



Ministério da
**Ciência, Tecnologia
e Inovação**



**ESTUDO DE PARÂMETROS PARA A ELETRODEPOSIÇÃO DE
HIDROXIAPATITA SOBRE NANOTUBOS DE CARBONO
ALINHADOS VISANDO APLICAÇÕES COMO ARCABOUÇOS
PARA CRESCIMENTO ÓSSEO**

Relatório sobre estudo de parâmetros para eletrodeposição de hidroxiapatita em nanotubos de carbono desenvolvido durante o período de iniciação científica.

Caroline de Souza Oliveira

INPE
São José dos Campos
Versão: 2012-07-16



Ministério da
**Ciência, Tecnologia
e Inovação**



**ESTUDO DE PARÂMETROS PARA A ELETRODEPOSIÇÃO DE
HIDROXIAPATITA SOBRE NANOTUBOS DE CARBONO
ALINHADOS VISANDO APLICAÇÕES COMO ARCABOUÇOS
PARA CRESCIMENTO ÓSSEO**

Caroline de Souza Oliveira (INPE, Bolsista PIBIC/CNPq)
E-Mail: carol.engquimica@gmail.com

Evaldo José Corat (LAS/INPE, Orientador)
E-Mail: corat@las.inpe.br

Co-orientador
Dr. Anderson de Oliveira Lobo (NANOBIÓ/UNIVAP)
E-Mail: aolobo@univap.br

Julho/2012

AGRADECIMENTOS

Ao coordenador do Laboratório de Nanotecnologia Biomédica, professor doutor Anderson de Oliveira Lobo pela grande contribuição no projeto de iniciação científica.

Ao Graduando de Engenharia Química Fernando Bettoni Teixeira.

Aos alunos de Iniciação Científica do Laboratório de Nanotecnologia Biomédica da Universidade do Vale do Paraíba que colaboraram em todos os processos do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da bolsa de iniciação científica.

RESUMO

Na medicina regenerativa, nanotubos de carbono verticalmente alinhados (VACNT), são de grande interesse. Moldes induzidos de nanohidroxiapatita (HAp) também são de grande interesse na medicina ósseo-regenerativa. Assim uma combinação de ambas torna-se muito atraente para aplicações de regeneração óssea. Filmes de (VACNT) foram produzidos utilizando um reator de plasma de microondas a 2.45GHz sobre substratos de Ti (10mmx10mmx1mm). Filmes de VACNT superhidrofílicos (VACNT-O₂) foram obtidos com a funcionalização com plasma de O₂ utilizando um reator de plasma assistido por descarga de corrente pulsada. A produção de nanocompósitos de HA/VACNT-O₂ foi realizada por eletrodeposição dos filmes de HAp sobre os filmes de VACNT-O₂. Os resultados mostram que um grupo funcional carboxílico ligado ao VACNT-O₂ após o tratamento a plasma são essenciais para a aceleração da formação de OH⁻ e para a deposição dos cristais de HAp. As técnicas de microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia dispersiva de raio-x e espectroscopia Raman, revelaram a alta homogeneidade de cristais eletrodepositados, cristalinidade, estrutura e composição química e estequiometria do biofilme de HAp. Tais resultados tornam atraentes os nanocompósitos de HAp/ VACNT-O₂ para a regeneração óssea.

DIRECT HYDROXYAPATITE ELECTRODEPOSITION ON SUPERHYDROPHILIC VERTICALLY ALIGNED CARBON NANOTUBE FILMS

ABSTRACT

Vertically aligned multiwalled carbon nanotubes (VACNT) is of particular interest in regenerative medicine. Template-induced nanohydroxyapatite (HAp) has broad prospects in applied fields of bone regenerative medicine. Thus, it becomes very attractive a combination these two excellent materials to bone tissue engineering applications. VACNT films were produced as a thin film, using a microwave plasma chamber at 2.45GHz on Ti substrates (10mmx10mmx1mm). Superhydrophilic VACNT (VACNT-O₂) films were obtained by the incorporation of oxygen-containing groups using a pulsed-direct current plasma reactor with pure oxygen. The fabrication of HAp/VACNT-O₂ nanocomposites was performed with a direct electrodeposition of the thin HAp films on the VACNT-O₂ films. Results shows that the carboxylic functional groups directly attached on VACNT-O₂ tips after oxygen plasma treatment were essential for the acceleration of the OH⁻ formation and the deposition of plate-like HAp crystals. Field emission gun scanning electron microscopy, X-ray dispersive spectrometer and Raman spectroscopy shows that a homogeneous crystals, highly crystalline, structural and stoichiometric HAp biofilms. These findings were very attractive to application of this new HAp/ VACNT-O₂nanocomposites to bone tissue regeneration.

Índice de Figuras

Figura 2.1: Exemplos típicos de estruturas de CNT [5].	14
Figura 2.2: Esquema da construção de um SWCNT. Adaptado de [5].	15
Figura 2.3: Estruturas geométricas de SWCNT. (a) CNT armchair (5,5), (b) CNT zigzag (9,0) e (c) CNT chiral (10,5). Adaptado de [5].	16
Figura 2.4: Observações de VACNT com N tubos coaxiais e vários diâmetros internos, d_i e externos, d_e . (a) $N = 5$, $d_i = 6,7$ nm, (b) $N = 2$, $d_e = 5,5$ nm e (c) $N = 7$, $d_i = 2,3$ nm $d_e = 6,5$ nm. Adaptado de [6].	17
Figura 2.5: Esquema do tipo de crescimento dos VACNT durante a síntese [8].	18
Figura 2.6: Rede cristalina da HAp no plano cristalográfico 001 [32].	20
Figura 2.7: Detalhe do arranjo hexagonal dos átomos de cálcio ao redor do radical hidroxila [32].	20
Figura 2.8: Ilustração da célula de deposição de fosfato de cálcio. (adaptado de [45])	24
Figura 2.9: Esquema ilustrando a dupla camada elétrica formada por íons adsorvidos na superfície do eletrodo metálico e por íons solvatados. (A) camada interna de Helmholtz, (B) camada externa de Helmholtz [47].	25
Figura 3.1: Uma vista do desenho de conjunto do reator de microondas de alumínio anodizado.	29
Figura 3.2: Diagrama esquemático do reator para crescimento dos VACNT. Elaborado por Anderson de Oliveira lobo cujo trabalho é antecessor deste.	30
Figura 3.3: Ilustração da célula de eletrodeposição de HAp.	32
Figura 3.4: Montagem do anodo para eletrodeposição de HAp.	33
Figura 3.5: Sistema de eletrodeposição montado no Laboratório de Nanotecnologia Biomédica – UNIVAP.	34
Figura 1.1: MEV mostrando os cristais de HAp formados sobre as amostras de VACNTs-O ₂ obtidos por eletrodeposição.	35
Figura 4.2: MEV dos cristais de HAp formados sobre as amostras de VACNTs-O ₂ . (a) mostra a homogeneidade e quantidade de cristais produzidos. (b) detalhe das dimensões médias formadas.	36

Figura 4.2: Imagens de MEV mostrando a evolução do crescimento de cristais de HAp sobre VACNTs-O₂. Os tempos de eletrodeposição foram de (a.1 e a.2) 20 minutos, (b.1 e b.2) 30 minutos e (c.1 e c.2) 2 horas.....37

Figura 4.4: EDS dos filmes de HAp obtidos sobre VACNTs-O₂. 38

Índice de Tabelas

Tabela 3.1: Eletrodeposição de HAp.....	32
---	----

Sumário

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1	Nanotubos de Carbono e Nanofilamentos	13
2.2	Nanotubos de Carbono de Parede Simples (SWCNT)	14
2.3	Nanotubos de Carbono de Parede Múltipla Verticalmente Alinhados (VACNT)	16
2.4	Síntese de VACNTs	17
2.5	Nanobiomateriais à base de CNT	19
2.6	Hidroxiapatita (HAp)	20
2.6.1	A Hidroxiapatita sintética	23
2.6.2	A Deposição eletroquímica	23
2.6.3	HAp e CNT	26
3	MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1	Produção e modificação superficial dos VACNTs	28
3.1.1	Preparação das amostras	28
3.1.2	Deposição dos Filmes Catalisadores	28
3.2	Crescimento dos VACNT utilizando MWCVD	28
3.2.1	Processo de Deposição	30
3.3	Tratamento dos VACNT alinhados utilizando plasma de O ₂	31
3.4	Eletrodeposição de hidroxiapatita sobre VACNT-O ₂	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS E TRABALHOS FUTUROS	41
6	LISTA DE PUBLICAÇÕES	42
6.1	Artigos completos submetidos para publicação em anais de congressos	42
6.2	Resumos publicados em anais de congressos	42
7	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1 INTRODUÇÃO

Nos dias de hoje muito se é estudado quando se diz respeito à nanomateriais, a mais de 20 anos, nanotubos de carbono verticalmente alinhados (VACNT) são estudados. Sua linha de produção é solidificada e sua classificação é extensa devido a sua estrutura de ligações.

Neste projeto, inicialmente os VACNTs são visados para a utilização em arcabouços para crescimento tecidual (*scaffolds*): os VACNTs proporcionam o reforço estrutural necessário para suporte de tecidos. Pesquisadores já comprovaram que, dispersando uma pequena fração de nanotubos de carbono em um polímero, observa-se uma significativa melhora em sua resistência mecânica [1].

Devido a similaridade com o tecido ósseo a hidroxiapatita (HAp) está sendo muito utilizada também como revestimento de próteses de quadril pois induz a osteointegração e garante uma boa fixação da prótese. A incorporação de VACNTs nestes revestimentos vem sendo investigada com o intuito de melhorar as propriedades mecânicas da HAp [2].

Este projeto é uma sequencia da tese de doutorado de Anderson de Oliveira Lobo [3], o qual desenvolveu os parâmetros utilizados para o crescimento e funcionalização dos nanotubos de carbono, também desenvolveu a técnica de eletrodeposição de HAp em VACNTs, a qual está sendo utilizados os estudos aqui propostos para afirmar quais são os parâmetros ideais a serem utilizados em projetos e testes futuros para a produção dos scaffolds para a regeneração óssea.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Nanotubos de Carbono e Nanofilamentos

Em 1991, o microscopista Sumio Iijima, da NEC Corporation-Japão, estudava o material depositado no catodo durante evaporação voltaica para síntese de fulerenos. Foi então que ele observou que a região central do depósito do catodo continha uma variedade de estruturas grafíticas fechadas, incluindo nanopartículas e nanotubos de carbono (CNT) que não tinham sido observados anteriormente [4]. Em seguida, Thomas Ebbesen e Pulickel Ajayan, do mesmo laboratório, mostraram como os CNTs poderiam ser obtidos em grandes quantidades, simplesmente pela variação das condições de evaporação a arco voltaico. Esses fatos pavimentaram a explosão de pesquisas nas propriedades físico-químicas de CNTs em todos os laboratórios mundiais. As “agulhas” inicialmente obtidas apresentavam comprimento de até 1 mm, consistindo de tubos concêntricos fechados em uma das extremidades ou camadas de grafites enroladas. Foi constatado que o menor tubo apresentava 2,2 nm de diâmetro, que correspondia aproximadamente a um anel de 30 átomos de carbonos hexagonais [5]. Algumas dessas agulhas consistiam de somente dois tubos fechados na extremidade, enquanto outros continham mais de 50. A separação entre os tubos era de 0,34 nm, que é correspondente à separação interlamelar entre as camadas de grafite. Os CNTs são estruturas semelhantes ao fulereno, que consistem de cilindros de grafeno fechados nas extremidades por anéis pentagonais. A figura 2.1 mostra exemplos típicos da estrutura dos CNT.

