

ELETRODEPOSIÇÃO DE HIDROXIAPATITA SOBRE FILMES DE CARBONO-TIPO DIAMANTE

J. Milani*, N.M. Martinelli*, V.A. Christino*, F.C. Silva*, C.A.G.S.Oliveira*, V.J. Trava-Airoldi**, A.O. Lobo*, F.R. Marciano*

* Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), Laboratório de Nanotecnologia (NANOBIO),
Av. Shishima Hifumi 2911, São José dos Campos, 12244-000, SP, Brasil.

** Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), Laboratório Associado de Sensores e Materiais (LAS),
Av. dos Astronautas 1758, São José dos Campos, 12227-010, SP, Brasil.

e-mail: juliana_mila@hotmail.com

Resumo: Biomateriais nanoestruturados são promissores pelo fato de apresentarem similaridades com componentes nanoestruturados de matriz extracelular. Os filmes de carbono-tipo diamante (DLC) são atualmente de grande interesse da comunidade científica e tecnológica devido às suas propriedades, como baixo coeficiente de atrito, elevada dureza, inércia química, alta aderência a superfícies metálicas com diferentes formas e fácil obtenção para utilização. Compósitos à base de hidroxiapatita são buscados com o objetivo de aplicações ósseo-regenerativas, devido às suas propriedades bioativas. O objetivo desse trabalho é a eletrodeposição de hidroxiapatita sobre filmes de DLC contendo nanopartículas de dióxido de titânio incorporadas visando a criação de um compósito bioativo para a regeneração óssea. Os filmes de DLC foram depositados sobre superfícies de aço inoxidável 304 utilizando a técnica deposição química da fase vapor assistida por plasma. As nanopartículas foram incorporadas nos filmes durante o processo de deposição. A hidroxiapatita foi eletrodepositada sobre a superfície dos filmes de DLC aplicando-se uma tensão de 3,4 V e utilizando uma solução de 2,5 mM de nitrato de cálcio tetrahidratado e 1,5 mM Di-hidrogenofosfato de amônio. As amostras foram caracterizadas utilizando-se microscopia eletrônica de varredura (MEV), energia dispersiva de raios-X (EDS) e difratometria de raios-X (DRX). As diferenças entre as morfologias dos cristais e razão Ca/P são mostradas de acordo com a concentração de dióxido de titânio nos filmes.

Palavras-chave: eletrodeposição, hidroxiapatita, carbono tipo-diamante, nanopartículas.

Abstract: Nanostructured biomaterials are promising because they have similarities with nanostructured components of extracellular matrix. The films of diamond-like carbon (DLC) are currently of great interest to the scientific and technological community due to its properties such as low friction coefficient, high hardness, chemical inertness, high adhesion to metal surfaces with different shapes and readily available for use. Composites based on hydroxyapatite are sought for the purpose of

bone-regenerative applications due to their bioactive properties. The aim of this work is the electrodeposition of hydroxyapatite on DLC films containing nanoparticles of titanium dioxide incorporated aiming to create a bioactive composite for bone regeneration. The DLC films were deposited on 304 stainless steel surface using plasma enhanced chemical vapor deposition technique. The nanoparticles have been incorporated into the films during the deposition process. Hydroxyapatite was electroplated onto the surface of the DLC films by applying a voltage of 3.4 V and using a 2.5 mM solution of calcium nitrate tetrahydrate and 1.5 mM ammonium dihydrogen. The samples were characterized using energy dispersive X-ray (EDX) and scanning electron microscopy (SEM). The differences between the morphology of the crystals and Ca/P ratio are shown according to the concentration of titanium dioxide in the films.

Keywords: electroplating, hydroxyapatite, DLC films, nanoparticles.

