



## ***EFEITO DA ADIÇÃO DE $ZrO_2$ NA FORMAÇÃO DE GRUPOS DE FOSFATOS DE CÁLCIO SOBRE A SUPERFÍCIE DO NANOCOMPÓSITO DE $Al_2O_3/ZrO_2$***

**Fabio C. Nunes<sup>1</sup>, Julieta A. Ferreira<sup>1</sup>, Eliria M. J. A. Pallone<sup>1</sup>**

*1 - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Materiais, Universidade de São Paulo (USP/FZEA), Av. Duque de Caxias Norte, 225, Pirassununga/SP, CEP 13635-900.*

*[fabiocaixeta@usp.br](mailto:fabiocaixeta@usp.br)*

### **RESUMO**

*Recobrimentos superficiais com fosfatos de cálcio em biomateriais bioinertes usados na substituição óssea podem tornar essas superfícies bioativas. Por outro lado, a substituição de íons de cálcio ( $Ca^{2+}$ ) por íons de estrôncio ( $Sr^{2+}$ ) tende a aumentar a osteocondução e a bioatividade dos fosfatos, estimulando a regeneração dos tecidos ósseos. O nanocompósito de alumina/zircônia ( $Al_2O_3/ZrO_2$ ) se destaca devido à sua alta resistência ao desgaste e elevada dureza. Tendo isso em vista, o principal objetivo desse estudo foi avaliar a influência da adição de  $ZrO_2$  (5, 10 e 15% vol.) na matriz de  $Al_2O_3$ , na formação de grupos funcionais dos fosfatos de cálcio sobre a superfície dos nanocompósitos, utilizando o recobrimento biomimético em solução de fluido corporal simulado (SBF) 5x mais concentrada, enriquecida com  $Sr^{2+}$ . Para isso, nanocompósitos sinterizados (1500 °C/2h) foram caracterizados utilizando densidade aparente (D.A.) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Em seguida, foram tratados quimicamente utilizando ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ) durante 4 dias. Na sequência, os nanocompósitos foram recobertos biomimeticamente por 14 dias e caracterizados por difratometria de raios-X (DRX), espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e MEV. Observou-se que as inclusões de  $ZrO_2$  estavam localizadas nos pontos tríplexes das matrizes de  $Al_2O_3$ . Após recobrimento, foi observado que todas as superfícies foram recobertas com glóbulos de fosfatos de cálcio. Foram identificadas fases de fosfatos de cálcio e de estrôncio, sugerindo a incorporação de íons de  $Sr^{2+}$  nos fosfatos. Além disso, observou-se maior formação de fases de fosfatos em função do aumento do percentual de  $ZrO_2$ , o que sugere a obtenção de um biomaterial bastante promissor para aplicações biomédicas.*

**Palavras-chave:** Alumina-Zircônia, Estrôncio, Fosfatos de cálcio, Nanocompósito.

### **INTRODUÇÃO**

Na busca por sistemas bioativos com potencial aplicação na substituição ou reparação de tecidos ósseos, os fosfatos de cálcio se destacam devido à sua similaridade com a fase mineral dos ossos <sup>(1)</sup>. Ao combinar os fosfatos de cálcio com biocerâmicas de alta resistência mecânica, como os nanocompósitos de alumina/zircônia ( $Al_2O_3/ZrO_2$ ), têm-se um biomaterial promissor visando sua aplicação como implantes ósseos <sup>(2, 3)</sup>.

Abe e et al. (1990) desenvolveram um método de baixo custo para a obtenção de diferentes fases de fosfatos de cálcio de interesse biológico, denominado “método biomimético”<sup>(4)</sup>. Esse método consiste na imersão de um substrato em uma solução denominada *Simulated Body Fluid* (SBF) com concentração iônica e pH semelhante aos fluidos corpóreos. Nesse trabalho, utilizou-se uma solução de SBF 5x mais concentrada que a de Abe et al., visando reduzir o tempo de incubação<sup>(5)</sup>.

Por outro lado, a incorporação de íons terapêuticos na estrutura dos fosfatos de cálcios vem sendo amplamente investigada visando aumentar a adsorção, bioatividade e osteocondução<sup>(2)</sup>. Nesse sentido, a substituição dos íons  $\text{Ca}^{2+}$  por  $\text{Sr}^{2+}$  pode estimular a formação óssea, reduzindo a absorção e aumentando a força de ligação óssea<sup>(6)</sup>.

