favorável, enquanto valores de contato superiores a 90° sugerem que o molhamento da superfície é desfavorável (YUAN; LEE, 2013). Neste caso, se impõe o conceito de hidrofobicidade e hidrofiliicidade à molhabilidade.

Figura 5. 7 – Ângulos médios obtidos pelo ensaio de ângulo de contato para a superfície dos corpos cerâmicos de A, A5Z, A10Z e A15Z anterior e posteriormente ao tratamento com H_3PO_4 para tempos de 1s, 30s e 60s.

* Médias seguidas pela mesma letra (minúscula anteriormente ao tratamento de superfície e maiúscula após o tratamento) não se diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de *Tukey*.

Fonte: Própria autoria

Todas as composições apresentaram perfil hidrofílico, independentemente do tempo de estudo, de forma que os valores para os ângulos médios foram menores que 90° . No entanto, após tratamento superficial com H_3PO_4 em $t = 60$ s ocorreu um aumento da hidrofilicidade de todas as composições, sugerindo uma efetividade do mesmo quanto ao aumento da energia superficial dos corpos de prova (ESCADA et al., 2011; TRECANNI et al., 2013).

O aumento da hidrofilicidade pode ser relacionado ao aumento de componentes polares superficiais de um determinado corpo de prova. Esse evento corrobora com a teoria sugerida por Muhammad, Kumar e Chaskar para os resultados de FT-MIR apresentados anteriormente, onde se evidencia que quanto maior o percentual de inclusões de ZrO_2 na matriz de Al_2O_3 , maior é a interação dos grupos polares dos íons Zr^{4+} da fase tetragonal da ZrO_2 na matriz (MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017), sendo estatisticamente ($p < 0,05$), A10Z e A15Z significantes pelo teste de *Tukey*.

5.1.6 Microscopia Confocal

A Figura 5.8 apresenta os valores de rugosidade média (R_a) obtidas mediante microscopia confocal para a superfície dos corpos de prova cerâmicos ($n = 5$) anterior e posteriormente ao tratamento químico com H_3PO_4 . Observou-se que o tratamento de superfície com H_3PO_4 contribuiu

para um ligeiro aumento da Ra superficial de todas as composições estudadas, mas sobretudo, para as composições com maiores percentuais de ZrO_2 apresentaram valores mais altos de Ra, evidenciado principalmente para A10Z e A15Z que apresentam o mesmo nível de significância para $p < 0,05$ pelo teste de *Tukey*.

Figura 5. 8 – Rugosidade média (Ra) dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z anterior e posteriormente ao tratamento químico com H_3PO_4 .

* Médias seguidas pela mesma letra (minúscula anteriormente ao tratamento de superfície e maiúscula após o tratamento) não se diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de *Tukey*.

Fonte: Própria autoria.

5.2 Caracterização dos corpos de prova de Al_2O_3 e $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ recobertos biomimeticamente

Este sub-índice apresenta os resultados obtidos pelas caracterizações realizadas após o recobrimento biomimético dos corpos de prova cerâmicos tratados superficialmente com H_3PO_4 . Para tal, são apresentadas as análises de FT-MIR, DRX, medida de pH e MEV após o recobrimento com três soluções de SBF: 1,0x, 1,5x e 5x.

Salienta-se que após o recobrimento biomimético foi seguido um tratamento matemático de deconvolução das bandas de FT-MIR de duas regiões do espectro: 400-1000 e 1000-1200 cm^{-1} . A escolha do intervalo entre 400 a 1000 cm^{-1} decorre de uma maior abrangência de bandas vibracionais características à Al_2O_3 e ZrO_2 , no entanto, grupos funcionais característicos dos fosfatos de cálcio também podem ser observados nesta região espectral (BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO,

2012). Já o intervalo de 1000-1200 cm^{-1} foi delimitado para análise das bandas de absorção atribuídas aos fosfatos de cálcio.

5.2.1 Recobrimento pelo Método Biomimético – SBF 1,0x

Neste tópico são abordados os resultados das caracterizações dos corpos de prova cerâmicos tratados superficialmente e recobertos biomimeticamente com solução de SBF 1,0x, originalmente proposta por Abe, Kokubo e Takadama (1990).

5.2.1.1 – Espectroscopia de Infravermelho Médio por Transformada de Fourier

A Figura 5.9 apresenta as curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR para o intervalo de 400-1000 cm^{-1} das superfícies dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos biomimeticamente com solução de SBF 1,0x após 14, 21 e 28 dias de incubação. As áreas percentuais e atribuições das bandas vibracionais deconvoluídas são apresentadas nas Tabelas 5.4 e 5.5.

Uma vez que ocorre a formação da camada de fosfatos de cálcio sobre a superfície dos corpos cerâmicos estudados, as bandas de absorção Me-O do substrato nessa região tendem a apresentar um decréscimo em sua área absoluta, progressivamente ao aumento do período de incubação. Ou seja, observa-se uma supressão das bandas de Al_2O_3 e ZrO_2 . Por outro lado, as demais bandas de absorção deconvoluídas que apresentaram em pelo menos um período de incubação um aumento em suas áreas percentuais foram caracterizadas como fosfatos de cálcio e associados a oito conjuntos de intervalos: ~457-469, 520-547, 561-578, 801-827, 850-859, 882-889, 906-924 e 968 cm^{-1} .

De forma geral, observou-se um aumento da área percentual do grupo PO_3^{4-} entre ~457-469 cm^{-1} (deformação simétrica) em todas as composições em estudo, com o aumento do período de incubação. No entanto, para as bandas entre ~520-547 cm^{-1} (deformação simétrica) verificou-se um aumento da área percentual do grupo PO_4^{3-} apenas de 14 para 21 dias de incubação, sendo as mesmas, decrescidas aos 28 dias.

O primeiro intervalo vibracional (~457-469 cm^{-1}) relaciona-se à fase HA, o que indicaria sua progressiva formação entre os períodos de incubação avaliados. Por sua vez, as bandas de absorção presentes no segundo intervalo (~520-547 cm^{-1}) podem ser atribuídas a fase OCP, que apresenta uma alta taxa de solubilidade em meio biológico. Além disso, o OCP se caracteriza por participar de reações químicas de fases menos estáveis termodinamicamente, até a conversão de uma fase mais estável (ELLIOT, 1994; PAVINATO, 2012). Sob condições biológicas, por exemplo, a fase ACP converte-se em DCPD, em seguida em OCP, e finalmente, em HA, mediante absorção de íons Ca^{2+} do meio e liberação de íons H_2PO_4^- (KOBAYASHI et al., 2014).

Figura 5.9 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.4 – Áreas percentuais obtidas pelas curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.

Atribuição	Intervalo vibracional (cm^{-1})	Condições de estudo – Áreas percentuais das bandas de absorção deconvoluídas (%)											
		A			A5Z			A10Z			A15Z		
		14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias
$\delta_{\text{Al-O}}$	418-425	2,37	1,35	0,36	1,52	2,96	1,09	1,06	2,05	0,85	1,32	1,90	0,25
$\delta_{\text{Al-O}}$ ou $\nu_{\text{Zr-O}}$	442-447	5,08	4,64	1,15	8,40	7,02	3,84	6,97	4,93	4,20	6,21	3,01	2,11
$\delta_{2b} \text{ P-O}$	457-469	4,85	9,59	10,56	3,13	4,96	9,17	3,99	8,08	10,13	2,89	10,55	18,78
$\delta_{\text{Al-O}}$ ou $\nu_{\text{Zr-O}}$	473-489	1,43	1,02	0,99	1,77	1,55	1,46	1,35	1,31	1,22	1,26	1,12	-
$\delta_{2a} \text{ P-O}$	520-547	0,64	1,43	-	0,72	2,45	0,19	0,49	1,36	0,84	0,54	1,94	0,82
$\delta_{4c} \text{ O-P-O}$ ou $\delta_{4b} \text{ O-P-O}$	561-578	0,33	4,21	0,55	5,61	6,06	1,94	4,36	5,92	-	4,84	6,82	-
$\nu_{\text{Al-O}}$	580-591	8,36	5,72	0,43	7,58	3,78	-	4,76	3,24	2,49	8,26	3,65	3,49
$\nu_{\text{Al-O}}$	609-624	3,36	3,43	2,28	4,88	3,74	2,46	4,04	3,97	2,63	4,31	4,00	2,32
$\nu_{\text{Al-O}}$	637-647	4,00	3,20	2,44	3,57	2,93	2,80	4,18	3,19	3,17	5,58	4,69	2,94
$\nu_{\text{Al-O}}$	654-678	12,10	6,22	6,34	12,03	8,79	6,96	13,75	8,73	7,71	15,93	11,70	10,54
$\nu_{\text{Al-O}}$	691-700	31,89	29,90	28,04	29,41	24,75	23,00	33,79	32,24	20,92	24,28	22,86	17,21
$\delta_3 \text{ CO}_3^{2-}$	801-827	-	16,50	32,41	14,88	17,11	26,00	12,68	15,82	23,54	15,34	20,47	22,38
$\delta_2 \text{ CO}_3^{2-}$	850~859	8,06	0,98	2,10	-	-	1,82	-	-	1,54	-	-	1,40
$\delta_1 \text{ CO}_3^{2-}$	882-889	7,45	0,29	0,93	1,96	0,28	1,14	2,47	0,67	0,91	1,83	0,46	0,98
$\nu \text{ HPO}_4^{2-}$	906-924	10,08	13,52	11,40	4,54	13,62	18,10	5,11	8,49	20,05	7,41	6,83	16,18
$\nu_1 \text{ P-O}$	968	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,60

* δ = deformação angular; δ_{2a} e δ_{2b} = deformação simétrica duplamente degenerada; δ_{4b} e δ_{4c} = deformação assimétrica triplamente degenerada; δ_1 , δ_2 e δ_3 = vibração de deformação simétrica; ν = estiramento axial; ν_1 = estiramento simétrico não degenerado.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.5 – Atribuições das curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.

Banda (cm^{-1})	Atribuição	Referência
418-425	$\delta_{\text{Al-O}}$ coordenação em octaédrico de AlO_6	CAVALU et al., 2014; SARKAR et al., 2007.
442-447	$\delta_{\text{Al-O}}$ formação da fase $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ ou $\nu_{\text{Zr-O}}$ na ligação Zr-O-Zr	BOUMAZA; DJELLOUL; GUERRAB, 2010; MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017.
473-489	$\delta_{\text{Al-O}}$ formação da fase $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ ou $\nu_{\text{Zr-O}}$ na ligação Zr-O-Zr	CAVALU et al., 2014; SARKAR et al., 2007
457-469	δ_{2b} P-O do grupo PO_4^{3-} em HA	BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012
520-547	δ_{2a} P-O do grupo PO_4^{3-} em OCP	MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017; SMIRNOV et al., 2017.
561-578	δ_{4c} O-P-O do grupo PO_4^{3-} em HA ou δ_{4b} O-P-O do grupo PO_4^{3-} em HA	MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017; VOL'KHIN; ZHARNYL'SKAYA; LEONT'EVA, 2010.
580-591 609-624 637-647 654-678 691-700	$\nu_{\text{Al-O}}$ coordenação em octaédrico de AlO_6	CAVALU et al., 2014; SARKAR et al., 2007.
801-827	δ_3 grupo CO_3^{2-}	KOUTSOPOULOS, 2002; THAMPI et al., 2014.
850-859	δ_2 grupo CO_3^{2-}	KOUTSOPOULOS, 2002.
882-889	δ_1 grupo CO_3^{2-} (tipo A)	KOUTSOPOULOS, 2002.
906-924	ν grupo HPO_4^{2-}	MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017; STOCH et al., 1999.
968	ν_1 P-O do grupo PO_4^{3-}	BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012.

* δ = deformação angular; δ_{2a} e δ_{2b} = deformação simétrica duplamente degenerada; δ_{4b} e δ_{4c} = deformação assimétrica triplamente degenerada; δ_1 , δ_2 e δ_3 = vibração de deformação simétrica; ν = estiramento axial; ν_1 = estiramento simétrico não degenerado.

Fonte: Própria autoria.

O intervalo entre $\sim 561\text{-}578 \text{ cm}^{-1}$ pode ser atribuído a deformação assimétrica do grupo PO_4^{3-} presente na HA. Nota-se um aumento do percentual da área deste grupo aos 21 dias de incubação e uma redução do mesmo aos 28 dias de incubação para todas as composições. Esse fato indica uma

maior formação da fase HA (caracterizada também por seus precursores) nas primeiras três semanas de recobrimento, no entanto, com aumento do período de incubação, observa-se uma solubilidade da mesma, pela troca iônica com a solução de SBF (PAVINATO, 2012).

As bandas de absorção entre $\sim 801\text{-}827\text{ cm}^{-1}$ apresentaram um significativo aumento de suas áreas percentuais relativas ao grupo CO_3^{2-} (vibração de deformação), linearmente ao aumento do período de incubação e as inclusões de ZrO_2 na matriz de Al_2O_3 . Além disso, aos 28 dias de incubação, as áreas absolutas relativas a este intervalo foram as maiores quando comparada às demais para a região de $400\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$. A literatura indica que a rede cristalina de fosfatos de cálcio permite substituições iônicas em seus sítios (HUANG et al., 2016; LINDAHL et al., 2012).

De forma particular, a presença do grupo CO_3^{2-} ($\sim 801\text{-}827$, $850\text{-}859$ e $882\text{-}889\text{ cm}^{-1}$) pode sugerir a ocorrência de tais substituições, dando origem às apatitas carbonatadas, como também visualizado em sistemas biológicos (ELLIOT, 1994; SUPOVA, 2015). Uma vez que a substituição ocorre pela troca de íons OH^- por íons CO_3^{2-} é formada uma apatita carbonatada do tipo A ($882\text{-}889\text{ cm}^{-1}$). Já quando a substituição se dá pela troca de íons PO_4^{3-} , observa-se a formação de uma apatita carbonatada do tipo B (BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012; TSURU et al., 2017).

Nota-se ainda que as bandas entre $\sim 906\text{-}924\text{ cm}^{-1}$ também apresentaram um aumento significativo de sua área linearmente a maiores períodos de incubação. O grupo HPO_4^{2-} (vibração de estiramento) indica a presença de fosfatos de cálcio mono e/ou dihidratados que derivam do produto de reações de conversão de fases de fosfatos de cálcio termodinamicamente menos estáveis, como DCPA (BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012). Sua presença ainda é relacionada a HA não estequiométrica, ou ainda, ao favorecimento de troca iônica entre íons PO_4^{3-} por CO_3^{2-} , sendo, portanto, comitente a formação de fosfatos de cálcio carbonatados (REY et al., 2011). E finalmente, a banda em $\sim 968\text{ cm}^{-1}$ observada somente aos 28 dias de incubação para A15Z, é caracterizada por um modo de estiramento simétrico não degenerado fraco do grupo PO_4^{3-} (KOUTSOPOULOS, 2002).