Introdução

A procura por biomateriais estende-se através da utilização de materiais de origem biológica, como no caso dos enxertos e dos implantes. Contudo, devido às limitações, estudos têm sido feitos na busca pelo desenvolvimento de biomateriais apropriados, o que pode levar ao decréscimo da utilização de biomateriais de origem natural.[1,2]

O crescente aumento na expectativa de vida da sociedade tem resultado e motivado o desenvolvimento de biomateriais capazes de substituir e/ou estimular a adesão, crescimento e proliferação de tecidos, de forma a reparar e/ou substituir tecidos vivos vitimados por traumas ou doenças. Uma tentativa para reabilitação do tecido é a substituição do tecido ósseo através da utilização permanente de implantes, feitos à base de metais, cerâmicas, polímeros e compósitos. Diversos materiais têm sido testados com o objetivo de aplicação como substitutos ou regeneradores ósseos. [2,3] Um dos fatores que estimulam o crescimento ósseo é o aspecto poroso do material utilizado, que permite o crescimento

de osteoblastos. Por esta razão, o estudo se volta a nanotecnologia no desenvolvimento de biomateriais metálicos de superfície com característica porosa (metais celulares) que se caracterizam por apresentarem uma grande quantidade de vazios, delimitados por paredes metálicas. Este arranjo fornece uma combinação de propriedades bastante peculiares, como baixa densidade, somando-se a alta rigidez e grande capacidade de absorção de energia. Em termos biológicos, estes metais porosos oferecem arquitetura muito propícia para uso como regeneradores ósseos, pois a topografia da superfície das paredes dos poros (material) compõe uma chave muito importante na interação material/matriz óssea, sendo assim um adesivo ósseo. [1]

Estudo de deposição de hidroxiapatita (HAp - fosfato de cálcio hidratado) despertam interesses para aplicações na medicina regenerativa e reparadora de tecidos ósseos. Dentre as vantagens se destacam a facilidade em guiar a formação de tecido, devido à suas estruturas físicas; favorecimento de trocas de fluidos biológicos devido à porosidade, com isso facilitando a nutrição e consequentemente a osseointegração. Porém, possui deficiência em suas propriedades mecânicas, tais como fragilidade e baixa resistência ao desgaste. A fim de criar novos nanobiomateriais que imitam osso, é essencial desenvolver estratégias para obter melhores propriedades mecânicas, além de uma estrutura cristalina que seja favorável para aumentar a osseointegração devido às propriedades de bioatividade.[5]

Filmes de carbono-tipo diamante (*diamond-like carbon*, DLC) são de grande interesse devido às suas propriedades, como baixo coeficiente de atrito, elevada dureza, inércia química, possibilidade de deposição em substratos metálicos com diferentes formas, obtenção em grandes escalas e, especialmente devido à alta aderência alcançada em superfícies de materiais ferrosos. [6] É propícia a incorporação de nanopartículas de dióxido de titânio nos filmes de DLC para aumentar a sua ação bactericida. Por fim, a combinação das propriedades de bioatividade da HAp com as características únicas dos filmes de DLC com nanopartículas de dióxido de titânio incorporadas aparece como uma nova alternativa para a fabricação de biomateriais metálicos compatíveis visando aplicações ósseo-regenerativas.

Materiais e métodos

Os substratos (discos com espessura de 1 mm e diâmetro de 11 mm) utilizados para a realização dos experimentos neste trabalho foram amostras de aço inoxidável 304. Esses substratos foram submetidos a alguns processos de limpeza, responsáveis pela total remoção de impurezas que possam vir a comprometer a aderência dos filmes de DLC à sua superfície. Inicialmente, os substratos metálicos de aço inoxidável foram limpos, em banho de acetona PA e sonificados por 5 minutos. Após este processo, as amostras foram polidas seguindo uma sequência de lixas, indo da 600 a 2000 e finalizando com o polimento em feltro com pasta de

diamante de 2,5 µm. Após o polimento, as amostras foram novamente limpas em banho de acetona PA, sonificadas por 10 minutos, e secas utilizando um jato de nitrogênio super seco.

A deposição dos filmes finos de DLC foi realizada pela técnica de deposição química da fase vapor assistida por plasma (*plasma enhanced chemical vapor deposition*, PECVD). A sequência de gases injetados no interior da câmara pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1. Sequência de gases injetados no processo de deposição dos filmes finos de DLC.