Em geral, existem dois tipos de CNTs: os CNT de parede simples (SWCNT) e os CNT de múltiplas paredes (MWCNT), onde podem apresentar-se como verticalmente alinhados (VACNTs).

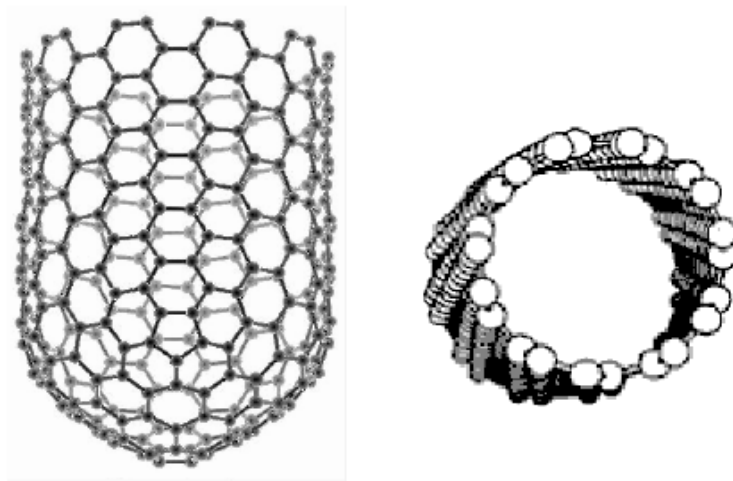


Figura 2.1: Exemplos típicos de estruturas de CNT [5].

2.2 Nanotubos de Carbono de Parede Simples (SWCNT)

Uma maneira simples de representar os SWCNT é considerar uma camada simples de grafite (ou grafeno) e enrolá-la até formar um cilindro. Uma camada simples de grafite está constituída por átomos de carbono formando uma rede hexagonal, com ligações simples e duplas, sendo a distância entre dois átomos mais próximos da ordem de 0,14 nm. Na grafite, as ligações entre camadas são do tipo Van der Waals, sendo a distância entre elas da ordem de 0,34 nm. Como é mostrado na figura 2.2, os SWCNT podem ser construídos enrolando uma folha grafite de tal modo que dois sítios coincidam cristalograficamente. Enrolando a folha da grafite na direção do vetor chiral C , forma-se um cilindro, onde os pontos com coordenadas $(0,0)$ e $(7,4)$ coincidem (ou seja, os sítios O e A são equivalentes). Neste caso, é formado um CNT chiral com $n=7$ e $m=4$. A direção do vetor chiral C pode estar definida em relação à direção de dois vetores correspondentes aos CNTs zigzag (ângulo θ , ou em relação à direção dos vetores correspondentes aos CNTs armchair (ângulo $\Phi= 30^\circ - \theta$). Em qualquer um dos casos, o ângulo é denominado chiral. Na maioria dos trabalhos relatados na literatura, é utilizado o ângulo θ . Portanto, $\theta = 0^\circ$ para os CNTs zigzag, $\theta = 30^\circ$ para CNTs armchair e $0^\circ < \theta < 30^\circ$ para CNTs chiral. O vetor C que define a direção de enrolamento, denominado vetor

eixo de simetria C_3 , no segundo caso. Na figura 2.3c, é mostrado um nanotubo chiral. Em geral, para CNTs armchair, zigzag ou chiral com diâmetros maiores, existe uma grande variedade para seu extremo tipo “hemisfério”, pois os fulerenos correspondentes apresentam um grande número de isômeros.

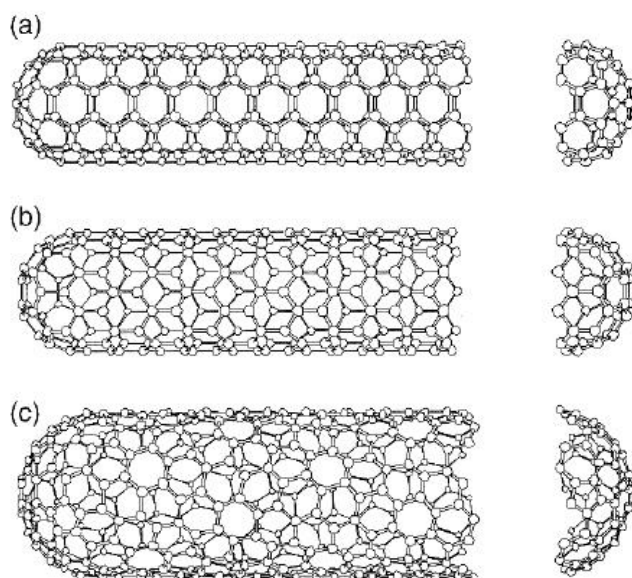


Figura 2.3: Estruturas geométricas de SWCNT. (a) CNT armchair (5,5), (b) CNT zigzag (9,0) e (c) CNT chiral (10,5). Adaptado de [5].

2.3 Nanotubos de Carbono de Parede Múltipla Verticalmente Alinhados (VACNT)

Os CNT constituídos por duas ou mais camadas simples de cilindros coaxiais (obtidos enrolando folhas de grafite), fechados nos seus extremos também com “hemisférios” de fulerenos, os que em geral, apresentam defeitos (presença de pentágonos não isolados e heptágonos), são conhecidos como CNT de paredes múltipla verticalmente alinhados (VACNT). A distância de separação entre camadas é da ordem de 0,34 nm (3-5% maior que o espaçamento entre as camadas da grafite de aproximadamente 0,339 nm). Na maioria dos casos, a relação comprimento/diâmetro atinge valores entre 100 e 1000 e, portanto, podem ser considerados como sistemas unidimensionais. Na figura 2.4 são mostradas as primeiras observações de VACNT [6].

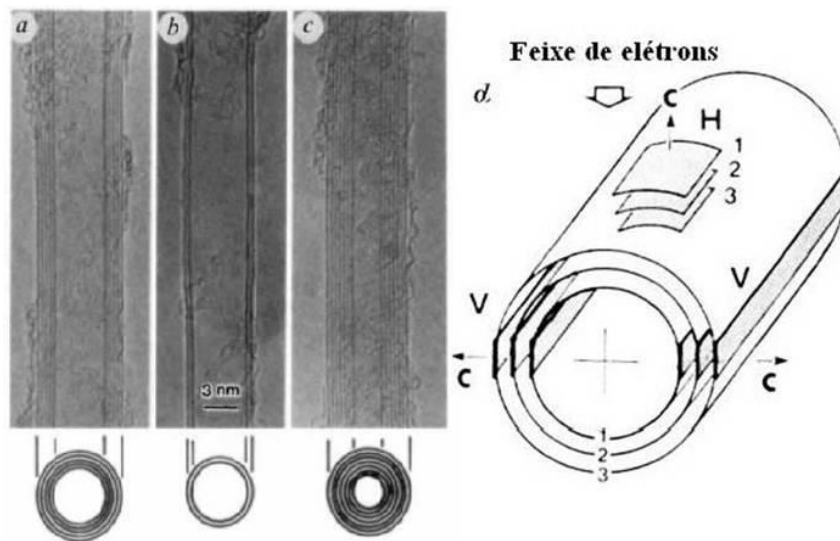


Figura 2.4: Observações de VACNT com N tubos coaxiais e vários diâmetros internos, d_i e externos, d_e . (a) $N = 5$, $d_i = 6,7$ nm, (b) $N = 2$, $d_e = 5,5$ nm e (c) $N = 7$, $d_i = 2,3$ nm $d_e = 6,5$ nm. Adaptado de [6].

2.4 Síntese de VACNTs

O grande segredo do crescimento dos VACNTs é uma boa preparação das partículas catalisadoras, que devem possuir diâmetros nanométricos e estar distribuídas uniformemente sobre o substrato [7].

Na figura 2.5 pode-se verificar o desenho esquemático dos mecanismos de crescimentos propostos, tais como “tipo ponta” e “tipo raiz”, para interpretar o crescimento dos VACNT. No modelo “tipo ponta”, considera-se que o hidrocarboneto se decompõe sobre a parte superior da superfície de uma partícula metálica para formar átomos de carbono e hidrogênio e, em seguida, os átomos de carbono se difundem através dela, ou sobre sua superfície, até que finalmente se depositam sobre a superfície inferior, formando os VACNT. As partículas ficam nas pontas dos VACNT durante o crescimento. No modelo “tipo raiz”, um hidrocarboneto é decomposto sobre a superfície lateral da partícula metálica, e os átomos de carbono difundem-se através delas, formando os CNT na parte superior da superfície do metal. Neste caso, a partícula

metálica permanece como um suporte para os VACNT [7]. Chen e colaboradores [8] observam que a partícula pode se dividir em duas, e uma parte delas fica no substrato e a outra na ponta. Os diferentes tipos de mecanismos de crescimento são dependentes das interações entre as partículas metálicas e a superfície do substrato. Quando a interação é fraca, as partículas metálicas podem se separar do substrato e, conseqüentemente, são levadas para as pontas dos VACNT, caso contrário, as partículas permanecem fixas ao substrato [8].

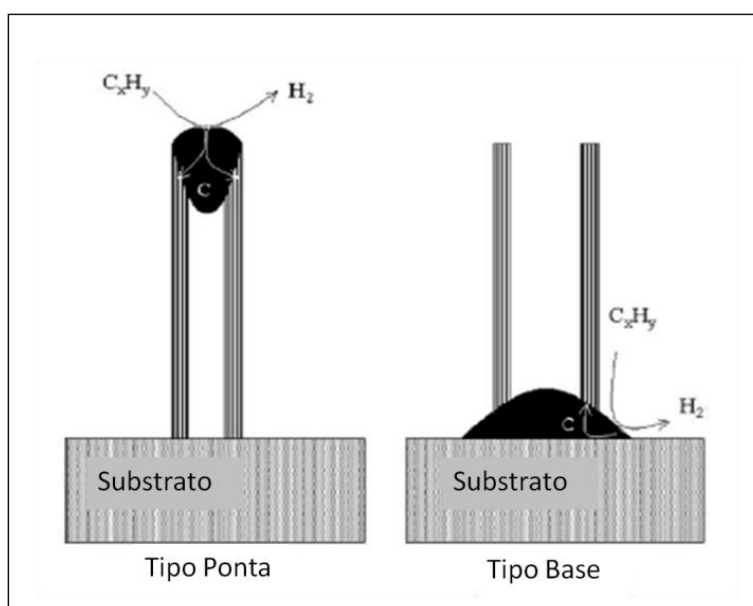


Figura 2.5: Esquema do tipo de crescimento dos VACNT durante a síntese [8].