Para efeito de avaliação da influência da ZrO_2 na formação da camada de fosfatos de cálcio sobre a superfície foi realizada a normalização de ambas as áreas de FT-MIR estudadas ($400\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ e $1000\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$) com base em um fator denominado comum para todas as composições e períodos de incubação. Nesse sentido, a Figura 5.10 apresenta as curvas das bandas deconvoluídas de absorção de FT-MIR (1000 e 1200 cm^{-1}) para os corpos de prova cerâmicos recobertos biomimeticamente com solução de SBF 1,0x após 14, 21 e 28 dias de incubação. As Tabelas 5.6 e 5.7 apresentam as áreas percentuais e atribuições das bandas vibracionais relativa a tais bandas deconvoluídas.

Figura 5. 10 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.6 – Áreas percentuais obtidas das bandas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.

Atribuição	Intervalo vibracional (cm^{-1})	Condições de estudo – Áreas percentuais das bandas deconvoluídas (%)											
		A			A5Z			A10Z			A15Z		
		14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias
ν em HPO_4^{2-}	1009-1020	-	-	0,28	2,01	0,8	2,64	1,49	0,50	3,67	9,72	0,53	1,34
ν_{3c} P–O	1026-1041	7,70	11,44	9,35	17,01	13,21	11,32	17,75	16,65	10,29	22,28	20,68	7,01
ν_{3b} P–O	1048-1058	25,76	19,65	31,90	15,62	25,43	33,13	18,53	24,77	33,38	15,65	31,45	32,95
ν em HPO_4^{2-}	1063-1078	15,03	16,91	2,17	9,38	11,21	3,58	4,19	3,40	4,42	3,75	0,92	8,43
ν em CO_3^{2-}	1097-1115	8,26	26,92	36,57	27,99	16,73	35,56	34,87	29,71	37,59	41,65	28,78	34,47
ν_{3a} PO_4^{3-}	1126-1136	42,80	14,93	15,88	29,15	10,58	8,22	24,17	11,99	9,02	15,72	11,31	12,85
ν_{3a} PO_4^{3-}	1140-1166	0,45	10,15	4,13	0,85	22,04	5,55	0,49	13,48	5,30	0,95	6,86	7,29

* ν = estiramento axial; ν_{3a} , ν_{3b} e ν_{3c} , = estiramento assimétrico triplamente degenerado.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.7 – Atribuições das curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.

Banda (cm^{-1})	Atribuição	Referência
1009-1020	ν grupo HPO_4^{2-} em HA não estequiométrica	KOUTSOPOULOS, 2002.
1026-1041	ν_{3c} P-O do grupo PO_4^{3-}	BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012; KOUTSOPOULOS, 2002.
1048-1058	ν_{3b} P-O do grupo PO_4^{3-} em HA ou α -TCP	CARRODEGUAS; DE AZA, 2011; GADALETA et al., 1996; KOUTSOPOULOS, 2002 .
1063-1078	ν grupo HPO_4^{2-}	GADALETA et al., 1996; KOUTSOPOULOS, 2002; CARRODEGUAS; DE AZA, 2011.
1097-1115	ν grupo CO_3^{2-} em HA não estequiométrica	REY et al., 1991; KOUTSOPOULOS, 2002.
1126-1133 1140-1166	ν_{3a} PO_4^{3-} em β -TCP	REY et al., 1991; KOUTSOPOULOS, 2002; BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012.

* ν = estiramento axial; ν_{3a} , ν_{3b} e ν_{3c} , = estiramento assimétrico triplamente degenerado.

Fonte: Própria autoria.

A solução de SBF 1,0x influenciou na formação de basicamente três grupos funcionais dos fosfatos de cálcio: o HPO_4^{2-} , o PO_4^{3-} e o CO_3^{2-} . Os grupos HPO_4^{2-} e PO_4^{3-} são ditos cálcios ortofosfatos e são encontrados em sistemas biológicos na parte mineral dos ossos e dentes, ou ainda em calcificações patológicas (NETO, 2009). A presença do grupo CO_3^{2-} relaciona-se a sistemas de apatitas carbonatadas. A hidroxiapatita sintética se assemelha à apatita carbonatada biológica, que pode apresentar de 6 a 9 % em peso de íons CO_3^{2-} substituídos em sua estrutura (TSURU et al., 2017).

As bandas de absorção entre ~ 1009 e 1020 cm^{-1} podem ser atribuídas ao grupo HPO_4^{2-} em HA não estequiométrica. O grupo HPO_4^{2-} pode ser derivado de fases menos termodinamicamente estáveis, solubilizadas durante a formação da camada de fosfatos sobre a superfície de corpos de prova (BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012). Em geral, observa-se uma área deste grupo funcional em A apenas para 28 dias de incubação, enquanto que para todas as demais composições, a área de 21 dias de incubação decresceu em relação ao período de 14 dias, e apresentou um ligeiro aumento aos 28 dias.

Distintos modos de estiramento assimétrico triplamente degenerado relacionados ao grupo PO_4^{3-} (em diferentes fases) foram verificados para a região espectral de 1000-1200 cm^{-1} em intervalos de: ~1026-1041, ~1048-1058 e ~1063-1078 cm^{-1} . Entre ~1026 e 1041 cm^{-1} nota-se que as áreas percentuais apresentaram um declínio com o aumento do período de incubação em SBF 1,0x para todos os nanocompósitos, não sendo observado o mesmo perfil para a composição A. Já o intervalo de bandas entre ~1048-1058 cm^{-1} pode ser atribuído à fase HA ou ainda à fase α -TCP. De modo geral, para os nanocompósitos observa-se um aumento em sua área percentual com o aumento do período de incubação, ao passo que para A, este aumento se apresenta apenas de 14 para 21 dias de incubação, sendo decrescido aos 28 dias. Para as bandas entre ~1063 e 1078 cm^{-1} verifica-se o mesmo perfil entre todas as composições estudadas, onde o período de 21 dias foi marcado por um aumento da área percentual do grupo HPO_4^{2-} , sendo as mesmas decrescidas aos 28 dias de incubação.

Em ~1097 e 1115 cm^{-1} nota-se um aumento progressivo da área relativa ao grupo CO_3^{2-} em HA não estequiométrica para a composição A com o progressivo aumento do período de incubação. Já para os nanocompósitos, verificou-se um perfil na formação destes grupos, onde aos 21 dias foi observado um decréscimo das áreas percentuais frente ao período de 14 dias, seguido de um aumento das mesmas aos 28 dias de incubação. Segundo Combes e Rey (2010), o CO_3^{2-} é um precursor amorfo transitório, uma vez que é lentamente substituído por íons PO_4^{3-} e OH^- , até sua completa conversão em fosfatos de cálcio do tipo A ou B.

Com o aumento do período de incubação, as bandas de absorção entre ~1126 e 1136 cm^{-1} também apresentaram uma redução nas áreas dos grupos PO_4^{3-} da fase β -TCP em A5Z e A10Z. Enquanto que em A e A15Z se observou uma redução desta área aos 21 dias de incubação comparativamente ao período de 14 dias, seguido de um pequeno aumento aos 28 dias. Para o mesmo grupo funcional, observa-se entre ~1140 e 1166 cm^{-1} que A, A5Z e A10Z seguem o mesmo comportamento, onde a área percentual do PO_4^{3-} apresentou um aumento aos 21 dias de incubação e decresceram aos 28 dias. Por sua vez, a composição com maior percentual de Zr (A15Z) mostrou uma progressiva formação destes grupos com o aumento dos períodos de incubação como um todo.

A Figura 5.11 apresenta o perfil de formação dos grupos funcionais atribuídos aos fosfatos de cálcio obtidos pelas curvas de absorção deconvoluídas de FT-MIR (400-1200 cm^{-1}) para a superfície dos corpos de prova cerâmicos recobertos biomimeticamente em SBF 1,0x em todos os períodos de incubação.

De modo geral, a ZrO_2 influenciou de forma significativa sobre a formação de todos os grupamentos relativos aos fosfatos de cálcio em todos os períodos de incubação ($r_{\text{ZrO}_2/\text{HPO}_4^{2-}}$ 14 dias =

0,94; $r_{\text{ZrO}_2/\text{HPO}_4^{2-}} 28 \text{ dias} = 0,97$; $r_{\text{ZrO}_2/\text{PO}_4^{3-}} 14 \text{ dias} = 0,95$; $r_{\text{ZrO}_2/\text{PO}_4^{3-}} 28 \text{ dias} = 0,92$; $r_{\text{ZrO}_2/\text{CO}_3^{2-}} 14 \text{ dias} = 0,97$ e $r_{\text{ZrO}_2/\text{CO}_3^{2-}} 14 \text{ dias} = 0,90$; $r_{\text{ZrO}_2/\text{PO}_4^{3-}} 21 \text{ dias} = 0,99$ e $r_{\text{ZrO}_2/\text{CO}_3^{2-}} 21 \text{ dias} = 0,86$), exceto para o grupo HPO_4^{2-} aos 21 dias de incubação. Esse comportamento sugere que a formação dos grupos PO_4^{3-} e CO_3^{2-} depende da presença de ZrO_2 na matriz da Al_2O_3 .

Figura 5. 11 – Formação dos grupos funcionais dos fosfatos de cálcio (FT-MIR) sobre a superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.

Fonte: Própria autoria.

5.3.1.2 – Difração de Raios-X

A Figura 5.12 apresenta as curvas deconvoluídas dos difratogramas de DRX da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos biomimeticamente em solução de SBF 1,0x após 14, 21 e 28 dias de incubação. A Tabela 5.8 apresenta as áreas absolutas para cada fase de fosfato de cálcio e suas respectivas atribuições segundo a base de dados JCPDS.

Em todos os períodos de incubação, três fases distintas dos fosfatos de cálcio foram determinadas sobre as superfícies dos corpos de prova cerâmicos: α -TCP, β -TCP e HA. Aos 14 dias de incubação, as fases predominantes para as composições A e A5Z foram a α -TCP e HA, enquanto que para A10Z e A15Z, as fases predominantes foram a β -TCP e HA, e, α -TCP e β -TCP, respectivamente.

Figura 5. 12 – Curvas deconvoluídas dos difratogramas de DXR da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.8 – Atribuições e área absoluta das curvas deconvoluídas dos difratogramas de DRX da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x, segundo padrão JCPD*.

Período de incubação	Índice de Millers (<i>hkl</i>)	Fosfato de cálcio	Área absoluta (10^1)			
			A	A5Z	A10Z	A15Z
14 dias	(511)	α -TCP	0,43	1,14	1,42	2,22
	(0210);(218) (1112);(306) (110)	β -TCP	0,25	0,21	1,92	1,63
	(112);(211) (300)	HA	0,37	0,56	1,65	1,37
21 dias	(511)	α -TCP	1,09	1,16	2,33	1,37
	(218);(128) (1112);(306) (110); (115)	β -TCP	1,41	0,94	1,44	2,47
	(112); (211);(300)	HA	0,68	2,26	2,21	2,28
28 dias	(511)	α -TCP	0,57	0,77	1,47	1,34
	(218);(128) (1112);(306) (110); (115)	β -TCP	0,88	1,63	1,92	1,75
	(112); (202); (211);(300)	HA	1,90	1,74	2,27	3,47

* Baseado nas fichas JCPD nº: 09-432, 73-1731, 09-348, 09-169, 25-1137 e 79-0423.

Fonte: Própria autoria.

Aos 21 dias de incubação, as fases α -TCP e HA se mantiveram preeminentes para A5Z, ao passo que a composição A10Z passou a apresentar esta mesma característica. Para este período nota-se ainda uma predominância do TCP para composição A, enquanto que A15Z foi caracterizada pelas fases β -TCP e HA. E finalmente, o período de 28 dias foi marcado pelo predomínio das fases β -TCP e HA para todas as composições de estudo. A fase α -TCP apresenta maior bioatividade devido ao seu arranjo estrutural, que possibilita que uma maior quantidade de íons de Ca^{2+} sejam trocados com o meio biológico, favorecendo a remodelação óssea mediante sua alta solubilidade (CHOW, 2001; PAVINATO, 2012). Por sua vez, a fase termodinamicamente estável do TCP é a β , o que justifica sua preeminência em maiores períodos de incubação.

A formação da fase β -TCP pode ser relacionada a presença do íon Mg^{2+} na solução de SBF (razão molar $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ maior que 0,05), indicada por substituições na estrutura do β -TCP, dando

origem ao Mg-TCP ou β -TCMP (THAMARAISELVI et al., 2004). Para a solução de SBF 1,0x, tal razão Mg^{2+}/Ca^{2+} equivale a 0,6, o que também indicaria uma maior formação desta fase durante o recobrimento biomimético.

Quando comparada à outras cerâmicas a base de fosfato de cálcio, a HA apresenta estabilidade elevada em solução aquosa. Além disso, este fosfato de cálcio apresenta natureza bioativa, de forma a induzir o crescimento ósseo (LAONAPAKUL, 2014). Em suma, ao final do recobrimento biomimético, obteve-se a formação de uma camada de fosfatos com fases distintas sobre a superfície dos corpos de prova cerâmicos, o que os torna interessantes ao aproveitamento de propriedades relevantes à substituição e remodelação do tecido ósseo.

A Figura 5.13 relaciona as áreas absolutas totais de fosfatos de cálcio, obtidas por FT-MIR (400-1200 cm^{-1}), com suas respectivas fases, determinadas a partir do DRX, para os corpos de prova cerâmicos recobertos biomimeticamente em SBF 1,0x.

Figura 5. 13 – Área absoluta da quantidade total de fosfatos de cálcio (determinada por FT-MIR) e as áreas absolutas das fases de fosfatos de cálcio (identificadas por DRX) da superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,0x.

Fonte: Própria autoria.

Foi possível verificar algumas contribuições de cada fase na formação da área absoluta de fosfatos de cálcio totais sobre a superfície dos corpos de prova cerâmicos. Aos 14 de incubação, as três fases identificadas por DRX (α -TCP, β -TCP e HA) contribuíram de maneira semelhante para a formação da quantidade total de fosfatos depositados biomimeticamente ($r_{\text{Área de fosfatos 14 dias}/\beta\text{-TCP 14 dias}} = 0,87$; $r_{\text{Área de fosfatos 14 dias}/\alpha\text{-TCP 14 dias}} = 0,96$ e $r_{\text{Área de fosfatos 14 dias}/\text{HA 14 dias}} = 0,97$). Já aos 21 dias de incubação, somente a fase HA contribui de forma significativa para a formação de fosfatos de cálcio nesse período ($r_{\text{Área de fosfatos 21 dias}/\text{HA 21 dias}} = 0,88$). E aos 28 dias de incubação, a quantidade de fosfatos de cálcio depositada foi influenciada pela formação das fases α -TCP ($r_{\text{Área de fosfatos 28 dias}/\alpha\text{-TCP 28 dias}} = 0,95$) e HA ($r_{\text{Área de fosfatos 28 dias}/\text{HA 28 dias}} = 0,90$).

