

EFEITO DO ULTRASSOM NA PRODUÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS DE NANOTUBOS DE CARBONO/ NANOHIPOXIAPATITA

Michelle Chizzolini Barbosa¹, Lilian Siqueira¹, Caroline de Souza Oliveira¹, Evaldo Jose Corat², Hudson Zanin², Fernanda Roberta Marciano¹ e Anderson de Oliveira Lobo¹

¹Laboratório de Nanotecnologia Biomédica/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento/Universidade do Vale do Paraíba, Av. Shishima Hifumi, 2911 - São José dos Campos, 12244-000, SP, Brasil, email: mi_chizzolini@hotmail.com, lilinhasiq@hotmail.com, carol.engquimica@hotmail.com, frmarciano@univap.br e aolobo@univap.br

²Laboratório Associado de Sensores e Materiais/Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, Av. dos Astronautas 1758, São José dos Campos, 12227-010, SP, Brasil, email: hudsonzanin@gmail.com e corat@las.inpe.br

Resumo- Nanotubos de carbono multicamadas (MWCNTs) são de particular interesse para aplicações biomédicas. Nanohidroxiapatita (nHAp) tem amplas perspectivas no campo da medicina regenerativa. Assim, torna-se atraente a combinação desses dois materiais para aplicações na engenharia de tecido ósseo. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um novo método para produzir nanocompósitos nHAp / MWCNT. Por este motivo, o nitrato de cálcio, fosfato de amônio e hidróxido de amônio foram dissolvidos em água destilada. Os MWCNTs foram produzidos pela técnica de deposição de vapor químico. Depois disso, a purificação foi realizada em forno de alta temperatura em atmosfera isenta de oxigênio. Após isto, os MWCNTs foram dispersos utilizando uma sonda de ultrassom a 500 W. Após cinco dias de processo sol-gel, o precipitado foi seco a 100 °C, em seguida, as amostras foram calcinadas à 650 °C, onde após este período esfriaram até à temperatura ambiente sob fluxo de N₂ durante 1 h. Os nanocompósitos nHAp / MWCNT foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de energia dispersiva e análises de difração de raios-X.

Palavras-chave: nanotubos de carbono, nanohidroxiapatita, nanocompósitos, síntese química, regeneração do tecido.

Área do Conhecimento: Nanociência e Nanotecnologia Aplicada

Introdução

A Hidroxiapatita (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, HAp) é usada como um biomaterial para a regeneração do tecido ósseo devido a sua química e semelhanças cristalográficas com o principal componente inorgânico do osso natural (SANOSH, 2009).

A semelhança química da HAp com o osso natural levou a uma extensa pesquisa para usar HAp sintética como substituto ósseo e/ou substituição em aplicações biomédicas (HUTMACHER, 2007). Muitos métodos têm sido desenvolvidos para preparar pós de HAp. As técnicas incluem sol-gel (BEZZI, 2003), precipitação homogênea (ZHANG, 2001), hidrotérmica (LIU 1997), mecanoquímica (TORIYAMA, 1996), pulverização por radio-frequência à plasma (KUMAR, 2001), spray seco (LUO, 1995), a síntese de combustão (CUNEYTTAS, 2000), choque supersônica por jato retangular (SHUKLA, 2001), de pulverização ultrasônica de liofilização (ITATANI, 2000), síntese

sonoquímica (KIM, 2001), etc. Sendo entre esses métodos, o processo químico úmido normalmente utilizado para preparar pós de HAp, porque trata-se de simples operação e não requer equipamentos com custos elevados. Assim, HAp é classificada como um dos melhores materiais biocompatíveis e bioativos com muitas aplicações biológicas, tais como suportes de reparação óssea (HUKOVIC, 2003). No entanto, as suas baixas propriedades mecânicas, tais como, fragilidade e baixa resistência ao desgaste, têm limitado o uso de revestimento HAp à granel em aplicações como biomateriais para implantes (GOLLER, 2003). Com o intuito de resolução deste problema, HAp compósitos reforçados com polímeros têm sido utilizados (ROADER, 2003), com o objetivo de reforçar as fases, a fim de alcançar as desejadas propriedades mecânicas.

Os avanços na pesquisa de biomateriais têm sugerido que a melhor osteocondutividade de HAp poderia ser conseguida com um cristal mais próximo da estrutura, tamanho e morfologia da apatita biológica, de modo que a

nanohidroxiapatita (nHAp) é de interesse atual. (OSÓRIO, 2008).

Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs) vem despertando interesse de pesquisadores na área biomédica, devido à sua combinação de propriedades mecânicas e químicas avançada, e de sua biocompatibilidade (QI, 2003). Superfícies hidrofílicas são geralmente favoráveis à fixação das células para a biomineralização de tecidos ósseos (SAWASE, 2008).

Algumas investigações foram realizadas na síntese de nanocompósitos à base de nHAp/MWCNTs utilizando diversos métodos, tais como o fluido corporal simulado (ARYAL, 2006), revestimentos compósitos, obtidos por eletroforese (BAI, 2010), deposição de aerossol (HAHNA, 2009) e outros métodos à base de sol-gel têm sido usados para obter nanocompósitos à base de MWCNTs/nHAp (NAJAFI, 2009). No entanto, estes métodos consistem em baixa dispersabilidade dos MWCNTs em soluções de obtenção da nHAp. O objetivo deste trabalho, foi o desenvolvimento de um novo processo para a produção de nanocompósitos à base de nHAp/MWCNT para aplicações na área de implantes ósseo regenerativo. Para este, associou-se o efeito do ultrassom a um novo método de funcionalização dos MWCNTs visando melhorar a dispersabilidade dos mesmos nas soluções para o preparo de nHAp.

Metodologia

Os MWCNTs foram depositados na parede do tubo de quartzo por vapor químico (método CVD térmico) à pressão atmosférica e a 850 °C. Fontes de carbono (cânfora, $C_{10}H_{16}O$, 84% da massa total), e o catalisador de Fe (ferroceno, $Fe(C_5H_5)_2$, 16%) foram evaporados a 200°C e transportado para dentro do tubo de quartzo por um fluxo de N_2 de 1,5 LPM. Após 5 minutos de reação, os vapores foram cortados e o forno arrefeceu até a temperatura ambiente sob N_2 . Os MWCNTs foram produzidos por cânfora/ferroceno e purificados por recozimento a alta temperatura numa atmosfera livre de oxigênio (N_2) (ANTUNES, 2011). O novo método de funcionalização dos MWCNTs para a incorporação de grupos contendo oxigênio foi realizada num reator de plasma pulsado de corrente contínua, com uma taxa de fluxo de oxigênio de 1 sccm, com uma pressão de 85 mTorr, -700 V e com uma frequência de pulsos de 20 kHz a 50 % ciclo de trabalho durante 40 minutos (LIU, 2005; Xu, 2007; RAMOS, 2010;).

Para a produção de nanocompósitos nHAp/MWCNT, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ e $(NH_4)_2H_2PO_4$ foram dissolvidos em 50 mL de água deionizada

separadamente. Pó de MWCNTs funcionalizados (0,01% em peso) foram dispersos em solução de $(NH_4)_2H_2PO_4$, por 15 minutos, utilizando uma sonda ultrassônica (Vibracell Sonics, 500 W). Depois disto, as soluções foram agitadas a 100 °C por um tempo de 15 minutos, produzindo um precipitado leitoso/gelatinoso. O controle do pH foi realizado inserindo-se solução de NH_4OH (25%) gota à gota, visando a manutenção do pH da mesma em torno de 10 durante todo o processo. O precipitado foi deixado em repouso durante 120 horas, correspondendo ao tempo de maturação. O precipitado resultante foi filtrado, lavado com água destilada e colocado em um forno durante 48 horas a 60 °C. Após este período, foi calcinado a 650 °C em um forno tipo mufla 60 minutos.

A análise morfológica dos nanocompósitos de nHAp/MWCNT produzidos foi realizada no Departamento de Engenharia de Materiais da UFSCar (DEMA). As análises foram feitas no Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) da UFSCar, e foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura da marca Philips e modelo XL 30 FEG com energia dispersiva de raios-X acoplada (EDX).

A análise estrutural foi realizada a partir da técnica de difração de raios-x (Philips X`Pert MRD) no Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba e da espectroscopia Raman (RENISHAW 2000, 514 nm) do Laboratório Associado de Sensores e Materiais do Instituto de Pesquisas Espaciais. O tamanho dos cristaltos, e consequente verificação da forma nanométrica de nHAp produzidos foram calculados por meio da equação de Scherer (BARRERE, 2004). Foram utilizada para comparações amostras de HAp da SIGMA.

Resultados

Fig. 1 mostra os resultados finais dos experimentos de produção de nHAp, MWCTNT e os nanocompósitos de nHAp/MWCNTs após 120 minutos de repouso, filtrado e lavado com água destilada, colocado em um forno durante 2 dias a 60 °C e calcinado a 650 °C num forno.