O método CVD vem sendo largamente aplicado na obtenção de VACNT [7-8]. O processo envolve a reação de decomposição de um vapor ou gás precursor contendo átomos de carbono, geralmente um hidrocarboneto, na presença de um catalisador metálico. A técnica CVD pode envolver apenas processos térmicos ou utilizar plasma (PECVD) [9]. Os VACNT são nucleados e crescidos pelos átomos de carbono advindos da decomposição do precursor, onde o papel das reações com a superfície do substrato é de extrema relevância. Catalisadores são usualmente preparados sobre um substrato utilizando uma das quatro técnicas: (i) sol-gel [10], (ii) impregnação [11], (iii) metalo-orgânico CVD [12] ou (iv) métodos de co-precipitação [13]. As variantes mais comumente encontradas na literatura são: CVD térmico [14], PECVD [15, 16], HipCO

(High pressure CO disproportionation) [17] e leito fluidizado [13]. Esta última é a mais eficiente para o processo de escalonamento industrial. Em particular, a técnica de MWCVD é eficiente para a produção de VACNT com elevado grau de pureza, sendo livre da presença de carbonos amorfos e partículas metálicas fora dos CNT [18]. O método MWCVD tem como característica a produção de VACNT, verticalmente alinhados. O controle do diâmetro, comprimento, estrutura e densidade de tubos por área é facilmente obtido por essa técnica.

Lee e colaboradores [19] prepararam e cresceram VACNT verticalmente alinhados (VACNT) sobre SiO₂, gerado pela oxidação de um substrato de Si tipo p, com níquel metálico como catalisador, por CVD térmico. Foi utilizado acetileno como fonte de carbono e a temperatura foram mantidas entre 850 e 950 °C. Essas amostras apresentaram tubos com diâmetros externos menores e o número de paredes diminuiu nas pontas.

Técnicas de PECVD têm sido utilizadas para o crescimento de SWCNT e VACNT, atraindo grande atenção pela sua produtividade em massa, alta uniformidade e bom alinhamento dos tubos. Choi e colaboradores [20] usaram MWCVD para o crescimento de filmes finos de diamantes nanocristalinos e VACNT sobre substratos de silício, dependendo dos parâmetros experimentais estabelecidos, tais como concentração de gás metano-hidrogênio, temperatura, tempo e forma de tratamento do substrato.

Outros métodos de deposição também são encontrados na literatura: pirólise plástica [21], síntese por chama [22], síntese líquida de hidrocarbonetos [23], forno solar [24], eletrólise [25], moagem de grafite [26, 27] e tocha por plasma [28].

2.5 Nanobiomateriais à base de CNT

Em 1959, Richard Feynman ganhou o prêmio Nobel como o primeiro a descrever e sugerir a nanotecnologia para o desenvolvimento de máquinas moleculares. Desde então, a comunidade científica vem investigando a aplicação da nanotecnologia para fins de aplicações como nanobiomateriais.

Os nanomateriais, de uma forma geral, são plataformas emergentes as quais podem ser usadas como *scaffolds* para estudos de regeneração de tecidos *in vitro* ou *in vivo*, inclusive com células-tronco [21,22]. Exemplos destes materiais incluem tanto nanopartículas inorgânicas quanto orgânicas; pontos quânticos, nanofibras, VACNT e outros diversos substratos (polimérico, cerâmico ou metálico) projetados com poros ou protuberâncias em nanoescala. O termo *scaffold* vem do inglês e significa “suporte”, no caso específico, suporte para promover o crescimento e ancoragem celular. Atualmente, a engenharia de tecido foca seus esforços na obtenção de *scaffolds* tridimensionais, que possam mimetizar o ambiente *in vivo*.

A utilização de *scaffolds* a base de VACNT para crescimento de células vem sendo amplamente estudadas, podendo variar suas composições de acordo com as aplicações. Geralmente utilizam-se os VACNT crescidos sobre substratos, misturados em hidroxiapatita [29] ou misturados em matrizes poliméricas biorreabsorvíveis [30, 31], buscando melhorar propriedades mecânicas e também favorecer a proliferação e diferenciação celular.

2.6 Hidroxiapatita (HAp)

O grupo de fosfatos, arseniados e vanadatos que tem estruturas hexagonais ou monoclinicas pseudo-hexagonais muito similares, são minerais do grupo das apatitas. A apatita é o nome geral dos minerais: clorapatita, fluorapatita e hidroxiapatita (HAp). Na figura 2.6, pode-se observar um modelo mostrando a rede cristalina da HAp no plano cristalográfico 001, onde os átomos são representados por esferas [32].

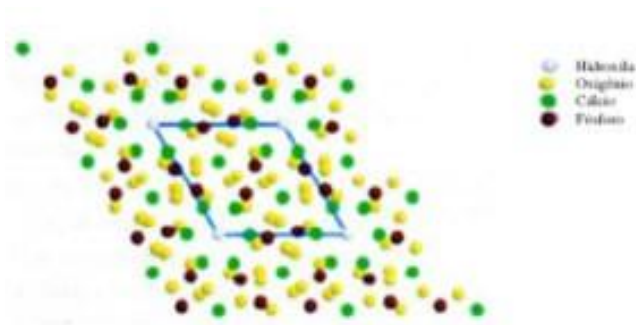


Figura 2.6: Rede cristalina da HAp no plano cristalográfico 001 [32].

Na Figura 2.6, pode-se notar um arranjo hexagonal dos átomos de cálcio ao redor dos radicais hidroxila, mostrando em detalhe na Figura 2.7.

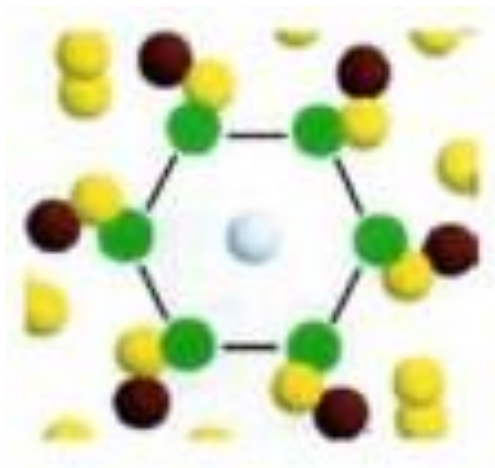


Figura 2.7: Detalhe do arranjo hexagonal dos átomos de cálcio ao redor do radical hidroxila [32].

Em geral, as apatitas são capazes de formar várias combinações na rede cristalina, em virtude das substituições de íons. A HAp estequiométrica tem sido descrita como sendo monoclinica, tendo como parâmetros de rede $a = 9,4214 \text{ \AA}$, $b = 2a$, $c = 6,8814 \text{ \AA}$ e $\gamma = 120^\circ$ [33].

As apatitas se referem a uma família de cerâmicos que obedecem à fórmula $M_{10}(RO_4)_6X_2$, onde M é o cálcio, R é o fósforo e X é um hidróxido ou um composto halogenado. Através da difração de raio-X, foi possível identificar que a fase mineral do osso é uma apatita [34].

As apatitas são as fases mais termodinamicamente estáveis dos fosfatos de cálcio e por isso podem ser consideradas como produto final em muitas reações envolvendo os fosfatos de cálcio [33].

A bioatividade dos fosfatos de cálcio sintéticos, está relacionada aos parâmetros do processo de fabricação como os reagentes utilizados, suas concentrações e ordem de mistura, impurezas, tamanho e forma de cristais, pH, temperatura, tratamento térmico, processo de secagem e de sinterização [35].

HAp, tem sido usada como biomaterial. Sua fórmula química é representada por $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [36].

A principal diferença entre as apatitas biológicas e a HAp fabricada sinteticamente é o conteúdo de carbonato que é muito menor na fabrica. O SBF (Simulated Body Fluid) é considerado uma fonte biomimética viável para o aumento de conteúdo de carbonato (CO_3^{2-}) nas HAp sintéticas. Os íons carbonatos substituem parte dos íons OH^- e parte dos grupos PO_4^{3-} da estrutura da HAp [36].

Embora a composição do osso varie de acordo com a sua posição no corpo, idade, alimentação, doenças, entre outras, geralmente sua parte mineral ou inorgânica corresponde de 60 a 70% do tecido. O restante é formada por uma matriz orgânica (90% de colágeno e 5% de proteínas) e água (5 a 8%). A HAp é o fosfato de cálcio mais comum na fase mineral (cerca de 65%). Apresentando um cristal plano de 20 a 80 nm de largura e 2 a 5 nm de espessura. A combinação da hidroxiapatita com o colágeno é responsável pelas propriedades mecânicas do osso, como a sua viscoelasticidade [34].

O osso é um tecido dinâmico, ou seja, está continuamente em formação ou reabsorção, fenômeno chamado de remodelamento. O osso é um dos poucos tecidos no corpo capaz de se restaurar completamente após um trauma [37].

Um substituto ósseo deve ser esterilizável, não tóxico, biocompatível, disponível em grandes quantidades, indutor de diferenciação celular para a formação de células ósseas e reabsorvível [38].

Através de estudos realizados há vários anos, tem-se comprovado a biocompatibilidade e a osseointegração dos fosfatos de cálcio, como a HAp. Além dessas características tem-se verificado a ausência de toxicidade local ou sistêmica e ausência de reação a corpo estranho, tanto para a hidroxiapatita sólida quanto para a particulada [39].

A HAp em forma de pó tem sido bastante utilizada para preenchimento em defeitos ósseos, causados por tumores e quistos, apresentando resultados de osseointegração em 100% dos casos [40].

A HAp interage com o osso circundante de uma forma bastante estável, tanto física como quimicamente, permitindo que a reparação aconteça como se fossem entre tecidos ósseos apenas[39].

Quando a HAp não é reabsorvida ocorre apenas a osseointegração, permanecendo esta como um corpo estranho, sem ser substituída por osso novo [39].

2.6.1 A Hidroxiapatita sintética

Várias técnicas de síntese de HAp vêm sendo desenvolvidas, dentre elas: síntese mecanoquímica, preparação por combustão, deposição eletroforese, sol-gel, síntese hidrotérmica e precipitação em solução aquosa [41].

2.6.2 A Deposição eletroquímica

As técnicas de deposição se dividem, basicamente, em puramente físicas (métodos que usam evaporação), puramente químicas (reações em fase líquida ou gasosa) ou físico-químicas (eletrodeposição).

A deposição eletroquímica é um processo que requer equipamentos de baixo custo e, atualmente, conta com um conhecimento científico e tecnológico muito desenvolvido [42].

Essa técnica é bastante atrativa, pois pode ser usada para revestimento de superfícies altamente irregulares com rapidez e em baixas temperaturas, além de possibilitar um alto controle da cristalinidade do depositado. Também pode ser utilizada como ferramenta para a formação de filmes, nanoestruturas e monocamadas [43].

No processo de eletrodeposição o substrato que irá receber o revestimento é posicionado no anodo (eletrodo negativo) e o material a ser corroído ou que servirá para fechar o circuito elétrico sem sofrer corrosão é posicionado no catodo (eletrodo

positivo). Os eletrodos são imersos em uma solução que fornece os elementos do material a ser depositado ou servir apenas como fonte de íons para fechar o circuito e promover a transferência de material do catodo para o anodo [44].

Por ser um processo não espontâneo, existe a necessidade da utilização de uma fonte de corrente contínua para o direcionamento do fluxo de elétrons. A espessura da camada depositada depende de vários fatores tais como temperatura e pH do eletrólito, velocidade e direção da agitação, tensão aplicada, tempo, etc [99,100].

A Figura 2.8 ilustra uma célula de eletrodeposição de fosfatos de cálcio.