De modo geral, todas as composições cerâmicas apresentaram um aumento em sua área absoluta de fosfatos de cálcio em função do aumento do período de incubação em SBF 1,0x. Em outras palavras, a formação desta área absoluta aos 28 dias de incubação depende da quantidade formada aos 21 e 14 dias ($r_{\text{Área de fosfatos 14 dias}/\text{Área de fosfatos 21 dias}} = 0,99$; $r_{\text{Área de fosfatos 14 dias}/\text{Área de fosfatos 28 dias}} = 0,98$; e $r_{\text{Área de fosfatos 21 dias}/\text{Área de fosfatos 28 dias}} = 0,98$).

Quando se analisa a formação de fosfatos entre as diferentes composições em função dos períodos de incubação, observa-se que as inclusões de ZrO_2 na matriz de Al_2O_3 são responsáveis por um aumento da área total de fosfatos de cálcio. Ou seja, quanto maior o percentual de inclusões de ZrO_2 na matriz, maior a formação de fosfatos em sua superfície ($r_{\text{ZrO}_2/\text{área 14 dias}} = 0,95$; $r_{\text{ZrO}_2/\text{área 21 dias}} = 0,96$ e $r_{\text{ZrO}_2/\text{área 28 dias}} = 0,98$). Este comportamento também foi descrito por Amin et al. (2016), que verificaram o aumento na formação de fosfatos de cálcio na superfície de corpos de prova com 25% em peso de inclusões de ZrO_2 micrométricas em matriz de silicato-cálcio-magnésio. Salienta-se ainda que para o período de 28 dias de incubação, notou-se um favorecimento da ZrO_2 para formação das fases α -TCP e HA ($r_{\text{ZrO}_2/\alpha\text{-TCP}} = 0,89$ e $r_{\text{ZrO}_2/\text{HA}} = 0,80$).

5.2.1.3 – Variação do pH durante o recobrimento

Durante todo o recobrimento biomimético, a cada três dias uma nova solução de SBF era inserida no recobrimento biomimético. Assim, a solução retirada após este período foi avaliada segundo alterações de pH, conforme ilustra a Figura 5.14.

Basicamente, pode-se verificar que todas as composições apresentaram valores de pH muito próximos para os períodos mensurados no decorrer do recobrimento biomimético. O pH inicial da solução de SBF 1,0x anteriormente à incubação dos corpos de prova foi de 7,4 conforme indicado

por Kokubo e Takadama (2006). Ao final do recobrimento, o pH das soluções apresentou valores de 8,5.

Figura 5. 14 – Valores de pH da troca de soluções de SBF 1,0x (n = 3) em função dos períodos de recobrimento biomimético dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.

Fonte: Própria autoria.

Observa-se uma tendência quanto ao aumento do pH em função do período de incubação. Segundo Qu e Wei (2008), o aumento do pH logo nos primeiros dias de recobrimento pode estar associado à solubilização dos íons CO_3^{2-} na solução de SBF, que tende a ser maior com o aumento do período de incubação. Por sua vez, o decréscimo dos valores de pH na solução pode estar relacionado com o crescimento da camada de fosfatos de cálcio pelo consumo de íons OH^- , seguida pela absorção dos íons Ca^{2+} (MEYER et al., 2018; SCHÖLLER et al., 2011).

Segundo a curva de solubilidade dos fosfatos de cálcio (BARRERE et al., 2002), em temperatura próxima a 25 °C, a fase HA, por exemplo, apresenta uma maior degradação para a faixa de pH entre 9 e 12 (CHOW, 2001). Já o TCP (independentemente de sua forma alotrópica) apresenta uma maior solubilidade em pH próximo ao intervalo entre 8 e 9 (CHOW, 2001).

No entanto, os fosfatos de cálcio tendem a exibir maior solubilidade mediante decréscimo do pH e aumento da temperatura, de forma a favorecer a degradação de suas fases em maiores velocidades (CHOW, 2001; RAJASEKHARAN; ANDERSSON, 2015). Nesse sentido, acima da temperatura de 25 °C, as fases HA e TCP's apresentam curvas de solubilidade em faixas de pH

menores, o que justifica sua precipitação e formação sobre a superfície dos corpos de prova cerâmicos segundo as condições de temperatura do recobrimento biomimético (36,5 °C).

5.2.1.4 – Microscopia Eletrônica de Varredura

A Figura 5.15 apresenta as micrografias obtidas por MEV da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos biomimeticamente com solução de SBF 1,0x após 14, 21 e 28 dias de incubação.

Aos 14 dias pode-se observar uma camada de fosfatos de cálcio estabelecida com alguns pequenos cristais de fosfatos de cálcio (núcleos) sobre a superfície de todos os corpos de prova cerâmicos. O início do processo de mineralização sintética dos fosfatos de cálcio em SBF a 37°C é caracterizado pela formação de pequenos agregados de partículas em equilíbrio com os íons de solução, as quais tendem a coexistir e iniciar a formação de uma monocamada de cristais, até seu estabelecimento sobre a superfície dos corpos de prova (DEY et al., 2010).

Em seguida, ocorre a etapa de nucleação, onde se observa a presença de cristais de precipitados amorfos (DEY et al., 2010). De acordo com Volmer e Weber (1926), a formação dos fosfatos de cálcio envolve a associação aleatória e dinâmica dos íons presentes em solução que tendem a superar o estado de energia livre e gerar núcleos homogêneos ou heterogêneos (VOLMER; WEBER, 1926; HABRAKEN et al., 2013).

A nucleação homogênea geralmente requer grau muito alto de saturação da solução, ao passo que, a nucleação heterogênea necessita de saturações mais brandas para ser iniciada (PAN et al., 2010). Nesse sentido, sugere-se que o recobrimento dos corpos de prova cerâmicos de Al_2O_3 e nanocompósitos de $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ em solução SBF 1,0x apresentem o segundo tipo de nucleação. Comumente, as primeiras fases de fosfatos de cálcio a precipitarem apresentam instabilidade termodinâmica, ou seja, são muitas vezes caracterizadas por precursores amorfos, como por exemplo, que se formam nos primeiros estágios de cristalização, que podem perdurar de horas à dias, dependendo das condições fornecidas (HABRAKEN et al., 2013).

Por sua vez, o período de 21 dias é caracterizado pelo desenvolvimento dos núcleos de fosfatos de cálcio (crescimento), bem como, da formação de novos núcleos à medida que as condições do meio estão dispostas ao consumo de espécies iônicas na solução, ou ainda, de produtos de reações de fases termodinamicamente menos estáveis (DEY et al., 2010). Com o crescimento dos núcleos ocorre o desenvolvimento de uma cristalinidade das camadas, seguindo a nucleação orientada dirigida pela camada inicial (monocamada). Nesse estágio, os fosfatos de cálcio apresentam formato predominantemente esférico de ordem nanométrica (DEY et al., 2010).

Figura 5. 15 – Micrografias obtidas por MEV da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em SBF 1,0x.

Fonte: Própria autoria.

E finalmente, aos 28 dias verifica-se que a morfologia das camadas de fosfato depositadas sobre a superfície dos corpos de prova cerâmicos é aparentemente caracterizada por placas e trincas, constituídas pelo arranjo de camadas sobrepostas, formadas progressivamente ao longo do período de incubação. No entanto, ainda pode-se observar a formação de pequenos núcleos de fosfatos neste período. Quanto as trincas da camada, Legeros et al (2006) observaram o mesmo evento em seus estudos, relacionando esta condição a três fatores: supersaturação da solução de SBF, aumento da espessura da camada de fosfatos de cálcio e maiores períodos de imersão.

5.2.2 Recobrimento pelo Método Biomimético – SBF 1,5x

O recobrimento biomimético com solução de SBF 1,5x também foi originalmente proposto por Abe, Kokubo e Takadama (1990). Neste sentido, este tópico apresenta os resultados das caracterizações dos corpos de prova cerâmicos tratados superficialmente e recobertos biomimeticamente com tal solução.

5.2.2.1 – Espectroscopia de Infravermelho Médio por Transformada de Fourier

A Figura 5.16 apresenta as curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR para o intervalo de 400-1000 cm^{-1} das superfícies dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos biomimeticamente com solução de SBF 1,5x após 14, 21 e 28 dias de incubação. As Tabelas 5.9 e 5.10 apresentam respectivamente, as áreas percentuais e atribuições das bandas vibracionais das curvas deconvoluídas para este intervalo de estudo.

De forma análoga ao recobrimento com solução de SBF 1,0x, observa-se o decréscimo da área absoluta das bandas de FT-MIR na região entre 400 e 100 cm^{-1} com o aumento do período de incubação dos corpos de prova cerâmicos em solução de SBF 1,5x. As soluções de SBF 1,0x e 1,5x são similares quanto às espécies iônicas, no entanto se diferem quanto à concentração das mesmas. O termo supersaturada refere-se implicitamente à fase HA e indica que soluções múltiplas à solução SBF original, tendem a induzir de forma mais rápida as etapas de biomimetalização da camada de fosfatos de cálcio sobre a superfície de corpos de prova de interesse (DROUET, 2013).

Nesse contexto, as curvas deconvoluídas (400-1000 cm^{-1}) apresentadas na Tabela 5.9 foram atribuídas segundo comportamento visualizado durante o recobrimento. Assim, todas as curvas que apresentaram um decréscimo em sua área percentual com aumento do período de incubação foram assumidas como estiramentos ou deformações de grupos funcionais pertencentes à Al_2O_3 e ZrO_2 . Os demais intervalos indicaram a presença de sete conjuntos de bandas de absorção característicos aos fosfatos de cálcio: ~465-474, 637-649, 665-679, 708-731, 837-853, 886-894 e 910-917 cm^{-1} .

Figura 5. 16 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.9 – Áreas percentuais obtidas pelas curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.

Atribuição	Intervalo vibracional (cm^{-1})	Condições de estudo – Áreas percentuais das bandas de absorção deconvoluídas (%)											
		A			A5Z			A10Z			A15Z		
		14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias
$\delta_{\text{Al-O}}$	417-421	2,68	2,25	2,11	2,06	1,31	0,72	2,04	1,20	0,61	1,89	1,02	0,85
$\delta_{\text{Al-O}}$ ou $\nu_{\text{Zr-O}}$	446-448	10,41	9,24	7,89	12,70	10,49	7,13	13,69	13,08	9,52	15,26	14,63	5,08
$\delta_{2b \text{ P-O}}$ ou $\delta_{2a \text{ P-O}}$	465-474	2,69	4,13	7,48	3,58	5,65	7,00	6,14	6,23	7,83	4,32	6,54	6,87
$\delta_{\text{Al-O}}$ ou $\nu_{\text{Zr-O}}$	521-535	1,33	0,97	0,84	1,42	1,36	0,79	2,57	0,98	0,85	0,91	0,88	0,65
$\nu_{\text{Al-O}}$	574-595	6,06	4,89	3,58	18,51	10,47	5,12	21,45	16,03	7,86	14,19	14,88	4,36
$\nu_{\text{Al-O}}$	614-619	2,96	1,26	1,24	2,66	2,25	1,53	2,32	1,98	1,07	2,96	2,18	1,51
$\delta_{4a \text{ O-P-O}}$	637-649	2,56	3,86	5,00	2,51	2,67	3,59	3,81	4,59	5,53	4,49	4,98	5,69
$\delta \text{ HPO}_4^{2-}$	665-679	12,05	12,51	13,63	9,12	11,88	12,78	1,65	9,63	10,75	9,07	10,18	11,42
$\delta_{4a \text{ O-P-O}}$	708-731	27,76	37,98	40,10	13,25	33,01	35,83	19,92	22,39	26,92	26,98	28,99	34,77
$\delta_2 \text{ CO}_3^{2-}$	837-853	10,16	8,20	10,37	19,71	9,43	12,72	18,74	9,27	21,76	15,22	8,24	20,77
$\delta_1 \text{ CO}_3^{2-}$	886-894	9,46	6,54	0,51	-	-	-	-	-	0,69	-	-	0,28
$\nu \text{ HPO}_4^{2-}$	910-917	11,88	8,17	7,25	14,48	11,48	12,79	7,67	14,62	6,61	4,71	7,48	7,75

* δ , δ_1 e δ_2 = deformação angular; δ_{2a} e δ_{2b} , = deformação simétrica duplamente degenerada; δ_{4a} = deformação assimétrica triplamente degenerada; ν = estiramento axial.
Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.10 – Atribuições das curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.

Banda (cm^{-1})	Atribuição	Referência
417-421	$\delta_{\text{Al-O}}$ coordenação em octaédrico de AlO_6	CAVALU et al., 2014; SARKAR et al., 2007.
446-448	$\delta_{\text{Al-O}}$ formação da fase $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ ou $\nu_{\text{Zr-O}}$ na ligação Zr-O-Zr	MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017.
465-474	δ_{2b} O-P-O do grupo PO_4^{3-} em HA ou δ_{2a} O-P-O do grupo PO_4^{3-} em HA	CAVALU et al., 2014; KOUTSOPOULOS, 2002.
521-535	$\delta_{\text{Al-O}}$ coordenação em octaédrico de AlO_6 ou $\nu_{\text{Zr-O}}$ da fase tetragonal da ZrO_2	MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017; SARKAR et al., 2007; SMIRNOV et al., 2017.
574-595 614-619	$\nu_{\text{Al-O}}$ coordenação em octaédrico de AlO_6	CAVALU et al., 2014; SARKAR et al., 2007.
637-649	δ_{4a} ligação O-P-O do grupo PO_4^{3-} em TCP	KOUTSOPOULOS, 2002.
665-679	δ grupo HPO_4^{2-} em DCPD	BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012.
708-731	δ_{4a} O-P-O do grupo PO_4^{3-}	ADAWY; EL-FATTAH; TALAAT, 2009.
837-853	δ_2 grupo CO_3^{2-}	KOUTSOPOULOS, 2002.
886-894	δ_1 grupo CO_3^{2-} (tipo A)	THAMPI et al., 2014; KOUTSOPOULOS, 2002.
910-917	ν grupo HPO_4^{2-}	MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017; STOCH et al., 1999.

* δ , δ_1 e δ_2 = deformação angular; δ_{2a} e δ_{2b} , = deformação simétrica duplamente degenerada; δ_{4a} = deformação assimétrica triplamente degenerada; ν = estiramento axial.

Fonte: Própria autoria.

