

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

Geciane Alves dos Santos

PRODUÇÃO DE COMPÓSITOS À BASE DE POLIHIDROXIBUTIRATO E HIDROXIAPATITA PARA A APLICAÇÃO COMO BIOMATERIAIS

Juazeiro-BA

2013



PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

PGCM – UNIVASF

Geciane Alves dos Santos

PRODUÇÃO DE COMPÓSITOS À BASE DE POLIHIDROXIBUTIRATO E HIDROXIAPATITA PARA A APLICAÇÃO COMO BIOMATERIAIS

Dissertação apresentada à Pós-graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Vale do São Francisco-UNIVASF, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

> Orientador: Prof. Dr. Alan C. da S. Dantas Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Letícia M^a de Oliveira

Juazeiro-BA 2013

	Santos, Geciane Alves dos.
S237p	Produção de compósitos à base de polihidroxibutirato e hidroxiapatita para a aplicação como biomateriais/ Geciane Alves dos Santos Juazeiro, 2013.
	107 f. :il ; 29 cm.
	Dissertação (Mestrado em Ciências dos Materiais) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Juazeiro-BA, 2013.
	Orientador: Prof. Dr. Alan C. da S. Dantas. Co-orientadora: Profª. Drª. Letícia Mª de Oliveira.
	 Hidroxiapatita. 2. Polihidroxibutirato. 3. Biomateriais. 4. Material cerâmico I. Título. II. Dantas, Alan C. da S. (orient). III. Oliveira, Letícia Mª de (co-orient.). IV. Universidade Federal do Vale do São Francisco.
	CDD CC 620.140423

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Biblioteca- SIBI/UNIVASF Bibliotecário: Renato Marques Alves



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO Avenida Antônio Carlos Magalhães, 510 - Santo Antônio. CEP: 48902-300 Juazeiro/BA Tel/Fax: (74)3614-1932, www.univasf.edu.br/~cpgcm COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Mestrando: Geciane Alves dos Santos

Título da dissertação

Produção de Compósitos à Base de Polihidroxibutirato e Hidroxiapatita para Aplicação em Biomateriais

A banca examinadora, composta pelos professores Alan Christie da Silva Dantas (Presidente e Orientador), Andrea de Vasconcelos Ferraz e Letícia Maria de Oliveira, da Universidade Federal do Vale do São Francisco e Eduardo Galvão Ramalho, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, consideram a candidata:

(🛛) Aprovada

()Reprovada

Secretaria do Colegiado de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Vale do São Francisco ao /décimo sétimo dia do mês de janeiro de 2013.

Prof. Alan Christie da S. Dantas

Prof^a. Letícia Maria de Oliveira

anobréa de las concelos Ferras

Prof^a. Andrea de V. Ferraz

Edwardo Par

Prof. Eduardo Galvão Ramalho

Agradecimentos

A Deus por todo resguardo, por me fazer erguer a cabeça e continuar a caminhada, por me levantar a cada queda sobrevinda de momentos de fraqueza, por me fornecer o necessário para o término de mais uma etapa de minha vida.

À minha mãe que apesar de não entender sempre me apoiou.

Ao meu amado, Clebiano, pelo amor, apoio, carinho, compressão e momentos difíceis que passou ao meu lado, e que sem ele talvez não tivesse seguido em frente.

À Prof^a. Andréa Ferraz, pelos conselhos, por me acalmar em momentos difíceis, por me ajudar a crescer profissionalmente e principalmente como ser humano.

Ao meu orientador, Prof. Alan Dantas, pela orientação, por todos os ensinamentos durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Indústria Gesso Mineral pelo fornecimento do gesso utilizado nesta pesquisa.

À Prof^a. Letícia, pela orientação, por nossas conversas, as quais me ajudaram e me fizeram amadurecer.

À Prof^a. Débora dos Anjos do IF-Sertão, pelas análises de FTIR e DRX das amostras caracterizadas para este trabalho e pela amizade adquirida na graduação.

A Ginetton, pelo auxílio, paciência e compreensão durante a realização dos experimentos desenvolvidos no Laboratório de Química.

A Jacinto, pela compreensão, paciência e por entender o porquê de tantas análises realizadas por MEV/EDS.

A todos os professores do IPCM, Alan, Helinando, Nikifor, Wagner, Télio, Márcio e Aníbal, pela transferência de conhecimento.

Ao Prof. Isnaldo, pela colaboração nos seminários e troca de conhecimento.

Ao Prof. Nelson, por ter contribuído para o desenvolvimento deste trabalho, pela a autorização do uso da sala e dos equipamentos os quais me ensinou a utilizar.

Aos técnicos da Oficina Mecânica, Taasiel e Francimário, pela colaboração na realização das atividades desenvolvidas na oficina.

Aos meus colegas de laboratório, Indira, Aninha, Polyana, Giovani, James, Tales, Guilherme e Ricardo por me trazerem alegria, pelo companheirismo, pelas conversas e desabafos.

À Dona Zezé, por aguentar durante dois anos os meus desabafos, pelos conselhos em momentos de nervosismo e tristeza e por fazer seu trabalho com muita competência.

Aos meus colegas de turma os quais convivi por pouco tempo, Ariadne, Ericleiton, Nilton, Thiago, Eduardo, Cícero, Jaderson, Amanda, Jorge Maurício, Jorge Adriano, Francisco Matias e Georgenes, pelas conversas, pelas aflições divididas e por momentos difíceis vividos, mas felizes.

À Denise, Márcia e Renata, pelas conversas e momentos de descontração e por auxiliarem na parte burocrática do IPCM.

A Antônio Carlos da UFRN, pelo apoio e pelas análises de DRX das amostras caracterizadas para este trabalho e realizar caracterização de algumas amostras

À FACEPE, pelo apoio financeiro.

À UFRN por permitir a utilização dos equipamentos, contribuindo para a concretização do trabalho.

A todos vocês que contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal, que Deus ilumine o caminho de cada uma de suas criaturas, obrigada meus queridos!

Resumo

Neste trabalho foram preparados compósitos de hidroxiapatita (HA) $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ e polihidroxibutirato (PHB), os quais foram obtidos inicialmente por dois procedimentos diferentes: prensagem utilizando o PHB como matriz polimérica e a HA como carga; e infiltração do PHB fundido em corpos porosos sinterizados de HA. A prensagem dos compósitos foi realizada a duas temperaturas diferentes de 155°C e 165°C. O percentual em massa de HA (0, 10, 20 e 40 %) também foi variado. Os compósitos foram caracterizados através da MEV, EDS e da resistência mecânica à compressão e à flexão, obtendo-se os valores de 16,35 ±2,10 MPa para compressão e 0,88 ±0,55 MPa para flexão, para os compositos prensados a uma temperatura de 165°C e contendo 10% massa de HA. Para a produção dos compósitos de matriz de HA infiltrados com o PHB, foram preparados corpos com diferentes níveis de porosidade, obtidos a partir da utilização de diferentes porcentagens de moldante (3, 5 e 10% em massa de parafina) e da utilização de diferentes temperaturas de sinterização (1100 e 1200°C). Após a sinterização, os corpos foram colocados em um forno juntamente com o PHB e aquecidos a uma temperatura de 180°C, para solubilização do polímero e consequente infiltração. As amostras foram caracterizadas por DRX, MEV e resistência à compressão, onde as amostras que atingiram os melhores propriedades mecanicas foram aquelas produzidas com 10% de parafina e sinterizadas à 1200°C. Essas amostras alcançaram um aumento de $19,00 \pm 4,70$ MPa antes da infiltração para $83,00 \pm 4,41$ MPa após a infiltração com PHB.

Abstract

In this work were developed composites of hydroxyapatite (HA) $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ and polyhydroxybutyrate (PHB), which were obtained by two different routes: warm pressing at 160°C using the PHB as matrix and HA as filler; and infiltration of melted PHB on sintered porous HA bodies. For the preparation of composites, bodies were pressed at two different temperatures of 155 or 165 °C. Furthermore it was varied the amount of the HA (0, 10, 20 and 40% masse). The composite samples were characterized by SEM, EDS and compressive and flexural strength. The samples pressed at 165°C with a HA amount of 10 % masse reached a compressive strength of 16,35 $\pm 2,10$ MPa and a flexural strength of 0.88 ± 0.55 MPa. For the evaluation of the composites obtained by infiltration of PHB on the HA matrix, were used samples with different levels of porosity obtained by different amounts of moldante (3, 5 and 10% by weight of paraffin) and different sintering temperatures (1100 or 1200 °C). After sintering samples were infiltered with PHB in a oven at 180 °C. The samples were characterized by XRD, SEM and compressive strength. The samples produced with 10% paraffin and sintered at 1200 °C showed the best mechanical properties and reached a increase of the compressive strength of 29,00 \pm 4,70 MPa before infiltration to 83,00 MPa \pm 4,41 after infiltration with PHB.

ÍNDICE

ÍNDICEVI
LISTA DE FIGURASIX
LISTA DE TABELASXI
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOSXIII
1. INTRODUÇÃO1
1.1-Objetivo Geral
1.1.1-Objetivos Específicos2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA
2.1-Propriedades dos materiais para utilização como substituto ósseo
2.2- Materiais metálicos utilizados em ortopedia
2.3- Materiais cerâmicos utilizados na ortopedia
2.3.1-Hidroxiapatita (HA)
2.4- Materiais poliméricos utilizados em ortopedia13
2.4.1- Polihidroxibutirato (PHB)15
2.5 Materias compósitos utilizados em ortopedia 19
3-PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL
3.1- Produção do pó de HA
3.2-Preparação dos compósitos com matriz de PHB reforçada com partículas de HA obtidos por
prensagem a quente
3.3-Preparação dos compósitos com matriz de HA reforçada com PHB a partir da infiltração do
polímero
3.4-Caracterização Física
3.4.1 FTIR
3.4.2-DRX
3.4.3-MEV E EDS
3.4.4-GC-MS
3.5-Caracterização Mecânica

Dissertação de Mestrado - Colegiado de Pós Graduação em Ciência dos Materiais - UNIVASF

3.5.1-Densidade geométrica
3.5.2–Ensaios de resistência mecânica
3.6-Análise da resposta biológica em SBF
4-RESULTADO E DISCUSSÕES
4.1- Materias Primas
4.1.1-PHB
4.1.2- Pós de HA
4.2- Compósitos PHB/HA obtidos via compressão a quente
4.2.1- Caracterização estrutural e mecânica
4.2.2- Caracterização biológica
4.3- Caracterização dos Compósitos HA/PHB Produzidos Via Infiltração
4.3.1- Caracterização mecânica
5-CONCLUSÃO
5.1-Amostras PHB/HA preparadas via prensagem a quente:
5.2-Amostras HA/PHB preparadas via infiltração do PHB:
APÊNDICE
6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2. 1- CLASSIFICAÇÃO DOS MATERIAIS PARA IMPLANTE RELATIVO À INTERAÇÃO COM O MEIO FISIOLÓGICO
(CAMILO, 2006)
FIGURA 2. 2- ESTRUTURA DA HIDROXIAPATITA AO LONGO DO EIXO C. (ADAPTADO DE ELLIOTT <i>et al.</i> , 2002).11
FIGURA 2. 3- FÓRMULA QUÍMICA GERAL DOS PHAS (SERAFIM ET AL., 2003)
FIGURA 2. 4 - A) GRÂNULOS DE PHB NO INTERIOR DA BACTÉRIA ALCALIGENES EUTROPHUS APÓS A
BIOTRANSFORMAÇÃO DA SACAROSE E B) GRÂNULOS APÓS SUA EXTRAÇÃO (BRASIL, 2004)17
FIGURA 2. 5- DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DO PHB (NONATO E ROSSOEL, 2006).
FIGURA 2. 6- REPRESENTAÇÃO DA MICRO E MACROESTRUTURA DO OSSO (RHO <i>et al.</i> , 1998)20
FIGURA 3. 1- REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA METODOLOGIA UTILIZADA NA EXECUÇÃO DO TRABALHO24
FIGURA 3. 2- (A) CORPO DE PROVA DO COMPÓSITO PHB/HA APÓS PRENSAGEM A 155°C POR 30 MIN E (B) O
MOLDE
FIGURA 3. 3- FLUXOGRAMA DE PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS DE HA REFORÇADA COM O PHB POR INFILTRAÇÃO.
FIGURA 3. 4- MOLDE METÁLICO UTILIZADO PARA A PREPARAÇÃO DOS CORPOS DE PROVA. A) DESMONTADO; B)
MONTADO
FIGURA 3. 5-CURVA DE SINTERIZAÇÃO
FIGURA 3. 6-CORPOS DE PROVA DE HA APÓS A SINTERIZAÇÃO
FIGURA 3. 7-PASTA OBTIDA APÓS A LAVAGEM DO PRECIPITADO
FIGURA 3. 8- FLUXOGRAMA DA PREPARAÇÃO DOS COMPÓSITOS PRODUZIDOS VIA INFILTRAÇÃO
FIGURA 4. 1- ESPECTRO DE INFRAVERMELHO OBTIDO DO PHB
FIGURA 4. 2- DIFRATOGRAMA DE RAIOS- X DO PHB NÃO PURIFICADO
FIGURA 4. 3- CURVA DE DSC DO PHB NÃO PURIFICADO. A) PRIMEIRO PICO ENDOTÉRMICO (T_s) em 135°C e b)
SEGUNDO PICO ENDOTÉRMICO (T_{M}) EM 165°C
FIGURA 4. 4- MORFOLOGIA DAS PARTÍCULAS DO PHB, COM INDÍCIOS DO TAMANHO DE PARTÍCULA
FIGURA 4. 5-DIFRATOGRAMA DE RAIOS-X DO SULFATO DE CÁLCIO HEMIHIDRATADO
FIGURA 4. 6- DIFRATOGRAMA DE RAIOS-X DO PÓ DE HA CALCINADO À 900°C40
FIGURA 4. 7- ESPECTRO DE INFRAVERMELHO DA HA CALCINADA À 900°C.
FIGURA 4.8- ESPECTRO DE ENERGIA DISPERSIVA PARA O PÓ DA HA CALCINADA A 900°C41
FIGURA 4. 9- MORFOLOGIA DO PÓ DA HA APÓS A CALCINAÇÃO41
FIGURA 4. 10- MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE DE FRATURA DOS COMPÓSITOS PHB/HA PRODUZIDOS A 155°C, EM
(A) (0%), (B) (10%), C) (20%) E D) (40%)
FIGURA 4. 11 - MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE DE FRATURA DOS COMPÓSITOS PHB/HA PRODUZIDOS A 165°C, EM
(A) (0%), (B) (10%), C) (20%) E D) (40%)
FIGURA 4. 12– VARIAÇÃO DE POROSIDADE DOS COMPÓSITOS PHB/HA PREPARADAS À 155 E 165°C, EM FUNÇÃO
DA QUANTIDADE DE HA