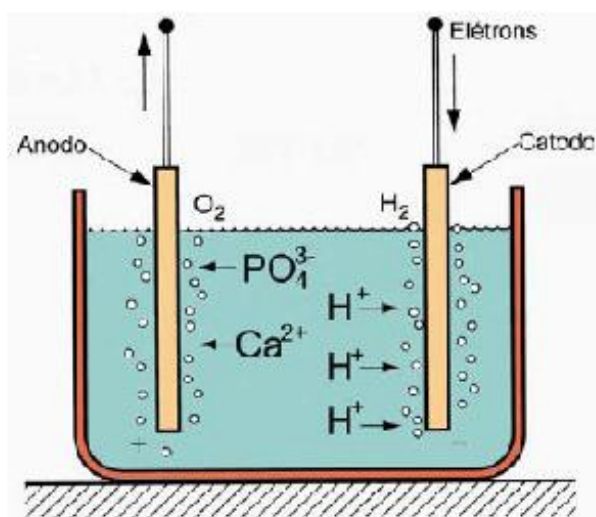


Figura 2.8: Ilustração da célula de deposição de fosfato de cálcio. (adaptado de [45])

Durante o processo de deposição ocorre um consumo de energia para que se formem os núcleos de crescimento dos cristais do material a ser depositado. Após iniciado o processo de recobrimento do anodo, a corrente diminui gradualmente [46].

O anodo, por ser um material metálico e estar imerso em um eletrólito possui, naturalmente, cargas negativas. Na tentativa de se neutralizar estas cargas negativas, levando o sistema a um estado termodinamicamente estável, ocorre a atração de íons positivos contidos no eletrólito. Essa camada de íons adsorvidos (aderidos à superfície do anodo) é chamada de Camada Interna de Helmholtz (CIH) e é composta de íons ou moléculas adsorvidas, ilustrada na Figura 2.9.

Além dessa primeira camada, existe uma outra formada por íons envolvidos por moléculas de água chamada de Camada Externa de Helmholtz (CEH) ou Camada de Difusão que se aproximam do anodo apenas por atração eletrostática. Essa camada é mais espessa do que a CIH, variando entre 0,3 a 0,5 mm em eletrólito sem agitação mecânica e entre 0,001 e 0,01 mm com agitação. Para além dessa camada, encontra-se o eletrólito onde os íons presentes estão longe da ação da carga do anodo [46].

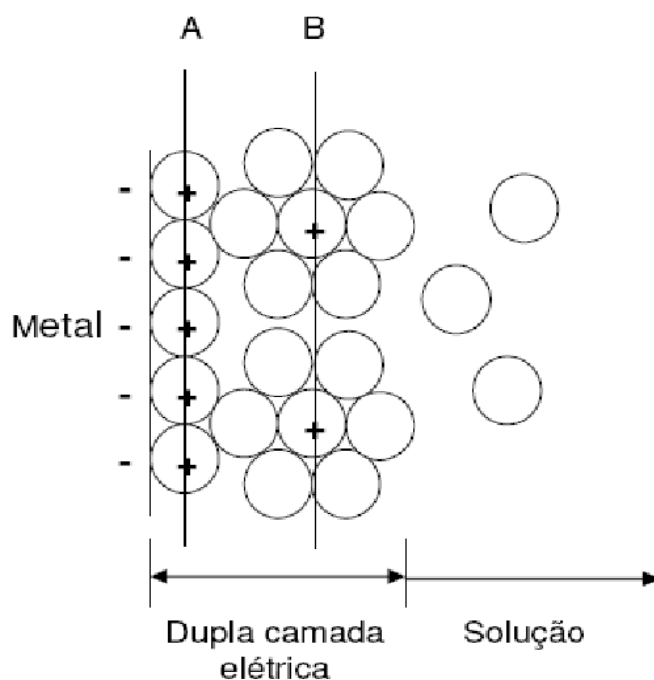


Figura 2.9: Esquema ilustrando a dupla camada elétrica formada por íons adsorvidos na superfície do eletrodo metálico e por íons solvatados. (A) camada interna de Helmholtz, (B) camada externa de Helmholtz [47].

A formação de bolhas de hidrogênio ao redor do anodo, comum nos processos de deposição, são responsáveis pelo desenvolvimento de poros no revestimento.

Devido à hidroxiapatita não ser condutora, ocorre um aumento de resistência do sistema, levando a um limite de espessura de material depositado sobre o catodo. Além disso, a presença de bolhas de hidrogênio durante a deposição aumenta a porosidade do depósito [43].

De acordo com o trabalho de Canto, 2005, durante a deposição de hidroxiapatita verificou-se que tensão e a corrente influenciam na quantidade de massa depositada, sendo que, quanto maior a corrente, maior a quantidade de massa. A corrente teve o mesmo comportamento em todas as deposições, iniciando alta e diminuindo com o passar do tempo. Os cristais do depositado apresentaram formas arredondadas e alongadas.

2.6.3 HAp e CNT

A maioria dos materiais biomédicos com CNT está em fase de pesquisa e desenvolvimento. A sua utilização nesta aplicação está relacionada às elevadas propriedades apresentadas pelos CNT. Os estudos nesta área resumem-se atualmente ao aprimoramento de biomateriais já conhecidos e utilizados comercialmente, com a possibilidade de novas aplicações.

A utilização dos CNT como arcabouços para crescimento tecidual (*scaffolds*): os mesmo proporcionam o reforço estrutural necessário para suporte de tecidos. Pesquisadores já comprovaram que, dispersando uma pequena fração de nanotubos de carbono em um polímero, observa-se uma significativa melhora em sua resistência mecânica [1].

Além da aplicação em tecidos biológicos, inúmeros estudos têm sido realizados na área biomédica, na obtenção de compósitos reforçados com CNT, tanto com matriz cerâmica como polimérica. O material cerâmico HAp é um dos materiais de grande estudo nesta área que, vem sendo reforçado com CNT, tanto para revestimentos como para um produto final, visando um aumento de suas propriedades mecânica.

A HAp está sendo muito utilizada também como revestimento de próteses de quadril devido à sua elevada similaridade com o tecido ósseo, induzindo a osseointegração e garantindo uma boa fixação da prótese. A incorporação de CNT nestes revestimentos vem sendo investigada com o intuito de melhorar as propriedades mecânicas da HAp [2,3].

Além de estudos de revestimento e tratamento superficial, alguns estudos de sinterização de produtos finais compósitos de HAp e CNTs podem ser encontrados na literatura. Segundo Li et al. (2007), que investigou a possibilidade de fabricação de um produto com HAp e CNT, os valores de resistência à flexão e tenacidade à fratura de HAp reforçada com CNT são superiores a HAp pura.

A eletrodeposição de filmes cristalinos de HAp nanoestruturada foi desenvolvida por Lobo em sua tese de doutorado [53]. Cada vez mais busca-se o desenvolvimento de estruturas que possam facilitar a adesão, proliferação e diferenciação de células-tronco in vitro, podendo desta forma, ser aplicadas em processos regenerativos de tecidos. Estas células aderem-se sobre as superfícies de próteses biocompatíveis podendo acelerar drasticamente a integração de um implante [48, 49, 50]. Entretanto muitas limitações podem desfavorecer a aderência das mesmas sobre superfícies implantáveis, pela dificuldade de adesão [51]. No campo de aplicações protéticas, filmes bioativos de HAp mostram habilidades especiais para a interação com proteínas e células, podendo ser usadas para a manipulação de células-tronco [52]. Desta forma, pode ser considerado que o desenvolvimento de nanoestruturas à base de VACNT e HAp possam vir a acelerar os processos de adesão, proliferação e diferenciação de células-tronco, visando aplicações em engenharia de tecido ósseo.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Produção e modificação superficial dos VACNTs

3.1.1 Preparação das amostras

Os VACNT são produzidos no Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, no Laboratório Associado de Sensores e Materiais utilizando o sistema de deposição química via fase vapor assistido por plasma de microondas. Substratos de Ti nas dimensões de 10 mm x 10 mm x 1 mm foram lixados e submetidos à limpeza utilizando solução de álcool etílico em banho de ultrassom. Após esta etapa, foram aquecidos a uma temperatura de 200 °C para que seja criada uma barreira de difusão.

3.1.2 Deposição dos Filmes Catalisadores

Estes procedimentos foram realizados numa evaporadora por feixe de elétrons (Auto 306 –EB3 Multihearth Electron Beam Source), localizada no Laboratório de Células Solares do Laboratório Associado de Sensores e Materiais do INPE. Foi depositado um filme fino de Fe (espessura 10 nm) que é utilizado como catalisador metálico para o processo de crescimento dos VACNT.

3.2 Crescimento dos VACNT utilizando MWCVD

A deposição dos VACNT foi realizada em reator de plasma de microondas. Um esquema do conjunto do reator de microondas, cuja câmara é de alumínio anodizado, pode ser visto na Figura 3.1.



Figura 3.1: Uma vista do desenho de conjunto do reator de microondas de alumínio anodizado.

Conectada ao reator está uma bomba de vácuo mecânica da Edwards. O controle de pressão no reator é feito através de um sensor tipo Barocel. A entrada de gases é monitorada por um controlador de fluxo de massa MKS-247C. Vale ressaltar que existem janelas de quartzo na altura do porta-amostra, que permitem a observação da amostra e do plasma.

Na Figura 3.2 pode-se verificar o desenho esquemático do reator de plasma de microondas conectado à bomba mecânica e aos sistemas de tubulações dos gases utilizados durante o processo de crescimento dos VACNT.

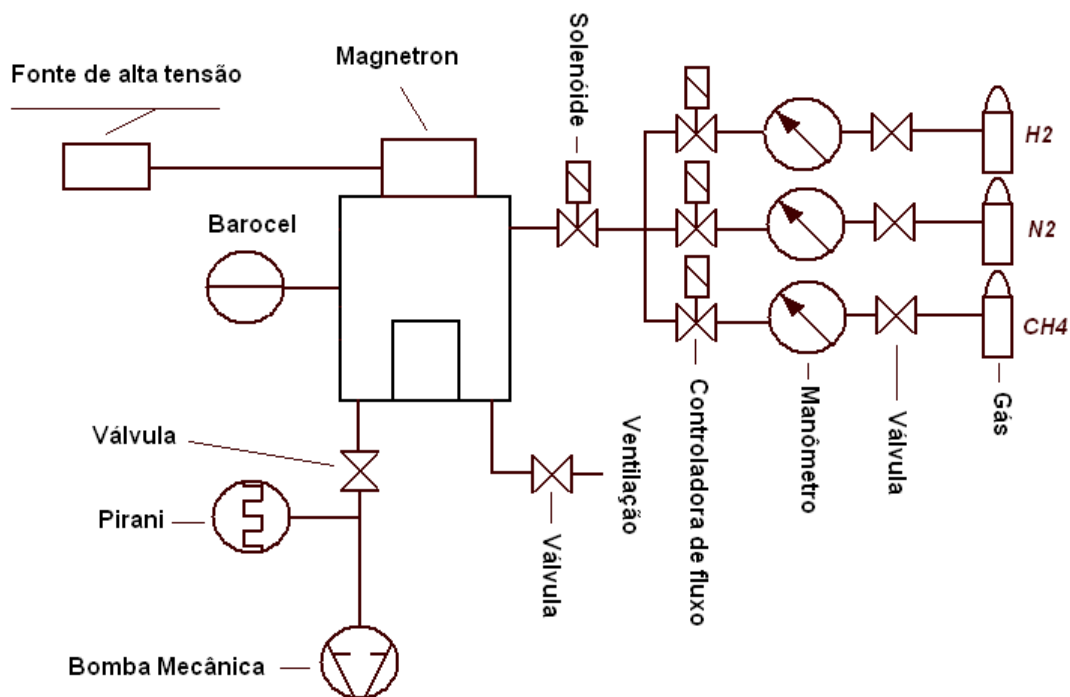


Figura 3.2: Diagrama esquemático do reator para crescimento dos VACNT. Elaborado por Anderson de Oliveira lobo cujo trabalho é antecessor deste.