Nesse sentido, bandas de absorção entre ~ 465 e 474 cm^{-1} podem ser atribuídas a estiramentos simétricos duplamente degenerados do grupo PO_4^{3-} . De forma geral, observou-se um aumento progressivo das áreas percentuais relativas a tal grupo para todas as composições. O mesmo comportamento foi verificado para os dois intervalos absorção seguintes: em ~ 637 e 649 cm^{-1} e entre ~ 655 e 679 cm^{-1} . Desta forma, as bandas do primeiro intervalo podem ser atribuídas ao estiramento

axial do grupo PO_4^{3-} ligado a fase TCP e as bandas entre ~ 655 e 679 cm^{-1} ao estiramento axial do grupo HPO_4^{2-} em DCPD.

As bandas de absorção presentes no intervalo espectral entre ~ 708 e 731 cm^{-1} apresentaram as maiores áreas percentuais em todas as composições de estudo para o período de 28 dias de incubação e sugerem a presença de estiramentos simétricos triplamente degenerados do grupo PO_4^{3-} . Por sua vez, os intervalos de bandas entre ~ 837 e 853 cm^{-1} e entre 886 e 894 cm^{-1} indicam a presença do estiramento axial do grupo CO_3^{2-} .

Para as bandas entre ~ 837 e 853 cm^{-1} observou-se uma redução, da área relativa a tal grupo de 14 para 21 dias de incubação, para todas as composições. No entanto, aos 28 dias, esta área apresentou um aumento em seu percentual. Entre ~ 886 e 894 cm^{-1} a composição A apresentou um decréscimo na área percentual do grupo CO_3^{2-} progressivamente ao aumento do período de incubação dos corpos de prova em SBF 1,5x, o que não foi observado para as composições nanoestruturadas.

E finalmente, o intervalo de absorção entre ~ 910 e 917 cm^{-1} representa o estiramento axial do grupo HPO_4^{2-} de fosfatos de cálcio mono e/ou dihidratados. Tais fosfatos de cálcio apresentam como característica, alta solubilidade em meio biológico, o que lhes confere a participação na precipitação em fases ditas como precursoras (ELLIOTT, 1994; STOCH et al., 1999). Observa-se que as composições A5Z e A15Z apresentaram aumentos das áreas percentuais relativas aos tais grupos.

O tratamento matemático de deconvolução ($1000\text{-}1200 \text{ cm}^{-1}$) para a superfície dos corpos de prova cerâmicos recobertos biomimeticamente em SBF 1,5x, conforme apresentado na Figura 5.17. As Tabelas 5.11 e 5.12 apresentam as áreas percentuais e atribuições de tais curvas analíticas deconvoluídas.

As bandas de absorção entre ~ 1012 e 1018 cm^{-1} podem ser relacionadas ao grupo HPO_4^{2-} em HA não estequiométrica. Para tal intervalo, observou-se uma redução da área percentual deste grupo em A para maiores períodos de incubação. Em A5Z não foram observadas curvas para este intervalo, enquanto que A10Z apresentou uma banda apenas aos 28 dias e A15Z apresentou um aumento da área deste grupo progressivo ao aumento do período de incubação.

Além disso, para o intervalo de absorção entre ~ 1035 e 1039 cm^{-1} observa-se que bandas relacionadas ao grupo PO_4^{3-} apresentaram um aumento em relação ao período de 14 dias para a composição A. Já para as composições A5Z e A10Z não foi verificada a presença destas vibrações angulares de PO_4^{3-} para 21 e 28 dias.

Figura 5. 17 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.11 – Áreas percentuais obtidas pelas curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.

Atribuição	Intervalo vibracional (cm^{-1})	Condições de estudo – Áreas percentuais das bandas de absorção deconvoluídas (%)											
		A			A5Z			A10Z			A15Z		
		14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias
ν em HPO_4^{2-}	1012-1018	11,21	3,28	2,53	-	-	-	-	-	5,11	0,72	1,73	1,66
ν_{3c} P–O	1035-1039	-	12,39	12,26	5,78	1,46	-	2,63	-	-	10,36	-	0,04
ν_{3b} P–O	1045-1067	26,44	32,12	31,00	24,83	16,99	17,28	9,26	11,80	16,42	5,23	8,43	20,90
ν em HPO_4^{2-}	1078-1086	37,88	18,87	-	28,24	9,87	15,55	28,88	-	27,14	39,77	2,54	-
ν em CO_3^{2-}	1098-1119	0,85	4,26	17,95	25,50	40,00	26,07	26,07	48,51	22,69	29,39	35,76	28,03
ν_{3a} PO_4^{3-}	1124-1136	13,29	29,08	5,44	0,26	28,92	-	20,11	30,65	1,06	10,00	35,76	20,75
ν_{3a} PO_4^{3-}	1139-1158	10,33	-	26,34	-	-	25,28	13,06	7,11	17,56	-	-	-
ν PO_4^{3-}	1161-1188	-	-	3,16	5,38	2,75	15,83	-	1,93	10,02	4,52	3,43	28,62

* ν = estiramento axial e ν_{3a} , ν_{3b} , ν_{3c} = vibração de estiramento assimétrico triplamente degenerado.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.12 – Atribuições das curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.

Banda (cm^{-1})	Atribuição	Referência
1012-1018	ν grupo HPO_4^{2-} em HA não estequiométrica	KOUTSOPOULOS, 2002.
1035-1039	ν_{3c} P-O do grupo PO_4^{3-}	BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012; KOUTSOPOULOS, 2002.
1045-1067	ν_{3b} P-O do grupo PO_4^{3-} em HA ou α -TCP	CARRODEGUAS; DE AZA, 2011; GADALETA et al., 1996; KOUTSOPOULOS, 2002.
1078-1086	ν grupo HPO_4^{2-}	CARRODEGUAS; DE AZA, 2011; GADALETA et al., 1996; KOUTSOPOULOS, 2002.
1098-1119	ν grupo CO_3^{2-} em HA não estequiométrica	KOUTSOPOULOS, 2002; REY et al., 1991.
1124-1136 1139-1158	ν_{3a} grupo PO_4^{3-} em β -TCP	BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012; KOUTSOPOULOS, 2002; . REY et al., 1991.
1161-1188	ν grupo PO_4^{3-}	KOUTSOPOULOS, 2002; SANTOS et al., 2017.

* ν = estiramento axial e ν_{3a} , ν_{3b} , ν_{3c} = vibração de estiramento assimétrico triplamente degenerado.

Fonte: Própria autoria.

Entre ~ 1045 e 1067 cm^{-1} , é observada uma região de combinação de bandas do grupo PO_4^{3-} relativo às fases HA ou β -TCP. Para as composições A5Z, A10Z e A15Z, nota-se um aumento das áreas absolutas destes grupos de maneira progressiva ao aumento do período de incubação. Já para A, este aumento foi verificado apenas entre o período de 14 para 21 dias.

O intervalo que compreende as bandas de absorção entre ~ 1078 e 1086 ao grupo HPO_4^{2-} , presentes nas fases DCPA/DCPD. Tal intervalo apresentou as maiores áreas percentuais aos 14 dias de incubação, independentemente da composição cerâmica, sugerindo a presença de muitos grupos precursores da fase HA (ABE; KOKUBO; YAMAMURO, 1990). Nesse sentido, fases termodinamicamente menos estáveis são predominantes em tal período, sendo solubilizadas no meio

da solução de SBF 1,5x no decorrer do recobrimento a fim de serem novamente precipitadas em fases mais estáveis.

Com o aumento do período de incubação, verificou-se para todas as composições um aumento nas áreas absolutas das bandas de absorção entre ~ 1126 e 1136 cm^{-1} referentes aos grupos HPO_4^{2-} da HA não estequiométrica ou da fase β -TCP entre 14 e 21 dias de incubação. Por sua vez, as áreas do grupo HPO_4^{2-} em HA não estequiométrica ou na fase α -TCP não foram observadas em nenhum período de incubação para a composição A15Z. Além disso, também foi observada a influência da ZrO_2 na formação do grupo PO_4^{3-} para as bandas de absorção presentes entre ~ 1161 - 1188 cm^{-1} , uma vez que as áreas percentuais destas bandas apresentaram um considerável aumento para A5Z, A10Z e A15Z, quando comparadas à composição A.

A Figura 5.18 apresenta o perfil de formação dos grupos funcionais atribuídos aos fosfatos de cálcio obtidos mediante curvas deconvoluídas de FT-MIR (400 - 1200 cm^{-1}) para a superfície dos corpos de prova cerâmicos recobertos biomimeticamente em SBF 1,0x em todos os períodos de incubação.

Figura 5. 18 – Formação dos grupos funcionais dos fosfatos de cálcio (FT-MIR) sobre a superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.

Fonte: Própria autoria.

De forma geral, o aumento das inclusões de ZrO_2 na matriz de Al_2O_3 contribuiu para uma menor formação do HPO_4^{2-} aos 14 e 21 dias de incubação ($r_{\text{ZrO}_2/\text{HPO}_4^{2-}} 14\text{dias} = -0,93$ e $r_{\text{ZrO}_2/\text{HPO}_4^{2-}} 21$

dias = - 0,85). No entanto, o mesmo evento não foi visualizado para o período de 28 dias. De forma similar, a ZrO_2 influenciou na formação dos grupos PO_4^{3-} e CO_3^{2-} em todos os períodos de incubação ($r_{\text{ZrO}_2/\text{PO}_4^{3-} \text{ 14 dias}} = 0,91$, $r_{\text{ZrO}_2/\text{PO}_4^{3-} \text{ 21 dias}} = 0,93$, $r_{\text{ZrO}_2/\text{PO}_4^{3-} \text{ 28 dias}} = 0,93$, $r_{\text{ZrO}_2/\text{CO}_3^{2-} \text{ 14 dias}} = 0,98$, $r_{\text{ZrO}_2/\text{CO}_3^{2-} \text{ 21 dias}} = 0,99$, $r_{\text{ZrO}_2/\text{CO}_3^{2-} \text{ 28 dias}} = 0,93$).

Adicionalmente, a formação dos grupos PO_4^{3-} e CO_3^{2-} apresentou um aumento linear em função do período de incubação ($r_{\text{PO}_4^{3-} \text{ 14 dias}/\text{PO}_4^{3-} \text{ 21 dias}} = 0,98$, $r_{\text{PO}_4^{3-} \text{ 21 dias}/\text{PO}_4^{3-} \text{ 28 dias}} = 0,93$, $r_{\text{CO}_3^{2-} \text{ 14 dias}/\text{CO}_3^{2-} \text{ 21 dias}} = 0,99$, $r_{\text{CO}_3^{2-} \text{ 21 dias}/\text{CO}_3^{2-} \text{ 28 dias}} = 0,95$).

5.2.2.2 – Difração de Raios-X

A Figura 5.19 apresenta os difratogramas de DRX da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos biomimeticamente em solução de SBF 1,5x para todos os períodos de incubação. A Tabela 5.13 apresenta as áreas absolutas para cada fase de fosfato de cálcio e suas respectivas atribuições de acordo com a base de dados JCPDS.

Observa-se que aos 14 dias de incubação a formação da fase HA foi predominante para A, A5Z e A10Z, no entanto, a composição A15Z apresentou uma maior área absoluta de β -TCP. Já aos 21 dias, esse mesmo perfil foi visualizado para A, sendo que as demais composições apresentaram uma preeminência de HA.

Ao final do período de incubação (28 dias), as maiores áreas absolutas foram das curvas deconvoluídas atribuídas a fase HA, independente da composição avaliada. Além disso, para este mesmo período, observa-se que as composições A e A5Z apresentaram uma maior área para a fase β -TCP. Por outro lado, as composições com maiores teores de ZrO_2 (A10Z e A15Z) favoreceram maior formação da fase α -TCP para o mesmo período.

A partir das curvas deconvoluídas dos espectros de absorção de FT-MIR ($400\text{-}1200 \text{ cm}^{-1}$) e difratogramas de DRX foi possível calcular a área absoluta de fosfatos de cálcio totais e as suas respectivas fases, conforme ilustrado na Figura 5.20. O aumento da área absoluta de fosfatos cálcio totais foi progressivo ao aumento do período de incubação ($r_{\text{Área de fosfatos 14 dias}/\text{Área de fosfatos 21 dias}} = 0,98$, $r_{\text{Área de fosfatos 14 dias}/\text{Área de fosfatos 28 dias}} = 0,97$ e $r_{\text{Área de fosfatos 21 dias}/\text{Área de fosfatos 28 dias}} = 0,91$). Nesse sentido, a formação de fosfatos aos maiores períodos de incubação está intimamente relacionada à formação de períodos anteriores.

Figura 5. 19 – Curvas deconvoluídas dos difratogramas de DXR da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.13 – Atribuições e área absoluta das curvas deconvoluídas dos difratogramas de DRX para A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x, segundo padrão JCPD*.

Período de incubação	Índice de Millers (<i>hkl</i>)	Fosfato de cálcio	Área absoluta (10 ⁴)			
			A	A5Z	A10Z	A15Z
14 dias	(511)	α -TCP	0,48	0,82	1,04	3,26
	(0210);(218) (1112);(306) (110)	β -TCP	0,28	0,42	0,24	4,15
	(112);(211) (300)	HA	4,29	4,07	5,98	1,34
21 dias	(511)	α -TCP	1,71	2,67	1,20	2,07
	(218);(128) (1112);(306) (110); (115)	β -TCP	4,26	3,55	0,17	2,43
	(112); (211);(300)	HA	4,23	4,13	10,64	8,46
28 dias	(511)	α -TCP	2,58	2,73	2,78	4,67
	(218);(128) (1112);(306) (110); (115)	β -TCP	4,61	3,56	0,51	0,81
	(112); (202); (211);(300)	HA	8,60	11,61	16,52	22,53

* Baseado nas fichas JCPD nº: 09-432, 73-1731, 09-348, 09-169, 25-1137 e 79-0423.

Fonte: Própria autoria.

Aos 14 dias de incubação, a deposição de fosfatos totais colaborou para formação da α -TCP para o mesmo período (r Área de fosfatos 14 dias/ α -TCP 14 dias = 0,87), conforme Tabela 5.13. Esse tipo de relação ainda foi observado entre as três fases de fosfatos formadas em 28 dias de incubação, de forma especial pela HA (r Área de fosfatos 14 dias/ β -TCP 28 dias = 0,85; r Área de fosfatos 14 dias/ α -TCP 28 dias = 0,91 e r Área de fosfatos 14 dias/HA 28 dias = 0,99). E para 28 dias, pode-se sugerir que a deposição de fosfatos totais influenciou em uma maior formação de α -TCP e HA neste período, conforme Tabela 5.13 (r Área de fosfatos 28 dias/ α -TCP 28 dias = 0,98 e r Área de fosfatos 28 dias/HA 28 dias = 0,96).