FIGURA 4. 13- MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE DE FRATURA DOS COMPÓSITOS PHBP/HA, EM (A) 0, (B) 10 E C) 20%.
45
FIGURA 4. 14- VARIAÇÃO FOROSIDADE DOS COMPOSITOS FIDO/ITA E FIDOP/ITA, PRENSADOS A 105 C, EM
FUNÇÃO DA QUANTIDADE DE FIA
FIGURA 4. 15- RESISTENCIA MECÂNICA DOS COMPOSITOS FID/HA PRODUZIDOS A 155° C E 105 C40 FIGURA 4. 16 DESISTÊNCIA MECÂNICA DOS COMPÓSITOS DUD/ILA E DUDD/ILA EDODUZIDOS A 165° C EM (A)
COMPRESSÃO E (B) FLEXÃO
FIGURA 4. 17- MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE DAS AMOSTRAS PHB. EM QUE MOSTRA A DEPOSIÇÃO DE CRISTAIS E
FORMAÇÃO DE APATITA BIOMIMÉTICA. (A) PHB ANTES DA IMERSÃO. (B) IMERSÃO POR 1 DIA C) POR 7 DIAS D)
POR 14 DIAS
FIGURA 4. 18- EDS DAS AMOSTRAS PHB PRODUZIDAS A 165°C. EM (A) PHB ANTES DA IMERSÃO, (B) IMERSÃO
POR 1 DIA (C) POR 7 DIAS E (D) POR 14 DIAS
FIGURA 4. 19- MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE DAS AMOSTRAS PHBP, EM (A) PHBP ANTES DA IMERSÃO, (B)
IMERSÃO POR 1 DIA C) POR 7 DIAS D) POR 14 DIAS
FIGURA 4. 20 EDS DAS AMOSTRAS PHBP PRODUZIDAS A 165°C, EM (A) PHBP ANTES DA IMERSÃO, (B) IMERSÃO
POR 1 DIA C) POR 7 DIAS E D) POR 14 DIAS
FIGURA 4. 21- MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE DOS COMPÓSITOS PHB/HA (10) IMERSOS EM SBF POR (A) 0, (B) 1,
(C) 7 E (D) 14 DIAS
FIGURA 4. 22- MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE DOS COMPÓSITOS PHBP/HA (10) IMERSOS EM SBF POR (A) 0, (B) 1,
(C) 7 E (D) 14 DIAS
FIGURA 4. 23- MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE DOS COMPÓSITOS PHB/HA (20) IMERSOS EM SOLUÇÃO SBF (A) POR
1 DIA (B), 7 DIAS (C) E (D)14 DIAS
FIGURA 4. 24- MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE DOS COMPÓSITOS PHBP/HA (20) IMERSOS EM SOLUÇÃO SBF (A) POR
1 DIA (B), 7 DIAS (C) E (D)14 DIAS
FIGURA 4. 25- MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE DOS COMPÓSITOS PHB/HA (40) IMERSOS EM SOLUÇÃO SBF (A) POR
1 DIA (B), 7 DIAS (C) E (D)14 DIAS
FIGURA 4. 26- VARIAÇÃO EM MASSA DOS COMPÓSITOS PHBP/HA, APÓS IMERSÃO EM SBF61
FIGURA 4. 27- RESISTÊNCIA MECÂNICA DOS COMPÓSITOS PHB/HA APÓS A IMERSÃO EM SBF. EM (A) À
COMPRESSÃO E (B) FLEXÃO63
FIGURA 4. 28- POROSIDADE DOS COMPÓSITOS PHB/HA APÓS IMERSÃO EM SBF64
FIGURA 4. 29- VARIAÇÃO DA RESISTÊNCIA MECÂNICA (A) À COMPRESSÃO E (B) FLEXÃO DOS COMPÓSITOS
PHBP/HA (A), APÓS, IMERSÃO EM SBF65
FIGURA 4. 30- VARIAÇÃO DE POROSIDADE DOS COMPÓSITOS PHBP/HA APÓS IMERSÃO EM SBF66
FIGURA 4. 31- COMPÓSITOS HA/PHB PRODUZIDOS POR INFILTRAÇÃO EM (A) RESISTÊNCIA À COMPRESSÃO E (B)
POROSIDADE67
FIGURA 4. 32- MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE DE FRATURA DAS AMOSTRAS SINTERIZADAS A 1110°C, ANTES E APÓS
A INFILTRAÇÃO, EM (A) HA_3_1100, (B) HA/PHB _3_1100), (C) HA_5_1100, (D) HA/PHB _5_1100), (E)
HA_10_1100 E (F) HA/PHB_10_1100

FIGURA 4. 33- MORFOLOGIA DA SUPERFÍCIE DE FRATURA DAS AMOSTRAS SINTERIZADAS A 1200°C, ANTES E A	APÓS
INFILTRAÇÃO, EM (A) HA_3_1200, (B) HA/PHB_3_1200, (C) HA_5_1200, (D) HA/PHB_5_1200, (E)	
HA_10_1200 E (F) HA/PHB_10_1200	70
FIGURA 4. 34- DIFRATOGRAMA DA HA E DOS COMPÓSITOS HA/PHB PRODUZIDOS COM HA SINTERIZADA À	
1200°C ANTES E APÓS A INFILTRAÇÃO	72

LISTA DE TABELAS

TABELA 2. 1- TIPOS, FÓRMULA QUÍMICA E RELAÇÃO CA/P DAS APATITAS (ANAHÍ ET AL.,	
2007)	. 13
TABELA 2. 2- BACTÉRIAS COM CAPACIDADE DE PRODUZIR PHAS E A PORCENTAGEM DE	
ACÚMULO (VIEGAS, 2005).	. 15
TABELA 2. 3- FÓRMULA QUÍMICA GERAL DOS PHAS (SERAFIM ET AL., 2003).	. 17
TABELA 2. 4- PROPRIEDADES FÍSICAS DO PHB (ALMEIDA, 2005).	. 19
TABELA 3. 1-AMOSTRAS PREPARADAS POR COMPRESSÃO COM O POLÍMERO PURIFICADO E	NÃO
PURIFICADO	. 25
TABELA 3. 2- COMPARAÇÃO ENTRE OS VALORES DA CONCENTRAÇÃO DE ÍONS NO PLASMA	L
SANGUÍNEO E SBF, SEGUNDO KOKUBO E TAKADAMA, 2006	. 34
TABELA 4. 1- VALORES DA RESISTÊNCIA MECÂNICA DOS MATERIAIS PRODUZIDOS VIA	
COMPRESSÃO A QUENTE	. 49
TABELA 4. 2- QUANTIDADE DE PHB INTRODUZIDO EM CORPOS POROSOS DE HA DE $5,0\pm 0$	0,2 G
DE MASSA	. 71

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CG-MS- Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa

d- Densidade teórica (g/cm³)

D- Densidade geométrica (g/cm³)

FTIR- Infravermelho com transformada de Fourier

HA-Hidroxiapatita

HA/PHB- Compósito com matriz de HA

HA/PHB_1100- Amostras de HA sinterizada a 1100°C após a infiltração

HA_1100- Amostras de HA sinterizada a 1100°C antes da infiltração

HA/PHB_1200- Amostras de HA sinterizada a 1200°C após a infiltração

HA_1200- Amostras de HA sinterizada a 1200°C antes da infiltração

HA_3_1100- Amostras de HA com 3% de parafina sinterizadas a 1100°C

HA_5_1100- Amostras de HA com 5% de parafina sinterizadas a 1100°C

HA_10_1100- Amostras de HA com 10% de parafina sinterizadas a 1100°C

HA_3_1100- Amostras com 3% de parafina sinterizadas a 1200°C

HA_5_1100- Amostras de HA com 5% de parafina sinterizadas a 1200°C

HA_10_1100- Amostras de HA com 10% de parafina sinterizadas a 1200°C

Mw- Massa molar média ponderal

OCP-Fosfato octocálcio

p- Purificado

P= PressãoPHA-Polihidroxialconoato

PHB-Polihidroxibutirato

- PHBp-Polihidroxibutirato purificado
- PHB/HA- Compósito com matriz de PHB
- PHBp/HA- Compósito com matriz de PHB purificada
- PHV- Polihidroxivalerato
- PHBV- Polihidroxibutirato-co-valerato
- PLA- Poliácido Láctico
- **SBF** Body fluids simulated
- TCP- Fosfato tricálcico
- Tg- Temperatura de transição vítrea
- Tm- Temperatura de Fusão
- σ_c- Resistência à compressão (MPa)
- σf- Resistência à flexão (MPa
- **X%-** Porcentagem de cristalinidade
- X_{HA}- Porcentagem de HA
- Хрнв-Porcentagem de PHB

1. INTRODUÇÃO

A substituição de tecido devido à ocorrência de patologias e traumatologia ortopédicas tem impulsionado a pesquisa, na área de biomateriais, em busca de materiais que possam desempenhar um papel biofuncional substituindo ou auxiliando na formação de um novo tecido. Alguns materiais sintéticos e dispositivos estão sendo aperfeiçoados e outros, sendo desenvolvidos para repor ou restaurar funções e substituir partes do corpo danificadas. Para tal aplicação fatores críticos para o sucesso do implante incluem um projeto apropriado, a correta seleção de materiais e a sua biocompatibilidade (CAMPBELL, 2003).

Nos últimos anos vários materiais vêm sendo estudados no intuito de utiliza-los como substitutos ósseos, diminuindo os riscos de uma rejeição ou de uma nova cirurgia. Dentre estes materiais destaca-se a hidroxiapatita, HA, uma vez que esta apresenta grande similaridade química com a fração inorgânica do osso. No entanto, apesar da excelente interação química e biológica com o tecido ósseo, a HA apresenta excessiva fragilidade e alto módulo de elasticidade quando comparado com o tecido ósseo (ALVARES, 2012).

O PHB (polihidroxibutirato) é um termoplástico que pertence à família dos polihidroxialcanoatos (PHAs), que são poliésteres com fórmula molecular ($C_4H_6O_2$)n. Este polímero apresenta duas propriedades importantes para o uso no corpo humano: biodegradação e a biocompatibilidade. A sua decomposição ocorre de forma gradativa conservando suas propriedades mecânicas por um tempo maior quando comparado com outros polímeros como, por exemplo, o poliácido lático (PLLA) (VANIN *et al.*, 2004). O PHB apresenta boa resistência mecânica à compressão, que é cerca de 62 MPa, similar ao do osso trabecular (GALEGO *et al.*, 2000) e esses valores podem variar de acordo com o grau de cristalinidade que esse polímero possui podendo variar de 50 a 80%. A união do polihidroxibutirato (PHB) com a hidroxiapatita (HA) tem dentre seus objetivos, associar a biodegradabilidade do PHB e a bioatividade da HA, buscando um material com propriedades mecânicas e bioativas intermediárias, aprimorando a compatibilidade mecânica e biológica entre o implante e o tecido ósseo.

1.1-Objetivo Geral

Preparar compósitos a partir do Polidroxibutirato (PHB)/ Hidroxiapatita (HA) através de dois diferentes procedimentos:

Compactação a temperaturas de 155 ou 165°C, do pó do PHB com diferentes frações de
 HA, de modo a preparar compósitos de matriz polimérica de PHB reforçado com HA.

2- Infiltração do PHB fundido em corpos porosos de HA, preparando um compósito de matriz cerâmica de HA reforçado com PHB.

1.1.1-Objetivos Específicos

1- Realizar a caracterização física dos compósitos obtidos.

2- Estudar o comportamento mecânico dos compósitos, assim como a influencia da porcentagem de reforço.

3- Simular o comportamento biológico *in vitro* dos compósitos PHB/HA produzidos por prensagem a quente utilizando uma solução simuladora de fluidos corpóreos (SBF).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1-Propriedades dos materiais para utilização como substituto ósseo

Um biomaterial pode ser definido como um material natural ou sintético que se destina à interface com os sistemas biológicos para avaliar, tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou a função do corpo (HELMUS e TWEDEN, 1995). Um material para ser empregado na engenharia de tecidos deve ter como características principais: uma baixa toxicidade; boas propriedades mecânicas nas condições fisiológicas; porosidade que permita proliferação celular; baixa imunogenicidade; bioatividade e/ou biodegradabilidade (TADIC e EPPLE, 2004) (PRIPATNANONT, *et al.*, 2009).

Os substitutos ósseos ideais devem manter a estabilidade mecânica e o volume tecidual, durante as fases iniciais da cicatrização e, posteriormente, ser absorvido e progressivamente substituído por novo osso através da atividade osteoclástica, seguida pela deposição de matriz osteóide, mediada pelos osteoblastos e pela mineralização (NOVAES, 2004).

Materiais que são utilizados na substituição de tecidos devem apresentar propriedades físicas e biológicas compatíveis com o tecido hospedeiro, de modo a estimular uma resposta adequada dos mesmos, tais propriedades caracterizam a biocompatibilidade (WILLIANS, 1987). Materiais cerâmicos, metálicos e outros tipos de biomateriais são utilizados na ortopedia para preenchimento e estabilização óssea (REYES, 2000).

Devida à aplicação de materias para implantes biomédicos, algumas propriedades tornam-se importantes para avaliação do potencial de cada material. Dentre estas propriedades podem-se destacar (HENCH e WILSON, 1993):

 Biocompatibilidade: Materiais biocompatíveis devem apresentar propriedades físicas e biológicas compatíveis com os tecidos vivos hospedeiros, de modo a estimular uma resposta adequada (WILLIANS, 1987). Bioatividade: Materiais bioativos apresentam uma pequena degradação inicial quando implantado, assim promove uma liberação iônica em que os íons ligam-se quimicamente como tecido hospedeiro. Essas ligações promovem o ancoramento do implante, fixando-o no local onde é inserido (WILLIANS, 1987).

 Bioreabsorção: Materiais reabsorvíveis, contêm elementos que podem ser facilmente processados por meio de vias metabólicas normais, tais como cálcio e fósforo. A função das biocerâmicas totalmente reabsorvível é servir como material de preenchimento (VERT *et al.*, 1992).

 Bioinércia: Materiais bioinertes não promovem nenhum tipo de interação com o meio fisiológico, permanecendo inalterado (VALLET-REGÍ *et. al*, 1999b).

 Biotolerância: Materiais biotoleráveis criam uma ligação fibrosa fraca com o tecido hospedeiro. A formação da camada fibrosa ocorre por meio da liberação de compostos químicos, íons, produtos de corrosão e outros (RIGO *et al.*, 1999).

 Biodegradabilidade: Os implantes biodegradáveis são metabolizados pelo organismo durante um período de tempo e os seus produtos de degradação não são tóxicos. Estes biomateriais são utilizados em dispositivos com função temporária, dispensando a necessidade de uma segunda intervenção para remoção do material aplicado (VERT *et al.*, 1992)

• Osteointegração: É a união física do implante com o tecido hospedeiro onde ocorre a formação óssea ao redor do implante sem a presença de tecido fibroso (BRANEMARK *et al.*, 1986). Do ponto de vista clínico esse fenômeno pode ser avaliado através de sinais considerados sugestivos de osteointegração como: imobilidade do implante, ausência de dor e capacidade de suportar carga.

• Osteoindução: É a capacidade de um material induzir a formação de tecido ósseo em sua superfície mesmo quando este não esteja em contato com o tecido ósseo (KHAN *et al.*, 2000).

 Osteocondução: Materiais osteocondutores permitem a deposição de um novo tecido ósseo em sua superfície, bem como requerem a presença de tecido preexistente como fonte de células além de orientarem e acelerarem a proliferação celular, esses materiais são utilizados como materiais de preenchimento (TAGA, 1996).

 Osteogenição: Materiais osteogenitores auxiliam no processo de formação de novo osso intermediado pelos osteoblastos, esses se ligam diretamente ao colágeno por meio de sítios de interação. Neste grupo incluem-se todos aqueles biomateriais que contém células vivas com capacidade para se diferenciarem em tecido ósseo (KHAN *et al*, 2000).

Além das propriedades citadas acima, pode-se destacar a presença de poros como sendo um fator necessário para o desenvolvimento do novo tecido e deposição de matriz orgânica, contribuindo para fixação do implante. Outro fator que contribui para uma boa integração do implante no tecido é a alta área superficial que permite maior área de contato, o que aumenta a resistência da interface e evita à mobilidade do implante, diminuindo as chances de uma resposta inflamatória.

Em anos recentes, a pesquisa em biomateriais mudou o seu foco de materiais que poderiam permanecer estáveis em ambiente biológico para materiais que possam de alguma forma contribuir para a formação do tecido hospedeiro. Para a reconstrução de um órgão ou tecido a seleção do suporte para as células é primordial. Levando em consideração o tipo, bem como local da lesão. Podem-se seguir basicamente duas estratégias de aplicação quando preparado com materiais biorreabsorvíveis (HUTMACHER, 2000).

Inicialmente o material é desenvolvido de forma a suportar física e mecanicamente as células da inoculação até integração no organismo hospedeiro. A interação entre o biomaterial e as células do tecido hospedeiro auxilia a degradação *in vivo*, numa razão proporcional ao crescimento celular e à solicitação mecânica. A função de suportes porosos biorreabsorvíveis é proporcionar o crescimento celular e adicionalmente servir como substituto mecânico/estrutural do tecido original até a formação do novo tecido e sua bioreabsorção completa.

O suporte é dimensionado com propriedades mecânicas e tempo de degradação adequado para a inoculação das células até a sua inserção num bioreator, onde ocorrerá a formação do tecido maduro. Nesta etapa, as células semeadas proliferam e secretam matriz extracelular, enquanto o implante é degradado e reabsorvido gradualmente, permitindo espaço para a proliferação celular e formação do tecido no reator biológico (HUTMACHER, 2000).