A Fig. 2 mostra as imagens de MEV dos nanocompósitos nHAp/ MWCNT. Fig. 2a mostra uma uniformidade e um enorme crescimento de clusters cristalinos de nHAp recobrimo totalmente a extensão da imagem, identificando a formação dos nanocompósitos de nHAp/MWCNT. Fig. 2b mostra detalhes de nanocompósitos nHAp/ MWCNT e MWCNTs isolados.

Na Fig. 3a mostra os detalhes dos cristais produzidos de nHAp aderidos aos MWCNTs superhidrofílicos. Mais detalhes dos cristais de nHAp são mostrados na Fig. 3b.

Determinou-se a razão Ca/P (% em peso) pela técnica de EDX acoplada ao MEV, onde identificou-se valores próximos de 1,95, típico de HAp carbonatada comercial (SIGMA CAS: 12167-74-7).

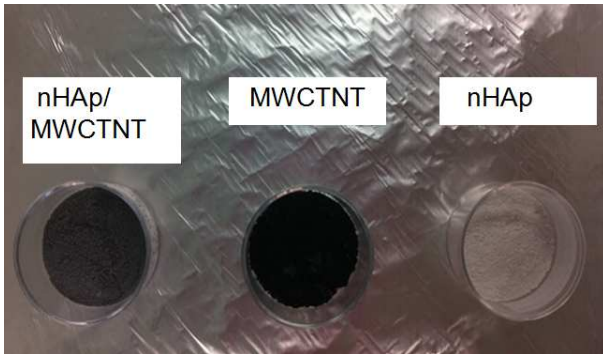


Fig. 1: Fotos de (a) nHAp / MWCTNs, (b) produção de pós de MWCTNs e nHAp após o processo úmido.

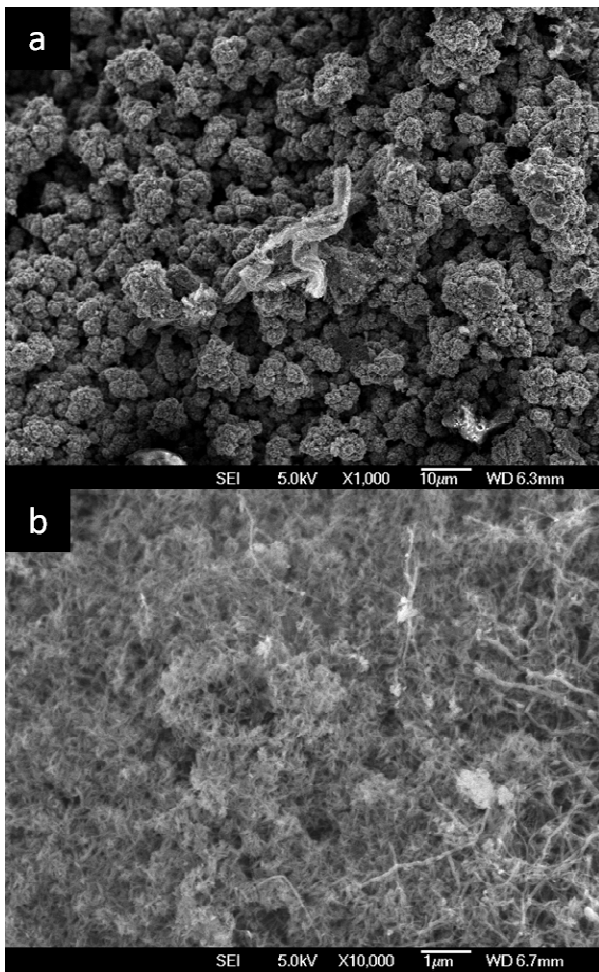


Fig. 2: Microscopia eletrônica de varredura identificando os nanocompósitos de nHAp/MWCNT produzidos.