Observa-se ainda, que aos 14 dias de incubação, a formação das fases α -TCP e β -TCP estão relacionadas (r α -TCP 14 dias/ β -TCP 14 dias = 0,98). No entanto, para 28 dias de incubação, nota-se que α -TCP (14 dias de incubação) influi diretamente sobre a sua formação aos 28 dias (r α -TCP 14 dias/ α -TCP 28 dias = 0,98), bem como à fase HA (r α -TCP 14 dias/HA 28 dias = 0,96).

Figura 5. 20 – Área absoluta da quantidade total de fosfatos de cálcio (determinada por FT-MIR) e as áreas absolutas das fases de fosfatos de cálcio (identificadas por DRX) da superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.

Fonte: Própria autoria.

Por sua vez, aos 21 dias, a formação da fase β -TCP é influenciada pelo consumo da fase HA neste período ($r_{\beta\text{-TCP } 21 \text{ dias}/HA \text{ } 21 \text{ dias}} = -0,95$). E para o período de 28 dias de incubação, verifica-se que a formação de α -TCP está relacionada a também formação da fase HA ($r_{\alpha\text{-TCP } 28 \text{ dias}/HA \text{ } 28 \text{ dias}} = 0,88$).

Quanto a influência da ZrO_2 , salienta-se que o aumento do percentual de inclusões de ZrO_2 na matriz de Al_2O_3 influenciou de forma significativa sobre a formação da área de fosfatos totais em todos os períodos de incubação ($r_{ZrO_2/\text{Área } 14 \text{ dias}} = 0,95$, $r_{ZrO_2/\text{Área } 21 \text{ dias}} = 0,96$ e $r_{ZrO_2/\text{Área } 28 \text{ dias}} = 0,90$). Observa-se na Figura 5.22 que em 21 dias de incubação, a formação da camada de fosfatos foi praticamente equivalente em todas as composições, no entanto, aos 28 dias, a composição A15Z apresentou uma formação majoritária frente às demais composições.

5.2.2.3 – Variação do pH durante o recobrimento

A Figura 5.21 apresenta a variação do pH da solução de SBF 1,5x durante o período de incubação dos corpos de prova cerâmicos.

Figura 5. 21 – Valores de pH da troca de soluções de SBF 1,5x em função dos períodos de recobrimento biomimético dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.

Fonte: Própria autoria.

De forma análoga ao recobrimento com solução de SBF 1,0x, o pH inicial da solução anteriormente à incubação dos corpos de prova cerâmicos em SBF 1,5x foi de 7,4, chegando ao final do período de incubação a valores próximos a 9,0. Observa-se uma tendência no aumento do pH desde os primeiros dias de incubação até o final do recobrimento (28 dias), sugerindo a presença de íons carbonatos na solução de SBF 1,5x. Já a partir de 21 dias de incubação, o pH começa a se estabilizar em valores máximos (maiores que 8,5).

5.2.2.4 – Microscopia Eletrônica de Varredura

A Figura 5.22 apresenta as micrografias obtidas por MEV dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos biomimeticamente em SBF 1,5x para todos os períodos de incubação.

Aos 14 dias de incubação, a presença de glóbulos menores de cristais de fosfatos de cálcio é observada, principalmente para a composição A15Z. Com o consumo contínuo das espécies iônicas da solução (21 dias), os núcleos de cristais de fosfatos de cálcio tendem a crescer de forma a estabelecer a formação de múltiplas camadas sobre a superfície dos corpos de prova cerâmicos (LANDI et al., 2005).

Figura 5. 22 – Micrografias obtidas por MEV da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 1,5x.

Fonte: Própria autoria.

Aos 28 dias de incubação nota-se algumas trincas na camada constituídas mediante progressiva formação de camadas sobrepostas. No entanto, de forma similar ao recobrimento com SBF 1,0x, ainda se observa a formação de pequenos núcleos de cristais de fosfatos de cálcio sobre as superfícies dos corpos de prova cerâmicos, evidenciada em A15Z.

A solução de SBF 1,5x aparentemente influenciou na formação de camadas de fosfatos mais homogêneas. Segundo Pan et al. (2010) esta característica é decorrente de uma saturação em maior grau da solução simuladora do fluido corpóreo, onde o tamanho dos cristais de fosfatos formados tende a ser menor, o que acarreta uma menor formação de trincas.

5.2.3 Recobrimento pelo Método Biomimético – SBF 5,0x

Os resultados apresentados nesse tópico decorrem das caracterizações realizadas após os diferentes períodos de incubação (14, 21 e 28 dias) dos corpos de prova cerâmicos em solução de SBF 5,0x, proposta originalmente por Barrere (2002).

5.2.3.1 – Espectroscopia de Infravermelho Médio por Transformada de Fourier

A Figura 5.23 apresenta as curvas deconvoluídas para bandas de absorção de FT-MIR das superfícies dos corpos de prova cerâmicos recobertos com fosfatos de cálcio. A Tabela 5.14 apresenta as áreas percentuais das curvas analíticas deconvoluídas para o intervalo entre 400 e 1000 cm^{-1} , enquanto que a Tabela 5.15 exibe suas respectivas atribuições teóricas.

Observa-se o mesmo perfil espectral dos recobrimentos com solução de SBF 1,0x e SBF 1,5x, caracterizado por uma redução da área absoluta das bandas de Al_2O_3 e ZrO_2 com o aumento do período de incubação. Destaca-se que para 14 e 21 dias de incubação, as composições A10Z e A15Z apresentaram áreas relativamente menores quando comparadas às composições de A e A5Z. Já para o período de 28 dias de incubação, todas as composições dos nanocompósitos apresentaram áreas relativas menores comparativamente à Al_2O_3 pura.

As bandas de absorção entre ~ 460 e 477 cm^{-1} atribuídas aos modos de deformação angulares do grupo PO_4^{3-} em HA, apresentaram aumento de suas áreas absolutas de 14 para 21 dias de incubação, seguida por uma redução aos 28 dias. O intervalo de absorção entre ~ 691 e 715 cm^{-1} e entre ~ 725 e 759 cm^{-1} apresentam vibrações de deformação do grupo PO_4^{3-} . Nota-se que em ~ 691 - 715 cm^{-1} , as composições A, A5Z e A10Z apresentaram um aumento da área deste grupo de conforme o aumento do período incubação, enquanto que em A15Z, ocorreu um decréscimo desta área aos 28 dias.

Figura 5. 23 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.14 – Áreas percentuais obtidas pelas curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.

Atribuição	Intervalo vibracional (cm^{-1})	Condições de estudo – Áreas percentuais de das bandas de absorção deconvoluídas (%)											
		A			A5Z			A10Z			A15Z		
		14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias
$\delta_{\text{Al-O}}$	407-435	2,62	2,20	1,67	2,40	1,80	1,43	2,52	2,22	1,18	1,64	0,97	0,39
$\delta_{\text{Al-O}}$ ou $\nu_{\text{Zr-O}}$	445-450	12,91	10,70	6,47	13,70	10,98	2,70	11,85	9,71	6,71	3,02	6,21	4,81
$\delta_{2b} \text{ P-O}$ ou $\delta_{2a} \text{ P-O}$	460-477	3,67	7,77	4,95	2,29	10,11	7,09	1,64	5,38	3,84	5,34	6,86	3,97
$\delta_{\text{Al-O}}$ ou $\nu_{\text{Zr-O}}$	522-559	1,35	0,59	0,05	0,30	3,28	4,83	0,23	1,99	2,77	0,08	1,31	1,48
$\nu_{\text{Al-O}}$	582-600	13,14	12,6	3,10	4,16	3,05	0,71	5,49	4,93	2,94	5,01	1,11	0,14
$\nu_{\text{Al-O}}$	615-623	4,73	2,18	1,59	3,36	2,75	1,44	2,30	2,04	1,27	1,69	1,15	-
$\nu_{\text{Al-O}}$	640-656	5,52	4,92	3,00	10,65	7,99	2,97	5,29	4,23	2,34	4,05	3,24	3,16
$\nu_{\text{Al-O}}$	661-679	4,65	4,38	-	5,14	5,02	1,70	5,17	4,98	3,36	5,03	4,56	1,15
$\delta_{4a} \text{ O-P-O}$	691-715	4,72	4,84	5,05	4,77	4,80	5,02	2,67	6,97	7,02	6,47	11,42	5,00
$\delta_{4a} \text{ O-P-O}$	725-759	20,41	30,51	41,18	28,64	23,25	26,38	31,82	24,16	25,31	37,23	36,84	39,53
$\delta_2 \text{ CO}_3^{2-}$	803-836	12,89	9,27	24,71	20,57	18,71	33,71	25,26	25,21	31,62	20,33	13,28	21,80
$\nu \text{ HPO}_4^{2-}$	898-917	13,39	10,04	8,23	4,02	8,26	10,57	5,74	8,02	11,45	10,11	12,99	18,34
$\nu_1 \text{ P-O}$	975-980	-	-	-	-	-	1,45	0,02	0,16	0,19	-	0,06	0,23

* δ e δ_2 = deformação angular; δ_{2a} e δ_{2b} = deformação simétrica duplamente degenerada; ν = estiramento axial, ν_1 = estiramento simétrico não degenerado.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5. 15– Atribuições das curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (400-1000 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.

Banda (cm^{-1})	Atribuição (grupamento)	Referência
407-435	$\delta_{\text{Al-O}}$ coordenação em octaédrico de AlO_6	CAVALU et al., 2014; SARKAR et al., 2007.
445-450	$\nu_{\text{Al-O}}$ formação da fase $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ ou $\nu_{\text{Zr-O}}$ na ligação Zr-O-Zr	MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017.
460-477	$\delta_{2b} \text{O-P-O}$ do grupo PO_4^{3-} em HA ou $\delta_{2a} \text{O-P-O}$ do grupo PO_4^{3-} em HA	CAVALU et al., 2014; KOUTSOPOULOS, 2002.
522-559	$\delta_{\text{Al-O}}$ coordenação em octaédrico de AlO_6 ou $\nu_{\text{Zr-O}}$ da fase tetragonal da ZrO_2	MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017; SARKAR et al., 2007; SMIRNOV et al., 2017.
582-600 615-623 640-656 661-679	$\nu_{\text{Al-O}}$ coordenação em octaédrico de AlO_6	CAVALU et al., 2014; SARKAR et al., 2007.
691-715 725-759	$\delta_{4a} \text{O-P-O}$ do grupo PO_4^{3-}	KOUTSOPOULOS, 2002; MEEJO, et al., 2006.
803-836	δ_2 grupo CO_3^{2-}	ANUSHA THAMPI et al., 2014; KOUTSOPOULOS, 2002.
898-917	ν grupo HPO_4^{2-}	MUHAMMAD; KUMAR; CHASKAR, 2017; STOCH et al., 1999.
975-980	$\nu_1 \text{P-O}$ do grupo PO_4^{3-}	BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012.

* δ e δ_2 = deformação angular; δ_{2a} e δ_{2b} = deformação simétrica duplamente degenerada; ν = estiramento axial, ν_1 = estiramento simétrico não degenerado.

Fonte: Própria autoria.

Para todas as composições, as bandas vibracionais de deformação entre ~ 803 e 836 cm^{-1} apresentaram redução em suas áreas percentuais aos 21 dias de incubação comparativamente ao período de 14 dias, seguido de um ligeiro aumento aos 28 dias de incubação. Esse intervalo pode ser atribuído ao grupo CO_3^{2-} . A presença deste grupo funcional pode ser associada à capacidade dos

fosfatos realizarem substituições iônicas em sua rede cristalina, como mencionado anteriormente (LANDI et al., 2005).

O intervalo de absorção entre ~ 910 e 917 cm^{-1} (vibração de estiramento) representa a presença do grupo HPO_4^{2-} de fosfatos de cálcio mono e/ou dihidratados. Para a superfície de A, observa-se um decréscimo das áreas deste grupo para maiores períodos de incubação. Já em todas as composições dos nanocompósitos se observa o aumento de suas áreas, indicando uma possível influência da ZrO_2 na deposição destes fosfatos de cálcio sobre a superfície dos corpos de prova cerâmicos ($r_{\text{ZrO}_2/\text{HPO}_4^{2-}} > 0,80$). E finalmente, para o intervalo entre ~ 975 e 980 cm^{-1} (estiramento simétrico não-degenerado do grupo PO_4^{3-}) foram observadas curvas de absorção apenas para as composições nanoestruturadas.

A Figura 5.24 apresenta as curvas de deconvolução das bandas de absorção de FT-MIR para o intervalo de 1000 a 1200 cm^{-1} da superfície dos corpos de prova cerâmicos. Em seguida, as Tabelas 5.16 e 5.17 apresentam as áreas percentuais e atribuições vibracionais das bandas de absorção dos espectros de FT-MIR da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação.

O intervalo de absorção entre ~ 1037 e 1045 cm^{-1} também pode ser relacionado ao estiramento assimétrico do grupo PO_4^{3-} . Nesse sentido, todas as composições de nanocompósitos apresentaram um aumento de áreas de 14 para 21 dias de incubação e um decréscimo aos 28 dias. Enquanto que para A verificou-se a presença deste grupo apenas aos 28 dias de incubação.

Para o intervalo entre ~ 1051 e 1061 cm^{-1} , as composições A10Z e A15Z apresentaram um aumento das áreas percentuais relativas às bandas de estiramento assimétrico do grupo PO_4^{3-} (fases HA ou α -TCP) em função de maiores períodos de incubação. Em A5Z esse comportamento foi observado entre o período de 14 para 21 dias e em A, apenas aos 14 dias de incubação. Salienta-se que dentre todas as bandas de absorção do intervalo de 1000 - 1200 cm^{-1} , as maiores áreas percentuais observadas são relativas a este intervalo entre ~ 1051 e 1061 cm^{-1} .

O intervalo de absorção entre ~ 1071 e 1088 cm^{-1} pode ser atribuído ao modo de estiramento axial do grupo HPO_4^{2-} . Esse tipo de grupo pode ser associado à formação de fases metaestáveis, o que poderia explicar áreas percentuais relativamente pequenas, como observado para os nanocompósitos aos 21 dias de incubação. No entanto, em A, verificou-se um aumento da área deste grupo de 21 para 28 dias de incubação, sugerindo a presença de fases precursoras à HA (CARINO et al., 2018).

Figura 5. 24 – Curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5. 16 – Áreas percentuais obtidas pelas curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.