Elemento	Fluxo (sccm)	Pressão (mTorr)	Tensão (V)	Tempo (min)
Argônio	1	8,0	-700	20
Silano	1	8,0	-700	20
Metano	1	8,0	-400	20
Hexano	-	7,5	-700	180

Para a produção dos filmes de DLC contendo nanopartículas de dióxido de titânio (TiO₂-DLC) incorporadas, nanopartículas de TiO₂ (Aeroxide® P25, Evonik) com cerca de 21 nm de diâmetro foram dispersas em hexano (precursor) na concentração de 0,1 g/L. Essa dispersão substituiu o hexano no processo de deposição para a produção dos filmes de TiO₂-DLC.

Para a produção do eletrólito foi utilizado reagentes de alta qualidade (Sigma-Aldrich®), com máxima pureza, tais descritos na Tabela 2. Salienta-se que para a preparação do eletrólito utilizou-se a razão Ca/P da HAp estequiométrica. O pH da solução eletrolítica foi em torno de 4,8.

Tabela 2. Reagentes do eletrólito da marca SIGMA-ALDRICH®.

Eletrólitos	Concentração (mM)	Volume (mL)
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	2,5	50
NH ₄ H ₂ PO ₄	1,5	50

Existem diversas formas de deposição da hidroxiapatita em biomateriais. Este tem como vantagem a produção de um filme fino, cristalino, homogêneo e aderente, além de ser um processo rápido, eficiente e de baixo custo, onde a composição e o controle da estrutura de revestimento são possíveis devido à temperatura de processamento relativamente baixa[7].

As amostras foram submersas na solução eletrolítica. Durante o processo, o eletrólito permaneceu a uma temperatura entre de 70 °C sob agitação contínua, por um período de 120 minutos. Como catodo foi utilizada a platina e o anodo foi montado utilizando o cachimbo onde a amostra foi posicionada no centro para receberem a HAp depositada. Utilizou-se uma fonte com tensão de -5,0 V [4].

Resultados e Discussão

As análises morfológicas da HAp eletrodepositada foram realizadas pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV - Zeiss EVO Ma10 acoplado com energia dispersiva de raios X (EDS), Oxford Instruments Inca Penta FET x3) alocado no Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba. Utilizaram-se como parâmetros: Tensão de 20.00 kV, distância de trabalho entre 13-15 mm, e ampliações que variam de 7-20 K vezes. A Figura 1 mostra micrografias das superfícies das amostras em diferentes aumentos.

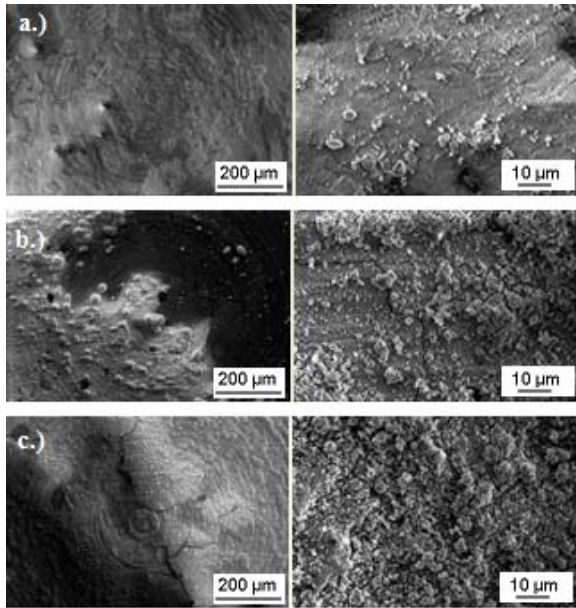


Figura 1. Micrografias das superfícies das amostras após processo de eletrodeposição de HAp. (a) Aço inoxidável 304; (b) filme de DLC; e (c) filmes de TiO₂-DLC.

Através das micrografias é possível observar que na superfície das amostras de TiO₂-DLC, a eletrodeposição dos cristais foi mais consistente e mais homogênea, com uma maior densidade de cristais.