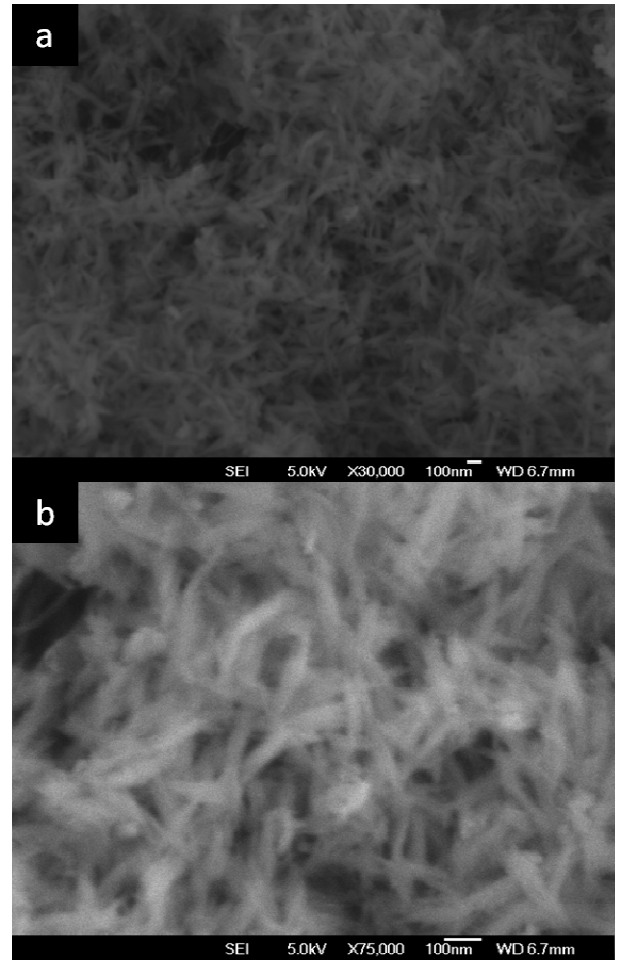


Fig. 3: Microscopia eletrônica de varredura identificando os nanocompósitos de nHAp/MWCNT produzidos.

A Fig. 4 mostra a análise de EDX. Na Fig 4a, observa-se a imagem de MEV coletada para a análise. Nas Fig. 4b-d observam-se claramente a homogeneidade da distribuição de Ca (Fig. 4a), P (Fig. 4c) e O (Fig. 4d), em todas as regiões estudadas. A razão Ca/P (em peso) determinada a partir da análise foi de aproximadamente 1,95.

A Fig. 5 mostra a DRX dos nanocompósitos nHAp / MWCNT (Fig. 5a), nHAp (Fig. 5b) e MWCNT em pó (Fig. 5c) obtidos para comparação. Os principais picos de difração da nHAp aparecem em 2θ : valores de $25,9^\circ$ de reflexão (002), de $31,9^\circ$ (triplete) para as reflexões (211), (112) e (300), e em $34,0^\circ$ de reflexão (200) (JCPDS 9-432). O plano (002) correspondente ao grafite é mostrado em na Fig. 5c. Utilizou-se para os cálculos apresentados na Tabela 1, a equação Scherer, onde se obteve o tamanho médio do cristalito ($t = 0.89/B\cos B$), conforme calculada para fosfatos de cálcio por Hua et al (2009).

Todos os parâmetros de picos de difração e tamanho do cristalito são mostrados na tabela 1. Percebe-se que houve a formação da fase de nHAp, sendo identificadas a fase nano métrica à largura de linha apresentada pelo pico centralizado à 25,89°.

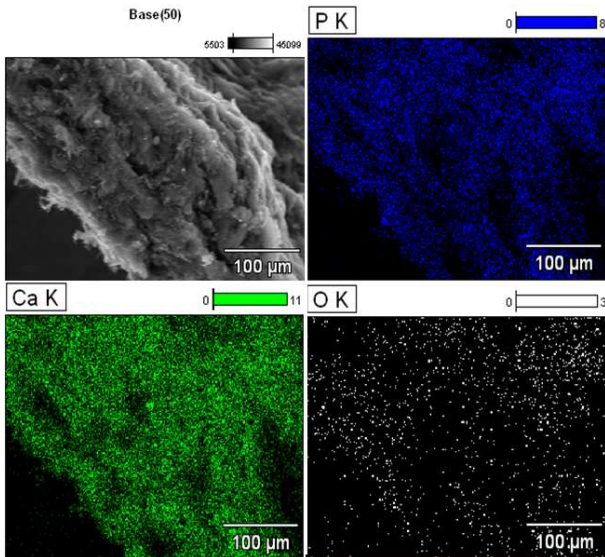


Fig. 4: Imagem do mapeamento de nHAp / MWCNTs (a) nanocompósitos mostra composições elementares de Ca (b), P (c) e O (d).