Para aumentar a interação da superfície do substrato com a solução SBF durante o período de incubação, diversos métodos de tratamentos superficiais podem ser utilizados<sup>(7)</sup>. Nesse estudo, utilizou-se o tratamento químico da superfície com ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), visando ativar a superfície para promover uma maior interação interfacial entre o substrato e a camada de fosfatos depositada sobre essa superfície<sup>(7)</sup>.

Assim, o principal objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da adição de  $\text{ZrO}_2$  (5, 10 e 15% de inclusões nanométricas) na matriz de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  na formação de grupos funcionais dos fosfatos de cálcio sobre a superfície desses nanocompósitos, utilizando solução de SBF 5x enriquecida com 1,00 mmol/L  $\text{Sr}^{2+}$ .

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para obtenção dos nanocompósitos, foram obtidos pós-comerciais de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (AKP-53, Sumitomo Chemical Co., Japão), 99,995% e tamanho médio de 0,2  $\mu\text{m}$ , e  $\text{ZrO}_2$  parcialmente estabilizada com 3,0% em mol de ítria, 99,999% com tamanho médio de partículas de 50,0 nm (Nanostructured Materials Inc.). Foram preparadas soluções alcoólicas de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  e  $\text{ZrO}_2$ , possibilitando o gotejamento de  $\text{ZrO}_2$  nas proporções de 5 % (A5Z), 10 % (A10Z) e 15% (A15Z), na  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , conforme descrito por Santos et al., 2017<sup>(3)</sup>.

Foram conformadas amostras em formato cilíndricas de 8 mm de diâmetro e 4 mm de altura usando prensagem uniaxial, seguida de prensagem isostática (200MPa). Em seguida, as amostras foram calcinadas a 600 °C/1h e sinterizadas a 1500 °C/2h.

Na sequência, os nanocompósitos foram imersos em solução de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  durante 4 dias, a 90 °C, para realização do tratamento químico superficial. Em seguida, foram recobertos biomimeticamente em solução de SBF 5x enriquecida com 1 mmol/L de  $\text{Sr}^{2+}$ , sob agitação usando 60 rpm, a 36,5 °C, por 14 dias, conforme descrito por Nunes et al., 2021<sup>(2)</sup>. Os nanocompósitos foram então lavados com água destilada e secos em dessecador à temperatura ambiente por 72 horas.

Os nanocompósitos foram caracterizados utilizando medidas de densidade aparente, seguindo o princípio de Arquimedes. Avaliou-se a microestrutura dos nanocompósitos a partir de microscopia eletrônica de varredura (MEV), após polimento e ataque térmico a 1450 °C/10min.

A camada bioativa de fosfatos depositada usando recobrimento biomimético foi caracterizada utilizando DRX (entre 20 e 45 °), FTIR, na região entre 1000 e 1650  $\text{cm}^{-1}$  e MEV.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de densidade aparente (D.A.) foram determinados em função do percentual de densidade teórica dos nanocompósitos (% DT). Assim, obteve-se para os nanocompósitos os valores:  $97,38 \pm 0,11$ ,  $98,26 \pm 0,37$ ,  $98,33 \pm 0,69$ , sendo A5Z, A10Z e A15Z, respectivamente. De maneira geral, os valores D.A. obtidos indicaram um elevado

empacotamento das partículas e consolidação durante o processamento. Esses resultados corroboram com as micrografias obtidas por MEV da superfície polida e atacada termicamente dos nanocompósitos A5Z, A10Z e A15Z antes do tratamento químico superficial, conforme apresentado na Figura 1.

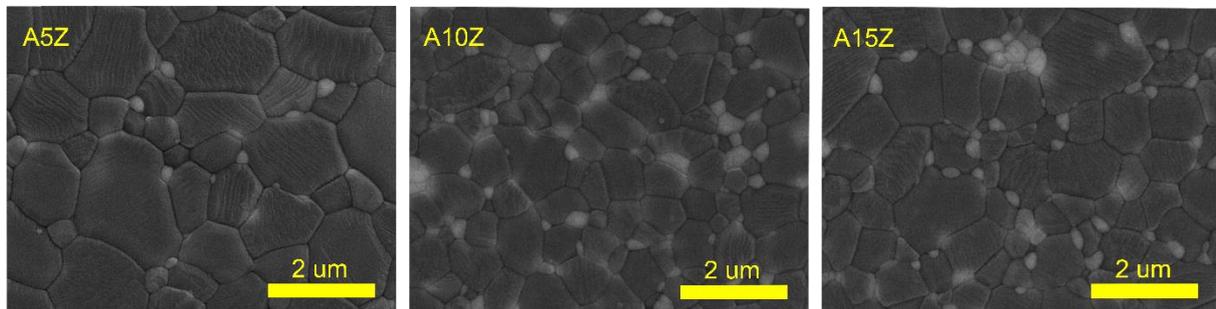


Figura 1: Micrografias obtidas por MEV da superfície do corpo de prova de A5Z, A10Z e A15Z.