Se um material bioreabsorvível é implantado num local de alta vascularização (grande atividade vital), sua velocidade de degradação será mais rápida em relação a uma região menos vascularizada, de funções passivas, com isso a contribuição para formação do tecido é mais rápida. Outro caso é o local de grande solicitação mecânica, que também têm sido

descritos como aceleradores da degradação desses materiais (HOLLINGER e BATTISTONE, 1986).

Quanto à classificação de acordo com sua origem, os biomateriais apresentam como classificação geral: materiais biológicos ou naturais e artificiais. A figura 2.1 apresenta uma classificação para os materiais utilizados na engenharia de tecidos.



Figura 2. 1- Classificação dos materiais para implante relativo à interação com o meio fisiológico (Camilo, 2006).

Os implantes naturais podem ser classificados como autógenos, homógenos ou xenógenos.

Autógenos são implantes produzidos com tecidos provenientes do próprio indivíduo. Apresentam resultados mais previsíveis, no entanto, sua disponibilidade é limitada e o processo de retirada pode promover morbidade cirúrgica. Exemplo: retirada do osso da região da bacia para uma reconstrução da face. Homógenos são implantes produzidos com tecidos provenientes de outro individuo da mesma espécie e se apresenta como uma opção interessante, todavia, podem oferecer risco de contaminação e/ou rejeição. Exemplo: Retirada de tecido de um individuo humano já morto para utilização em um paciente vivo (CAMILO, 2006).

Xenógenos são implantes produzidos com tecidos provenientes de outras espécies como, por exemplo, os bovinos. Necessitam de um tratamento antigénico, de deslipidização e desproteinização, que reduz sua capacidade osteoindutora (CAMILO, 2006).

Os biomateriais artificiais ou sintéticos utilizados como substitutos ósseos podem ser subdivididos conforme suas classes, deste modo, pode-se ter biomateriais metálicos, cerâmicos, poliméricos e compósitos.

2.2- Materiais metálicos utilizados em ortopedia

Há muitos anos as ligas metálicas têm sido estudadas e utilizadas na fabricação de implantes ortopédicos. As ligas são constituídas principalmente por ferro, cobalto, cromo, níquel, que conferem resistência e dureza necessárias aos implantes (WANG, 2003). Contudo, implicações em decorrência de corrosão, liberação de íons e osteoporose são observadas após seu emprego no organismo. Os íons liberados, após o processo de corrosão do implante, podem causar reações adversas como: alergia, metalose e reação do tipo corpo estranho. Cistos periarticulares causados pela liberação de fragmentos metálicos e neoplasias associadas a implantes ósseos metálicos também têm sido relatados (MC DONALD *et al.*, 2002; UHTHOFF *et al.*, 2006). Como exemplos implantes materiais metálicos utilizados como implantes encontram-se os aços AISI F138, ligas de Co-Cr, titânio e suas ligas Ti6AI4V e Ti6AI7Nb.

Apesar da fixação com implantes metálicos ser um procedimento bem-sucedido (RADASH, 1999; STIFFLER, 2004), o osso cortical e o metal possuem propriedades mecânicas distintas. O módulo de elasticidade do osso cortical é de aproximadamente 20 GPa, enquanto o de uma placa óssea de aço inoxidável é cerca de 190 GPa (CORDEY *et al.*, 2000). Tal diferença faz com que o implante absorva a maior parte das forças atuantes no osso,

prevenindo o estresse mecânico sobre esse. A diminuição das forças sobre o osso pode levar ao seu enfraquecimento principalmente por osteoporose (CORDEY *et al.*, 2000; UHTHOFF *et al.*, 2006). A força mecânica moderada, quando aplicada sobre o tecido ósseo, favorece a atividade osteoblástica e, com isso, a síntese de matriz óssea (OCARINO *et al.*, 2007).

A corrosão tem como principais consequências, a diminuição da vida útil, decorrente da perda de material, o que causa enfraquecimento prematuro do implante. Além disso, o produto da corrosão pode contaminar o tecido resultando em efeitos indesejáveis.

O titânio e suas ligas apresentam características que os levam a serem muito utilizados na fabricação de próteses ortopédicas e implantes dentários. Isso vem do fato do titânio ser biocompatível e apresentar boa resistência à fadiga e a corrosão e além de ter módulo elástico relativamente baixo quando comparado com outros metais (LIU *et al.*, 2004). Entretanto, o titânio não é bioativo, ou seja, não há uma interação com o meio biológico que leve a uma integração entre tecidos e o titânio.

2.3- Materiais cerâmicos utilizados na ortopedia

Os materiais cerâmicos podem apresentar características interessantes para utilização como implante ósseo, pois oferecem boas propriedades como: biocompatibilidade, inércia química em meio fisiológico, dureza e boa resistência mecânica à compressão. Porém apresentam também baixa resistência à tração e pouca absorção ao impacto (METSGER *et al.*, 1999). Algumas das cerâmicas empregadas são: alumina, zircônia, hidroxiapatita, biovidros, vitrocerâmicas e os compostos de fosfatos de cálcio.

A alumina (Al₂O₃) possui como principal vantagem sobre os metais e polímeros, a baixa taxa de desgaste, produzindo baixa concentração de partículas desgastadas (fragmentos) ao redor do tecido adjacente. A alumina para ser utilizada em implantes cirúrgicos deve apresentar pequeno tamanho de grão, alta densidade relativa e alto grau de pureza. Essas exigências precisam ser observadas criteriosamente durante o processo de fabricação já que irão refletir na biocompatibilidade do material (HENCH e WILSON, 1993). Em alguns casos a alta resistência mecânica pode ser prejudicial, que é o caso da alumina, esta possui uma

resistência à compressão de 4000 MPa (HEIMKE, 1987), além de ser um material bioinerte não proporcionando atividade biológica.

A zircônia (ZrO₂) estabilizada na fase tetragonal é um material qualificado para implantes de sustentação. Sua vantagem, em relação à alumina, é possuir maiores resistência e tenacidade à fratura. A zircônia gera um certo nível de radiação gama proveniente de pequenos traços de tório, que são difíceis de serem eliminados pelas técnicas químicas de purificação da matéria-prima. Essa radiação embora seja pequena e inofensiva proporciona desconfiança na classe médica e nos pacientes, além de ser um material bioinerte assim como a alumina (HENCH e WILSON, 1993).

Os vidros de composição próxima a 45% de SiO₂, 24,5% de Na₂O, 24,5% de CaO e 6% de P₂O₅ são chamados de biovidros e têm a capacidade de formar ligações químicas estáveis com o osso adjacente. Os vidros com essa composição são chamados 45 S5. Há composições variadas, desde 100% sílica em sol-gel ou 70:30 SiO₂:CaO, ou 58S SiO₂:CaO:P₂O₅. Esses materiais são mais utilizados em próteses de ouvido médio e implantes ortodônticos (HENCH E WILSON, 1993).

Dentre os materiais que apresentam excelentes respostas biológicas destacam-se os fosfatos de cálcio. Desde seu surgimento no mercado, ainda no início dos anos 80, as cerâmicas de fosfato de cálcio, principalmente a Hidroxiapatita, foram consideradas os materiais ideais para a remodelação e reconstrução de defeitos ósseos (ROSSI *et al.*, 2005).

Essa preferência é justificada principalmente por suas propriedades de biocompatibilidade, bioatividade e osteocondutividade. Estas vantagens podem ser explicadas pela natureza química desses materiais e pelo fato de possuírem apenas íons de cálcio e fosfato, que participam ativamente do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e a cerâmica (KAWACHI et al., 2000). Materiais cerâmicos podem ser desenvolvidos e aplicados em corpos porosos com microestrutura e estabilidade mecânica controlada (MONARETTI, 2005), aumentando a área superficial de contato e alojando células contribuindo para a produção de matriz orgânica no interior do implante.

Do ponto de vista biológico a utilização de materiais porosos é mais vantajosa que a aplicação de materiais densos. A existência de poros com dimensões adequadas favorece o crescimento do tecido, por alojar células ósseas nessa região, promovendo a união com o tecido ósseo, conferindo maior integração com forte entrelaçamento entre o tecido hospedeiro e o implante, aumentando a resistência do material (KAWACHI *et al.*, 2000). Contudo a

introdução de poros nos materiais cerâmicos ocasiona a redução da resistência mecânica e do módulo de elasticidade desse componente individualmente (ORTEGA *et al.,* 2003).

2.3.1-Hidroxiapatita (HA)

A HA é um fosfato de cálcio que tem se destacado como substituto ósseo devido à sua composição e estrutura similar a fase mineral de ossos e dentes. Ela tem sido estudada no preenchimento de cavidades, na forma de grãos densos ou porosos, bem como revestimento de implantes metálicos como, por exemplo, o titânio (Ti), combinando a resistência mecânica do Ti e a bioatividade da HA (RIGO *et al.*,1999). A utilização da HA como substituto ósseo tem seu uso individual limitado devido a sua baixa tenacidade à fratura (METSGER *et al.*,1999).

A HA foi identificada como sendo componente mineral do osso pela primeira vez em 1926. Dejong realizou o primeiro estudo de Difração de Raios-X (DRX) do osso e reconheceu que sua fase inorgânica é similar às estruturas minerais conhecidas como apatitas (CHAI e BEN-NISSAN, 1999). A HA pura pode cristalizar sob duas formas, a forma monoclínica e hexagonal, a forma monoclínica possui espaçamento do grupo espacial P21/b até uma temperatura de 250°C, acima dessa temperatura ocorre uma transição alotrópica da forma monoclínica para hexagonal, com espaçamento do grupo espacial P63/m (LEGEROS, 1994).

Algumas impurezas, ou substituições parciais da hidroxila por íons cloreto ou fluoreto, estabilizam a forma hexagonal a temperatura ambiente. Por esse motivo, monocristais naturais de HA geralmente exibem uma conformação hexagonal (WILLIANS *et al.*, 1995). E os parâmetros de rede são a = b = 0, 9423 nm e c = 0,6875 nm (LEGEROS, 1994). Esta célula é formada por dez íons cálcio, localizados em diferentes sítios, sendo estes, I e II. Para o primeiro, têm-se quatro íons Ca²⁺ que se encontram em volta dos seis átomos de oxigênio pertencentes a tetraedros do grupo PO₄ ³⁻. Para o sitio II observam-se outros seis íons Ca²⁺ restantes, que se encontram sob a forma de triângulos equiláteros. Os grupos hidroxilas são encontrados em forma linear, localizados entre os triângulos formados pelos íons cálcio. A figura 2.2, mostra o arranjo estrutural dos átomos cálcio, fósforo, hidrogênio e oxigênio ao longo de um dos eixos da célula da hidroxiapatita (ELLIOTT *et al.*, 2002).



Figura 2. 2- Estrutura da hidroxiapatita ao longo do eixo c. (Adaptado de Elliott et al., 2002).

A estrutura da hidroxiapatita permite substituições catiônicas e aniônicas isomorfas com grande facilidade. O Ca²⁺ pode ser substituído por metais tais como o Pb²⁺, Cd²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Sr²⁺, Co²⁺, Fe²⁺, os grupos fosfatos por carbonatos e vanadatos e as hidroxilas por carbonatos, Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Cl⁻, F⁻, HPO₄²⁻ (Tadic e Peters, 2002). Essas substituições podem alterar a cristalinidade, os parâmetros de rede, as dimensões dos cristais, a textura superficial, a estabilidade e a solubilidade da estrutura da hidroxiapatita (HENCH e WILSON, 1993). Do ponto de vista biológico, o flúor é uma das impurezas mais importantes da hidroxiapatita dos tecidos calcificados. Nas hidroxiapatitas de ossos e dentes, os carbonatos ocupam sítios dos íons fosfato e dos íons OH numa razão de 10:1.

Nas carboapatitas sintéticas do tipo A, os íons carbonato localizam-se em canais e ocupam os mesmos sítios que os íons hidroxila. Nas carboapatitas do tipo B, os íons carbonato ocupam os sítios dos íons fosfatos. As carboapatitas do tipo B têm composição similar ao tecido ósseo e dentário. Os grupos carbonatos não alteram a cristalinidade da hidroxiapatita, mas podem acelerar os processos de dissolução da estrutura, o que é verificado nas cáries dentárias e nos processos de reabsorção óssea (LEGEROS, 1974). O flúor pode ser incorporado a HAp substituindo os grupos OH⁻, tornando a estrutura mais hexagonal, mais estável e menos solúvel que a hidroxiapatita estequiométrica.

A HA sintética difere das apatitas biológicas em composição, tamanho do cristal, morfologia e estequiometria. A razão Ca/P da HA pura, quando produzida sinteticamente, é de 1,67, mas em geral, as apatitas biológicas são não-estequiométricas (1,63 e 1,61 para o esmalte e a dentina e 1,71 para o osso (SUCHANEK eYOSHIMURA, 1998).

Quando a HA é sintetizada por meio de reações podem ocorrer outras fases com deficiência em cálcio, dentre elas, a formação de β - fosfato tricálcico (β -TCP) após calcinação a partir de 700°C (LEGEROS, 1994). Alguns dos processos utilizados na síntese da HA se dividem em: Reações de estado sólido e reações por via úmida (FERNANDES, 2007). O método mais comumente empregado trata-se da sintetização por via úmida com precipitação. O processo incide no preparo de uma solução com os íons precursores.

Em reações por via úmida com precipitação realizam o controle do pH das soluções por meio da adição da solução de NH₄OH. A adição desse reagente visa manter o valor do pH da solução básico, caso contrário, fases secundárias de apatitas são formadas durante o processo de síntese da biocerâmica (RIGO *et al.*, 2007). Os processos de precipitação consistem na adição de reagentes fornecedores de grupos fosfatos a uma solução que contenham íons cálcio no meio. A utilização de gesso como matéria prima para a produção de materiais biomédicos a base de HA e tricalciofosfato (TCP) é um método alternativo que se mostra altamente promissor para a produção de implantes médicos. A reação abaixo mostra a produção de HA (ALVARES, 2012).

$$10 \text{ CaSO}_{4} \frac{1}{2} \text{ H}_{2}\text{O} + 6 (\text{NH}_{4})_{2}\text{HPO}_{4} + 8 (\text{NH}_{4}\text{OH}) \longrightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_{4})_{6}(\text{OH})_{2} + 10 (\text{NH}_{4})_{2}\text{SO}_{4} + 11 \text{ H}_{2}\text{O} (2.1)$$

O material desejado resultará em um pó, que em seguida é filtrado e seco, podendo ser conformado, calcinado e sequencialmente sinterizado. A sinterização irá permitir um HA de alta cristalinidade, devido às altas temperaturas e lenta taxa de aquecimento que essa cerâmica é levada, a faixa de temperatura de sinterização varia de 900-1350°C (ROSA *et al.*, 2000). O processo de sinterização de corpos sólidos de HA, também proporciona a formação de blocos de elevada densidade, estes se apresentam como materiais de alta resistência mecânica. Entretanto, devido a pouca porosidade, os blocos possuem baixa solubilidade e, portanto, provoca uma lenta velocidade de reabsorção do material pelo corpo. A velocidade de reabsorção consiste de um parâmetro que é dependente da área superficial apresentada pela biocerâmica, onde uma maior área permite uma maior reabsorção, por exemplo, (Pó > Sólido poroso > Sólido denso). O alto valor da cristalinidade da HA, também influencia em uma

lenta taxa de biodegradação desta cerâmica (KAWACHI *et al.*, 2000). Tal propriedade torna a HA em forma de bloco, um material que é inserido no osso com principal objetivo de ocupar espaço e manter contorno e volume ósseo (COSTA *et al.*, 2009). A tabela 2.1 mostra alguns grupos de apatitas, suas fórmulas e razão Ca/P.

Nomes (fosfato de cálcio)	Fórmula química	Razão Ca/P	
Fosfato tetracálcico (TeCP)	Ca4O(PO4)2	2,0	
Hidroxiapatita (HA)	Ca10(PO4)6(OH)2	1,67	
Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	Ca ₃ (PO ₄) ₂ .nH ₂ O	1,5	
Fosfato tricálcico (TCP)	Ca ₃ (PO ₄) ₂	1,5	
Fosfato octacálcico (OCP)	Ca ₈ H ₂ (PO ₄) ₆ .5H ₂ O	1,33	
Pirofosfato de cálcio dihidratado (CPPD)	$Ca_2P_2O_7.2H_2O$	1,0	
Fosfato heptacákico (HCP)	Ca7(P5O16)2	0,7	
Metafosfato de cálcio (CMP)	Ca(PO ₃) ₂	0,5	

Tabela 2. 1- Tipos, fórmula química e relação Ca/P das apatitas (ANAHÍ et al., 2007).