3.2.1 Processo de Deposição

Conforme descrito anteriormente, o processo de deposição de filmes de CNTs por técnicas de CVD dá-se pela preparação da superfície de um substrato com uma camada intermediária (com função de barreira de difusão), um catalisador metálico nanoparticulado e a inserção das amostras em atmosferas contendo gases de hidrocarbonetos a temperaturas elevadas.

Os VACNT foram crescidos em duas etapas, as quais foram denominadas de pré-tratamento e deposição, respectivamente. Na etapa de pré-tratamento, o objetivo foi criar nano-ilhas do material catalisador, a partir das quais os nanotubos puderam ser nucleados. Antes de iniciar esse processo, misturaram 90 sccm de H_2 + 10 sccm de N_2 a uma pressão de 4×10^3 Pa, aquecendo o porta-amostra com uma resistência elétrica até uma temperatura aproximada de 300 °C. Para a utilização dos substratos de vidro não se elevou a temperatura a 300 °C, pelo fato de ser necessário o crescimento em

temperaturas inferiores a 600 °C. Na fase de pré-tratamento, com duração de 5 minutos, a potência do gerador de microondas foi mantida em 800 W e a temperatura atingiu cerca de 760 °C. Na etapa de deposição, 14 sccm de CH₄ foram adicionados como fonte de carbono, por períodos que variaram de 1 a 30 minutos, dependendo do estudo a ser realizado.

3.3 Tratamento dos VACNT alinhados utilizando plasma de O₂

funcionalização dos VACNT, para a obtenção da superhidrofilicidade foi realizada no Laboratório Associado de Sensores e Materiais utilizando tratamento a plasma utilizando o sistema de plasma DC-pulsado.

Nesta técnica utiliza-se uma fonte chaveada pulsada e bipolar com características especiais de pulsos de saída para a geração do plasma e tratamento das amostras utilizadas neste trabalho. A fonte tem uma frequência de operação que pode ser ajustada entre 10 e 80 kHz com uma duração do pulso variável de 5 a 95% do ciclo total. Para este trabalho a mesma foi configurada com uma frequência de 20 kHz e uma duração de pulsos de 47% do período total. O gás utilizado foi o O₂ com fluxo de 1 sccm controlado através de controladores de fluxo em massa.

Os parâmetros para a produção dos VACNTs superhidrofílicos (VACNT-O₂) foram estipulados por estudos realizados no trabalho antecessor de mestrado e doutorado e agora pesquisador doutor Anderson de Oliveira Lobo.

3.4 Eletrodeposição de hidroxiapatita sobre VACNT-O₂

Na figura 3.3 segue o desenho esquemático de como são posicionados os VACNTs-O₂ para o processo de eletrodeposição de HAp. Na descrição do anodo, são posicionados os VACNTs-O₂ crescidos sobre o Ti e na posição do catodo posiciona-se o eletrodo de platina. Uma demonstração do sentido da corrente também segue demonstrada.

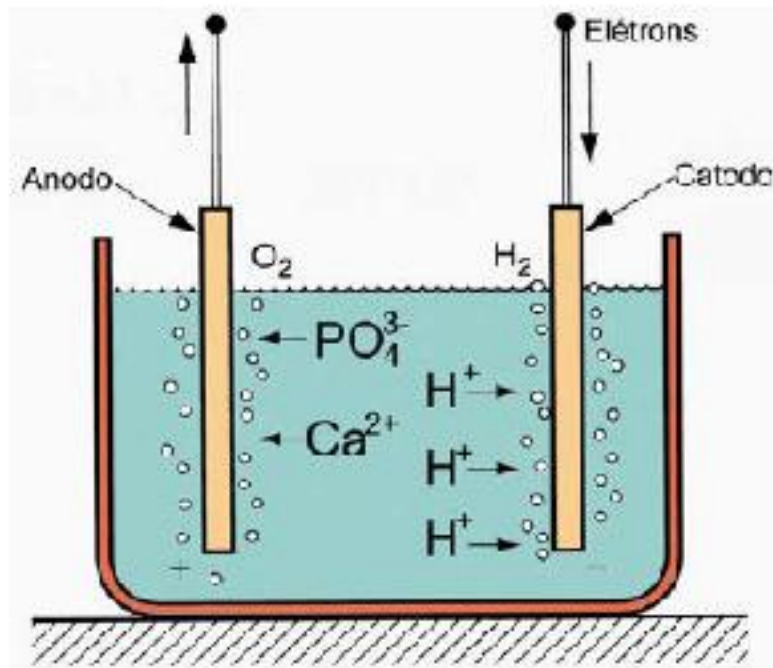


Figura 3.3: Ilustração da célula de eletrodeposição de HAp

A montagem do anodo é feita conforme ilustrado na Figura 3.4, as placas de Ti com VACNTs-O₂ são posicionadas ao centro do cachimbo para receberem a HAp eletrodepositada. Como catodo é utilizado um eletrodo de platina, a corrente é aplicada por uma fonte, o pH e a temperatura da solução são ajustados antes do início do processo. A Solução de fosfato de cálcio permanece em agitação durante todo o tempo.

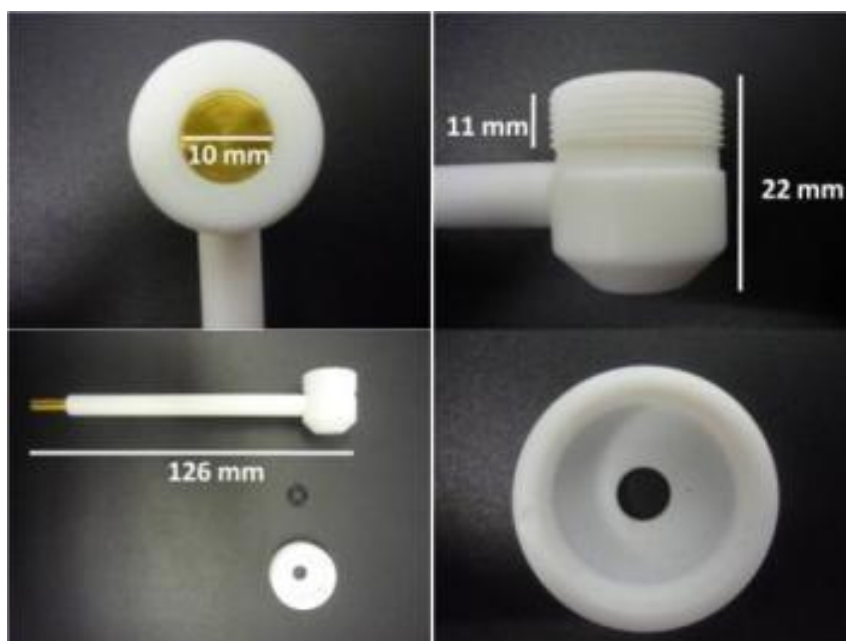


Figura 3.4: Montagem do anodo para eletrodeposição de HAp.

A solução eletrolítica para o processo de eletrodeposição de HAp segue demonstrada na tabela 3.1. Ressalta-se que tais concentrações foram estabelecidas de acordo com a razão molar de Ca e P da HAp, ou seja, 1,67.

Tabela 3.1–Eletrodeposição de HAp

ELETROLITOS	CONCENTRAÇÃO (MM)	VOLUME (ml)
Ca(NO ₃) ₂ .4.H ₂ O	2,5	50
NH ₄ H ₂ PO ₄	1,5	50

A figura 3.5 demonstra a montagem do sistema de eletrodeposição de HAp sobre os VACNTs-O₂. Todo este processo foi realizado no Laboratório de Nanotecnologia Biomédica da UNIVAP, sob a supervisão do colaborador deste projeto, Prof. Dr. Anderson de Oliveira Lobo, viabilizado via projeto FAPESP (2011//17877-7). Para a geração da diferença de potencial entre os eletrodos, utilizou-se uma fonte ajustável montada com tensão variável até 20 V. Boa parte do projeto foi feita utilizando a tensão de 3,4 V, sendo que, foram controlados simultaneamente os parâmetros de temperatura e pH de forma manual. A célula eletroquímica foi montada sob uma placa

de aquecimento com agitação, para que fosse mantida a temperatura próxima dos 100°C sem a presença de bolhas.

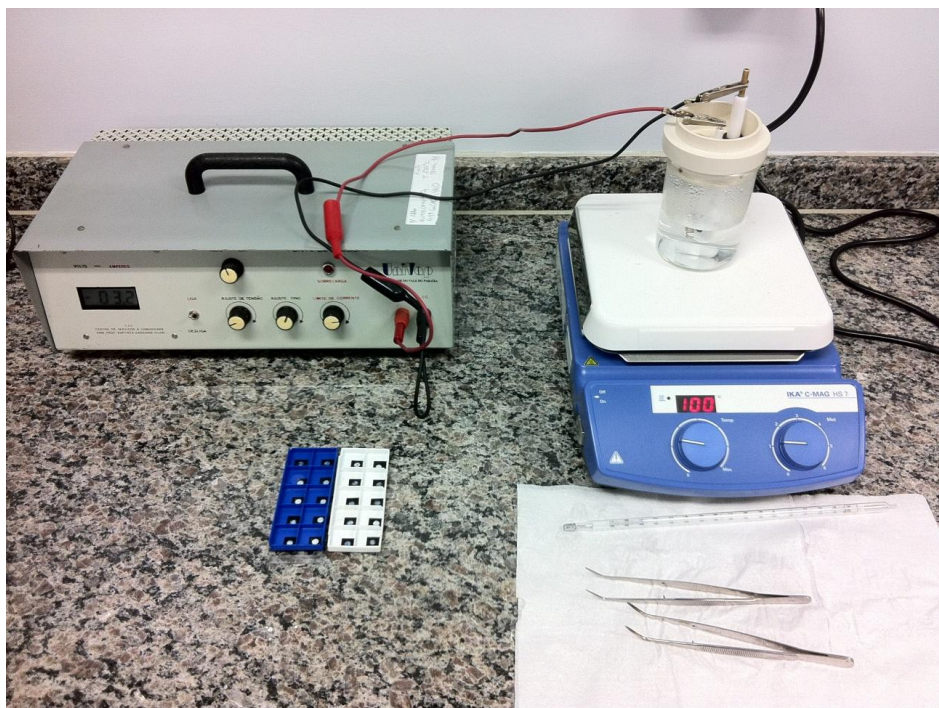


Figura 3.5: Sistema de eletrodeposição montado no Laboratório de Nanotecnologia Biomédica – UNIVAP.