Atribuição	Intervalo vibracional (cm^{-1})	Áreas percentuais das bandas deconvoluídas (%)											
		A			A5Z			A10Z			A15Z		
		14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias	14 dias	21 dias	28 dias
ν em HPO_4^{2-}	1005-1016	0,48	0,56	-	0,20	-	-	-	-	-	-	-	-
ν_{3c} P-O	1021-1029	0,35	6,23	2,01	16,44	11,17	18,23	5,59	3,59	21,63	6,54	4,94	23,41
ν_{3b} P-O	1037-1045	-	-	7,87	22,53	28,78	2,45	40,41	42,56	2,49	32,37	40,43	3,57
ν_{3a} P-O	1051-1061	0,30	-	-	20,94	33,17	30,25	5,54	8,58	36,69	7,44	9,41	41,33
ν em HPO_4^{2-}	1071-1088	12,17	6,86	30,89	4,55	0,71	2,67	-	0,79	2,21	-	1,36	2,04
ν em CO_3^{2-}	1094-1115	27,48	22,18	35,86	0,20	0,13	3,54	1,37	0,68	10,34	4,07	2,14	8,75
ν_{4b} em PO_4^{3-}	1123-1137	-	-	14,95	0,25	2,00	14,40	3,68	5,70	8,03	0,45	9,70	10,21
ν_{4a} em PO_4^{3-}	1140-1153	37,22	46,23	7,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ν PO_4^{3-}	1160-1178	18,02	14,97	1,42	22,50	13,71	20,43	18,83	18,40	17,58	19,03	17,20	10,32
ν PO_4^{3-}	1182-1195	3,98	2,97	-	12,39	10,33	8,03	24,58	19,70	1,03	30,10	14,82	0,37

* ν = estiramento axial e ν_{3b} , ν_{3c} , ν_{4a} e ν_{4b} = vibração de estiramento assimétrico triplamente degenerado.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.17 – Atribuições das curvas de absorção deconvoluídas dos espectros de FT-MIR (1000-1200 cm^{-1}) da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.

Bandas (cm^{-1})	Atribuição	Referências
1005-1016	ν grupo HPO_4^{2-} em HA não estequiométrica	KOUTSOPOULOS, 2002.
1021-1029	ν_{3c} P-O do grupo PO_4^{3-}	KOUTSOPOULOS, 2002.
1037-1045	ν_{3b} P-O do grupo PO_4^{3-}	BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012.
1051-1061	ν_{3a} P-O do grupo PO_4^{3-} em HA ou α -TCP	CARRODEGUAS; DE AZA, 2011; KOUTSOPOULOS, 2002.
1071-1088	ν grupo HPO_4^{2-}	GADALETA et al., 1996; KOUTSOPOULOS, 2002.
1094-1115	ν grupo CO_3^{2-} em HA não estequiométrica	KOUTSOPOULOS, 2002; REY et al., 1991.
1123-1137	ν_{4b} grupo PO_4^{3-} em β -TCP	BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012; KOUTSOPOULOS, 2002; REY et al., 1991.
1140-1153	ν_{4a} grupo PO_4^{3-} em β -TCP	BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, 2012; KOUTSOPOULOS, 2002; REY et al., 1991.
1160-1178 1182-1195	ν grupo PO_4^{3-}	KOUTSOPOULOS, 2002; SANTOS et al., 2017.

* ν = estiramento axial e ν_{3a} , ν_{3b} , ν_{3c} , ν_{4a} e ν_{4b} = vibração de estiramento assimétrico triplamente degenerado.
Fonte: Própria autoria.

Em ~ 1094 e 1115 cm^{-1} observa-se o modo de estiramento axial do grupo CO_3^{2-} . De forma geral, o período de 21 para 28 dias foi marcado por um aumento das áreas percentuais deste grupo para todas as composições avaliadas, em especial, para a composição A. Para tal composição, foi observada a maior área percentual do intervalo entre 1000 e 1200 cm^{-1} , com possíveis substituições de carbonatos na rede cristalina (HUANG et al., 2016) dos fosfatos de cálcio formados.

Bandas de absorção entre 1123 e 1137 cm^{-1} e entre 1140-1153 cm^{-1} podem ser atribuídas ao modo de estiramento assimétrico do grupo PO_4^{3-} na fase β -TCP. Para o primeiro intervalo, ocorreu um aumento da área percentual deste grupo para todas as composições estudadas. No entanto, para o intervalo entre ~ 1140 e 1153 cm^{-1} , nota-se a presença deste grupo somente para a composição A, a qual decresceu sua área percentual de 21 para 28 dias de incubação.

Os intervalos entre ~ 1160 e 1178 cm^{-1} e entre ~ 1182 e 1195 cm^{-1} podem ser relacionados ao modo de estiramento axial do grupo PO_4^{3-} . Para o período de 21 dias de incubação

verificou-se um decréscimo da área percentual deste grupo em toadas as composições. Aos 28 dias, A10Z e A15Z exibiram uma redução da área percentual de PO_4^{3-} . As bandas de absorção entre ~ 1182 e 1195 cm^{-1} seguiram o mesmo comportamento, caracterizado por um decréscimo da área percentual do grupo PO_4^{3-} para todas as composições em função do aumento do período de incubação.

A Figura 5.25 apresenta o perfil de formação dos grupos funcionais dos fosfatos de cálcio obtidos, a partir das bandas deconvoluídas dos espectros de FT-MIR ($400\text{-}1200 \text{ cm}^{-1}$) dos corpos de prova cerâmicos recobertos biomimeticamente em todos os períodos de incubação em SBF 5,0x.

Figura 5. 25 – Formação dos grupos funcionais dos fosfatos de cálcio (FT-MIR) sobre a superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em SBF 5,0x.

Fonte: Própria autoria.

Maiores percentuais de ZrO_2 favoreceram apenas a formação do grupo PO_4^{3-} durante o recobrimento biomimético com o aumento do período de incubação ($r_{\text{ZrO}_2/\text{PO}_4^{3-} \text{ 14 dias}} = 0,95$, $r_{\text{ZrO}_2/\text{PO}_4^{3-} \text{ 21 dias}} = 0,98$ e $r_{\text{ZrO}_2/\text{PO}_4^{3-} \text{ 28 dias}} = 0,89$).

5.2.3.2 – Difração de Raios-X

A Figura 5.26 apresenta os difratogramas de DRX da superfície dos corpos de prova cerâmicos recobertos com fosfatos de cálcio, após incubação em solução de SBF 5x. Em complemento, a Tabela 5.18 apresenta as áreas absolutas para cada fase de fosfato de cálcio e suas atribuições segundo os índices de Miller (hkl) da base de dados JCPDS.

Figura 5. 26 – Curvas deconvoluídas dos difratogramas de DXR da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5.18 – Atribuições e área absoluta das curvas deconvoluídas dos difratogramas de DRX da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x, segundo padrão JCPDS*.

Período de incubação	Índice de Millers (<i>hkl</i>)	Fosfato de cálcio	Área absoluta (10 ⁵)			
			A	A5Z	A10Z	A15Z
14 dias	(511)	α -TCP	0,13	3,60	1,66	3,26
	(0210); (218); (1112); (306); (110)	β -TCP	1,67	0,38	4,83	5,99
	(112); (211); (300)	HA	5,79	7,35	9,35	8,24
21 dias	(511)	α -TCP	4,67	8,28	13,21	6,99
	(218); (128); (1112); (306); (110); (115)	β -TCP	5,69	6,34	3,85	8,93
	(112); (211); (300)	HA	5,13	3,21	6,32	12,20
28 dias	(511)	α -TCP	8,90	6,11	10,13	3,28
	(218); (128); (1112); (306); (110); (115)	β -TCP	4,98	5,18	10,45	7,91
	(112); (202); (211); (300)	HA	10,02	17,72	14,51	27,75

* Baseado nas fichas JCPD nº: 09-432, 73-1731, 09-348, 09-169, 25-1137 e 79-0423.

Fonte: Própria autoria.

Independentemente da composição avaliada, observou-se um aumento da área absoluta do α -TCP em função de maiores períodos de incubação. Para HA, também foi observado um comportamento comum à todas as composições, onde verificou-se um decréscimo da área absoluta desta fase de 14 para 21 dias de incubação, seguida por um aumento aos 28 dias.

Por sua vez, a formação da fase β -TCP foi caracterizada por um aumento em função do período de incubação em A5Z e A15Z. Por sua vez, em A e A10Z observa-se valores de áreas absolutas muito próximos aos 14 e 21 dias de incubação. A HA foi a fase predominante aos 14 e 28 dias de incubação, independente da composição. Nesse caso, o período de 14 dias pode estar relacionado à tendência de formação de fases intermediárias à HA.

Aos 21 dias de incubação não é observado uma tendência entre a formação de fases sobre a superfície dos corpos de prova cerâmicos quanto às suas áreas absolutas. Neste contexto, uma maior formação da fase HA aos 28 dias indica que os corpos de prova exibem boas condições de osseointegração. Além disso, tal propriedade combinada com as particularidades de reabsorção do

TCP, qualifica tal cerâmica à substituição ou reparação do tecido ósseo (ANDREIOTELLI; WENZ; KOHAL, 2009; RAUCCI; GUARINO; AMBROSIO, 2012; SARTORI et al., 2018).

A Figura 5.27 apresenta o perfil da área absoluta total de fosfatos de cálcio obtida mediante análise de FT-MIR aliado ao tratamento matemático de deconvolução em relação às suas respectivas fases, atribuídas segundo base JCPDS.

Figura 5. 27 – Área absoluta da quantidade total de fosfatos de cálcio (determinada por FT-MIR) e as áreas absolutas das fases de fosfatos de cálcio (identificadas por DRX) da superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.

Fonte: Própria autoria.

Uma elevada área absoluta de fosfatos de cálcio foi depositada sobre a superfície dos corpos de prova cerâmicos após incubação em SBF 5,0x. Este aumento das áreas foi progressivo ao aumento do período de incubação ($r_{\text{Área de fosfatos 14 dias}/\text{Área de fosfatos 21 dias}} = 0,97$, $r_{\text{Área de fosfatos 14 dias}/\text{Área de fosfatos 28 dias}} = 0,99$ e $r_{\text{Área de fosfatos 21 dias}/\text{Área de fosfatos 28 dias}} = 0,98$). Além disso, a ZrO_2 influenciou significativamente para tal formação ($r_{\text{ZrO}_2/\text{Área 14 dias}} = 0,98$, $r_{\text{ZrO}_2/\text{Área 21 dias}} = 0,99$ e $r_{\text{ZrO}_2/\text{Área 28 dias}} = 0,99$).

Destaca-se que a deposição de fosfatos totais se relaciona com a formação do β -TCP em todos os períodos de incubação ($r_{\text{Área de fosfatos 14 dias}/\beta\text{-TCP 14 dias}} = 0,85$, $r_{\text{Área de fosfatos 21 dias}/\beta\text{-TCP 21 dias}} = 0,92$ e $r_{\text{Área de fosfatos 28 dias}/\beta\text{-TCP 28 dias}} = 0,87$). Aos 21 dias, a presença das fases α -TCP e HA são concomitantes ($r_{\alpha\text{-TCP 21 dias}/\text{HA 21 dias}} = 0,88$) e aos 28 dias de incubação, observa-se que a formação da fase α -TCP está relacionada ao consumo do β -TCP aos 21 dias ($r_{\alpha\text{-TCP 28 dias}/\beta\text{-TCP 21 dias}} = -0,96$).

5.2.3.3 – Variação do pH durante recobrimento

A Figura 5.28 apresenta o perfil do pH das trocas de soluções de SBF 5,0x realizado durante todo o período de incubação dos corpos de prova cerâmicos.

Figura 5. 28 – Valores de pH da troca de soluções de SBF 5,0x em função dos períodos de incubação durante o recobrimento biomimético dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z.

Fonte: Própria autoria.

O decréscimo do pH observado entre o 4º e o 12º dia de incubação pode ser associado às fases iniciais de formação de núcleos de fosfatos de cálcio pelo consumo de íons OH^- , a qual é seguida pela absorção dos íons Ca^{2+} (QU; WEI, 2008; SCHÖLLER et al., 2011). Nesse sentido, as fases precursoras dos fosfatos associadas aos grupos HPO_4^{2-} e PO_4^{3-} estariam em seus estágios iniciais de formação. A partir de então, a tendência do aumento dos valores de pH na solução se estabelece mediante o consumo de íons carbonatos na solução de SBF, que tende a ser maior com maiores

períodos de imersão dos corpos de prova em solução. Em outras palavras, a camada de fosfatos de cálcio passa a apresentar um aumento do grupo CO_3^{2-} , como também pode ser observado por FT-MIR nas Tabelas 5.14 e 5.16.

5.2.3.4 – *Microscopia Eletrônica de Varredura*

A Figura 5.29 apresenta as micrografias obtidas por MEV dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos por fosfatos de cálcio durante 14, 21 e 28 dias de incubação em SBF 5,0x.

De forma geral, observa-se a presença de alguns glóbulos menores de cristais de fosfatos de cálcio em todos os períodos de incubação, principalmente aos 21 dias e nas composições com maiores percentuais de ZrO_2 na matriz de Al_2O_3 . Estes pequenos cristais indicam que o processo de deposição de camadas de fosfatos está continuamente em desenvolvimento durante o recobrimento.

Barrere et al (2002) sugeriu que uma deposição uniforme depende da competição entre a precipitação na solução e na superfície do corpo de prova. Nesse sentido, fatores de inibição de crescimento de cristais, tais como a presença altamente concentrada do íon Mg^{2+} no SBF 5,0x tende a contribuir para a formação de um revestimento com partículas menores e de forma mais homogênea (BARRERE et al., 2008; BARRERE et al., 2002).

À medida que novas camadas são formadas, observa-se uma sobreposição das mesmas, que pode ocasionar trincas (LEGEROS et al., 2006). No entanto, esta característica não é interessante pois favorece o desprendimento da camada de fosfatos da superfície dos corpos de prova, principalmente em recobrimentos com soluções altamente concentradas e/ou a partir de maiores períodos de incubação.

Figura 5. 29 – Micrografias obtidas por MEV da superfície dos corpos de prova de A, A5Z, A10Z e A15Z recobertos com fosfatos de cálcio após 14, 21 e 28 dias de incubação em solução de SBF 5,0x.

Fonte: Própria autoria.

5.2.4 – Considerações Gerais

A Figura 5.30 apresenta o perfil de formação dos grupos funcionais dos fosfatos de cálcio obtidos por FT-MIR para todos os corpos de prova após 14, 21 e 28 dias de incubação em todas as soluções de SBF estudadas.

Figura 5. 30 – Formação dos grupos funcionais dos fosfatos de cálcio (FT-MIR) sobre a superfície dos corpos de prova recobertos de A, A5Z, A10Z e A15Z após 14, 21 e 28 dias de incubação em SBF 1,0x, 1,5x e 5,0x.

Fonte: Própria autoria.

Considera-se que o aumento da área absoluta de fosfatos totais depositados sobre a superfície de todos os corpos de prova cerâmicos foi progressivo ao aumento da concentração de SBF, independentemente do fator de concentração. Nesse sentido, a influência da ZrO_2 quanto esta deposição foi observada para todos os recobrimentos, principalmente para o emprego do SBF 5,0x entre 21 e 28 dias de incubação ($r_{SBF\ 5,0x\ 21dias/SBF\ 1,0x\ 21dias/SBF\ 1,5\ 21dias} > 0,88$ e $r_{SBF\ 5,0x\ 28dias/SBF\ 1,0x\ 28dias/SBF\ 1,5\ 28dias} > 0,93$). Esse fato sugere, que menores períodos de incubação poderiam ser empregados nas metodologias com SBF 5,0x a fim de minimizar o tempo, a utilização de reagentes e gastos energéticos do processo.