2.4- Materiais poliméricos utilizados em ortopedia

Os materiais poliméricos possuem ampla variedade de aplicações para implante, uma vez que podem ser facilmente processados em ampla gama de formatos e que variam do mais simples ao mais complicado. As propriedades físicas dos polímeros podem ser alteradas através de muitas variáveis de processo. Desta maneira, os polímeros são fabricados sob medida à determinadas necessidades específicas. Basicamente, a composição química, massa molecular e o arranjo das cadeias terão grandes efeitos nas propriedades finais do produto (HAYEK *et al.*, 1963).

Com o aumento da massa molecular, as cadeias poliméricas ficam mais longas e perdem a mobilidade, resultando uma estrutura mais rígida. Os polímeros com pequenas cadeias se comportam como plastificantes, resultando na diminuição do ponto de fusão, da temperatura de transição vítrea, da rigidez e da densidade (HAYEK *et al.*, 1963).

Os polímeros nylon, poli(metilmetacrilato), Dracon, polyester e poli(cloreto de vinila) são importantes como dispositivos de prótese permanentes, incluindo implantes de quadris, lentes artificiais, enxertos vasculares, cateteres, e outros (ENGEL e KLEE, 1972). Dentro da classe dos biomateriais poliméricos, destacam-se os poli (α -hidroxiácidos) que são polímeros biorreabsorvíveis pelo organismo. Esses polímeros são poliésteres alifáticos derivados de ácido glicólico, D, L- e L-ácido láctico, β -hidroxibutirato e ϵ -caprolactana, eles são utilizados em prótese e liberação controlada de fármacos (ELLIOT *et al.*, 1985 e CHAAIR *et al.*, 1995). O poli (tetrafluoretileno) – PTFE, teflon, foi utilizado como prótese acetabular, mas devido aos altos índices de desgaste e de partículas liberadas, o uso desse polímero ficou limitado (PARK *et al.*, 1998).

A prótese de poliuretano biocompatível derivado de óleo vegetal da mamona está sendo utilizada em cirurgias para substituição de tecido ósseo. O poliuretano vem sendo empregado, por exemplo, em reconstrução da calota craniana e vértebras, assim pode substituir outros materiais em próteses ósseas (OHARA *et al.*, 1995). O emprego desse polímero traz como desvantagem a ausência de osteocondução e osteoindução, além do aparecimento de uma cápsula fibrosa quando este é implantado (CARVALHO *et al.*, 1997).

Cimentos à base de poli(metilmetacrilato) (PMMA) foram utilizados em implantes ortopédicos e dentários, mas devido à manipulação difícil, a alta temperatura de cura e o surgimento de fratura após o implante, a vida útil do implante, a sua utilização tornou-se baixa (RAO *et. al.*, 1997).

Os fios mais indicados para anastomose vascular são de polímeros sintéticos não absorvíveis, como o nylon e polipropileno (PARK *et. al*, 1998 e REHMAN e BONFIELD, 1997). O fio de polipropileno monofilamentar é o mais frequentemente utilizado em cirurgias vasculares, pois, além de macio, é resistente e inerte, e também esse fio perde pouco da sua resistência com o decorrer do tempo (YOSHIDA *et al.*, 2002).

Polímeros biodegradáveis como os polihidroxialcanoatos (PHAs), que são poliésteres alifáticos, são polímeros biodegradáveis produzidos por uma grande variedade de bactérias, a partir de fontes renováveis, como a cana de açúcar. Os PHAs mais conhecidos são poli(3-hidroxibutirato) (PHB), poli(3-hidroxivalerato) (PHV) e poli(hidroxibutirato-co-valerato) (PHBV) (FRANCHETTI e MARCONATO, 2006).

O PHB vem despertando interesse na área médica devido, principalmente, às suas propriedades de biodegradação e biocompatibilidade. Esse pode ser utilizado como substituto ósseo temporário, pois ao ser implantado degrada-se lentamente mantendo suas propriedades mecânicas iniciais, assim contribuindo para a formação de um novo tecido.

2.4.1- Polihidroxibutirato (PHB)

Os poli(hidroxialcanoatos) (PHAs) são poliésteres produzidos por processos biossintéticos, sendo que o poli(3-hidroxibutirato) (PHB) e copolímero seu polihidroxibutirato-hidroxivalerato (PHB-HV) tem despertado interesse comercial, devido à possibilidade de produção por rotas biotecnológicas a partir de substrato renovável e por apresentar-se como uma alternativa à substituição dos plásticos convencionais derivados do petróleo (SANTOS, 2005). Por apresentar essas vantagens, o PHB despertou, também, o interesse na área biomédica, pois esse possui biocompatibilidade e bioatividade, se tornando bastante promissor na área médica. O PHB e o poli(hidroxivalerato), PHV, são polímeros produzidos em maior quantidade e por um maior números de bactérias, quando comparados com outros biopolímeros (SERAFIM et al., 2003), isso pode ser visto na tabela 2.2 onde mostra percentual de acúmulo dos biopolímeros em algumas bactérias.

Microorganismo	% de acúmulo
R. eutropha	96
Azosp ir illum	75
Azotobacter	73
Baggiatoa	57
Leptothrix	67
Methyloc ystis	70
Pseudomonas	67
Rhizobium	57
Rhodobacter	80

Tabela 2. 2- Bactérias com capacidade de produzir PHAs e a porcentagem de acúmulo(VIEGAS, 2005).

O pesquisador Lemoigne (1926) fez a primeira identificação do PHB em bactérias do tipo *Bacillus megaterium*. Em 1958, Macre e Wilkinson (apud CAMARGO, 2003)verificaram o papel funcional do PHB em organismo de bactérias, sugerindo que o PHB funcionasse como uma reserva intracelular de carbono, nesse caso, o PHB serve como armazenamento de energia nestas bactérias Através da comprovação do seu acúmulo por *B. megaterium*, em um meio com alto fornecimento de carbono, por meio de matérias primas renováveis, como a cana de açúcar, e nitrogênio, dentre outras (SUDESH *et al.*, 2000)). O processo de crescimento dos grânulos de PHA é estimulado pela presença de carbono em excesso, no meio de cultura, e pela carência de pelo menos um dos nutrientes (N, P, S, O ou Mg, etc.) necessários ao crescimento do microorganismo (DALCANTON, 2006). A figura 2.3 mostra a fórmula estrutural do PHA.



Figura 2. 3- Fórmula química geral dos PHAs (Serafim et al., 2003).

Em 1974 foram identificados outros membros da família do alcanoato além do PHB, entre eles o 3-hidroxivalerato (3HV) e o 3-hidroxihexanoato (3-HHx) (WALLEN e ROHWEDDER, 1974). Os principais microrganismos responsáveis por sintetizar o PHB são: *Alcaligenes eutrophus, Ralstonia eutropha, Azotobacter vinelandii, Escherichia coli, Pseudomonas putidai*. A tabela 2.3 mostra alguns dos biopolímeros que podem ser produzidos por essas bactérias.

Devido à sua estereoregularidade o PHB é cristalino e opticamente ativo com o carbono quiral na configuração absoluta R, sendo totalmente isotático, quando se trata do PHB biologicamente produzido (MARCHESSALT, *et al.*,1988). Sua massa molar varia de 10.000 a 30.000.000 g/mol, dependendo do microrganismo, da fonte de carbono e da purificação (LIMA, 2004). Sua estrutura cristalina é uma hélice compactada orientada para direita onde duas unidades monoméricas completam o giro da hélice (MARCHESSALT, *et al.*,1988), as forças básicas desse modelo conformacional, são principalmente de Van der Walls.



Tabela 2. 3- Fórmula química geral dos PHAs (Serafim et al., 2003).

Os biopolímeros são produzidos no citoplasma da célula bacteriana, adquirindo formato granular que podem medir em média de 0,2 a 0,5 µm. Como mostra a figura 2.4 esses grânulos são cercados pela membrana bacteriana (BRASIL, 2004).



Figura 2. 4 - a) Grânulos de PHB no interior da bactéria Alcaligenes eutrophus após a biotransformação da sacarose e b) Grânulos após sua extração (Brasil, 2004).

Segundo Tada (2009), o processo de obtenção do PHB utilizado no projeto Copersucar-IPT envolve duas fases nos fermentadores, conforme ilustra a figura 2.5. Na primeira fase, as bactérias são induzidas a crescer, em meio de cultura sem limitação de nutrientes necessários ao crescimento, até que seja atingida a concentração celular desejada de bactérias.

Na segunda fase, a síntese do PHB ocorre quando há limitação de nutrientes necessários para a bactéria, por exemplo, o nitrogênio. Em um ambiente que forneça alto teor de carbono,

as bactérias se nutrem desses carboidratos, e em meio intracelular são formados grânulos de poliésteres, estes são armazenados no seu interior funcionando como reserva de energia. Após essa etapa é realizada a extração, através da lise da membrana celular que acontece devido à utilização de solventes orgânicos, permitindo a liberação do polímero e em seguida, purificação do polímero. Os materiais remanescentes desse processo retornam à lavoura como adubo orgânico. O resultado é um bioplástico que possui a aparência de um pó branco (ORTEGA, 2006).



Figura 2. 5- Diagrama esquemático do processo de produção do PHB (NONATO e ROSSOEL, 2006).

Algumas de suas propriedades e características conferem a este polímero as mais diversas aplicações. Sua massa molar média ponderal (M_w) varia de 10⁴ até 10⁶ g/mol, com um índice de polidispersividade em torno de 2. A temperatura de transição vítrea (T_g) é 4°C, enquanto a temperatura de fusão cristalina (T_m) é de cerca de 175°C. As densidades do PHB cristalino e do PHB amorfo são 1,26 e 1,18 g/cm³, respectivamente. Propriedades mecânicas,

como módulo de Young (3,5 GPa) e resistência à tração na ruptura (43 MPa), apresentam valores próximos aos encontrados para o polipropileno isotático iPP (SUDESH *et al.*, 2000).

O PHB apresenta propriedades mecânicas similares à do polipropileno, tais como elevada cristalinidade, resistência à água, boa estabilidade a radiação ultravioleta, barreira à permeabilidade de gases, biocompatibilidade, alta regularidade da cadeia carbônica e elevada massa molecular, embora tenha duas características que o limitam a certas aplicações, que são a sua característica quebradiça e a reduzida faixa de condições de processamento (RODRIGUES *et al.*, 2005). A tabela 2.4 apresenta algumas propriedades físicas do PHB.

PR OPRIE DADE S			
Cristalinid ade (%)	80		
Temperatura de fusão (°C)	175		
Temp. de transição vítrea (°C)	4		
Massa molecular	5,0x10 ⁵		
Densid ad e (g/c m ³)	1,26		
Tensão na ruptura (MPa)	40		

Tabela 2. 4- Propriedades físicas do PHB (ALMEIDA, 2005).

2.5 Materias compósitos utilizados em ortopedia

Tecnologias modernas exigem materiais com combinações não usuais de propriedades, as quais não podem ser atendidas pelas ligas metálicas, cerâmicos e poliméricos convencionais. As combinações das propriedades dos materiais estão sendo ampliada pelo desenvolvimento de materiais compósitos, material que pode ser considerado como um material multifásico que exibe uma proporção significativa das propriedades das fases que o constitui, de modo que se obtenha uma melhor combinação destas propriedades. Um compósito é um material multifásico, onde as fases constituintes devem ser quimicamente diferentes e estar separadas por uma interface distinta (CALLISTER, 2008).

No caso de materiais compósitos atuarem como biomateriais, existem duas exigências principais pra que o seu uso seja viável: cada fase constituinte deve ser biocompatível e a área interfacial das fases deve ser estável no ambiente fisiológico. As principais aplicações dos biocompósitos são em restauração dental, materiais de implantes ósseos, cimentos acrílicos e de fosfato de cálcio, elementos articulares e implantes intervertebrais.

A utilização de compósitos cerâmico-poliméricos como matéria de implantes ortopédicos e enxertos, tem sido objeto de intenso estudo no âmbito da medicina ortopédica. A incorporação de fosfato de cálcio em uma matriz polimérica tem contribuído para obtenção de compósitos que combinam a flexibilidade dos polímeros com a resistência mecânica, dureza e a bioatividade da fase inorgânica. Tais características garantem uma maior estabilidade do material quando em contato com o plasma sanguíneo, além de desenvolver uma maior interação com o tecido ósseo (ARAÚJO et al., 2007).

De acordo com Hench (1998) as propriedades dos compósitos baseados em hidroxiapatita são as mais similares com as do tecido ósseo natural. Ignjatovic e Uskokovic (2004) relataram que a estrutura de compósito HA/polímero é a que mais se assemelha à estrutura do tecido ósseo natural. Neste caso a matriz contínua dos polímeros reforçada com partículas de HA homogeneamente distribuídas seria similar à matriz de colágeno presente no corpo humano, conforme pode ser visto esquematicamente na figura 2.6.



Figura 2. 6- Representação da micro e macroestrutura do osso (RHO et al., 1998)
A presença de um biopolímero pode ser interessante, já que a sua biodegradabilidade faz com que inúmeros espaços vazios sejam criados à medida que seja absorvido pelo organismo, permitindo à área que foi enxertada, auxilie na formação de vários canais, que poderão ser ocupados por células, formando uma rede nutridora na região de crescimento ósseo. Desta maneira, facilita-se a penetração das células progenitoras, induzindo o crescimento de um novo tecido ósseo. Esses polímeros quando enxertados, devem manter suas propriedades mecânicas até que seja absorvido e eliminado.

Propriedades mecânicas similares às do tecido ósseo natural como elevada resistência à brasão e ao impacto, tornam o polietileno de ultra alto massa molecular uma material adequado para implantes, sendo empregando em prótese total de quadril, joelho e ombro (KURTZ, *et al.*,1999). Contudo, por se tratar de um material bioinerte, sua fixação com o osso é somente possível pela utilização de cimentos ósseos à base de polimetilmetacrilato (PMMA), o qual está relacionado a efeitos biológicos severos, como necrose do tecido, devido à liberação de substâncias não compatíveis com o tecido hospedeiro.

Uma combinação, de HA com o polietileno (PE), foi utilizada para produzir um compósito osteoindutivo (BONFIELD *et. al.*, 1981). Alguns autores usaram-na em animais em um estudo em que a HA serviu de preenchimento de uma matriz de 4-META/MMA -TBB e que mostrou melhorar o crescimento do osso (LEE, *et. al.*, 1997). Outros autores conduziram estudos que mostraram uma formulação de 70 - 30% de um compósito de PMMA/HA onde houve um aumento a resistência ao cisalhamento na interface do implante ósseo seis semanas depois do implante feito em coelhos (KWON *et. al.*, 1997).

O compósito poli-hidroxibutirato/hidroxiapatita (PHB/HA) tem propriedades bioativas favoráveis para ser utilizado como substituto de tecidos ósseos, devido às suas propriedades físicas e químicas, as quais se assemelham à composição química do osso. É um compósito biodegradável que permite a osteointegração, dessa forma à medida que ocorre a degradação ocorrerá a formação do novo tecido (DOYLE *et al.*, 1991) (LUKLINSKA e SCHLUCKWERDER, 2003).

3-PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Neste trabalho foram estudados dois tipos de compósitos PHB/HA e HA/PHB. No primeiro caso, foram produzidas amostras utilizando o PHB como matriz polimérica, sendo esse reforçado com partículas de HA. O segundo tipo de compósito, HA/PHB, foi produzido utilizando corpos porosos de HA como matriz, variando sua porosidade de aproximadamente de 10 a 40%. Após isso, o PHB foi fundido e infiltrado na matriz porosa de HA, nesse caso o PHB foi utilizado como reforço.

3.1- Produção do pó de HA

A HA utilizada neste trabalho foi produzida na Universidade Federal do Vale do São Francisco, através de uma reação de conversão pelo tratamento do sulfato de cálcio hemihidratado com uma solução de monohidrogeno fosfato de amônio (NH₄)₂HPO₄, em meio básico utilizando hidróxido de amônio (NH₄OH) (ALVARES, 2012).