É possível observar na Figura 1 a distribuição das inclusões nanométricas de  $ZrO_2$  (regiões claras) nas matrizes de  $Al_2O_3$  (regiões escuras). Observou-se ainda que as inclusões estão localizadas nos pontos tríplices das matrizes de  $Al_2O_3$ , e assim, atuam como inibidoras do crescimento de grãos <sup>(2, 3)</sup>. A dispersão das inclusões nos nanocompósitos A5Z foi mais uniforme comparando com as demais composições. A formação de aglomerados das nanopartículas pode causar diminuição da resistência mecânica dos nanocompósitos.

Após o tratamento superficial e recobrimento com SBF 5x, os nanocompósitos foram caracterizados por DRX. A Figura 2 ilustra as curvas deconvoluídas de DRX da superfície da composição A5Z. Esse procedimento foi similar para as demais composições. A partir dessas curvas, foram identificadas as fases  $\alpha$  e  $\beta$ -fosfato tricálcico ( $\alpha$  e  $\beta$ -TCP), fosfato tetracálcico (TTCP), hidroxiapatita (HAp), hidroxiapatita substituída com  $Sr^{2+}$  (Sr-HAp) e fosfato de estrôncio (SrP), de acordo com as fichas JCPDS, as quais foram quantificadas (Figura 2b).

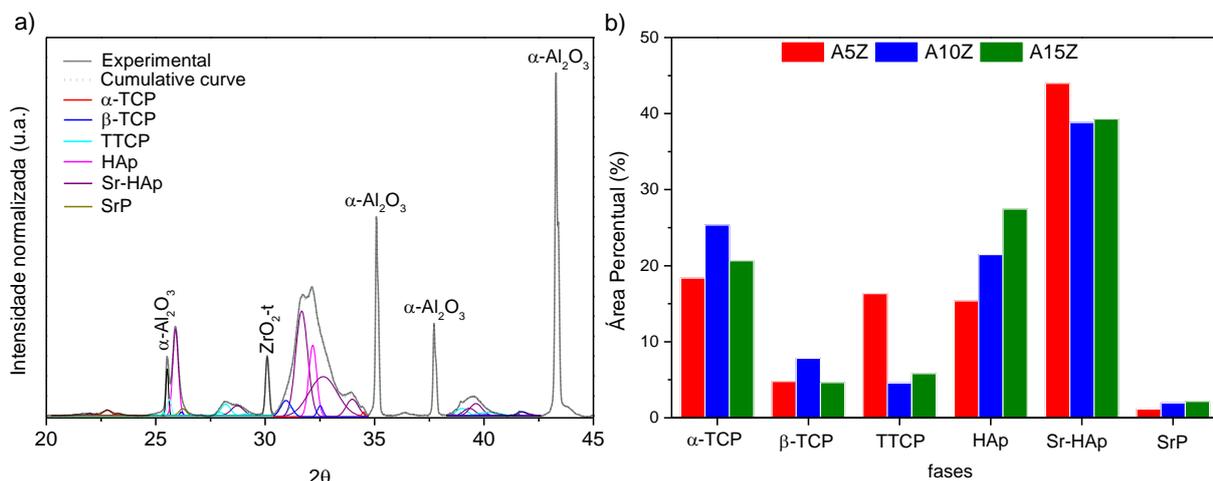


Figura 2: a) Curvas deconvoluídas de DRX da composição A5Z; b) áreas percentuais das fases de fosfatos formadas sobre as superfícies dos nanocompósitos A5Z, A10Z e A15Z.