No entanto, é importante mencionar que as composições com maiores percentuais de ZrO_2 apresentaram fundamental importância sobre a formação de fosfatos totais no período de 14 dias de incubação em todos os recobrimentos, ou seja, nas etapas relacionadas à nucleação de cristais de fosfatos de cálcio. Para recobrimento com SBF 1,5x, observa-se uma ligeira similaridade entre A, A5Z e A10Z para os períodos de 14 e 21 dias de incubação. As maiores contribuições da ZrO_2 para formação de fosfatos totais foram observadas apenas para A15Z aos 28 dias.

Recobrimentos com maior grau de saturação da solução de SBF (1,5x e 5,0x) proporcionaram uma deposição de camadas de fosfatos mais uniformemente distribuídas sobre as superfícies dos corpos de prova. Basicamente, esta camada foi caracterizada por quatro grupamentos químicos relativos aos fosfatos sobre a superfície dos corpos de prova: HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} e CO_3^{2-} . Uma característica associada ao recobrimento em concentrações similares ao fluido corporal, é um elevado teor de substituições iônicas nos sítios Ca^{2+} pelos íons CO_3^{2-} (DEY et al., 2010). Ou seja, quando tais características são desejáveis, o emprego de soluções menos concentradas é mais atrativo.

Independente da solução de SBF empregada, três fases foram determinadas: α -TCP, β -TCP e HA. Ao final do período de incubação, a solução proposta originalmente de SBF 1,0x propiciou uma predominância das fases β -TCP e HA para todas as composições estudadas. Para o mesmo período, os recobrimentos com SBF 1,5x e 5,0x apresentaram como fase majoritária a HA seguida pelo β -TCP (A e A5Z) e α -TCP (A10Z e A15Z). Sabendo-se que a fase β -TCP é a termodinamicamente mais estável, maior formação da fase α -TCP aos 28 dias de incubação está relacionada à formação da fase HA ($r_{\alpha-TCP\ 21dias/HA\ 21\ dias} = 0,88$).

6 CONCLUSÕES

- Os corpos de prova cerâmicos exibiram elevada densidade aparente e uma dispersão homogênea das inclusões de ZrO_2 nanométrica na matriz de Al_2O_3 . No entanto, ressalta-se a presença de aglomerados da fase dispersa em composições com maiores percentuais de inclusão devido alta ligação interfacial entre as partículas de ZrO_2 .
- O tratamento superficial com H_3PO_4 proporcionou melhora nas propriedades superficiais dos corpos de prova cerâmicos relacionadas ao aumento da interface líquido-sólido, o que resulta no aumento do perfil hidrofílico superficial dos corpos de prova cerâmicos.
- De forma geral, verificou-se influência da ZrO_2 na maior formação de fosfatos de cálcio sobre as superfícies dos corpos de prova, sendo que as maiores deposições foram observadas para os recobrimentos com soluções de SBF mais concentradas (1,5x e 5,0x).
- Para o recobrimento com SBF 1,0x e 1,5x, observou-se que o aumento da porcentagem da ZrO_2 favoreceu a formação de PO_4^{3-} e CO_3^{2-} , durante todos os períodos de incubação. Aos 28 dias de incubação, a presença destes grupos foi majoritária, comparado ao grupo HPO_4^{2-} . Por sua vez, no recobrimento com SBF 5,0x, o aumento de ZrO_2 na matriz de alumina favoreceu apenas a formação dos grupos PO_4^{3-} .
- Maiores percentuais de ZrO_2 favoreceram a formação da fase α -TCP, em todos os recobrimentos aos 28 dias de incubação. No entanto, para recobrimento com SBF 5,0x, esta formação foi favorecida pelas composições com maiores percentuais de Al_2O_3 , e relacionada ao consumo do β -TCP aos 21 dias.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para futuros trabalhos, apresentam-se as seguintes sugestões:

- Estudo biológico *in vitro* das condições estudadas no presente trabalho, a fim de avaliar o perfil de citotoxicidade, e de proliferação e adesão celular à superfície dos corpos de prova cerâmicos com elevados percentuais de inclusões de ZrO_2 .
- Avaliação da influência das inclusões de ZrO_2 em matriz de Al_2O_3 (até 15% v) com soluções de SBF próximas ao plasma sanguíneo (1,0x e 1,5x), com variação na composição de íons carbonatos, a fim de verificar a formação e a solubilização de fosfatos de cálcio carbonatados.
- Estudo da influência da ZrO_2 sobre a deposição de fosfatos de cálcio em matriz de Al_2O_3 com solução de SBF parcialmente modificadas para induzir trocas iônicas na rede cristalina dos fosfatos de cálcio. Para tal conceito se aplicam os íons Sr^{2+} , Na^+ , F^- , entre outros.

8 REFERENCIAS 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, n. 4, p. 233–238, 1990.

ADAWY, A.; EL-FATTAH, W. I.; TALAAT, M. S. **Biomimetic coating of precalcified Ti-6Al-4V alloy**. In: Open Medical Devices journal. 1, p. 19-28, 2009.

AMIN, A. M. et al. Zirconia Effect on the Bioactivity and the Mechanical Properties of Calcium Magnesium Silicate Ceramics at (CaO+MgO)/SiO₂ Molar Ratio Close to Unity. **Bioceramics Development and Applications**, v.6, n. 1, 2016.

ANDREIOTELLI, M.; WENZ, H. J.; KOHAL, R. J. Are ceramic implants a viable alternative to titanium implants? A systematic literature review. **Clinical Oral Implants Research**, v. 20, n. 4, p. 32–47, 2009.

ARAÚJO, F. O. **Desenvolvimento e caracterização de dispositivos para deposição de filmes finos por descarga em cátodo oco**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2006.

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

BARRERE, F. et al. Influence of ionic strength and carbonate on the Ca-P coating formation from SBF×5 solution. **Biomaterials**, v. 23, n. 9, p. 1921–1930, 2002.

BARRÈRE, F. et al. Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions. **Materials Science and Engineering R: Reports**, v. 59, n. 1–6, p. 38–71, 2008.

BARINOV, S. M. Calcium phosphate-based ceramic and composite materials for medicine. **Russian Chemical Reviews**, v. 79, n. 1, p. 13–29, 2010.

BAUER, S. et al. Engineering biocompatible implant surfaces: Part I: Materials and surfaces. **Progress in Materials Science**, v. 58, n. 3, p. 261–326, 2013.

BBC BRASIL, BBC. Dedo egípcio de 3000 anos pode ser a prótese mais antiga. **Estadão**, São Paulo, 27 de julho de 2007. Disponível em: <http://www.estadao.com.br/noticias/geral,dedo-egipcio-de-3000-anos-pode-ser-protese-mais-antiga,25973>>. Acesso em: 14 de novembro de 2017.

BERZINA-CIMDINA, L.; BORODAJENKO, N. Research of Calcium Phosphates Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Infrared Spectroscopy - Materials Science, Engineering and Technology**, 2012.

BEST, S. M. et al. Bioceramics: Past, present and for the future. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 28, n. 7, p. 1319–1327, 2008.

BILLOTTE, W.G. **Ceramic Biomaterials. Biomedical Engineering Handbook**. Boca Raton: CRC Press, 2000.

BIRRER, N. M. R. **Materiales cerámicos del sistema Mullita Zirconia Zircón; propiedades mecánicas, de fractura y comportamiento frente al choque térmico**. Tese (Doutorado), Universidad Nacional de La Plata, La Plata. 2009.

BOUMAZZA, A.; DEJLLOUL, A.; GUERRAB, F. Power technology. **Journal American Ceramic Society**, v. 201, p. 177-180, 2010.

CALLISTER, J.W.D. **Fundamentals of materials science and engineering: an integrated**. 4ª Edição, LTC Editora: Rio de Janeiro, 2014.

CANILLAS, M. et al. Calcium phosphates for biomedical applications. **Boletín de la Sociedad Espanola de Ceramica y Vidrio**, v. 56, n. 3, p. 91–112, 2017.

CARINO, A. et al. Formation and transformation of calcium phosphate phases under biologically relevant conditions: Experiments and modelling. **Acta Biomaterialia**, v. 74, p. 478–488, 2018.

CARRODEGUAS; DE AZA, 2011. α -Tricalcium phosphate: synthesis, properties and biomedical applications. **Acta biomaterialia**, v.7, n.10., p, 3536-3546, 2011.

CAVALU, S. et al. Surface modification of alumina/zirconia ceramics upon different fluoride-based treatments. **International Journal of Applied Ceramic Technology**, v. 11, n. 2, p. 402–411, 2014.

CHAAIR, H.; LABJAR, H; BRITEL, O. Synthesis of β -tricalcium phosphate. **Morphologie**, v. 101, n. 334, p. 120-124, 2017.

CHAWLA, K. K. **Composite Materials: Science and Engineering**. New York: Springer, 2012.

CHEVALIER, J.; GREMILLARD, L. Ceramics for medical applications: A picture for the next 20 years. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 29, n. 7, p. 1245–1255, 2009.

CHINELATTO, A.S.A. et al. Effect of sintering curves on the microstructure of alumina–zirconia nanocomposites. **Ceramics International**, v.40, p.14669-14676, 2014.

CHOW, L. C. Solubility of Calcium Phosphates. **Octacalcium Phosphrate. Monogl Oral Sci. Basel. Karger**, v. 1, p. 94–11, 2001.

COMBES, C.; REY, C. Amorphous calcium phosphates: Synthesis, properties and uses in biomaterials. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 9, p. 3362–3378, 2010.

CORTES, D. A.; NOGIWA, A. A.; ALMANZA, J. M.; ORTEGA, S. Biomimetic apatite coating on Mg-PSZ/Al₂O₃ composites. Effect of the immersion method. **Materials Letter**, v. 59, p.1352-1355, 2005.

COUTINHO, M. P. **Influência da morfologia da superfície na molhabilidade do titânio comercialmente puro**. 2007. 84p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 2007.

De Jong, W. F. La substance minerale dans les os. **Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas**, v. 45, n. 445-448, 1929.

DEHESTANI, M.; ILVER, L.; ADOLFSSON, E. Enhancing the bioactivity of zirconia and zirconia composites by surface modification. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 100 B, n. 3, p. 832–840, 2012.

DEY, A. et al. The role of prenucleation clusters in surface-induced calcium phosphate crystallization. **Nature Materials**, v. 9, n. 12, p. 1010–1014, 2010.

DJEBAILI, et al. XPS, FTIR, EDX, and XRD Analysis of Al₂O₃ Scales Grown on PM2000 Alloy, v.2015, p. 1-16, 2015.

DOROZHKIN, S.V. Calcium orthophosphates in nature, biology and medicine. **Materials**, v. 2, p.399-498, 2009. **Journal of Spectroscopy**, v. 2015, p. 1-16, 2015.

DOROZHKIN, S. V. A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till 1950, **Materials Science Engineering C**, v. 33, n. 6, p. 3085–3110, 2013.

DROUET, C. Apatite formation: Why it may not work as planned, and how to conclusively identify apatite compounds. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

DURÁN, N.; MATTOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C. **Nanotecnologia: Introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação**. Artlibler: São Paulo, 2006.

ELLIOT, J.C. **Structure and Chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates - Studies in inorganic chemistry**. v.18, Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1994.

ESCADA, A. L. et al. Biomimetic calcium phosphate coating on Ti-7.5Mo alloy for dental application. **Journal of Materials Sciences: Materials in Medicine**, v. 22, n. 11, p. 2457-2465, 2011.

FABBRI, P. et al. Lifetime estimation of a zirconia-alumina composite for biomedical applications. **Dental Materials**, 2014.

FAGA, M. G. et al. Chemical treatment on alumina-zirconia composites inducing apatite formation with maintained mechanical properties. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 32, n. 10, p. 2113–2120, 2012.

FERNÁNDEZ-CARRASCO L., et al. **Infrared Spectroscopy in the Analysis of Building and Construction Materials**. In: Theophanides T. (ed.): **Infrared Spectroscopy – Materials Science, Engineering and Technolog**. InTech, 2012.

GADALETA, S. J. et al. 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, n. 1, p. 9–16, 1996.

GARVIE, R.C.; HANNINK, R.H.; PASCOE, R. T. Ceramic Steel. **Nature**. N. 258, v. 5537, p. 703-704, 1975.

GILBERT TRIPLETT, R.; BUDINSKAYA, O. New Frontiers in Biomaterials. **Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America**, v. 29, n. 1, p. 105–115, 2017.

GUASTALDI, A. C.; 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.

HABRAKEN, W. et al. Calcium phosphates in biomedical applications: Materials for the future? **Materials Today**, v. 19, n. 2, p. 69–87, 2016.

HENCH, L. L. Bioceramics: From concept to clinic. **Journal American Ceramic Society**, v. 74, n. 7, p. 1487–1510, 1991.

HENCH, L. L. Bioceramics. **Journal of American Ceramic Society**, v.81, n.7, p. 1705-1728, 1998.

HENCH, L. L; WILSON, J. **An Introduction to Bioceramics**. Singapore: Word Scientific Publish Co. Pte. Ltd., 1993, 402 p.

HENCH, L. L.; POLAK, J. M. Third-Generation Biomedical Materials. **Science**, v. 295, n. 5557, p. 1014–1017, 2002.

HOLZAPFEL, B. M. et al. 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.

HSU, S. K. et al. Osteogenesis ability of biomimetic modified 3Y-TZP ceramic using chemical treatment. **Thin Solid Films**, v. 596, p. 118–127, 2015.

HUANG, Z. et al. A Biomimetic Synthesis Process for Sr²⁺, HPO₄²⁻, and CO₃²⁻-Substituted Nanohydroxyapatite. **Materials and Manufacturing Processes**, v. 31, n. 2, p. 217–222, 2016.

ISO 13356: Implants for surgery - Ceramic materials based on yttria-stabilized tetragonal zirconia (Y-TZP), 2008.

ISO 6474-1: Implants for surgery - Ceramic materials Part 1: Ceramic materials based on high purity alumina, 2010.

ISO 23317: Implants for surgery - In vitro evaluation for apatite-coating ability of implants materials, 2012.

JEMAT, A. et al.. Surface modifications and their effects on titanium dental implants. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.

KANTANA, W. et al. Properties of hydroxyapatite/zirconium oxide nanocomposites. **Ceramics International**, v. 39, p. 379-382, 2013.

KOBAYASHI, K. et al. Osteoconductive property of a mechanical mixture of octacalcium phosphate and amorphous calcium phosphate. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 6,

n. 24, p. 22602–22611, 2014.

KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? **Biomaterials**, v. 27, n. 15, p. 2907–2915, 2006.

KOKUBO, T. et al. Development of bioactive materials based on surface chemistry. **J Eur Ceram Soc**, v. 29, p. 1267–1274, 2009.

KORMANN, R. B. et al. Estudo experimental da biocompatibilidade de novo material para implante orbitário. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 76, n. 3, p. 141–146, 2013.

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.

KURTZ, S. M. et al. Advances in Zirconia Toughened Alumina Biomaterials for Total Joint Replacement. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 31, p. 107–116, 2015.

LANDI, E. et al. Nucleation of biomimetic apatite in synthetic body fluids: Dense and porous scaffold development. **Biomaterials**, v. 26, n. 16, p. 2835–2845, 2005.

LANGE, F.F.; HIRLINGER, M. M. Hindrance of grain growth in Al_2O_3 by ZrO_2 inclusions. **Journal of the american ceramic society**, v. 67, n. 3, p. 164–168, 1984.

LAONAPAKUL, T. Synthesis of hydroxyapatite from biogenic wastes. **Kku Engineering Journal**, v. 41, n. 4, p. 537–545, 2014.

LEGEROS, R. Z. Properties of osteoconductive biomaterials: Calcium phosphates. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, n.395, p.81-98, 2002.

LEON, B; JANSEN, J. A. **Thin calcium phosphate coatings for medical implants**. Springer: New York, 2009.

LEWALLEN, E. A. et al. Biological Strategies for Improved Osseointegration and Osteoinduction of Porous Metal Orthopedic Implants. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, v. 21, n. 2, p. 218–230, 2015.

LI, J.G. Kinetics of wetting and spreading of Cu-Ti alloys on alumina and glassy carbon substrates. **Journal of Materials Science Letters**, v. 11, n. 23, p. 1551–1554, 1992.

LI, L.; LU, X. MENG, Y. Comparison study of biomimetic strontium-doped calcium phosphate coatings by electrochemical deposition and air plasma spray: morphology, composition and bioactive performance. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 23, n. 10. P. 2359–2368, 2012.

LINDAHL, C. et al. Incorporation of active ions into calcium phosphate coatings, their release behavior and mechanism. **Biomedical Materials (Bristol)**, v. 7, n. 4, 2012.

LIU, G. J. et al. Processing and mechanical behavior of $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ nanocomposites. **Materials Research Bulletin**, v. 33, p. 281-288, 1998.

LOPES, C. C. A. et al. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) application chemical characterization of enamel, dentin and bone. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 53, n. 9, p. 747–769, 2018.

LOTFI, M.; NEJIB, M.; NACEUR, M. Cell Adhesion to Biomaterials: Concept of Biocompatibility. In: **Advances in Biomaterials Science and Biomedical Application**. Chapter 8, p. 207-240, 2013.

MANIVASAKAN, P. et al. Synthesis of Monoclinic and Cubic ZrO_2 Nanoparticles from Zircon. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 94, n. 5, p. 1410-1420, 2011.

MARKETS AND MARKETS. **Biomaterials Market by Type of Materials (Metallic, Ceramic, Polymers, Natural) & Application (Cardiovascular, Orthopedic, Dental, Plastic Surgery, Wound Healing, Neurology, Tissue Engineering, Ophthalmology) - Global Forecast to 2021**. United States of America: Markets and Markets Research Private Ltd., 2016.

MEEJO S. et al. Phase and thermal stability of nanocrystalline hydroxyapatite prepared via microwave heating. **Thermochimica Acta**, v. 447, p. 115-120, 2006.

MEYER, F. et al. Overview of Calcium Phosphates used in Biomimetic Oral Care. **The open dentistry journal**, v. 12, p. 406–423, 2018.

MONTANARO, L. et al. Design of alumina-zirconia nanocomposite powders for implants development. **Ceramic Materials**, v. 62, p. 335–341, 2010.

MORAIS, L. S.; GUIMARÃES, G. S.; ELIAS, C. N. Liberação de íons por biomateriais metálicos. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, v. 12, p. 48–53, 2007.

MOURA, F. N. Síntese e Caracterização de Recobrimentos de Monetita e Hidroxiapatita Parcialmente Substituída com Zinco. 2012. 104f. Tese (Doutorado) – Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 2012.

MUHAMMAD, R.; KUMAR, B.; CHASKAR, A. Synthesis, Characterization and Mechanical Properties of Alumina-Zirconia Nanocomposite Particles. **IOSR Journal of Mechanical and Civil Engineering**, v. 14, n. 03, p. 40–46, 2017.

MURPHY, W.; BLACK, J.; HASTINGS, G. **Handbook of Biomaterial Properties**. 2 edition ed. New York: Springer, 2016.

MURUGAN, R.; RAMAKRISHNA, S. Development of nanocomposites for bone grafting. **Composites Science and Technology**, n. 65, p. 2385–2406, 2003.

NAGLIERI, V. et al. Elaboration of Alumina-zirconia composites: role of the content on the microstructure and mechanical properties. **Materials (Basel)**, v.6, n.5, p. 2090-2102, 2013.

NETO, J. D. S. R. Hidroxiapatita Sintética Nanoestruturada e Esmalte Dental Aquecidos e Irradiados por laser de Er,Cr:YSGG. Caracterização por FTIR e por DRX. p. 120, 2009.

NIIHARA, K. et al. Development of Strong $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiC}$ Composites. In Materials Research Society Symposium Proceedings on International Meeting on Advanced Materials. **Materials Research Society**, v. 4, p. 129-134, 1989.

NING, C.; ZHOU, L.; TAN, G. Fourth-generation biomedical materials. **Biochemical Pharmacology**, v. 19, n. 1, p. 2–3, 2016.

NISHIGUCHI, S. et al. Alkali- and heat-treated porous titanium for orthopedic implants. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 54, n. 2, p. 198-208, 2001.

NONO, M. C. A. Compaction behavior study of powder composed by nanoparticles agglomerates and aggregates. **Materials Science Forum**, v. 530, p. 461- 466, 2006.

OH, J-S. et al. Effect of ZrO_2 Coating on in vitro Formation of Calcium Phosphate. **Metals and Materials International**, v. 8, n.5, p.459-462, 2002.

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, 2014.

OJAIMI, C.L. et al. Microstructural Evolution of Alumina-Zirconia Nanocomposites. **Materials Science Forum**, p.621–626, 2014.

OLIVEIRA, S. V et al. Caracterização química e morfológica do pirofosfato de cálcio obtido por via úmida. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 3, p. 11–20, 2009.

ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, H. S. **Biomateriais: fundamentos e aplicações**, Cultura Médica: Rio de Janeiro, 2006.

ORTEGA-CHAVARRÍA, S.; CORTÉS-HERNÁNDEZ, D. A.; NOGIWA-VALDEZ, A. A. Biomimetic Coating on Zirconia Composites Induced by Chemical Treatment. **Materials Science Forum**, v. 560, n. August, p. 127–132, 2007.

OYANE, A. et al. Preparation and assessment of revised simulated body fluids. **Journal of biomedical materials research part A**, v. 65A, n. 2, p. 188-195, 2003.

PAN, H. B.; DARVELL, B. W. Calcium Phosphate Solubility: The Need for Re-Evaluation. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 2, p. 639–645, 2009.

PARDUN, K. et al. Mixed zirconia calcium phosphate coatings for dental implants: Tailoring coating stability and bioactivity potential. **Materials Science and Engineering C**, v. 48, p. 337-346, 2015.

PARK, J. B.; BRONZINO, J. D. **Biomateriais: princípios e aplicações**, CRC Press: Boca Raton, 2002.

PAVIA, D. L., LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to Spectroscopy a Guide**

for Students of Organic Chemistry. Fort Worth: Harcourt College, 2011.

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

PEREIRA, L. S. **Considerações sobre os energeticismo e a catálise na obra de Wilhelm Ostwald.** 2015. 72f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal da Bahia., Feira de Santana, 2015.

PIERRE, J. et al. Alumina-zirconia composite coated by biomimetic method. *Journal of Non-Crystalline Solids*, v. 352, p.5279-5283, 2006.

PIERRI, J. **Nanocompósito de alumina com inclusões nanométricas de alumina com inclusões nanométricas de zircônia para infraestruturas de próteses odontológicas livres de meta: Avaliação de propriedades mecânicas e análise microestrutural.** 2011.173f. Tese (Doutorado) – Faculdade de odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. Biomaterials: tipos, aplicações e mercado. *Química Nova*, v. 38, n. 7, p. 957–971, 2015.

PISAREK, M. et al. Biomimetic and electrodeposited calcium phosphates coatings on Ti formation, surface characterization, biological response. In: **Biological Engineering – Technical Applications in Medicine.** Chapter 1, p. 3-46, 2013.

PUOCI, F. **Advanced Polymers in Medicine.** Springer: Switzerland, 2015.

QU, H.; WEI, M. The effect of temperature and initial pH on biomimetic apatite coating. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, v. 87, n. 1, p. 204–212, 2008.

QU, H.; WEI, M. The effect of temperature and initial pH on biomimetic apatite coating. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, v. 87, n. 1, p. 204–212, 2008.

RAJASEKHARAN, A. K.; ANDERSSON, M. Role of nanoscale confinement on calcium phosphate formation at high supersaturation. *Crystal Growth and Design*, v. 15, n. 6, p. 2775–2780, 2015.

RAUCCI, M. G.; GUARINO, V.; AMBROSIO, L. Biomimetic Strategies for Bone Repair and Regeneration. *Journal of Functional Biomaterials*, v. 3, n. 4, p. 688–705, 2012.

RATNER, B. D. et al. **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine.** 3 edition ed. London: Elsevier Academic Press, 2013.

REVEL, G. M. **Non contact measurements of apparent density of green ceramics with complex shape.** In: Advances in ceramincs characterization, raw materials processing properties degradation and healing. InTech, p. 83-102, 2011.

REY, C. et al. 2011. Bioactive ceramics: physical chemistry. In: DUCHEYNE, P. et al. s., **Comprehensive Biomaterials**. Elsevier, pp. 187-221, 2011.

RIVERA-MUÑOZ, E. M. **Hydroxyapatite-based materials: synthesis and characterization**. INTECH Open Access Publisher, 2011.

SANTANA, M. **Estudo e Caracterização de Compósitos Cerâmicos Submicrométricos de Alumina-Zircônia para Aplicações em Pilares Cerâmicos**. 2015. 106p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

SANTOS, L.A. **Desenvolvimento de cimento de fosfato de cálcio reforçado por fibras par uso na área médico-odontológica**. 2002. 274p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

SANTOS, K. H. **Estudo da adesão e uniformidade do revestimento de fosfato de cálcio no nanocompósito de alumina-zircônia**. 2016, 158p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, 2016.

SANTOS, K. H. et al. Influence of different chemical treatments on the surface of $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ nanocomposites during biomimetic coating. **Ceramics International**, v. 43, p. 4272-4279, 2017.

SARKAR, D. et al. Synthesis and characterization of sol-gel derived ZrO_2 doped Al_2O_3 nanopowder. **Ceramics International**, v. 33, n. 7, p. 1275–1282, 2007.

SARTORI, T.A.I.C. **Biocerâmicas porosas de alumina e alumina-zircônia recobertas com fosfato de cálcio para implantes ósseos**. 2015. 91p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, USP, Pirassununga, 2015.

SARTORI, T. A. I. C. et al. 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**, v. 38, n. 2, p. 743–751, 2018.

SCHÖLLER, K. et al. Biomimetic route to calcium phosphate coated polymeric nanoparticles: Influence of different functional groups and pH. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 212, n. 11, p. 1165–1175, 2011.

SILVA, K. L. **Obtenção de Nanocompósitos de Alumina- Zircônia para Aplicação como Biomaterial**. 2011, 76f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, SP, 2011.

SMIRNOV, I. V. et al. Structural modification of titanium surface by octacalcium phosphate via pulsed laser deposition and chemical treatment. **Bioactive Materials**, v. 2, n. 2, p. 101–107, 2017.

STOCH, A. et al. FTIR monitoring of the growth of the carbonate containing apatite layers from simulated and natural body fluids. **Journal of Molecular Structure**, v. 511–512, p. 287–294, 1999.

SUPOVA, M. Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: a review. **Ceramics International**, v. 41, n.8, p. 9203-9231, 2015.

TANG, R. K.; NANCOLLAS, G. H.; ORME, C. A. Mechanism of dissolution of sparingly soluble electrolytes. **Journal American Chemistry Society**, n. 123, p. 5437– 5443, 2001.

TAKADAMA, H. et al. Round-robin test of SBF for in vitro measurement of apatite-forming ability of synthetic materials. **Phosphorus Research Bulletin**, v. 17, p. 119-125, 2004.

THAMARAISELVI TV., R. S. Biological evaluation Bioceramic Materials. **Trends Biomater. Artif. Organs**, v. 18, n. 1, p. 9–17, 2004.

THAMPI, V. V. A. et al. Hydroxyapatite, alumina/zirconia, and nanobioactive glass cement for tooth-restoring applications. **Ceramics International**, v. 40, n. 9 PART A, p. 14355–14365, 2014.

TRAYKOVA, T. et al. Bioceramics as nanomaterials. **Nanomedicine**, v. 1, n. 1, p. 91–106, 2006.

TRECCANI, L. et al. Functionalized ceramics for biomedical, biotechnological and environmental applications. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 7, p. 7115–7150, 2013.

TSURU, K. et al. Fabrication of carbonate apatite block through a dissolution-precipitation reaction using calcium hydrogen phosphate dihydrate block as a precursor. **Materials**, v. 10, n. 4, 2017.

UCHIDA, M. et al. Apatite formation on zirconium metal treated with aqueous NaOH. **Biomaterials**, v. 23, n. 1, p. 313–317, 2002.

VALLET-REGI, M.; GONZALEZ-CALBET, J. M. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. **Progress in solid state chemistry**, v. 32, n. 1-2, p.1-31, 2004.

VOL'KHIN, V. V.; ZHARNYL'SKAYA, A. L.; LEONT'EVA, G. V. Physicochemical study of composite gel in the $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-ZrO}_2$ system. **Russian Journal of Inorganic Chemistry**, v. 55, n. 5, p. 670–675, 2010.

VOLMER, M.; WEBER, A. Nucleation of supersaturated structures. **Physical Chemistry**, v. 119, p. 277–301, 1926.

WANG, H.C. et al. Fabrication and characterization of Ni thin films using direct-current magnetron sputtering. **Chinese Physics Letters**, v.22, n. 8, p. 2106-2108, 2005.

WANG, X. **Phase Transformation in TZP-ZrO₂ Under Local Stress and Numerical Simulation**. Tese de Doutorado Mathematisch Naturwissenschaftliche Fakultät, Tübingen. 2010.