As concentrações dos reagentes utilizadas na síntese foram $0,12 \text{ molL}^{-1}$ para o $(NH_4)_2HPO_4$, 3 molL⁻¹ para o $NH_4OH = 0,2 \text{ molL}^{-1}$ para o $CaSO_4 \frac{1}{2} H_2O$.

A relação de Ca/P foi de 1,667 molar, que é a razão estequiométrica para formação de HA, de acordo com a equação 3.1:

```
10 CaSO_4 \frac{1}{2} H_2O + 6 (NH_4)_2 HPO_4 + 8 (NH_4OH) \longrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6 (OH)_2 + 10 (NH_4)_2 SO_4 + 11 H_2O (3.1)
```

O fosfato de amônio dibásico ((NH₄)₂HPO₄) foi adicionado a uma velocidade de gotejamento de 20 mL por minuto. O processo de adição da solução de monohidrogeno fosfato de amônio (0,12 mol/L) foi constante e ininterrupto até que, se adicionasse o volume total de 5L a vazão volumétrica de 20 mL/min. A reação foi mantida em um pH acima de 9,5

para evitar a formação de fases secundárias de apatitas, para isto, foi utilizado o hidróxido de amônio para elevar o pH da reação. Ao final da síntese, a mistura permaneceu, ainda, sob agitação mecânica por uma hora.

Como conseguinte, a mistura foi submetida ao processo de decantação, permanecendo em repouso, para que houvesse a sedimentação do componente mais denso, por um período de 48 horas e posteriormente filtrada à pressão reduzida e lavada com água destilada, obtendo uma pasta cinza clara. Em seguida, o material foi inserido em uma estufa à temperatura de 90°C por um período de 12 horas.

O sólido formado foi então submetido ao processo de controle de grãos onde foi triturado e peneirado. Em seguida, o pó de HA foi calcinado a uma temperatura de 900 °C por um período de duas horas, a uma taxa de aquecimento de 10°C/min, para estabilização da forma das partículas e controle da área superficial. Nesta fase, obteve-se um aglomerado de partículas finas na forma de um pó branco.

3.2-Preparação dos compósitos com matriz de PHB reforçada com partículas de HA obtidos por prensagem a quente

Para o desenvolvimento desta etapa, a conformação das amostras foi realizada no laboratório de caracterização Física, localizado na UFRN.

O PHB, produzido, geralmente, pela bactéria *Wautersia eutropha*, foi fornecido pela PHB Industrial, localizada na cidade de Serrana, no interior de São Paulo. O PHB foi utilizado de duas formas diferentes: assim como recebido (sem nenhuma operação subsequente) e purificado. No processo de purificação, as impurezas foram recolhidas por extração Soxlether, onde o etanol foi escolhido como solvente extrator. Para a extração das impurezas foram pesados 10 g de PHB, que em seguida foram transferidos para um cartucho de papel, e subsequentemente inseridos no extrator Soxlether. Para tal, o solvente extrator foi elevado a uma temperatura de 90°C, mantendo o fluxo por 8h, em que foram utilizados 150 mL de etanol (P.A). Após o processo de extração, observou-se que o solvente utilizado adquiriu uma coloração amarelada (BIRNBOIM e DOLY, 1979).

A metodologia empregada nesse trabalho pode ser vista através do diagrama apresentado na figura 3.1



Figura 3. 1- Representação esquemática da metodologia utilizada na execução do trabalho.

Para a prensagem dobs pós, foram preparados misturas de PHB e HA (PHB/HA) e de PHB purificado e HA (PHBp/HA) variando-se a quantidade em massa de HA, nas proporções de 0, 10, 20 e 40%, para a mistura de PHB/HA e 0, 10, 20% para misturas de PHBp/HA. Essas amostras foram previamente misturadas e dispersas em um molde metálico que tinha seção retangular com dimensão 50 x 5 mm. O molde comportava um total de cinco corpos de provas, conforme pode ser visto na figura 3.2-B. Este foi inserido em uma prensa hidráulica constituída de termopares, com marca MARCON e modelo MPH-15. A pressão aplicada, para

a conformação dos pós foi de 100 MPa, esta foi mantida por 30 minutos . Os pós foram aquecidos levando-se as temperaturas de 155 e 165°C. Os corpos de prova com o polímero não purificado, foram preparados a temperaturas de 155 e 165°C e os corpos de prova com o polímero purificado foi comprimido a uma temperatura de 165°C, apenas.

Foram preparadas amostras com o polímero purificado e com o polímero não purificado de modo a avaliar o efeito da purificação do PHB nas propriedades finais dos compósitos. Ao final do processo obtiveram-se as seguintes amostras, tabela 3.1.

	Amostras	% HA em massa	Temperatura de prensagem (°C)
Polímero não Purificado	PHB_155	0	155
	PHB_10_155	10	
	PHB_20_155	20	
	PHB_40_155	40	
	PHB_165	0	165
	PHB_10_165	10	
	PHB_20_165	20	
	PHB_40_165	40	
Polímero Purificado	PHBp_165	0	
	PHBp_10_165	10	
	PHBp_20_165	20	

Tabela 3. 1-Amostras preparadas por compressão com o polímero purificado e não purificado

Os corpos de prova, após o processo de prensagem a quente, podem ser visualizados na figura 3.2-A.



Figura 3. 2- (A) Corpo de prova do compósito PHB/HA após prensagem a 155°C por 30 min e (B) o molde.

3.3-Preparação dos compósitos com matriz de HA reforçada com PHB a partir da infiltração do polímero

A metodologia empregada para a produção dos corpos de HA reforçados com PHB fundido pode ser observada na figura 3.3.



Figura 3. 3- Fluxograma de preparação das amostras de HA reforçada com o PHB por infiltração.

Para a preparação dos corpos sinterizados de HA porosa, as amostras foram preparadas utilizando a técnica de pressão uniaxial. A prensagem foi realizada utilizando um molde de aço com uma cavidade retangular interna de 10x60mm (figura 3.4), o molde comportava um total de 10 g do pó.



Figura 3. 4- Molde metálico utilizado para a preparação dos corpos de prova. A) desmontado; B) montado.

Os corpos verdes foram, então, sinterizados a duas temperaturas diferentes, 1100°C e 1200 °C, utilizando um forno tipo mufla (modelo 10013 marca Jung). A curva de sinterização foi ajustada em dois estágios. No primeiro, para remoção do ligante, a temperatura foi elevada a 216°C a uma taxa de 0,5°C/min, permanecendo nessa temperatura por 75 min. No segundo estágio, a temperatura foi elevada até a temperatura de sinterização a uma taxa de 5°C/min onde permaneceu por 150 min, a curva de sinterização está apresentada na figura 3.5.



Figura 3. 5-Curva de sinterização

Os corpos obtidos após a sinterização podem ser visualizados na figura 3.5, em que mostras os blocos na posição horizontal.



Figura 3. 6-Corpos de prova de HA após a sinterização.

Para promover a variação na porosidade das amostras, foi adicionada parafina a HA em uma proporção de 3, 5 e 10%, relativa à massa do pó biocerâmico. A homogeneização foi realizada diluindo-se a parafina em um ligante orgânico (n-Hexano 99% P.A), seguido da adição do pó de HA. Deste processo, resulta a formação de uma pasta, que foi posta para secar em estufa a 90°C por 4 horas, figura 3.7.



Figura 3. 7-Pasta obtida após a lavagem do precipitado.

Os corpos porosos foram colocados junto com 10 g do polímero, em forma de pó, dentro de um recipiente refratário, em seguida, as amostras foram inseridas dentro do forno a uma temperatura de 180°C a uma taxa de aquecimentode 10°C/min durante um período de 3 horas, este procedimento está esquematizado na figura 3.8.



Figura 3. 8- Fluxograma da preparação dos Compósitos produzidos via infiltração.

3.4-Caracterização Física

3.4.1 FTIR

Neste trabalho, utilizou-se o FTIR marca Bruker, modelo FS66, localizado no Departamento de Química da UFPE. As amostras foram misturadas com 0,3 g de KBr e prensadas em forma de pastilhas, estas foram analisadas por técnica de transmitância, na região de 4000 a 500 cm⁻¹.

3.4.2-DRX

Para o estudo microestrutural dos materiais, foram utilizados equipamentos de DRX localizados nos Departamento de Química da UFPE e Departamento de Física Teórica e Experimental da UFRN. O difratômetro da UFPE possui marca SIEMENS, modelo Difract ACT série 1000, utilizando fonte de radiação Cu-K α , com difratogramas registrados com um passo de 0,02° em 2 θ e tempo de integração de 1s por ponto. O difratômetro da UFRN possui marca Rigaku, modelo MiniFlex II, fonte de radiação Cu-K α e com difratogramas registrados com um passo de 0,02° em 2 θ e tempo de integração de 1s por ponto.

3.4.3-MEV E EDS

Para analisar a morfologia e tamanho das partículas dos materiais utilizados, foram obtidas imagens através do microscópio eletrônica de varredura-MEV, marca HITACHI, modelo TM-1000; Tabletop Microscope, localizado no Instituto de Pesquisa em Ciência dos Materiais da UNIVASF.

Foram obtidos, também, espectros na microanálise por energia dispersiva, por meio do EDS, para observação química qualitativa e quantitativa da composição das amostras em uma determinada região.

3.4.4-GC-MS

Ensaios de cromatografia gasosa associada à espectroscopia de massa (GC-MS) foram executados em um GC-MS (QP-5050 A, da marca Shimadzu). Estes ensaios foram realizados utilizando o solvente após o processo de extração.

3.5-Caracterização Mecânica

3.5.1-Densidade geométrica

A densidade geométrica das amostras foi calculada segundo a densidade teórica da hidroxiapatita, que é de 3,156 g/cm³ (Sepúlveda *et al.*, 1999; Ribeiro, 2003) e do PHB que é de 1,26 g/cm³ (SUDESH *et al.*, 2000). O cálculo da densidade foi realizado através da equação 3.2:

$$\mathbf{D} = \frac{\mathbf{m}}{\mathbf{C} \times \mathbf{L} \times \mathbf{h}} \tag{3.2}$$

Onde m, C, L e h representam respectivamente a massa, comprimento, largura e altura de cada amostra medida. A partir da densidade das amostras, a porcentagem de porosidade das amostras e dos compósitos foi calculada segundo a equação 3.3 e 3.4 respectivamente:

%porosidade =
$$\left[1 - \left(\frac{D}{d}\right)\right] \times 100$$
 (3.3)

%porosidade =
$$\left[1 - \left(\frac{D}{X_{\text{PHB}} \cdot d_{\text{PHB}} + X_{\text{HA}} \cdot d_{\text{HA}}}\right)\right] \times 100$$
 (3.4)

3.5.2-Ensaios de resistência mecânica

Ensaio de Resistência à Compressão

Os testes de resistência mecânica foram realizados em uma Máquina Universal de Ensaios Mecânicos, modelo (EMIC- DL 10000). Durante os ensaios de resistência à compressão, σ_c , foi aplicada uma taxa de compressão de 1,0 mm/min., e célula de carga de 5,0 kN, o valor da resistência à compressão pode se obtido através da equação 3.5.

$$\sigma_c = \frac{\mathbf{F}_m}{\mathbf{A}_s} \tag{3.5}$$

Ensaio de Resistência à Flexão

Para os testes de resistência à flexão, σ_f , foi aplicada uma taxa de compressão de 0,5 mm/min., e célula de carga de 500 N, para tal utilizou-se um carregamento de três pontos com distância entre os apois de 15 cm, a equação para obter o valor da resistência à flexão pode ser calculado através da equação 3.6. Os corpos de prova produzidos via compressão à quente utilizados nos ensaios de compressão, possuíam seção quadrada de 5x5 cm e altura de 10 cm. Para o ensaio de resistência à flexão foram utilizados corpos de prova com seção quadrada de 5x5 cm e altura de 50 cm.

$$\sigma_f = \frac{3F_f L}{2bd^2}$$
 3.6

Para ensaios de resistência à compressão das amostras produzidas via infiltração, utilizaram-se corpos de prova com seção quadrada de 10x10 cm e altura de 20 cm.

3.6-Análise da resposta biológica em SBF

Para analisar o comportamento biológico das amostras foi realizada a imersão das amostras em solução corpórea simulada (SBF), por diferentes períodos de tempo.

A solução SBF foi preparada segundo a metodologia proposta por Kokubo e Takadama, (2006). Esta descreve a preparação da solução SBF a partir da utilização de diversos íons no plasma sanguíneo. A tabela 3.2 mostra a comparação da concentração do plasma sanguíneo com a concentração dos sais utilizados.

Para análise *in vitro* em meio acelular, foi realizada a imersão do material na solução SBF, que foi feita sob condições controladas de temperatura e tempo. Para tal, as amostras foram inseridas em uma estufa com controle digital de temperatura (marca Quimio, modelo Q- 317M42), sendo programada em 37°C e monitorada durante todo o experimento. Para

cada corpo de prova foi utilizado um volume de 80 mL, havendo troca de soluções a cada 48 horas durante todo o experimento. Os testes foram realizados em períodos de 1, 7 e 14 dias. O volume da solução foi de, dez vezes maior que a área da superfície total da amostra (Ribeiro, 2003).

Concentração de íons (mM)				
İons	Plasma sanguíneo	SBF		
Na^+	142.0	142.0		
K ⁺	5.0	5.0		
Mg^{2+}	1.5	1.5		
Ca ²⁺	2.5	2.5		
Cl	103.0	147.8		
HCO ₃	27.0	4.2.		
HPO4 ²⁻	1.0	1.0		
SO4 ²⁻	0.5	0.5		
рН	7.2-7.4	7.4		

Tabela 3. 2- Comparação entre os valores da concentração de íons no plasma sanguíneo eSBF, segundo Kokubo e Takadama, 2006.

Após a retirada dos corpos de prova da solução, esses foram secos em estufa à temperatura média de 50°C. Após esse período, as amostras foram submetidas aos ensaios de compressão e flexão.

As amostras utilizadas tinham dimensão média de a = 5 mm, b = 5 mm, e c = 50 mm. Para análise do ganho ou perda de massa durante ensaios in vitro, os corpos de provas foram pesados antes da imersão na solução, e pesados novamente após a imersão dos diferentes períodos de tempo (1 °, 7° e 14° dia).

O ensaio de resistência mecânica após diferentes dias de imersão em SBF foi realizado de forma análoga à descrita no item 3.5.2.

4-RESULTADO E DISCUSSÕES

4.1- Matérias Primas

Para caracterização das amostras foram realizados espectroscopia de infravermelho, Difratometria de raios-X, microscopia com EDS para PHB e HA, e, ainda, análise de GC-MS e DSC para PHB, no intuito de se caracterizar cada material.

4.1.1-PHB

A caracterização do polímero utilizado na produção dos compósitos iniciou-se pela observação das bandas de absorção do PHB a partir do FTIR.

A figura 4.1 apresenta o espectro de FTIR do PHB. As bandas de absorbância do polímero foram detectadas em 1226 e 1282 cm⁻¹ para o grupo (C-O-C), em 1726 cm⁻¹ associado ao grupo (C=O) e 1286 cm⁻¹ o qual se refere ao estiramento (C-H). Outras bandas foram identificadas em 1054 cm⁻¹ para (C-O), 1106 e 1176 cm⁻¹ para (C-O-C), 1131, 1382, 1460 cm⁻¹ para (CH₃), 2972 cm⁻¹ para (C-H) e 3435 cm⁻¹ para o grupo (O-H). As bandas de absorção confirmam e caracterizam o PHB e seus grupos constituintes (NA e NIANZHI, 2011).

A análise do espectro de raios-X do PHB (figura. 4.2) mostra que o material apresenta cristalinidade característica deste tipo de polímero. Picos intensos correspondentes à fase cristalina do PHB, estão localizados em $2\theta = 13,66^{\circ}$ e $17,04^{\circ}$ para os planos (020) e (110), respectivamente. Os picos menos intensos localizam-se em $2\theta = 20,2^{\circ}, 21,65^{\circ}, 22,66^{\circ}, 25,60^{\circ}, 27,28^{\circ}, 30,12^{\circ}$ e $30,90^{\circ}$ com planos (021), (101), (111), (121), (040), (002) e (200) respectivamente (SUTTIWIJITPUKDEE *et al.*, 2011).