De maneira geral, foi avaliada a influência do aumento do volume de inclusões de  $ZrO_2$  na formação das fases de fosfatos de cálcio. A composição A10Z apresentou maiores áreas percentuais de  $\alpha$ -TCP (nos planos (202), (151), (132)) e  $\beta$ -TCP (202), (151), (132)), comparado às demais composições. Já a composição A5Z apresentou maior formação de TTCP ((040), (-121), (-151)) e Sr-HAp ((130), (211), (300)). Por outro lado, a composição A15Z foi a

que obteve maior área percentual das fases HAp ((211), (002), (112)) e SrP ((211), (221), (333)). Essas duas últimas fases, apresentaram uma correlação evidente de aumento de suas áreas percentuais em função do volume de  $ZrO_2$ . A incorporação dos íons de  $Sr^{2+}$  podem ocasionar o rearranjo da estrutura dos fosfatos de cálcio, influenciando na solubilidade, por exemplo <sup>(6)</sup>. Caracterizar as fases dos fosfatos de cálcio é importante para prever as características dos biomateriais quando implantados, como a solubilidade, degradação e estabilidade química <sup>(5, 8)</sup>.

A Figura 3 ilustra as curvas deconvoluídas de FTIR dos nanocompósitos, sua segunda derivada e áreas percentuais totais dos grupos funcionais (entre 1000 e 1650  $cm^{-1}$ ).

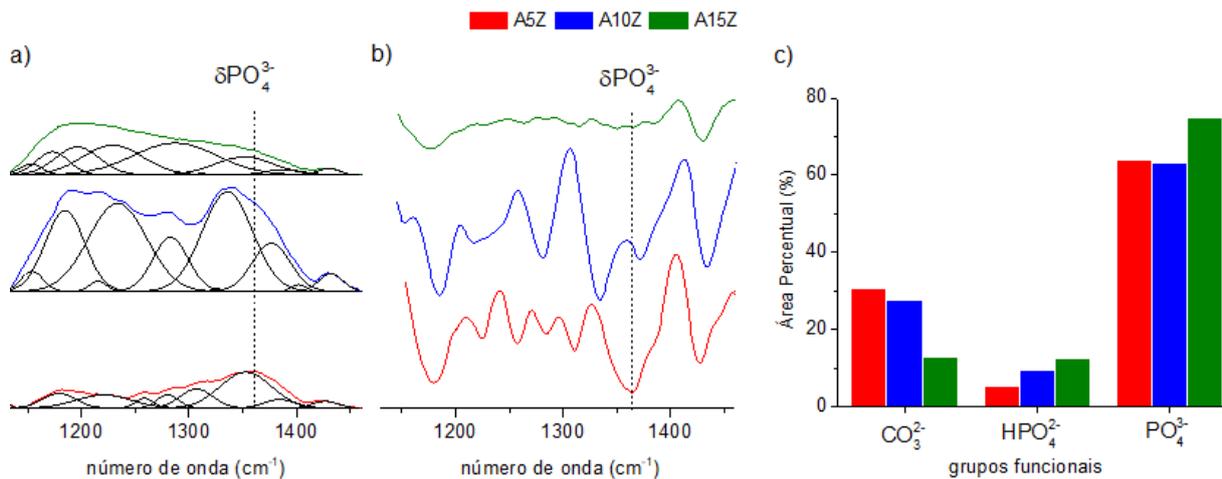


Figura 3: a) Curvas deconvoluídas de FTIR dos nanocompósitos de A5Z, A10Z e A15Z recobertos, na região entre 1130 e 1460  $cm^{-1}$ ; b) segunda derivada das curvas deconvoluídas; c) área percentual dos grupos funcionais na região entre 1000 e 1650  $cm^{-1}$ .

Usando esse método, foi possível observar a influência dos grupos funcionais relacionados à  $ZrO_2$  na formação dos fosfatos de cálcio. Esse procedimento foi adotado na região entre 1000 e 1650  $cm^{-1}$  para todas as condições estudadas. Em geral, tanto a intensidade como o número de onda das bandas de absorção dos grupos funcionais de fosfatos, presentes na superfície dos nanocompósitos, apresentaram alterações significativas na região entre 1130 e 1460  $cm^{-1}$ . Sugere-se que isso ocorreu devido ao maior volume dos grupos funcionais Zr-O na superfície dos nanocompósitos, os quais podem facilitar a nucleação e deposição de fases de fosfatos durante o recobrimento.