Os nanocompósitos de HAp/VACNTs-O₂ foram caracterizados utilizando análises morfológicas e estruturais, tais como: microscopia eletrônica de varredura, difractometria de raios X, espectroscopia dispersiva de raios X (EDX) e espectroscopia Raman.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Sabendo-se que o controle da hidrofobicidade torna-se importante para a realização do processo de eletrodeposição, variaram-se alguns parâmetros para definição do processo, até o presente momento, ideal para obtenção de filmes de HAp sobre os VACNT-O₂.

A Figura 4.1 mostra os cristais de HAp formados sobre os VACNTs-O₂, com uma visão de topo (a) e na lateral (b e c). Os parâmetros foram: Tensão -3V; Tempo: 2 horas; Temperatura: 70°C.

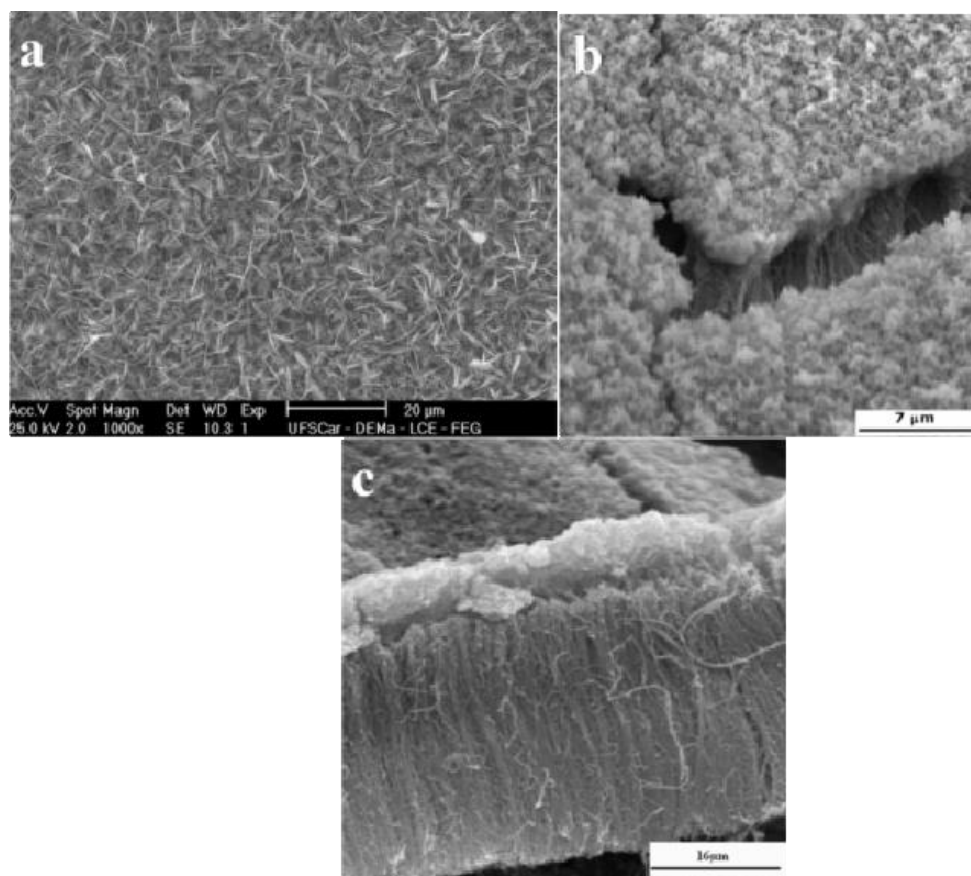


Figura 4.1: MEV mostrando os cristais de HAp formados sobre as amostras de VACNTs-O₂ obtidos por eletrodeposição.

Através do controle da molhabilidade dos VACNTs-O₂, utilizando o tratamento a plasma, conseguiu-se obter um biofilme de HAp totalmente homogêneo sobre toda a superfície da amostra. Este processo ocorre provavelmente pelo aumento da área

superficial, e conseqüentemente o aumento da energia de superfície, necessitando de estudos de parâmetros termodinâmicos para a formação de cristais a partir de uma superfície rugosa e nanométrica.

Na Figura 4.2 podemos ver com mais detalhes, os cristais de HAp formados, com uma maior ampliação.

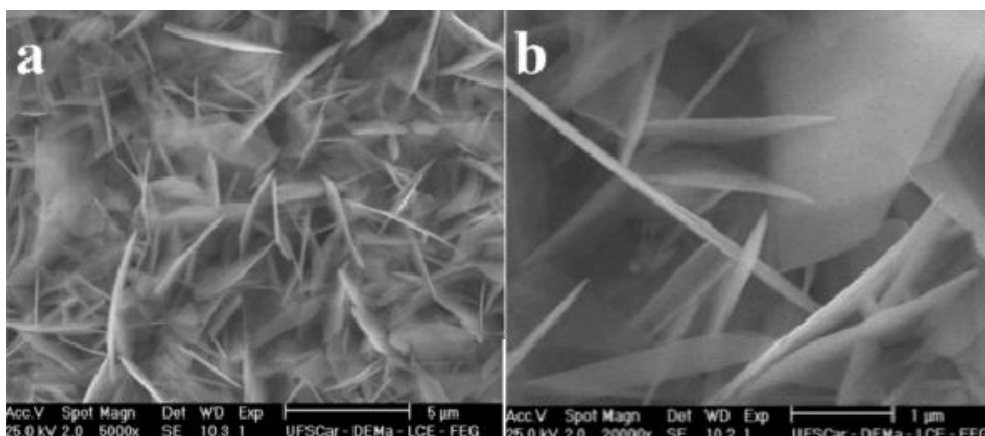


Figura 4.2: MEV dos cristais de HAp formados sobre as amostras de VACNTs-O₂. (a) mostra a homogeneidade e quantidade de cristais produzidos. (b) detalhe das dimensões médias formadas.

Na Figura 4.2a percebe-se que os cristais de HAp formados são obtidos de forma homogênea e em grandes quantidades, mantendo basicamente a mesma orientação. Na Figura 4.2b conseguimos estimar aproximadamente as dimensões dos cristais formados, onde se apresenta com espessuras nanométricas e comprimentos em torno de aproximadamente 3 µm.

Foi realizado um estudo sobre o tempo mínimo necessário para o crescimento de cristais de HAp sobre as amostras de VACNTs-O₂. Procurou-se avaliar a faixa em que o processo encontrava-se estável. Na Figura 4.3 mostram-se as MEVs dos cristais de HAp produzidos entre os tempos de (a.1 e b.1) 20 minutos, (a.2 e b.2) 30 minutos e (a.3 e b.3) 2 horas.

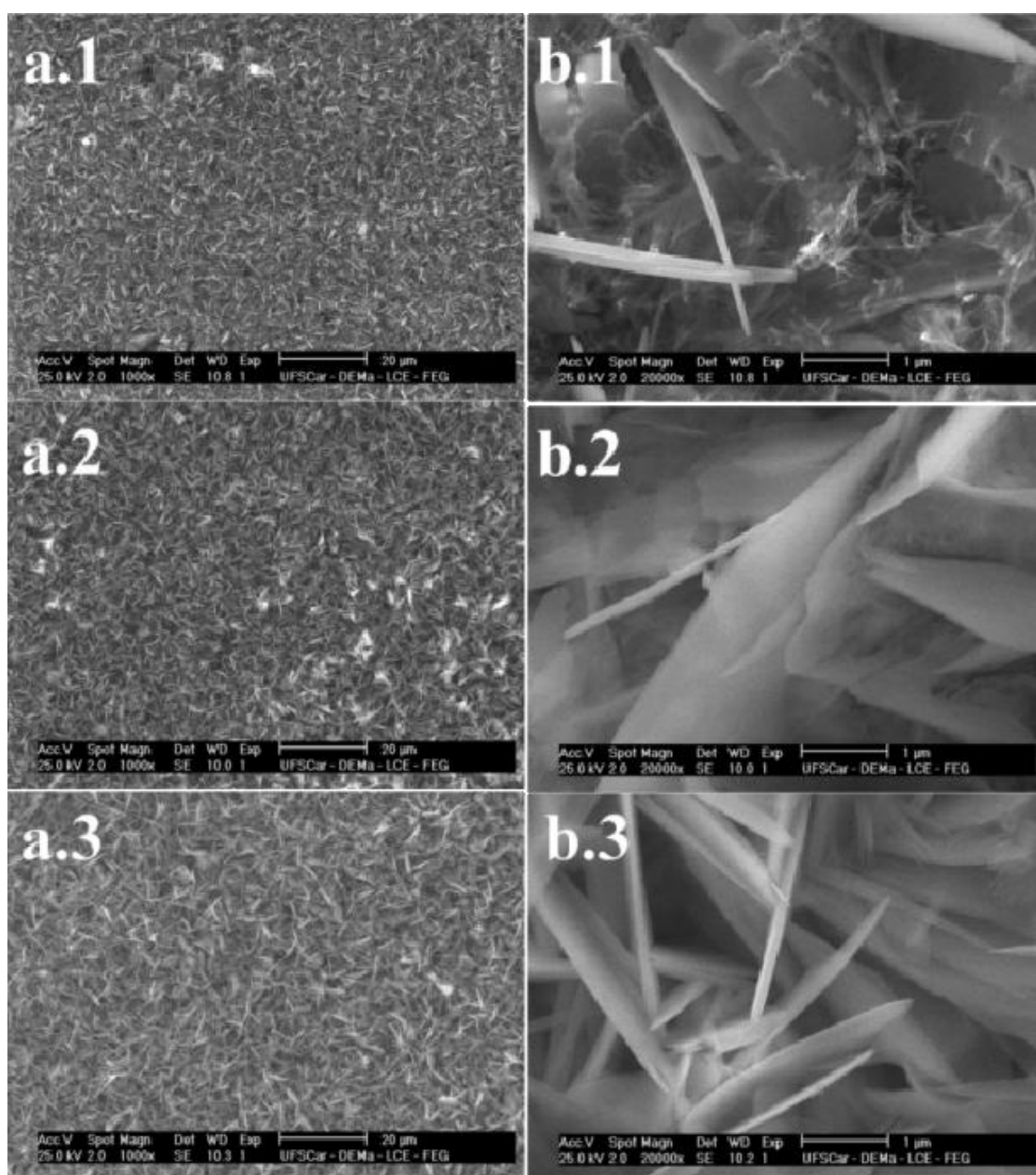


Figura 4.3: Imagens de MEV mostrando a evolução do crescimento de cristais de HAP sobre VACNTs-O₂. Os tempos de eletrodeposição foram de (a.1 e a.2) 20 minutos, (b.1 e b.2) 30 minutos e (c.1 e c.2) 2 horas.