Figura 4. 1- Espectro de infravermelho obtido do PHB.



Figura 4. 2- Difratograma de raios- X do PHB não purificado.

A análise térmica foi realizada através da análise de DSC (differential scanning calorimetry), figura 4.3. Dois picos endotérmicos de intensidades diferentes podem ser identificados nas temperaturas de 135°C e 165°C, sendo o segundo de maior intensidade. Esses picos correspondem aos pontos de fusão do material. O aparecimento de dois picos está

relacionado à presença de monômeros e oligômeros no PHB. O pico mais intenso corresponde à temperatura de fusão do PHB (OLIVEIRA, 2006) (GUNARATNE *et al.*, 2004).



Figura 4. 3- Curva de DSC do PHB não purificado. a) primeiro pico endotérmico (T_s) em 135°C e b) segundo pico endotérmico (T_m) em 165°C

Através da variação de entalpia é possível obter o grau de cristalinidade do PHB que nesse caso foi de 51%. Esta cristalinidade foi calculada a partir da equação (4.1) (MITOMO *et al.*, 1994):

$$\chi\% = (\Delta H_{pm}/\Delta H_{pr}) \times 100, \qquad (4.1)$$

Sendo ΔH_{pm} a entalpia a ser conhecida e ΔH_{pr} a entalpia do PHB de referência com 100% de cristalinidade (ΔH_{pr} do PHB = 146 J/g) (MITOMO *et al.*, 1994).

A análise de GC-MS, realizadas a partir do solvente após a extração (ver apêndice), confirmou que o PHB utilizado no trabalho apresenta uma grande quantidade de monômeros e oligômeros insaturados, na sua maioria, ácidos orgânicos provenientes dos processos de síntese do polímero. Os ácidos butírico, decanóico, láurico, entre outros, podem ser formados devido às etapas do processo de biossíntese. Um dos fatores que contribuem para a formação de fases secundárias é a ausência de oxigênio, o que prejudica a formação do biopolímero. Em

alguns casos, na produção do PHB, a limitação de oxigênio faz com que grande parte do substrato desvie-se para a formação de ácidos orgânicos e outros metabólitos (DU *et al.*, 2004).

Observando-se a figura 4.4, verifica-se a morfologia das partículas, onde pode ser visto o tamanho de partícula com variação média entre 119-192 µm.



Figura 4. 4- Morfologia das partículas do PHB, com indícios do tamanho de partícula.

4.1.2- Pós de HA

Foi realizada a caracterização dos pós de HA, após secagem e calcinação a 900 °C do produto da reação, descrita no item 3.1 e do sulfato de cálcio hemidratado. Os difratogramas das amostras de gesso e da HA calcinada estão apresentados nas figura 4.5 e 4.6. A figura 4.5, mostra o difratograma de raios-X do pó de gesso. Observando-se o gráfico é possível identificar as fases cristalinas características do sulfato de cálcio hemihidratado.

Os picos de maior intensidade são encontrados em $2\theta = 14,67^{\circ}$; 25,72° e 29,79° correspondentes aos seus respectivos planos (200), (220) e (400). Picos de menor intensidade estão localizados em $2\theta = 31,79^{\circ}$; 42,24°; 49,18°; 52,92°; 54,09° e 55,11°, estes picos estão associados aos planos (204), (422), (424), (207), (604) e (620), respectivamente (SILVA *et al.*, 2007).



Figura 4. 5-Difratograma de Raios-X do sulfato de cálcio hemihidratado.

Na figura 4.6, podem ser observados picos relacionados à HA e ao TCP, que é um fosfato de cálcio com relaçao Ca/P igual a 1,5. A formação do TCP ocorre quando o pH da reação, atinge valores abaixo de 9,5 o que resulta na formação da apatita com deficiência em cálcio (Ca₉-x(PO₄)₆-x(OH)₂) (DESCAMPS *et al*, 2008). A presença do TCP não influencia negativamente as propriedades biológicas da HA, uma vez que o TCP é uma cerâmica bioreabsorvível.

Nenhum pico referente ao sulfato de cálcio hemidratado ou dihidratado foi observado, evidenciando que a conversão do gesso em fosfato de cálcio foi completa.

Segundo análise dos picos de maior intensidade pôde-se medir o percentual de TCP presente na HA. Esse valor é de 15% de TCP, desse modo apesar de se tratar de um fosfato de cálcio bifásico (BCP), será utilizada a denominação HA, para a fase cerâmica.

O espectro de infravermelho da hidroxiapatita calcinada a 900°C é mostrado na figura 4.7. Podem ser observadas as bandas de absorção relacionadas aos grupos da hidroxila localizadas em 3571 e 632 cm⁻¹. Os grupos fosfatos foram localizados em 1091, 1045, 962 e 569 cm⁻¹. A totalidade da conversão do gesso em HA pode ser mais uma vez evidenciada pela não obsevância das bandas de absorção características dos grupos sulfato, pertencentes à estrutura do gesso.



Figura 4. 6- Difratograma de raios-X do pó de HA calcinado à 900°C.



Figura 4. 7- Espectro de infravermelho da HA calcinada à 900°C.

A análise de espectroscopia de energia dispersiva realizada nos pós de HA calcinados é mostrada na figura 4.8, onde podem ser vistos apenas os picos referentes ao cálcio e ao fósforo. Nenhum pico referente ao enxofre foi observado.



Figura 4. 8- Espectro de energia dispersiva para o pó da HA calcinada a 900°C.

A microestrutura dos pós de HA é mostrada na figura 4.9. As partículas do pó consistem de aglomerados com formato de pequenas placas circulares. É possível observar também que estas partículas são porosas.



Figura 4. 9- Morfologia do pó da HA após a calcinação.

4.2- Compósitos PHB/HA obtidos via compressão a quente

Os compósitos de matriz polimérica PHB/HA obtidos via compressão à quente, comprimidos a 155°C e 165°C foram caracterizados tanto com relação a suas propriedades físicas e mecânicas, quanto com relação às propriedades biológicas, nesse caso para aqueles produzidos apenas a 165°C, de modo a identificar a influência da adição de hidroxiapatita nessas propriedades.

4.2.1- Caracterização estrutural e mecânica.

A figura 4.10 apresenta as micrografias das amostras PHB/HA (0, 10, 20 e 40% massa de HA), produzidos a 155°C.



Figura 4. 10- Morfologia da superfície de fratura dos compósitos PHB/HA produzidos a 155°C, em (A) (0%), (B) (10%), C) (20%) e D) (40%).

Na Fig. 4.10-A é mostrada a microestrutura da superfície das amostras de PHB puro. Pode-se observar uma superfície irregular que evidencia uma conformação incompleta das partículas de pó utilizadas. As figuras 4.10-B, 4.10-C e 4.10-D, mostram a microestrutura dos compósitos PHB/HA (10), PHB/HA (20) e PHB/HA (40) prensados a 155°C, respectivamente. Pode notar-se uma distribuição homogênea das partículas da HA na matriz polimérica. É possível verificar que com a adição de HA, ocorre o preenchimento dos poros, resultantes do processo de prensagem.

A figura 4.11 apresenta a microestrutura das amostras prensadas a 165°C, onde não se verifica que o aumento da temperatura de prensagem, para 165°C, promoveu uma melhora expressiva da conformação das partículas do PHB.



Figura 4. 11 - Morfologia da superfície de fratura dos compósitos PHB/HA produzidos a 165°C, em (A) (0%), (B) (10%), C) (20%) e D) (40%).

No entanto, observando-se o gráfico da porosidade geométrica para as amostras prensadas a 155°C e 165°C, mostrado na figura 4.12, verifica-se que as amostras prensadas a

165°C apresentaram menores valores de porosidade que as amostras prensadas à 155°C, independente da porcentagem de HA adicionada.



Figura 4. 12– Variação de porosidade dos compósitos PHB/HA preparadas à 155 e 165°C, em função da quantidade de HA.

A figura 4.13 apresenta as microestruturas das amostras produzidas com o polímero purificado e prensadas a 165°C. Onde pode ser visto que a retirada dos monômeros e dos oligômeros do PHB não influenciou no processo de conformação das amostras. As microestruturas dessas amostras são similares àquelas produzidas com polímero não Purificado.

Comparando-se a porosidade das amostras prensadas à 165°C com o polímero purificado e não purificado, figura 4.14, pode ser visto que os valores de porosidade são extremamente próximos para todas as amostras, independente do montante de HA adicionado. O aumento da porosidade das amostras com o aumento da quantidade de HA, pode ser explicado devido à porosidade das partículas de HA (figura 4.9). Desse modo quanto maior o montante de partículas adicionado, maior a porosidade resultante das amostras.



Figura 4. 13- Morfologia da superfície de fratura dos compósitos PHBp/HA, em (A) 0, (B) 10 e C) 20%.



Figura 4. 14- Variação Porosidade dos compósitos PHB/HA e PHBp/HA, prensados à 165°C, em função da quantidade de HA.

Dissertação de Mestrado - Colegiado de Pós Graduação em Ciência dos Materiais - UNIVASF

O comportamento mecânico das amostras de PHB e PHB/HA foi avaliado através de ensaios de resistência à compressão (σ_c) e à flexão (σ_f). A figura 4.15 apresenta os resultados dos ensaios mecânicos para as amostras prensadas a 155 e 165°C.



Figura 4. 15- Resistência mecânica dos compósitos PHB/HA produzidos a 155 °C e 165 °C

(A) compressão e (B) flexão.

Pode ser verificado que as amostras prensadas a 165°C apresentaram melhores valores de resistência mecânica. Essas amostras atingiram um valor máximo de $\sigma_c = 23,67 \pm 2,1$ MPa e $\sigma_f = 1,048 \pm 0,12$ MPa para o PHB puro e $\sigma_c = 16,35 \pm 2,1$ MPa e $\sigma_f = 0,88 \pm 0,55$ MPa para o compósito com 10% em massa de HA. A Adição de HA promoveu uma diminuição dos valores de resistência mecânica, o que está interligado com o aumento da porosidade geométrica dos corpos rígidos devido ao aumento da quantidade de partículas do reforço, pois com o aumento na quantidade de HA ocorre, consequentemente, uma redução na quantidade de polímero, fazendo com que promova uma menor conformação das amostras. As amostras prensadas a 155 °C atingiram uma resistência máxima de $\sigma_c = 19,23 \pm 1,54$ MPa e $\sigma_f = 0,98 \pm 0,05$ MPa para o PHB puro e $\sigma_c = 8,09 \pm 1,44$ MPa e $\sigma_f = 0,37 \pm 0,02$ MPa para a amostra PHB/HA (10).

Valores inferiores de resistência mecânica, aos encontrados no trabalho atual, foram descritos por Hayati et al., (2011), os quais trabalharam com o PHB fundido. Hayati et al., (2011), constataram que o aumento da quantidade de partículas de HA promove um aumento significativo na resistência mecânica das estruturas porosas produzidas de PHB reforçada com HA. Para amostras preparadas na proporção 100:0 (PHB/HA) foi encontrado uma resistência à compressão de 2,14 \pm 0,11 MPa, para a proporção de 95:5 (PHB/HA) o valor foi de 2,55 \pm 0,13 MPa e para os compósitos produzidos na proporção de 90:10 (PHB/HA) foi encontrado o compósito com maior resistência mecânica preparado por esse método, atingido um valor de $3,18 \pm 0,24$ MPa. Segundo o autor, o aumento significativo nas propriedades mecânicas dos compósitos em comparação com PHB puro, foi atribuído à dispersão homogénea de HA na matriz. A área da superfície interfacial elevada e a distribuição homogênea das partículas da HA funcionam como reforço atuando no mecanismo de transferência de carga entre a matriz e as nanopartículas de HA, que resulta na melhoria das propriedades mecânicas dos compósitos. A porosidade dos compósitos preparados por este método foi cerca de 77, 2 a 77,5%. Diferente do resultado encontrado por Hayati et al., (2011), o trabalho atual obteve resultados que demonstram que com a adição de partículas de HA a resistência mecânica do compósito é reduzida, evidenciando que a adição das partículas de HA funcionou como defeito na matriz polimérica.

Galego et al. (2000) descreveram em seus estudos valores de resistência à compressão, para compósitos PHB/HA com 30% em massa de HA, de 67 MPa. Nesse trabalho os corpos

de provas foram produzidos via compressão, a uma temperatura de 180°C, 5° acima da temperatura de fusão do polímero. Onde foram utilizados corpos de prova com geometria cilíndrica com diâmetro de 8 mm e altura de 10 mm, no trabalho atual foram utilizados corpos de prova com uma relação de altura duas vezes maior que aresta da base, o que influencia no resultado de resistência mecânica. Outro fator importante é a temperatura de compressão utilizada por Galego *et al.*, (2000), acima da temperatura de fusão do PHB. Dessa forma, espera-se a fusão total do polímero e, consequentemente, menores valores de porosidade. Entretanto essa propriedade não foi medida no trabalho de Galego *et al.*, (2000).

Outros estudos realizados com compósitos a base de PHB/HA foram desenvolvidos por Doyle *et al.*, (1991), nesse trabalho os compósitos foram produzidos utilizando o PHB como matriz polimérica, onde o PHB foi misturado com 2,52 e 5,04 gramas de HA. Os pós então foram moldados por injeção a uma temperatura entre 167 e 170°C. Foi observado que o aumento na quantidade de partículas de HA provocou uma redução na resistência mecânica do compósito, confirmando a tendência encontrada no presente trabalho.

Comparando-se os compósitos preparados a 155 e 165°C, figura 4.14, percebe-se que a temperatura teve um efeito positivo, no que diz respeito à resistência mecânica ($\sigma_c \ e \ \sigma_f$), notando-se também a diminuição de porosidade com aumento da temperatura.

Pôde ser verificado que o processo de purificação do PHB, promoveu a diminuição na resistência mecânica das amostras, como pode ser visto na figura 4.16. Indicando que o processo de extração dos ácidos carboxílicos presentes na estrutura do PHB ocasionou uma redução na resistência mecânica dos compósitos. Esse efeito deve-se à menor temperatura de fusão dos monômeros e oligômeros o que promove uma melhor conformação dos polímeros não purificados. Ácidos carboxílicos são utilizados como plastificante que têm por função conferir propriedades elastoméricas ao produto acabado, ou seja, aumentar a flexibilidade das cadeias poliméricas (SANDER, 2010). A conformação por aquecimento, neste caso do compósito com matriz PHB, fez com que houvesse a penetração das moléculas do plastificante entre as cadeias do polímero, adquirindo uma maior consistência, assim, com o resfriamento as amostras atinge e uma maior resistência mecânica.

A análise de DSC (figura 4.3) mostrou que a temperatura de fusão dessas pequenas cadeias é de 135°C, já para o PHB é de 165°C. As amostras produzidas com o polímero purificado atingiram um valor de σ_c = 20,65 ±1,7 e σ_c = 12,82 ±0,52 MPa para o PHBp sem reforço e PHBp com 10% de reforço, respectivamente. Para os materiais produzidos com o

PHB não purificado os valores atingidos de resistência à compressão foram de σ_c = 23,67 ±2,1 MPa para o PHB puro e σ_c = 16,35 ±2,1 MPa para o compósito PHB/HA (10). Os maiores valores atingidos para resistência à flexão foram de σ_f = 1,048 ±0,12 para o PHB puro e de σ_f = 0,94 ±0,16 para o compósito PHB/HA (10). A tabela 4.1 apresenta os valores de resistência mecânica dos materiais obtidos.

	•	
Amostras	σ _c (MPa)	$\sigma_f(MPa)$
PHB	23,67 ±2,1	1,048 ±0,12
PHB/HA (10)	16,35 ±2,1	0,94 ±0,16
PHB/HA (20)	15,58 ±1,1	0,83 ±0,04
PHB/HA (40)	10,47 ±1,0	0,55 ±0,03
PHBp	20,65 ±1,7	1,01 ±0,02
PHBp/HA(10)	12,82±0,52	0,88 ±0,05
PHBp/HA (20)	9,31 ±1,43	0,77 ±0,10

 Tabela 4. 1- Valores da resistência mecânica dos materiais produzidos via compressão a quente.

Os resultados apresentados na figura 4.15 mostram, que com o aumento da temperatura de prensagem, há um aumento significativo na resistência mecânica dos compósitos PHB/HA e PHBp/HA, este comportamento pode ser explicado devido à uma maior conformação das amostras adquiridas pelo aumento da temperatura.