Ao aumentar o volume de inclusões de  $ZrO_2$ , os grupos  $HPO_4^{2-}$  e  $PO_4^{2-}$  demonstraram uma ligeira tendência de aumento em suas áreas percentuais, enquanto que os valores de áreas relacionadas ao grupo  $CO_3^{2-}$  diminuíram. Em geral, todos os grupos funcionais foram significativamente influenciados pela  $ZrO_2$ :  $r_{vol. ZrO_2/CO_3^{2-}} = -0,94$ ;  $r_{vol. ZrO_2/HPO_4^{2-}} = 0,83$ ;  $r_{vol. ZrO_2/PO_4^{3-}} = 0,99$ . Observou-se ainda que o aumento do volume de inclusões de  $ZrO_2$  apresentou uma tendência de aumento das áreas absolutas totais atribuídas aos grupos funcionais relacionados aos fosfatos. Assim, quanto maior o percentual de  $ZrO_2$ , maior formação de fosfatos de cálcio sobre as superfícies dos corpos de prova. Ao investigar a influência das inclusões de  $ZrO_2$  na bioatividade, Amin et al. (2016) relataram maior contribuição na adesão dos fosfatos de cálcio, aprimorando as respostas *in vitro* <sup>(9)</sup>. Nesse sentido, a adição das inclusões de  $ZrO_2$  na matriz de  $Al_2O_3$ , independente do volume utilizado, apresentou-se como uma alternativa para o desenvolvimento desses materiais recobertos com fosfatos de cálcio, visando aumentar a interação dos biomateriais com o tecido hospedeiro.

É importante mencionar que os grupos funcionais  $HPO_4^{2-}$  e  $CO_3^{2-}$  são importantes precursores na formação dos fosfatos de cálcio <sup>(5)</sup>. Esses grupos podem influenciar as

propriedades físicas dos fosfatos, como a cristalinidade e a solubilidade. A fase hidroxiapatita (HAp), por exemplo, é formada a partir da dissolução de  $\text{CO}_3^{2-}$ , visto que o método biomimético envolve a migração de íons da solução SBF para precipitação das fases de fosfato.

Além disso, a adição dos íons  $\text{Sr}^{2+}$  pode ter causado o alargamento das bandas de absorção no espectro de FTIR, alterando sua intensidade e número de onda. Sugere-se que isso ocorre principalmente devido ao aumento da desordem da estrutura dos fosfatos, o que pode degenerar as ligações. Os fosfatos, em geral, apresentam uma característica importante, relacionada a potencialidade de incorporação de íons, flexibilizando a composição e arranjo estrutural, como ocorre com a substituição catiônica de íons  $\text{Sr}^{2+}$  (6).

A Figura 4 apresenta as micrografias obtidas por MEV da superfície dos nanocompósitos após recobrimento biomimético.

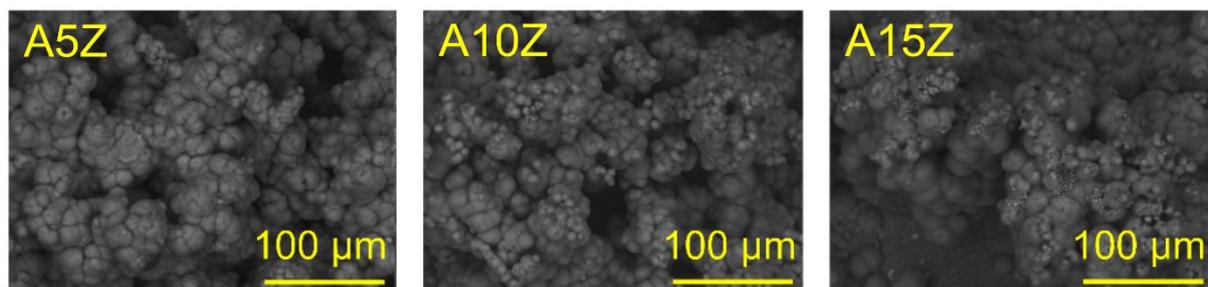


Figura 4: Micrografias obtidas por MEV da superfície dos nanocompósitos.

Foi possível observar a sobreposição de camadas de fosfatos sobre as superfícies, em todas as condições estudadas. Tanto a morfologia quanto o tamanho dos glóbulos formados são influenciados pelas condições de incubação utilizando a solução de SBF. De forma análoga, as propriedades superficiais também têm influência na deposição das fases de fosfatos de cálcio sobre a superfície do substrato (3,7).