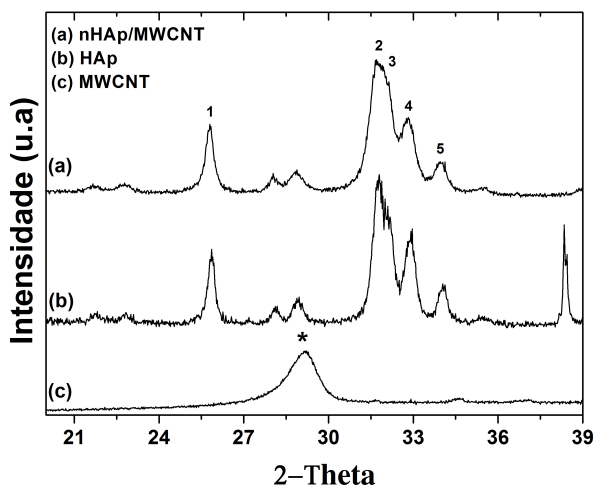


Fig. 5: Raios X padrões de difração dos (a) nanocompósitos nHAp / MWCNT (b) em pó e nHAP MWCNTs.

A Fig. 6 mostra espectro Raman dos nanocompósitos nHAp/ MWCNT após o processo utilizado. Observa-se a presença da banda D (1355 cm⁻¹) G (1582 cm⁻¹) de primeira ordem e as bandas G' (2701 cm⁻¹), D+G (2945 cm⁻¹) e 2xG (3247 cm⁻¹) de segunda ordem típica de MWCNTs produzidos pela técnica CVD (ANTUNES, 2006). Estas razões identificam a cristalinidade e grau de

grafitização dos MWCNT produzidos. Identifica-se também na Fig. 6, o pico Raman típico de nHAp, localizada à 961 cm⁻¹ devido a presença da modo de estiramento do grupo fosfato (PO₄) (FUJIMORI, 2000). As razões I_D/I_G e I_{G'}/I_G seguem descritos na Fig. 6.

Tabela 1: Parâmetros coletados de deconvolução do difratograma de raios X de nanocompósitos nHAp / MWCNT. O 9-432 JPCDS foi usado para comparação. * (002) plano de grafite.

Nº	Plano	Pico [2θ]	FWHM [2θ]	Tamanho do cristalito [Å]
1	(002)	25,89	0,28	287
2	(211)	31,72	0,41	199
3	(112)	32,14	0,37	223
4	(300)	32,86	0,46	177
5	(200)	34,01	0,34	239

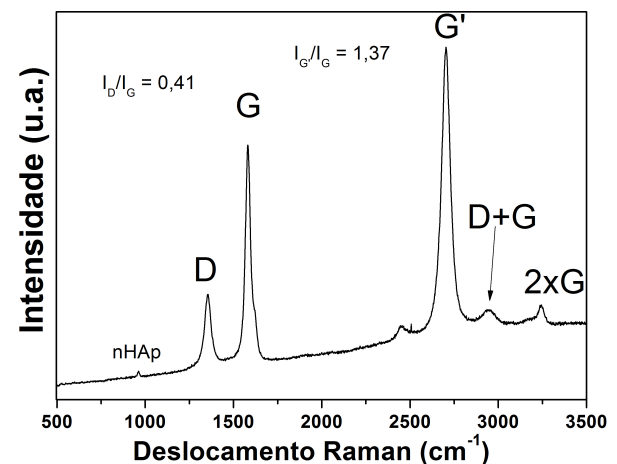


Fig. 6: Espectro Raman dos nanocompósitos nHAp/MWCNT.

Discussão

Os resultados obtidos da caracterização do pó pelas técnicas de MEV, EDX, espectroscopia Raman e DRX mostraram-se eficientes na caracterização dos nanocompósitos de nHAp/MWCNTs produzidos. Observou-se homogeneidade na formação de nHApv(Fig. 2 e 3). Na Fig. 2b e 3b foram observados pontos isolados de MWCNT (setas) e nanocompósitos de nHAp/MWCNTs. As Fig 3a e 3b são imagens aproximadas mostrando mais detalhes de nHAp/MWCNTs.

Com o resultado do EDX, evidenciamos a homogeneidade dos nanocompósitos, mostrada pelo mapeamento de composições elementares de Ca, P e O. A alta temperatura de calcinação foi decisiva na razão Ca/P (em torno de 1,95),

comparando-a com a Hap comercial. Através da Fig. 5 observou-se a presença da fase da nHAp, onde através da equação de Scherer identificou-se a presença da fase nanométrica (Tabela 1).