A diminuição na resistência mecânica dos compósitos com o aumento em massa da quantidade de partículas de HA pode ser explicado pela dissipação de energia, que se manifesta como atrito interno ou de amortecimento de um material polimérico, uma vez que as partículas da cerâmica não sofreram este efeito, quando prensadas a essa temperatura. Em um compósito com matriz de polímero, a dissipação de energia pode vir a romper a interface matriz-reforço, já que esses estão unidos por ligação mecânica. A adição da biocerâmica pode ter limitado a mobilidade da fase amorfa do polímero e, consequentemente, reduziu o amortecimento dos compósitos, pois o aumento da quantidade da biocerâmica reduziu o volume do polímero e, assim, o amortecimento do compósito (CHEN e WANG, 2002).



Figura 4. 16- Resistência mecânica dos compósitos PHB/HA e PHBp/HA, produzidos a 165°C, em (A) compressão e (B) flexão.

4.2.2- Caracterização biológica

A caracterização biológica teve como objetivo observar as mudanças na superfície do material e em suas propriedades mecânicas após diferentes períodos de imersão em SBF. A figura 4.17 apresenta as amostras de PHB puro prensadas a 165°C, imersas por diferentes períodos de tempo na solução de SBF. A figura 4.17-A corresponde ao PHB antes da imersão, já a figura 4.17-B apresenta o PHB após imersão em SBF por 1 dia, onde se nota o aparecimento de novas partículas, indicando o início da formação de cristais de apatita sobre a superfície de PHB.



Figura 4. 17- Morfologia da superfície das amostras PHB, em (A) PHB antes da imersão, (B) imersão por 1 dia C) por 7 dias D) por 14 dias.

A composição química destas novas partículas pôde ser confirmada pela análise de EDS mostrada na figura 4.18, onde pode ser visto os picos referentes ao fósforo e ao cálcio.

Após 7 dias de imersão, figura 4.17-C, observa-se que a fase depositada apresenta uma morfologia globular e cristais maiores que aqueles observados após 1 dia de imersão. No entanto a composição química permaneceu idêntica, 4.18-C. A morfologia globular é comumente reportada na literatura para a HA biomimética (NI e WANG, 2002). Chen e Wang, 2002 também observaram morfologia similar para compósitos HA/PHB, porém somente após 28 dias.

A figura 4.17-C, corresponde a 7 dias de imersão, observa-se uma camada de fosfato de cálcio mais uniforme e contínua do que observada na figura 4.17-B. Para o 7° dia é mais evidente, na superfície, a formação de aglomerados esféricos. Esta característica se manteve para as amostras imersas por 14 dias, 4.17-D. Roether *et. al*, 2002, encontraram morfologia similar para compósitos porosos PDLLA/Bioglass®, no entanto a morfologia globular encontrada só foi observada após 28 dias. No trabalho atual, nota-se que o crescimento de cristais de apatita na superfície do material, ocorre a partir do 1° dia de imersão, onde é observada que, após 7 dias, cresceu formando a estrutura globular característica.

A formação de pequenos núcleos de cristalização e sequencialmente crescimento dos cristalitos, deve-se pela deposição sucessiva de átomos na sua estrutura, oriundos da solução. Em algumas amostras foi identificada a presença de grande quantidade de núcleos de cristalização referente à apatita, este comportamento pode estar associado ao estado de saturação do sistema (definido como a razão do produto de atividade iónica e o produto de solubilidade no equilíbrio) que exerce grande influência no processo de nucleação e crescimento em processos de precipitação ou cristalização de uma fase sólida a partir de uma solução. Os fenômenos de nucleação e crescimento de cristais competem entre si (RIBEIRO, 2003).

A concorrência entre esses dois fenômenos, em diferentes estados de saturação determina o tamanho e a morfologia do cristal. Esse fato pode esclarecer o comportamento das amostras, nas quais os precipitados iniciais são instáveis, que pode se atribuído pelo fato dos núcleos não atingirem o raio crítico necessário para formação de núcleos estáveis, sendo dissolvidos e reprecipitados. Se em meio biológico incidir a mesma situação que correu com as amostras PHB/HA, ou seja, a presença de núcleos pequenos pode desencadear a rápida ação dos macrófagos, que tendem a realizar o processo de fagocitose, resultando em uma maior tendência à reabsorção, fazendo com que haja um estímulo para o crescimento ósseo (Ribeiro, 2003).

As camadas formadas sobre a superfície das amostras se mostraram mais interligadas e coesas com o aumento de dias, podendo assim melhorar a adesão do material ao osso, se implantado.



Figura 4. 18- EDS das amostras PHB produzidas a 165°C. Em (A) PHB antes da imersão, (B) imersão por 1 dia (C) por 7 dias e (D) por 14 dias.

Os resultados de EDS confirmam a formação de uma camada rica em Ca e P. Os espectros de EDS das amostras de PHB puro antes e após os diferentes tempos de imersão em SBF estão mostradas nas figuras 4.18-A, 4.18-B, 14.18-C e 4.18-D. Os picos mais intensos correspondem à presença de Ca e P. O EDS obtido das amostras PHB puro observados por 1 dia em solução, apresentou picos referentes aos elementos químicos Ca, P, Si e Cl, o pico

correspondente ao elemento P aparece muito pequeno, como mostra a figura 4.18-B. O EDS correspondente as amostras imersas por 7 e 14 dias, apresentaram picos intensos de P e Ca em todas as amostras. No entanto, podem ser vistos picos referentes aos elementos Si e Cl, figuras 4.18-C e 4.18-D, respectivamente. A presença do Si deve-se a utilização do desmoldante, que foi usado para a retirada dos corpos de prova do molde.

As micrografias, realizadas para as amostras preparadas com o PHB purificado, podem ser observadas nas figuras 4.19. O aparecimento de pequenos cristais é notável no 1° dia (figura 4.19-B), porém após 14 dias de imersão, a presença de cristais é mais evidente (figura 4.19-D). Comparando-se as figuras 4.17, para o PHB não purificado e 4.19 para o PHB purificado (PHBp), podem-se observar que as amostras não purificadas apresentaram maior formação de apatita na sua superfície, evidenciando que os ácidos carboxílicos presentes no PHB, tiveram uma influência positiva na formação da apatita biomimética.



Figura 4. 19- Morfologia da superfície das amostras PHBp, em (A) PHBp antes da imersão, (B) imersão por 1 dia C) por 7 dias D) por 14 dias.

A presença do P e Ca, na superfície das amostras imersas por 1, 7 e 14 dias em SBF foram confirmadas através do EDS. Picos referentes à P, Cl e Si podem ser visualizados (figura 4.20).

A figura 4.20 apresenta a superfície dos compósitos PHB/HA (10), antes da imersão e após a imersão em SBF (1, 7 e 14 dias). Após o 1° dia de imersão, figura 4.21-B, poucos cristais depositados podem ser visualizados na superfície do compósito. Após 7 dias de imersão, figura 4.21-C, observa-se uma maior número de partículas depositadas e formação de uma película globular. Após 14 dias de imersão, figura 4.21-D, a superfície do compósito apresenta uma camada uniforme de apatita biomimética.



Figura 4. 20-- EDS das amostras PHBp produzidas a 165°C, em (A) PHBp antes da imersão, (B) imersão por 1 dia C) por 7 dias e D) por 14 dias.

As micrografias referentes aos compósitos PHBp/HA (10), antes e após imersão em solução SBF, estão apresentadas na figura 4.22. Comparando-se a figura 4.22-A, a qual se refere ao compósito antes da imersão e após a imersão, nota-se a formação de pequenos cristais na superfície da matriz já no 1° dia de imersão, para o 7° e 14 ° dia, observa-se uma mudança na morfologia dos cristais, adquirindo uma forma globular, característica das apatitas.



Figura 4. 21- Morfologia da superfície dos compósitos PHB/HA (10) imersos em SBF por (A) 0, (B) 1, (C) 7 e (D) 14 dias.

Após 14 dias, uma camada de apatita biomimética quase completa é visível. A formação de muitos cristais, já no 1° dia de imersão é relativamente alto quando comparado com as amostras feitas somente com PHB e PHBp, a presença de apatita biomimética aumenta ligeiramente após 7 dias de imersão. Após 14 dias ocorre um aumento da camada de apatita precipitada, bem maior quando comparada com as amostras produzidas somente com PHB.


Figura 4. 22- Morfologia da superfície dos compósitos PHBp/HA (10) imersos em SBF por (A) 0, (B) 1, (C) 7 e (D) 14 dias.

As micrografias apresentadas na figura 4.23 são referentes aos compósitos PHB/HA (20). Assim como as amostras PHB/HA (10), os compósitos preparados com 20% em massa de HA apresentaram, após o 1° dia de imersão, precipitação de pequenos cristais. Após 7 dias de imersão não pôde ser observada nenhuma alteração significativa na microestrutura dos compósitos. Após 14 dias de imersão em SBF, pôde evidencia-se um aumento significativo de deposição de partículas, formando uma camada de apatita.

As amostras PHBp/HA (20) produzidas com PHB purificado, apresentaram morfologia de partículas depositadas, semelhante às das amostras PHB/HA (20).



Figura 4. 23- Morfologia da superfície dos compósitos PHB/HA (20) imersos em solução SBF (A) por 1 dia (B), 7 dias (C) e (D)14 dias.

Na figura 4.23 pode ser visto que a deposição de apatita biomimética aumenta com o aumento de dias de imersão. Trabalhos como o de Chen e Wang (2002) em que se realizou estudo *in vitro*, mostram através de análises como DRX e FTIR, que compósitos a base de PHB-HV e HA formam na superfície uma apatita carbonatada que é semelhante em composição e estrutura da apatita do osso.



Figura 4. 24- Morfologia da superfície dos compósitos PHBp/HA (20) imersos em solução SBF (A) por 1 dia (B), 7 dias (C) e (D)14 dias.

A superfície dos compósitos PHB/HA (40) é mostrada na figura. 4.25, como era previsto, estes compósitos apresentam uma maior concentração de partículas dispersas na matriz polimérica. Após o 1 dia em SBF, figura 4.25-B, o compósito mostrou-se ativo com o meio, apresentando alguns pequenos cristais em sua superfície. Após o 7° dia de imersão, os cristalitos estão presentes e maior quantidade, como é mostrada na figura 4.25-C. A figura 4.25-D apresenta a micrografia dos corpos após 14 dias de imersão, onde podem ser visualizadas partículas com morfologia diferentes. Obtiveram-se cristais de apatita biomimética, recobrindo a superfície com morfologia característica das fases OCP (Fosfato octocálcio), este pode ser caracterizado por cristais orientados perpendicularmente, semelhantes à agulhas (DEKKER *et al.*, 2005).

A avaliação da superfície dos compósitos após diferentes dias de imersão em SBF confirmou a bioatividade de todos em SBF. Não foi possível visualizar formação de novos poros ou cavidades para os diferentes tempos de imersão, o que corresponderia à degradação

que o PHB apresenta. Trabalho como o de Mendonça (2008) relata uma lenta taxa de degradação do PHB que ocorre após 30 dias de imersão em SBF.



Figura 4. 25- Morfologia da superfície dos compósitos PHB/HA (40) imersos em solução SBF (A) por 1 dia (B), 7 dias (C) e (D)14 dias.

Uma avaliação indireta da degradação da matriz polimérica, assim como a formação de uma camada de apatita, foi realizada a partir da pesagem das amostras antes e após imersão em SBF por diferentes períodos. A figura 4.26 apresenta as curvas da variação de massa para as amostras produzidas com o PHB purificado e não purificado, figuras 4.26-A 4.26-B respectivamente, com várias proporções de HA. A ocorrência da degradação do PHB juntamente ao processo de precipitação da apatita biomimética na superfície resulta em um processo simultâneo de perda e ganho de massa, respectivamente, que podem mascarar a variação de massa das amostras.

Na figura 4.26-A, pode-se observar que as amostras produzidas com o polímero não purificado praticamente não variou a massa, independentemente com o tempo de imersão em

SBF. A amostra PHB/HA (40), no entanto, apresentou um expressivo ganho de massa de 4% após imersão por 14 dias.



Figura 4. 26- Variação em massa dos compósitos PHBp/HA, após imersão em SBF

As amostras com 40% de HA apresentaram uma maior ganho de massa devido à natureza bioativa de HA, subsequentemente estas amostras apresentaram uma menor fração

do polímero que resulta em uma menor perda de massa para uma taxa de degradação constante.

A degradação polimérica ocorre principalmente por hidrólise química das cadeias instáveis. Para polímeros semicristalinos a degradação ocorre quando a água penetra na superfície do polímero, quebrando as cadeias da fase amorfa, transformando grandes cadeias em cadeias menores e sequencialmente em fragmentos solúveis, ocasionando a cisão hidrolítica das cadeias poliméricas. Nesta fase ocorre perda de massa molar da fase amorfa, mas sem grande perda das propriedades mecânicas (BIDONE, 2008).

As micrografias da superfície mostradas nas figuras 4.17, 4.19, 4.21, 4.22, 4.23, 4.24 e 4.25 apresentam a formação de apatita já a partir do 1° dia de imersão, de modo que seria esperado um ganho de massa mais expressivo. O PHB está sujeito a sofrer o processo de degradação que pode promover a redução de sua massa.

O comportamento mecânico das amostras foi avaliado via resistência à compressão e à flexão por diferentes dias em SBF, figura 4.27. Pode-se observar que após 1 dia de imersão ocorre uma diminuição das propriedades mecânicas das amostras. No entanto, com o aumento do tempo de imersão, é visível uma tendência de aumento da resistência mecânica. A resistência à flexão, figura 4.27-B apresenta diminuição mais expressiva após o 1 ° dia de imersão em SBF, devido à maior sensibilidade da resistência à flexão a presença de trincas provocadas pela degradação da matriz polimérica ou dissolução dos cristais de HA. As amostras apresentam comportamento mecânico similar com o aumento dos dias de imersão, independentemente da quantidade de HA preexistente nas amostras, indicando que o aumento da quantidade de reforço não induz nenhuma tendência ao aumento da resistência mecânica dos compósitos.



Figura 4. 27- Resistência mecânica dos compósitos PHB/HA após a imersão em SBF. Em (A) à compressão e (B) flexão.

O comportamento mecânico é condizente com o comportamento da porosidade em função dos dias de imersão (figura 4.28). Nesta figura, pode-se observar que a porosidade aumenta após o 1° dia de imersão, independentemente da quantidade de HA, isso indica uma degradação inicial da matriz polimérica e/ou dos cristais de HA utilizadas como reforço. Com o aumento de dias de imersão ocorreu uma diminuição da porosidade provocada pela

formação de uma camada de HA biomimética que preenche os poros superficiais aumentando a resistência das amostras.



Figura 4. 28- Porosidade dos compósitos PHB/HA após imersão em SBF.

O mesmo comportamento mecânico pode ser observado para as amostras produzidas com o polímero purificado, figura 4.29, onde pode ser visto novamente uma queda da resistência mecânica após o 1 ° dia de imersão, seguida de uma tendência ao aumento da resistência, com o aumento do tempo de imersão.



Figura 4. 29- Variação da resistência mecânica (A) à compressão e (B) flexão dos compósitos PHBp/HA (a), após, imersão em SBF.

A figura 4.30 apresenta o comportamento da porosidade para os diferentes dias de imersão em SBF, nota-se comportamento semelhante às amostras preparadas com o PHB não purificado.

Trabalhos como o de Doyle *et. al*, 1991, mostram uma diminuição da resistência mecânica de compósitos como PHB/HA após a imersão em solução salina tamponante, em que essa diminuição pode ser explicada pela introdução de moléculas de água na cadeia

polimérica. A adição de água provoca o um aumento no volume do polímero e, consequentemente, promove a quebra de cadeias, diminuindo a resistência do polímero.



Figura 4. 30- Variação de porosidade dos compósitos PHBp/HA após imersão em SBF.

4.3- Caracterização dos Compósitos HA/PHB Produzidos Via Infiltração

4.3.1- Caracterização mecânica

Com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas das amostras monolíticas de HA, foi infiltrado o PHB fundido em amostras de diferentes porosidades. Para a obtenção de diferentes níveis de porosidade foram preparados corpos verdes de HA com diferentes quantidades de parafina, que foram sinterizadas a 1100°C ou 1200°C.