A análise química semiquantitativa das amostras foi realizada no acessório de EDS acoplada. Após a coleta dos espectros de EDS foi calculada a razão Ca/P [1,4].

A superfície das amostras foi submetida à análise química para verificar o perfil de distribuição dos componentes na superfície e a porcentagem em peso dos elementos químicos. A Tabela 3 mostra as porcentagens em peso de cada elemento e a razão Ca/P [1,4].

Tabela 3. Porcentagem em peso dos elementos químicos dos compósitos de HAp eletrodepositados.

Superfície	Ca (%)	P (%)	Razão Ca/P
Aço	65.55	34.45	1,9028
DLC	61.73	38.27	1,6130
TiO ₂ -DLC	62.59	37.41	1,6731

O cálcio é um dos principais elementos presentes em materiais bioativos. [8] A liberação deste íon representa um dos principais fatores responsáveis pela

formação da camada biologicamente ativa e estímulo para o crescimento ósseo. Pode-se analisar que o melhor resultado de razão Ca/P foi obtido na superfície da amostra incorporada com TiO₂-DLC, já que a razão da HAp sintética é de 1,67 [9].

A identificação das fases presentes foi realizada através de difratometria de raio-x (DRX), utilizando um difratômetro da marca Panalytical e modelo X'Pert Pro. Os parâmetros da análise foram 2θ entre 5° e 90°, tempo por passo de 10s e passo de 0,02°. A identificação das fases foi conduzida em software Highscore 3.0 da marca Panalytical. As análises de DRX foram realizadas no Laboratório Associado de Sensores e Materiais do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (LAS/INPE).

Esta técnica é muito utilizada na caracterização de estruturas cristalinas podendo fornecer informações qualitativas e quantitativas, de forma não destrutiva. O difratômetro de raios X de alta resolução na configuração de ângulo rasante (1°) foi utilizado para se confirmar a natureza cristalina das partículas de HAp incorporadas nas superfícies de aço, nos filmes de DLC e TiO₂-DLC. A Figura 2 mostra os difratogramas das amostras. Pode-se observar os picos característicos de HAp onde foram analisados os tamanhos dos cristais [1].

O tamanho dos cristais foi calculado através da Equação de Scherrer e mostrados na Tabela 4.

$$D_{hkl} = \frac{K\lambda}{\beta \cos(\theta)} \quad (1)$$

Nota-se formação de cristais maiores de HAp nas superfícies de filmes de DLC e TiO₂-DLC. Apesar de cristais menores serem mais interessantes por apresentarem uma área de contato superficial maior, é relevante considerar que as amostras incorporadas com nanopartículas são mais resistentes à corrosão e ao desgaste.

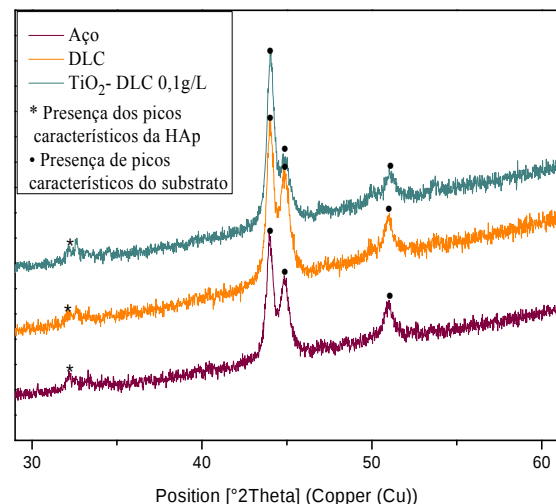


Figura 2. Difratograma de raios-x das amostras após processo de eletrodeposição de HAp.

Tabela 4. Tamanho de cristais encontrados em posições específicas nos picos de identificação de HAp.