Legeros e colaboradores (1993) definiram que o método de síntese química depende da concentração dos reagentes, pH e da reação para a formação da HA. Os autores também definiram que os precipitados formados são usualmente deficientes em Ca e HPO₄⁻, sendo formados fosfatos tricálcio (TCP) após tratamento térmico acima de 800°C. Sabe-se também da dificuldade em produzir HA estequiométrica quando se utiliza este método (SMIČIKLAS, 2005). Com os resultados apresentados de DRX, EDX e espectroscopia Raman, percebe-se que foram produzidos HA com excesso de Ca e HPO₄⁻. Monmaturapoj (2008) apresentou resultados similares utilizando o efeito do ultrassom na produção de HA pela síntese química, onde o autor identificou a presença da fase da HA+TCP. Investigações recentes revelam que a reatividade de espécies químicas em soluções sendo envolvidas em uma síntese podem ser estimuladas por irradiações ultrassônica (UI) da mistura de reação. Foi reconhecido que esse tipo de tratamento causa cavitação em uma formação indutiva aquosa media, crescimento e colapso de micro bolhas. Este processo de agitação intensa leva a dissolução-precipitação de sólidos por qual a redução do tamanho de partículas e ativação superficial de materiais sólidos é produzida (CAMPOS, 2007; GEDANKEN, 2004 ; HAN, 2007) A eficiência da síntese depende de muitas variáveis, especialmente levando em conta o tipo de aparelho ultrassônico, i.e. o uso de um homogenizador ultrassônico de bico, que é mais eficiente do que um banho ultrassônico. Neste sentido, associou-se uma ponta de ultrassom com ajustes variáveis em até 500 W, sendo monitorada durante todo o intervalo de tempo do processo. Verificou-se que a ponta transferiu 119W durante os 30 minutos do processo, garantindo com isso a estrutura nano métrica observada (Figura 3a e 3b)

A literatura atual identifica diversas técnicas para a produção de nanocompósitos à base de HA e CNTs utilizando o método de síntese química. Entretanto, usualmente os CNTs são funcionalizados utilizando uma mistura de ácidos nítricos e sulfúricos (LAHIRI, 2012) e incorporados durante o processo de síntese química. A porcentagem máxima de O₂ incorporados nas superfícies dos MWCNTs após a utilização destes métodos são de aproximadamente 15% (XU, 2007). Neste trabalho, consegue-se inserir aos MWCNTs em torno de 20% de O₂, tornando-os superhidrofílicos, possibilitando assim que os nanocristais de nHAp sejam totalmente

incorporados em toda a estrutura dos MWCNTs facilitando com isso a dispersabilidade em ultrassom e conseqüentemente a incorporação de cristais de nHAp ao redor de toda sua extensão

O método de ultrassom também já foi associado ao processo de síntese química de nanocompósitos à base de CNTs e HA, entretanto foram somente utilizados no início do processo, não sendo mantidos durante todo o processo de síntese, além de produzirem sobre substratos de Ti (SINGH, 2006). O método aqui apresentado, além de utilizar o método de funcionalização de MWCNTs utilizando plasma de O₂ visando à formação de grupos carboxílicos, associa o efeito do ultrassom durante o processo de síntese química, sendo a associação de ambos o grande diferencial apresentado neste trabalho.

Conclusão

Foram mostrados pela primeira vez o efeito do ultrassom à produção de nanocompósitos de nHAp/MWCNTs funcionalizados utilizando plasma de oxigênio. Para este estudo, a precipitação via química apresenta-se como um método eficiente para a produção de nanocompósitos nHAp / MWCNT. Aquecendo o precipitado como nHAp/nanocompósitos MWCNT a 650 ° C durante 1 h provocamos a redução da água da estrutura e aumento de cristalinidade. Após a funcionalização com plasma de oxigênio, o pó de MWCNTs tem característica polar e pode interagir facilmente com os líquidos polares, tais como cálcio / fósforo solução. O uso da sonda ultrassônica para dispersar o pó de MWCNTs funcionalizados mostrou-se como um método eficiente para produzir um nanocompósito homogêneo. Como trabalhos futuros pretende-se aumentar o intervalo de tempo do efeito do ultrassom associando ao rendimento e redução dos nanocristais

Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP (2011/17877-7) e ao CNPq (800042/2012-3) pelo apoio financeiro deste projeto.