## CONCLUSÕES

Nesse trabalho, obteve-se nanocompósitos de  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$  recobertos com fosfatos de cálcio enriquecidos com íons  $\text{Sr}^{2+}$ . Observou-se uma microestrutura densa dos nanocompósitos, em concordância com os valores de densidade aparente obtidos. Além disso, os nanocompósitos recobertos apresentaram uma tendência de aumento nos valores de área percentual atribuídos aos grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  e  $\text{HPO}_4^{2-}$  em função do aumento do volume de inclusões nanométricas de  $\text{ZrO}_2$ , o que é importante para a formação dos fosfatos de cálcio/estrôncio. Foi possível observar que todas as condições estudadas apresentaram a sobreposição de glóbulos de fosfatos, sendo identificadas fases de fosfatos de cálcio e de estrôncio, indicando que esses biomateriais apresentam potencial para aplicações em terapias de regeneração óssea.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à CAPES pelo apoio financeiro e à Embrapa Instrumentação pelas análises de FTIR.

## REFERÊNCIAS

1. DEMIREL, M.; KAYA, A. I. Effect of strontium-containing compounds on bone grafts. **J. Mater. Sci.**, vol. 55, no. 15, p. 6305–6329, 2020.
2. NUNES, F. C. et al. Influence of  $\text{Sr}^{2+}$  in calcium phosphates formation on the surface of  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$

nanocomposites. **Ceram. Int.**, vol. 47, n. 21, p. 30685–30690, 2021.

3. 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. **Ceram. Int.**, vol. 43, no. 5, p. 4272–4279, 2017.

4. ABE, Y.; KOKUBO, T.; YAMAMURO, T. Apatite coating on ceramics, metals and polymers utilizing a biological process. **J. Mater. Sci.: Materials in Medicine**, vol. 1, no. 4, p. 233–238, 1990.

5. KOKUBO, T. et al. Development of bioactive materials based on surface chemistry. **J. Eur. Ceram. Soc.**, vol. 29, no. 7, p. 1267–1274, 2009.

6. QUERIDO, W. et al. Strontium ranelate changes the composition and crystal structure of the biological bone-like apatite produced in osteoblast cell cultures. **Cell Tissue Res.**, vol. 357, no. 3, p. 793–801, 2014.

7. MACAN, J. et al. Mechanical properties of zirconia ceramics biomimetically coated with calcium deficient hydroxyapatite. **J. Mech. Behav. Biomed. Mater.**, vol. 111, no. May, p. 104006, 2020.

8. ARJUNAN, A. et al. Future directions and requirements for tissue engineering biomaterials. Encyclopedia of smart materials. Elsevier, Amsterdam, p 195–218, 2021.

9. AMIN, A. M. et al. Zirconia Effect on the Bioactivity and the Mechanical Properties of Calcium Magnesium Silicate Ceramics at  $(\text{CaO}+\text{MgO})/\text{SiO}_2$  Molar Ratio Close to Unity. **Bioceram. Dev. & Appl.**, vol. 6, n. 1, 2016.

## **EFFECT OF $\text{ZrO}_2$ ADDITION ON THE FORMATION OF CALCIUM PHOSPHATE GROUPS ON THE SURFACE OF $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ NANOCOMPOSITE**

### **ABSTRACT**

*Surface coatings with calcium phosphates on bioinert biomaterials used in bone replacement can make these surfaces bioactive. Alternatively, the replacement of calcium ions ( $\text{Ca}^{2+}$ ) by strontium ions ( $\text{Sr}^{2+}$ ) tends to increase osteoconduction and bioactivity of phosphates, stimulating bone tissue regeneration. The alumina/zirconia ( $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ ) nanocomposite stands out because of its high wear resistance and high hardness. With this in mind, the main objective of this study was to evaluate the influence of  $\text{ZrO}_2$  addition (5, 10, and 15% vol.) on the formation of functional groups of calcium phosphates on the surface of  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$  nanocomposites using 5x simulated body fluid (SBF) solution enriched with  $\text{Sr}^{2+}$ . For this, sintered (1500 °C/2h) nanocomposites were characterized using relative density and scanning electron microscopy (SEM). They were then chemically treated using phosphoric acid ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) for 4 days. Next, the nanocomposites were biomimetically coated for 14 days. The coated nanocomposites were characterized by X-ray diffractometry (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and SEM. It was observed that the  $\text{ZrO}_2$  inclusions were located in the triple points of the  $\text{Al}_2\text{O}_3$  matrices. After coating, it was observed that all conditions were coated with phosphate globules on the surfaces of the nanocomposites. Phosphate phases containing calcium and strontium have been identified, suggesting that ions of  $\text{Sr}^{2+}$  were incorporated into phosphates. Additionally, as  $\text{ZrO}_2$  percentage increased, more phosphate phases formed, suggesting a highly promising biomaterial with biomedical applications.*

**Keywords:** Alumina-Zirconia, Strontium, Calcium phosphates, nanocomposite.