Através dos resultados obtidos, percebe-se que o processo de eletrodeposição de cristais inicia-se bem antes de 20 minutos (Figura 4.3a.1 e b1). Desta forma, torna-se extremamente viável o levantamento da termodinâmica do processo de crescimento, o que seria realmente interessante para que ocorra o entendimento dos

processos de formação de cristais de HAp. Com a diferença de 10 minutos consegue-se observar poucas alterações nos detalhes (Figura 4.3a1 e b1) em relação aos cristais obtidos com 20 minutos de crescimento (Figura 4.3a2 e b2). O processo de eletrodeposição apresenta uniformidade, pois mesmo após 2 horas (Figura 4.3a3 e b3), observa-se somente o aumento da camada de HAp eletrodepositada. Este processo ocorre devido ao processo de eletrodeposição propriamente dito. Pois a evolução de corrente ocorre somente nos segundos iniciais do processo, onde forma-se uma camada de íons adsorvidos (aderidos à superfície do anodo), chamada de Camada Interna de Helmholtz (CIH). O processo de eletrodeposição de HAp após a formação desta camada, ocorre a migração dos íons de Ca^{2+} sobre os VACNTs- O_2 e após a precipitação de PO_4^{3-} para a formação da estrutura da HAp. A partir desta primeira camada, todo o processo é assistido por difusão. Vale ressaltar que este processo torna-se inovador, sendo extremamente diferenciados de outros já obtidos na literatura, pois se trata de um processo rápido, homogêneo e eficiente.

Na Figura 4.4 segue o EDS, para comprovar a eficiência da eletrodeposição, foi realizado um EDS pontual e por uma área de $1\mu\text{m}^2$. Podemos observar a presença dos elementos Ca e P.

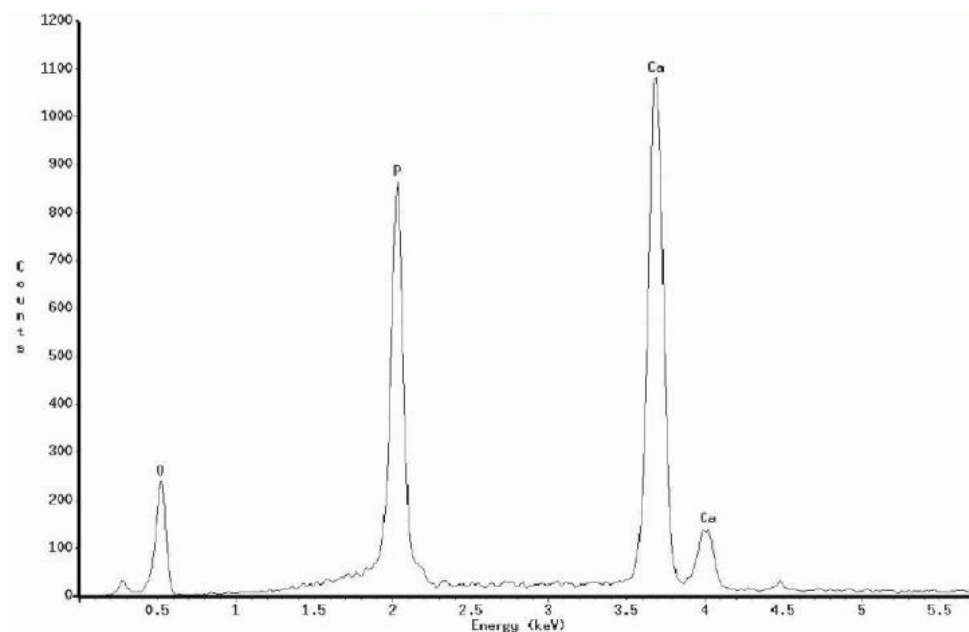


Figura 4.4: EDS dos filmes de HAp obtidos sobre VACNTs- O_2 .

No resultado de EDS mostrado na Figura 4.13, a concentração molar encontrada para o Ca foi de 9,21 mol e para o P foi de 5,63 mol, fazendo com que a relação Ca/P chegando a próximo de 1,64. Estes valores encontram-se próximos à relação Ca/P da HAp estequiométrica é 1,67 [3, 53]. A espectroscopia Raman trata-se de uma técnica de caracterização estrutural amplamente utilizada para identificação de ligações químicas presentes em nanocompósitos à base de fosfato de cálcio. Sendo assim, os modos vibracionais de Ca/P presentes nos nanocompósitos de HAp/VACNT-O₂ são mostrados na Figura 4.5.

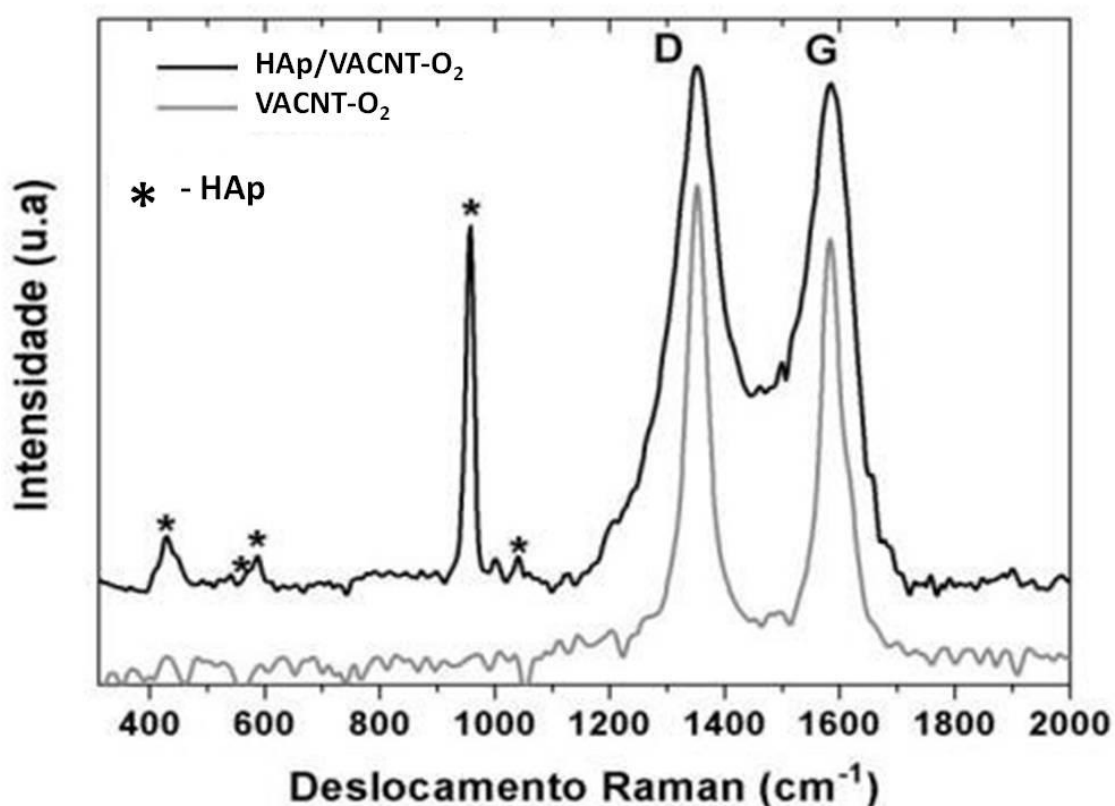


Figura 4.5: Espectro Raman dos filmes bioativos de HAp obtidos sobre as amostras de VACNT-O₂.

O espectro Raman da HAp sobre os VACNT-O₂ obtidos após 30 minutos de eletrodeposição são mostrados na Figura 4.5. Observamos em ambos os espectros a presença da banda D e G, típica de materiais carbonosos. O espectro dos biofilmes de

HAp contém bandas associadas ao carbonato de fósforo, apatita e íons de hidroxila presentes. Observa-se que ocorre a presença de uma banda muito intensa a 961 cm^{-1} , a qual está relacionada ao modo de estiramento do grupo fosfato (PO_4), característica quando obtem-se cristais de HAp. Os outros modos de fosfatos são também observados no espectro Raman, sendo eles relacionadas aos modos de estiramento, tais como: $432\text{ cm}^{-1}(\text{PO}_4)$, $590\text{ cm}^{-1}(\text{PO}_4)$, $1025\text{ cm}^{-1}(\text{PO}_4)$ e $1035\text{ cm}^{-1}(\text{CO}_3)$ [3, 53].

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E TRABALHOS FUTUROS

De acordo os testes realizados pode-se verificar que há influencia da temperatura do tempo da reação de eletrodeposição, Quanto maior a temperatura menor é o tempo para a formação da camada de HAp nos VACNTs-O₂, o que consequentemente influencia na razão cálcio/fósforo. A 23°C ocorre à formação de fosfato de cálcio amorfo em aproximadamente 50 min. A 70°C ocorre à eletrodeposição de HAp cristalina em aproximadamente 50 min. A 98°C ocorre a eletrodeposição de HAp cristalina em aproximadamente 20 min.

Propõem-se como continuidade deste projeto o estudo mais detalhado sobre os parâmetros termodinâmicos influentes no processo de eletrodeposição de HAp sobre os VACNTs-O₂. Para o estudo de tais parâmetros há a necessidade da utilização de um potenciostato com controles de pH, temperatura e monitoração de evolução de correntes durante todo o processo. Este estudo será viabilizado após a utilização do potenciostato PGSTAT128N que será montado no laboratório de Nanotecnologia Biomédica. Será também necessário realizar a caracterização dos nanocompósitos de HAp/VACNT-O₂ obtidos por: microscopia eletrônica de varredura; espectroscopia Raman; difração de raio-x, espectroscopia de infravermelho; espectroscopia dispersiva de raios-X.

6 LISTA DE PUBLICAÇÕES

Abaixo estão descritos o artigo submetido para publicação como primeiro autor e participações em congressos e conferências nacionais:

6.1 Artigos completos submetidos para publicação em anais de congressos

1. OLIVEIRA, C. S. ; F.R. MARCIANO ; LOBO, A.O. ; MATSUSHIMA, J.T. ; CORAT, E. J. . Direct hydroxyapatite electrodeposition on superhydrophilic vertically aligned carbon nanotube films. Submetido para o Congresso Latino Americano de Órgãos artificiais e Biomateriais (COLAOB) 2012.

6.2 Resumos publicados em anais de congressos

1- OLIVEIRA, C. S. ; F.R. Marciano ; LOBO, A.O. ; Matsushima, J.T. ; CORAT, E. J. . DIRECT HYDROXYAPATITE ELECTRODEPOSITION ON SUPERHYDROPHILIC VERTICALLY ALIGNED CARBON NANOTUBE FILMS. In: XXXV Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada, 2012, Águas de Lindóia. Proceedings, 2012. v. 1. p. 86.