Referências

- ANTUNES, E. F. ; LOBO, A. O. ; CORAT, E. J. et al. Comparative study of first- and second-order Raman spectra of MWCNT at visible and infrared laser excitation. **Carbon (New York)**, V. 44, n.11, p. 2202-2211, 2006.
- ANTUNES, E.F. ; DE RESENDE, V.G. ; MENGUI, U.A. et al. Analyses of residual iron in carbon nanotubes produced by camphor/ferrocene pyrolysis and purified by high temperature annealing. **Applied Surface Science** , V. 257,n. 18, p. 8038-8043, 2011.
- ARYAL, S.; BHATTARAIA, S.R.; REMANT BAHADUR, et al.. Carbon nanotubes assisted biomimetic synthesis of

- hydroxyapatite from simulated body fluid. **Mat Sci and Eng A**. V.426, n.1-2, p. 202 - 207, 2006.
- BAI, Y.; NEUPANE, M.P.; et al. Electrophoretic deposition of carbon nanotubes-hydroxyapatite nanocomposites on titanium substrate. **Mater Sci and Eng C**. V.30, n.7, p.1043 - 1049, 2010.
- BEZZI, G.; CELOTTI, G.; LANDI, E.; et al. A novel sol-gel technique for hydroxyapatite preparation. **Mater. Chem. Phys.** V.78, n.3, p. 816 - 824, 2003.
- CAMPOS, M.; MÜLLER, F.A.; BRESSIANI, A.H.A.; BRESSIANI, J.C.; GREIL, P. Sonochemical synthesis of calcium phosphate powders, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. V.18, n. 5, p. 669-675, 2007.
- FUJIMORI H.; TOYA, H.; IOKU, K.; GOTO, S.; et al. In situ observation of defects in hydroxyapatite up to 1200°C by ultraviolet Raman spectroscopy. **Chemical Physics Letters**, V.325, n.4 p. 383 - 388, 2000.
- GEDANKEN, A. Using sonochemistry for the fabrication of nanomaterials. **Ultrasonics Sonochemistry**. V.11, n.2, p. 47-55, 2004.
- GOLLER, G.; DEMIRKIRAN, H.; OKTAR, F.N.; et al. Processing and characterization of bioglass reinforced hydroxyapatite composites. **Ceram Int**. V.29, n. 6, p. 721 - 724, 2003.
- HAHNA, B-D; LEEA, J-M; PARKA, D-S; et al. Mechanical and in vitro biological performances of hydroxyapatite-carbon nanotube composite coatings deposited on Ti by aerosol deposition. **Acta Biomaterialia**. V. 5, n.8, p. 3205 - 3214, 2009.
- HAN, Y.; LI, S.; WANG, X.; BAUER, I.; YIN, M. Sonochemical preparation of hydroxyapatite nanoparticles stabilized by glycosaminoglycans, **Ultrasonics Sonochemistry**. V.14, n.3, p. 286-290, 2007.
- HUA R, LIN C, SHI H, WANGA H. Electrochemical deposition mechanism of calcium phosphate coating in dilute Ca-P electrolyte system. **Mater Chem Phys**. V.115, n.2-3, p.718-723, 2009.
- HUKOVIC, M.M.; TKALCEC, E.; KWOKAL, A.; et al. An in vitro study of Ti and Ti-alloys coated with sol-gel derived hydroxyapatite coatings. **Surf Coat Technol**. V.165, n.1, p.40 - 50, 2003.
- HUTMACHER, DW; SCHANTZ, JT; LAM, CXF; et al. State of the art and future directions of scaffold based bone engineering from a biomaterials Perspective. **J Tissue Eng Regen Med**. V.1, n.4, p.245 - 260, 2007.
- ITATANI, K.; IWAFUNE, K.; SCOTT HOWELL, F.; et al. Preparation of various calcium-phosphate powders by ultrasonic spray freeze-drying technique. **Mater. Res. Bull.** V.35, n.4, p.575 - 585, 2000.
- KIM, W.; SAITO, F. Sonochemical synthesis of hydroxyapatite from H₃PO₄ solution with Ca(OH)₂. **Ultrason Sonochem**. V.8, n.2, p. 85 - 88, 2001.
- KUMAR, R.; CHEANG, P.; KHOR, K.A. RF plasma processing of ultra-fine hydroxyapatite powders. **J. Mater. Process. Technol**. V.113, n. 1-3, p.456 - 462, 2001.
- LAHIRI, D.; GHOSH, S.; AGARWAL, A. Carbon nanotube reinforced hydroxyapatite composite for orthopedic application: A review. **Mat. Sci. and Eng. C**, V.32, p. 1727-1758, 2012.