Superfície	Pos.[°2Th.]	Tamanho do cristal (Å)	Ficha de especificação
Aço	32,2068	155	00-033-0271
DLC	32,2699	222	00-033-0271
TiO ₂ 0,1g/L	32,1259	411	00-047-0259

Tabela 5. Especificação dos picos referentes à superfície das amostras

Superfície	Pos.[°2Th.]	Ficha de especificação
Aço	43,9876 / 44,8676	00-003-1044 /
	51,0201	00-033-0397
	44,0367 / 44,8301	00-003-1044 /
DLC	51,0188	00-033-0397
TiO ₂	44,0427 / 44,8978	00-003-1044 /
0,1g/L	51,0508	00-033-0397

Conclusão

Através dos testes realizados, pode-se obter sucesso nos resultados deste método de deposição de HAP na superfície das amostras metálicas. A eletrodeposição torna-se interessante pelo fato de poder ser realizada em pouco tempo e também obter um bom resultado bioativo. Em relação às diferentes superfícies, a de TiO₂-DLC foi a que apresentou a camada de cristais mais homogênea.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP pelo suporte financeiro (2011/17877-7), (2011/20345-7) e (2014/11491-8).

Referências

[1] Florencio, M. Análise da Biomineralização e Proliferação Celular in vitro de Scaffolds de Hidroxiapatita/Nanotubos de Carbono Superhidrofílicos Verticalmente Alinhados com Paredes Múltiplas. 2013. 85 f. Tese (Doutorado) - Curso de Fisioterapia, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2013.

[2] Inacio JPM, Brazil TR. Biomineralização in vitro de compósitos de hidroxiapatita e nanotubos de carbono utilizando fluido corporal simulado. [trabalho de conclusão de curso]. São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba; 2013.

[3] Campos SD, Campos EA, Alex W, Favreto J, Carneiro LB, Pazinato J. Estudo da bioatividade de materiais constituídos óxidos de zircônio e de titânio. *Orbital Electronic Journal of Chemistry*. 2011; 3(4):180-197.

[4] Oliveira, CS. Estudo de parâmetros para a eletrodeposição de hidroxiapatita sobre nanotubos de carbono alinhados visando aplicações como arabouços para crescimento ósseo. São José dos Campos: Inpe, 2012. 46 p. Disponível em: <[http://mtc-m19.sid.inpe.br/col/sid.inpe.br/mtc-m19/2012/09.21.11.57.25/doc/Caroline de Souza Oliveira.pdf](http://mtc-m19.sid.inpe.br/col/sid.inpe.br/mtc-m19/2012/09.21.11.57.25/doc/Caroline%20de%20Souza%20Oliveira.pdf)>.

[5] Sena, LA. Produção e caracterização de compósitos hidroxiapatita-colágeno para aplicações biomédicas. 2004. 107 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Materiais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004. Disponível em: <http://teses.ufrj.br/comppe_d/LidiaSena.pdf>.

[6] Marciano FR. Tese de Mestrado. Estudo de Crescimento de Filmes de DLC com Nanopartículas de Prata para Aplicações Espaciais e Biomédicas. São José dos Campos: Instituto Tecnológico de Aeronáutica, 2008. Disponível em: <<http://mtc-m17.sid.inpe.br/col/sid.inpe.br/mtc-m17@80/2008/02.12.13.27/doc/publicacao.pdf>>.

[7] Marciano FR. Estudo de crescimento de filmes de DLC com nanocristais de diamante para aplicações tecnológicas e industriais. 2011. 151f. Tese de doutorado em Física e Química de Materiais Aeroespaciais – Instituto Tecnológico de Aeronáutica, São José dos Campos.

[8] Marsi TCO. Biomineralização de nanotubos de carbono alinhados verticalmente superhidrofílicos. [dissertação]. São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba; 2012.

[9] Mavropoulos E. A Hidroxiapatita como Absorvedor de Metais. 1999. 105 f. Tese (Mestrado), Fundação Oswaldo Cruz, São Paulo, 1999. Disponível em: <http://portaldesites.iciet.fio-cruz.br/transf.php?id=00006603&lng=pt&nrm=iso&script=thes_chap>.