2- Barbosa, M.C. ; OLIVEIRA, C. S. ; F.R. Marciano ; LOBO, A.O. . SYNTHESIS CONTROL AND CHARACTERIZATION OF HYDROXYAPATITE PREPARED BY WET PRECIPITATION PROCESS. In: XXXV Encontro da Física da Matéria Condensada, 2012, Águas de Lindóia. Proceedings, 2012. v. 1. p. 58

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] HARRISON, B. S. e ATALA, A. (2007). **Carbon nanotube applications for tissue engineering**. *Biomaterials*, 28, 344-353.
- [2] BALANI, K. ANDERSON, R.; LAHA, T.; ANDARA, M.; TERCERO, J.; CRUMPLER, E. e AGARWAL, A. (2007). **Plasma-sprayed carbon nanotube reinforced hydroxyapatite coatings and their interaction with human osteoblasts in vitro**. *Biomaterials*, 28, 618-624.
- [3] Lobo, Anderson de Oliveira. **Obtenção de super-hidrofilicidade em nanotubos de carbono alinhados e sua aplicação como nanobiomaterial**. Tese de Doutorado apresentada no programa de pós-graduação em Engenharia Aeronáutica e Mecânica do Instituto Tecnológico de Aeronáutica, 201.
- [4] CHOI, Y.C. et al. **Low temperature synthesis of carbon nanotubes by microwave plasma-enhanced chemical vapor deposition**. *Synthetic Metals*, v. 108, p. 159-163, 2000.
- [5] DAI, H. et al. **Single-wall nanotubes produced by metal-catalyzed disproportionation of carbon monoxide**. *Chemical Physics Letters*, v. 260, n. 3-4, p. 471-475, 1996.
- [6] ANTUNES, E. F. et al.. **Influence of diameter in the Raman spectra of aligned multi-walled carbon nanotubes**. *Carbon*, v. 45, p. 913-921, 2007.
- [7] LEE, C. J. et al. **Growth and field electron emission of vertically aligned multiwalled carbon nanotubes**. *Chemical Physics Letters*, v. 326, p. 175-180, 2000.
- [8] CHOI, Y. C. et al. **Growth of carbon nanotubes by microwave plasma-enhanced chemical vapor deposition at low temperature**. *Journal of Vacuum Science and Technology A*, n. 4, p. 18, 2000.
- [9] CHUNG, Y. H.; JOU, S. **Carbon nanotubes from catalytic pyrolysis of polypropylene**. *Materials Chemistry of Physics*, v. 92, n. 1, p. 256-259, 2005.
- [10] NAKAZAWA, S.; YOKOMORI, T.; MIZOMOTO, M. **Flame synthesis of carbon nanotubes in a wall stagnation flow**. *Chemical Physics Letters*, v. 403, n. 1-3, p. 158-162, 2005.
- [11] ZHANG, Y. F. et al. **Liquid phase synthesis of carbon nanotubes**. *Physica B*, v.323, n. 1-4, p. 293-295, 2002.
- [12] PARADISE, M.; GOSWAMI, T. **Carbon nanotubes: production and industrial applications**. *Materials & Design*, v. 28, n. 5, p. 1477-1489, 2007.
- [13] CHEN, Y. et al. **Solid-state formation of carbon and boron nitride nanotubes. Metastable, Mechanically Alloyed and Nanocrystalline Materials**, Pts 1 And 2, v. 343, n. 3, p. 63-67, 2000.
- [14] AWASTHI, K. et al. **Ball-milled carbon and hydrogen storage**. *International Journal of Hyd. Engineering*, v. 27, p. 424-432, 2002.
- [15] AMIROV, R.H. et al. **Thermal plasma torch for synthesis of carbon nanotubes. High Temperature Material Processes**, v. 10, n. 2, p. 197-205, 2006.
- [16] ZHOU, W.; WANG, Z. L.(eds). **Scanning Microscopy for Nanotechnology: techniques and applications**. New York: Springer, 2007. 522 p., ISBN: 978-0-387-33325-0.

- [17] HORBETT, T. A. **Proteins: structure, properties and adsorption to surfaces**. In: RATNER, B.D. et al. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. New York: Academic Press, 1996. p. 133.
- [18] SCHAKENRAAD, J. M. **Cell: their surfaces and interactions with materials**. RATNER, B. D. et al. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. New York: Academic Press, 1996. p. 133.
- [19] WILSON, C. J. et al. **Mediation of biomaterial-cell interactions by adsorbed proteins: a review**. *Tissue engineering*, v. 11, p. 1-18, 2005.
- [20] SATO, N.; WEBSTER, T. J. **Nanobiotechnology: implications for the future of nanotechnology in ortopedic applications**. *Expert Ver. Medicine Devices*, v. 1, n. 1, p.105-114, 2004.
- [21] L. Ferreira , J. M. Karp, L. Nobre, R. Langer. *Cell Stem Cell* 3(2008) 136-146.
- [22] N. D. Evans, E. Gentleman, J. M. Polak. *Materials Today* 9 (2006) 26-33.
- [23] PRICE, R. L. et al. **Nanometer surface roughness increases select osteoblast adhesion on carbon nanofiber compacts**. *Journal of Biomedical Materials Research A*, v. 70, p. 129-138, 2004.
- [24] WEBSTER, T. J.; SIEGEL, R. W.; BIZIOS, R. **Nanoceramics surface roughness enhances osteoblast and osteoclast functions for improved orthopedic/dental implant efficacy**. *Scripta Materialia*, v. 44, p. 1639-1642, 2001.
- [25] WASHBURN, N.R.et al. **High-throughput investigation of osteoblast response to polymer crystallinity: influence of nanometer-scale roughness on proliferation**. *Biomaterials*, v. 25, p. 1215-1224, 2004.
- [26] DALBY, M. J. et al. **In vitro reaction of endothelial cells to polymer demixed nanotopography**. *Biomaterials*, v. 23, p. 2945-2954, 2002.
- [27] LI, P. **Biomimetic nano-apatite coating capable of promoting bone ingrowth**. *Journal Biomedical Materials Research*, v. 66, p. 79-85, 2003.
- [28] MCMANUS, A. J.et al. **Evaluation of cytocompatibility and bending modulus of nanoceramic/polymer composites**. *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 72, n. 1. P. 98-106, 2005.
- [29] WHITE, A. A.; BEST, S. M. **International Journal Application Ceramics Technology**, v. 4, n. 1, p. 1-13, 2007.
- [30] ZHANG, D.et al. **Dynamic electrical properties of polymer carbon nanotube composites: Enhancement through covalent bonding**.*Journal Physics Chemistry B*, v. 110, p. 12910-12915, 2006.
- [31] ABARRATEGI, A. et al. **Multiwall carbon nanotube scaffolds for tissue engineering purposes**. *Biomaterials*, v. 29, p. 94-102, 2008.
- [32]ORTEGA, J.L.G., VILLAREAL, N.E., VILLA, H.M.G. **Visualización cristalográfica de la hidroxiapatita**. *Ingenierías*, v.7, n. 24, 46-50, 2004.
- [33] MATHEW, M., TAKAGI, S. **Structures of biological minerals in dental research**. *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, v.106, n.6, 1035-1044, 2001.
- [34] VALLESPÍR, G.P. **Clavos de fijación externa recubiertos de hidroxiapatita. Estudio clínico en alargamientos de extremidades**. Tese de doutorado, Universitat Autònoma de Barcelona, UAB, Departament de Cirurgia, 04/10/2001, 388p.

- [35] SANTOS, M. H., OLIVEIRA, M., SOUZA, L. P. de F., MANSUR, H. S., VALCONCELOS, W. L. **Synthesis control and characterization of hydroxyapatite prepared by wet precipitation process.** *Mat. Res.*, v.7, n.4, 625-630, 2004.
- [36] SCHLESINGER, M., PAUNOVIC, M. **Modern Electroplating.** New York: John Wiley, ,2000.
- [36] BAYRAKTAR, D., TAS, A. C. **Biomimetic preparation of HÁ powders at 37oC in urea – and enzyme urease – containing synthetic body fluids.** *Turk. J. Med. Sci.*, v.30,235-245, 2000.
- [37] HERNANDEZ-GIL I. F-T., GRACIA, M. A. A., PINGARRÓN, M. del C., JEREZ, L. B. **Physiological bases of boné regeneration I. histology and physiology of bone tissue.** *Med. Oral Patol Oral Cir Bucal*, v.11, E47-51, 2006.
- [38] RIVERA, J.A., RIAÑO, C.H., ECHAVARRÍA, A., MONSALVE, P.A., ALZATE, G.J.,RESTREPO, L.F., JARAMILLO, C.D. **Injertos óseos – Nueva alternative. Fase III. Obtención, caracterización y avaluación de hidroxiapatita sintética y el compuesto de hidroxiapatita sintética porosa – Proteínas morfogenéticas óseas en un modelo experimental Lapino.** *Rev. Col. Cienc. Pec.*, v.17, n.1, 20-28, 2004.
- [39] FINISIE, M. R., JOSUÉ, A., FÁVERE, V. T., LARANJEIRA, M. C. M. **Synthesis of calcium-phosphate and chitosan bioceramics for bone regeneration.** *An. Acad.Bras. Cienc.* v.73, n.4, 525-532, 2001.
- [40] DÍAZ, J.C.Q. **Utilizaczi3n de la hidroxiapatita en ciru3a maxilofacial. Actualizaci3n bibliogr3fica.** *Rev. Cubana Estomatol.*, v. 35, n.1, 16-20, 1998.
- [41] THAMARAISELVI, T. V., PRABAKARAN, K., RAJESWARI, S. **Synthesis of hydroxyapatite that mimic bone mineralogy.** *Trends Biomater. Artif. Organs.* v.19, n.2, 81-83, 2006.
- [42] RIGO, E. C. S., OLIVEIRA, L. C., SANTOS, L. A., BOSCH, A. O., CARRODEGUAS, R. G. **Implantes met3licos recobertos com hidroxiapatita.** *Rev. Bras. Eng. Biomédica*, v.15, n.1-2, 21-29, 1999.
- [43] KERN, P., SCHWALLER, P., MICHLER, J. **Electrolytic deposition of valve metal oxide thin films as interference coatings on biomedical implants.** *Euro. Cells. Mat.*, v.10, Supl.1, 25, 2005.
- [44] ATKINS, P.; JONES, L. **Chemistry – molecules, matter and change**, 3 ed., W.H. FREEMAN AND COMPANY: New York, 1997, 886p.
- [45] PIOLETTI, D. P., TAKEI, H., LIN, T., LANDUYT, P. V.,MA, Q. J., KWON, S. Y., SUNG, K-L. P. **The effects of calcium phosphate cement particles on osteoblast functions.** *Biomaterials*, v.21, 1103-1114, 2000.
- [46] MUNFORD, M.L. **Eletrodeposi33o de filmes finos de cobalto em sil3cio tipo nmonocristalino.** Disserta33o de mestrado, UFSC, 1998.
- [47] CANTO, A. J. P., **Estudo do processo de eletrodeposi33o de hidroxiapatita sobre a3o inox 316l para aplica33o em implantes dent3rios.** Disserta33o de mestrado, Programa de P3s Gradua33o em Tecnologia em Sa3de, PUCPR, 2005, 131p.
- [48] YOO JU, BARTHEL TS, NISHIMURA K, SOLCHAGA L, CAPLAN AI, GOLDGERG VM, JOHNSTONE. **The chondrogenic potential of human bone-marrow-derived mesenchymal progenitor cells** *B. J Bone Jt Surg* 1998;80:1745–57.

- [49] Pitteger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. *Science* 1999;284:143–6.
- [50] Ducey P, Schinke T, Karsenty G. *Science* 2000;289:1501–14.
- [51] Anselme K. *Biomaterials* 2000;21:667–81.
- [52] Narasaraju TSB, Phebe DE. *J Mater Sci* 1996; 31:1–21.
- [53] LOBO A.O., MARCIANO F.R., REGIANI I., RAMOS S.C., MATSUSHIMA J.T. AND CORAT E.J. (2011) **Proposed model for growth preference of plate-like nanohydroxyapatite crystals on superhydrophilic vertically-aligned carbon nanotubes by electrodeposition.** *Theor. Chem. Acc.* 130 (2011) 1071-1082. Erratum: *Theor. Chem. Acc.* 130 (2011)1083-1084.