- LEGEROS, R. Z.; LEGEROS, J. P. Dense Hydroxyapatite. In : **An Introduction to Bioceramics**. Hench, L. L. and Wilson, J. (eds.) London : World Scientific : 139-180, 1993.
- LIU, H.S.; CHIN, T.S.; LAI, L.S.; et al. Hydroxyapatite synthesized by a simplified hydrothermal Method. **Ceram Int**. V. 23, n.1, p.19 - 25, 1997
- LIU, M.; YANG, Y.; ZHU, T.; LIU, Z. Chemical modification of single-walled carbon nanotubes with peroxytrifluoroacetic acid. **Carbon**. V.43, n.7, p. 1470 - 1478, 2005.
- LUO, P.; NIEH, T.G. Synthesis of ultrafine hydroxyapatite particles by a spray dry method. **Mater. Sci. Eng. C**. V.3, n.2, p.75 - 78, 1995.
- MONMATURAPOJ, N. Nano-size Hydroxyapatite Powders Preparation by Wet-Chemical Precipitation Route. **J. of Met., Mat. and Min**. V.18, p.15-20, 2008.
- NAJAFI, H.; NEMATI, Z.A.; SADEGUIAN, Z. Inclusion of carbon nanotubes in a hydroxyapatite sol-gel matrix. **Ceram Int**. V.35, n.7, p.2987 - 2991, 2009.
- OSÓRIO, A.G. Funcionalização de nanotubos de carbono e sua utilização como reforço em matriz de hidroxiapatita. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Minas, Metalúrgica e de Materiais) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Escola de Engenharia, 2008.
- QI, H.J.; TEO, K.B.K.; LAU, K.K.S.; et al. Determination of mechanical properties of carbon nanotubes and vertically aligned carbon nanotube forests using nanoindentation. **J Mech Phys Solids**. V.51, p. 2213 - 2237, 2003.
- RAMOS, S.C.; VASCONCELOS, G.; ANTUNES, E.F.; et al. Wettability control on vertically-aligned multi-wall carbon nanotubes surfaces with oxygen pulsed dc plasma and CO₂ laser treatments. **Diam. and Rel. Mat.**, V.19, n.7-9, p. 752 - 755, 2010.
- ROADER, R.K.; SPROUL, M.M.; TURNER, C.H. Hydroxyapatite whiskers provide improved mechanical properties in reinforced polymer composites. **J Biomed Mater Res Part A**. V.67A, p.801 - 812, 2003.
- SANOSH, K.P.; CHU, M.C.H.; BALAKRISHNAN, A.; et al. Synthesis of nano hydroxyapatite powder that simulate teeth particle morphology and composition. **Current Applied Physics**. V.9, p.1459 - 1462, 2009.
- SAWASE, T.; JIMBO, R.; BABA, K.; et al. Photo-induced hydrophilicity enhances initial cell behavior and early bone apposition. **Clin Oral Implan Res**. V.19, p. 491 - 496, 2008.
- SHUKLA, V.; ELLIOTT, G.S.; KEAR, B.H. Hyperkinetic deposition of nanopowders by supersonic rectangular jet impingement. **Scr. Mater**. V.44, p. 2179 - 2182, 2001.
- SINGH, I.; KAYA, C.; SHAFFER, M.S.P.; THOMAS, B.C.; BOCCACCINI, A.R. Bioactive ceramic coatings containing carbon nanotubes on metallic substrates by electrophoretic deposition. **J. Mater. Sci.**, v. 41, p. 8144-8151, 2006.
- SMIČIKLAS, I. ONJIA, A. AND RAIČEVIČ, S. Experimental Design Approach in the Synthesis of Hydroxyapatite by Neutralization Method. **Sep. Purif. Technol.**, V. 44, p.97-102, 2005.
- TAS, A.C. Combustion synthesis of calcium phosphate bio-ceramic powders, **J. Eur. Ceram. Soc**. V. 20, p. 2389 - 2960, 2000.
- TORIYAMA, M.; RAVAGLIOLI, A.; KRAJEWSKI, A.; CELOTTI, G.; PIANCAS-TELLI, A. Synthesis of hydroxyapatite-based powders by mechano-chemical method and their sintering. **J. Eur. Ceram. Soc**. V.16, p. 429 - 436, 1996.
- ZHANG, H.Q.; LI, S.P.; YAN, Y.H. Dissolution behavior of hydroxyapatite in hydrothermal solution. **Ceram Int**. V. 27, p. 451 - 454, 2001.
- XU T, YANG J, LIU J, FU Q. Surface modification of multi-walled carbon nanotubes by O₂ plasma. **Appl Surf Sci**. V.253, p. 8945-895, 2007.