A figura 4.31 apresenta as propriedades mecânicas das amostras, antes e após o processo de infiltração, onde pode ser visto que ocorreu um aumento significativo da resistência mecânica das amostras, após o processo de infiltração.



Figura 4. 31- Compósitos HA/PHB produzidos por infiltração em (A) resistência à compressão e (B) porosidade.

As amostras sinterizadas a 1200 °C atingiram maiores valores de σ_c após a infiltração, onde pode ser observado um aumento de mais de 400% para as amostras produzidas com 10% de parafina. Essas amostras partiram de um valor de 19,0 ±4,7 MPa antes da infiltração para valores de 83,0 ±4,41 MPa após a infiltração. Este aumento está intimamente relacionado com o preenchimento dos poros que resulta em melhor transmissão de carga, aumento da tenacidade, além do preenchimento de defeitos superficiais.

Diferente deste trabalho, que utilizou polímero fundido, Fedotov *et al.* (2011) desenvolveram corpos porosos à base de TCP e HA em que esses foram infiltrados por solução de quitosona. O trabalho de Fedotov *et al.* (2011) mostrou, que ao introduzir esta solução, a resistência mecânica à compressão aumenta significativamente com o aumento da concentração de quitosana na solução. Isto ocorre devido ao preenchimento de falhas e de poros, o que está intrinsicamente ligado ao comportamento mecânico destes materiais.

A figura 4.32 mostra a superfície de fratura das amostras de HA porosas antes e após a infiltração do biopolímero. A figura 4.32-A apresenta a HA sinterizada a 1100 °C, em que se utilizou 3 % de parafina em massa, pode-se observar a morfologia dos grãos e a presença de porosidade. A figura 4.32-B mostra a superfície de fratura da HA após o processo de infiltração, onde é possível visualizar a presença do polímero residual, que preencheu parte dos poros preexistentes no material. Os corpos de prova de HA produzidos com 5% a 1100 °C, antes e após a infiltração estão apresentados nas figuras 4.32-C e 4.31-D respectivamente e as amostras preparadas com 10% de parafina sinterizados a 1100 °C estão apresentadas nas figuras e 4.32-E e 4.32-F. Através das micrografias, é possível confirmar a introdução do PHB.

A figura 4.33 apresenta a superfície de fratura das amostras de HA sinterizadas a 1200°C, antes e após a infiltração do PHB, onde se pode confirmar a incorporação do polímero. A figura 4.33-A mostra a HA porosa antes da infiltração e a figura 4.33-B após a infiltração, através dessa figura confirma-se a introdução do PHB. O mesmo ocorre com as amostras produzidas com 5 e 10% de parafina produzidas à 1200°C, apresentadas nas figuras 4.33-C, 4.33-D, 4.33-E e 4.33-F.

A introdução de poros na HA facilita a proliferação celular, alojando macrocélulas ósseas, com isso introduzindo matriz extracelular contribuindo para a fixação do implante e consequentemente adquirindo uma maior resistência mecânica (DACULSI *et al.*, 1989). A introdução de um polímero biodegradável como precursor a melhora da resistência mecânica da HA, que irá conferir uma maior resistência mecânica quando implantada, ao passo que o PHB se degrada, ocorre a liberação de substâncias que auxiliam na produção de matéria orgânica (ROSA *et al.*, 2006), à medida que o polímero se degrada, ocorre a abertura dos poros que permitem a fixação das células.



Figura 4. 32- Morfologia da superfície de fratura das amostras sinterizadas a 1110°C, antes e após a infiltração, em (A) HA_3_1100, (B) HA/PHB _3_1100), (C) HA_5_1100, (D) HA/PHB _5_1100), (E) HA_10_1100 e (F) HA/PHB_10_1100.



Figura 4. 33- Morfologia da superfície de fratura das amostras sinterizadas a 1200°C, antes e após infiltração, em (A) HA_3_1200, (B) HA/PHB_3_1200, (C) HA_5_1200, (D) HA/PHB_5_1200, (E) HA_10_1200 e (F) HA/PHB_10_1200.

As amostras sinterizadas a 1100 °C apresentaram maiores valores de porosidade devido a uma sinterização parcial das partículas. Estas amostras apresentaram maior incorporação do PHB. Isto se deve à maior presença de poros. Uma maior diminuição de porosidade concomitante ao aumento de resistência mecânica à compressão que passa de 11, 91 \pm 1,96 MPa para a amostra de HA_10_1100 para 33,86 \pm 3,69 MPa, após a infiltração.

No presente trabalho, a quantidade máxima de PHB infiltrado foi de 1,02 g, para as amostras HA_10_1100, estas amostras atingiram o maior valor de resistência mecânica após a infiltração, quando comparada com amostras produzidos a mesma temperatura de sinterização, atingindo o valor de $33,86 \pm 3,69$ MPa.

Os compósitos produzidos a 1200°C, em geral, obtiveram o melhor comportamento mecânico, visto que possuem uma menor quantidade de poros. Nesses compósitos notou-se um menor teor de preenchimento dos poros pela infiltração do PHB, porém o compósito HA/PHB_10_1200, atingiu o melhor resultado, chegando a um valor de $83 \pm 4,3$ MPa.

Trabalhos realizados por Martínez-Vázquez *et al.*, (2010), utilizando o método de *robocasting*, mostram que a introdução dos biopolímeros PCL e PLA em estruturas porosas de TCP promoveu um aumento na resistência à compressão das amostras monolíticas de TCP, onde os compósitos preparados com TCP e PCL, atingiram uma resistência mecânica à compressão de 60 MPa e os compósitos produzidos com TCP e PLA atingiram uma resistência à compressão de 130 MPa. Análises de DRX realizadas nas amostras que apresentaram maior resistência mecânica comprovaram a presença do PHB, o que pode ser visto na figura 4.31. A quantidade de PHB infiltrado pode ser vista na tabela 4.2

Compósitos	Massa de PHB infiltrado (g)	Compósitos	Massa de PHB infiltrado (g)
HA/PHB_ 3_1100	0,60±0,16	HA/PHB_ 3_1200	0,02±0,005
HA/PHB_5_1100	0,85±0,091	HA/PHB_5_1200	0,03±0,001
HA/PHB_10_1100	1,02±0,046	HA/PHB_10_1200	0,04±0,016

Tabela 4. 2-Quantidade de PHB introduzido em corpos porosos de HA de $5,0 \pm 0,2$ g de massa.

Um pico referente ao PHB pode ser observado em $2\theta = 25,52$. A intensidade deste pico aumenta conforme o aumento da quantidade de PHB infiltrada em cada amostra. Além da presença do PHB foram identificados picos relativos ao à HA e β -TCP também.



Figura 4. 34- Difratograma da HA e dos compósitos HA/PHB produzidos com HA sinterizada à 1200°C antes e após a infiltração.

5-CONCLUSÃO

De modo a facilitar o entendimento as conclusões serão descritas separadamente para as amostras PHB/HA preparadas via prensagem e para as amostras de HA/PHB preparadas via infiltração do polímero em amostras porosas de HA. Deste modo têm-se:

5.1-Amostras PHB/HA preparadas via prensagem:

As amostras conformadas a temperaturas maiores apresentaram melhores valores de resistência mecânica. Estas apresentam-se mais densas, o que levou a resultados superiores àqueles produzidos em temperaturas menores de conformação.

O processo de purificação do polímero provocou um efeito negativo na resistência mecânica das amostras, o que se deve à ausência dos ácidos carboxílicos no PHB purificado, os quais contribuem como plastificantes, fazendo com que haja uma maior conformação das amostras produzidas com o PHB não purificado, este efeito deve-se, também, à temperatura de fusão, destes ácidos, que é de 135°C. Desta forma, as amostras preparadas com o PHBp apresentaram uma maior porosidade, colaborando para a redução na resistência mecânica.

A adição de partículas de HA na matriz polimérica promoveu um aumento da porosidade geométrica dos compósitos, devido à atuação das partículas como defeitos distribuídos na matriz e à presença de porosidade existente nas partículas de HA. Portanto, a porosidade contribuiu para redução na resistência mecânica dos compósitos. Assim, quanto maior a quantidade de partículas de HA, maior será a porosidade, consequentemente, menor a resistência mecânica.

A imersão dos compósitos PHB/HA em SBF promoveu uma redução da massa após um dia de imersão devido à degradação do polímero, principalmente dos monômeros e oligômeros presentes da estrutura deste. Aumentando-se o tempo de imersão foi observado um aumento de massa, decorrente da precipitação de uma camada de apatita biomimética.

O comportamento mecânico dos compósitos foi observado após os diferentes dias de imersão. Foi constatada que, após o primeiro dia de imersão, a resistência mecânica das amostras é reduzida, com o aumento no número de dias de imersão, a resistência tende a subir, devido à redução da porosidade das amostras pela formação da camada de apatita biomimética.

Após os diferentes dias de imersão em SBF, foi confirmada a deposição de apatita biomimética na superfície das amostras. O aumento do período de imersão promove um aumento da camada de apatita biomimética depositada na superfície das amostras.

5.2-Amostras HA/PHB produzidas via infiltração do PHB:

A infiltração do PHB promoveu um aumento da resistência à compressão das amostras porosas de HA. Para as amostras produzidas via infiltração, constatou-se que quanto maior a porosidade das amostras maior a quantidade de polímero infiltrado, devido a maior presença de espaços vazios no corpo poroso de HA.

Amostras sinterizadas a 1200°C apresentaram menores valores de porosidade e consequentemente maiores valores de resistência, antes de infiltração. Após a infiltração estas amostras atingiram maiores valores de resistência devido ao preenchimento dos poros e das falhas superficiais.

APÊNDICE

Dissertação de Mestrado - Colegiado de Pós Graduação em Ciência dos Materiais - UNIVASF



Dissertação de Mestrado - Colegiado de Pós Graduação em Ciência dos Materiais - UNIVASF



Dissertação de Mestrado - Colegiado de Pós Graduação em Ciência dos Materiais - UNIVASF



Dissertação de Mestrado - Colegiado de Pós Graduação em Ciência dos Materiais - UNIVASF



Dissertação de Mestrado - Colegiado de Pós Graduação em Ciência dos Materiais - UNIVASF



Dissertação de Mestrado - Colegiado de Pós Graduação em Ciência dos Materiais - UNIVASF



Dissertação de Mestrado - Colegiado de Pós Graduação em Ciência dos Materiais - UNIVASF



Dissertação de Mestrado - Colegiado de Pós Graduação em Ciência dos Materiais - UNIVASF



Dissertação de Mestrado - Colegiado de Pós Graduação em Ciência dos Materiais - UNIVASF



Dissertação de Mestrado - Colegiado de Pós Graduação em Ciência dos Materiais - UNIVASF

6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, C. M. S. **Análise por XPS e AFM da superfície de blendas de PVC/PHB.** Rio de Janeiro, 2005. Dissertação (Mestrado em Física), Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2005.

ALVARES, T.V.S. **Caracterização de cerâmicas densas de hidroxiapatita produzidas a partir do gesso**. Petrolina, 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Materiais), Universidade Federal do Vale do São Francisco, 2012.

ANAHÍ H. A.; Fook, M V. L; SANTOS, M. L.; GUASTALDI, A. C. Estudo da influência dos Íons K⁺, Mg²⁺, SO4²⁻ e CO3²⁻ na cristalização Biomimética de fosfato de Cálcio amorfo (ACP) e conversão a fosfato octacálcico (OCP). Quim. Nova, vol. 30, n°. 4, p. 892-896, 2007.

BIDONE, J. **Desenvolvimento de microesferas a partir de poli (3-hidroxibutirato) e diferentes adjuvantes de formação visando o prolongamento da liberação de Ibuprofeno para o tratamento localizado de artrite.** Florianópolis, 2008. Dissertação (mestrado em pós-graduação em Farmácia) Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde.

BIRNBOIM, H. C.; DOLY, J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. Nucl. Acids Research, vol. 7, p.1513-1523, 1979.

BONFIELD, W.; GRYNPAS, M.D.; TULLY A. E.; BOWMAN, J. A.; BRAM, **Hydroxyapatite reinforced polyethylene a mechanically compatible implant material for bone replacement**. Biomaterials; vol. 2, p.185–6, 1981.

BRANEMARK, P.I; ZARB, G.A; ALBREKTSSON, T. **Tissue-integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry**. Plastic e Reconstructive Surgery: vol. 77, n°3, p. 496-497, 1986.

BRASIL. **O plástico que vem do açúcar**. Disponível em: http://www.inventabrasil.com.br/plásticos. Acesso em 12, nov. 2004.

CALLISTER, W. D.**. Materials Science and Engineering: An Introduction**. Nova York: John Wiley & Sons, 6^a ed., 2003.

CALLISTER, JR.; WILLIAM D.; Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução. Rio de Janeiro: LTC, 7º ed., 2008.

CAMARGO, F. A. **Obtenção, caracterização e estudo de biodegradação de blendas de poli(3-hidroxibutirato-co-valerato)/(PHBV) com lignina de bagaço de cana de açúcar**. Campinas, 2003. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

CAMILO, C. C. **Escafolds para implantes ósseos em alumina/hidroxiapatita/biovidros: análise mecânica e in vitro**. São Carlos, 2006. Dissertação de mestrado (Engenharia mecânica), Universidade de São Paulo, 2006.

CAMPBELL, A.A. **Bioceramics For Implant Coatings.** Materials Today, vol. 6, p.26-30, 2003.

CARVALHO, L.T.L.; ARAÚJO, A., C.A.C., TEÓFILO, J.M., BRENTEGANI, L.G. **Histologic and histometric evaluation of rat alveolar wound healing around polyurethane resin implants**. International Journal Oral Maxillofacial Surgery. vol. 26, n°. 2, p. 149- 152, 1997.

CHAAIR, H.; HEUGHEBAERT, J.; HEUGHEBAERT, M. **Precipitation of stoichiometric apatitic tricalcium phosphate prepared by a continuous process**. Materials Chemistry, vol. 5, p.895, 1995.

CHAI, C.S.; BEN-NISSAN, B. **Bioactive nanocrystalline sol-gel hydroxyapatite coatings**. Materials Science: Materials in Medicine., vol. 10, n° 8, p 465-469, 1999.

CHEN, L.J. e WANG, M. **Production and evaluation of biodegradable composites based on PHB–PHV copolymer**. Biomaterials, vol. 23, p.2631–2639, 2002.

CORDEY, J.; PERREN, S.M.; STEINEMANN, S.G. **Stress protection due to plates: myth or reality? A parametric analysis made using the composite beam theory**. Injury, vol.31, n°, p.1-13, 2000.

COSTA, A. C. F. M.; LIMA, M. G.; LIMA, L. H. M. A.; CORDEIRO, V. V.; VIANA, K. M. S.; SOUZA, C. V.; LIRA, H. L. **Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações**. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, vol.4, n°.3, p. 29-38, 2009.

DACULSI, G.; LEGEROS, R. Z.; NERY, E.; LYNCH, K.; KEREBEL, B. **Transformation** of biphasic calcium phosphate ceramics in vivo: ultrastructural and physicochemical characterization. Materials. Research, vol. 23, p. 883-94; 1989.

DALCANTON, F. **Produção, extração e caracterização de poli (3-hidroxibutirato) por Ralstonia eutropha em diferentes substratos**. Florianópolis, 2006: Dissertação (Engenharia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

DEKKER, R.J.; BRUIJN, J. D.; STIGTER, M. BARRERE, F.; LAYROLLE, P.; BLITTERSWIJK, C. A. **Bone tissue engineering on amorphous carbonated apatite and crystalline octacalcium phosphate-coated titanium discs**. Biomaterials, vol. 26, p. 5231– 5239, 2005.

DESCAMPS, M.; DUHOO, T.; MONCHAU, F.; LU, J.; HARDOUIN, P.; HORNEZ, J.C.; LERICHE, A. **Manufacture of macroporous -tricalcium phosphate bioceramics**. Journal of the European Ceramic Society, vol.28, p.149-157, 2008.

DOYLE, C.; TANNER, E.T.; BONFIEL, W. In vitro and in vivo evaluation of polyhydroxybutyrate and of polyhydroxybutyrate reinforced with hydroxyapatite. Biomaterials, vol. 12, p. 841-847, 1991.

DU, G.; CHEN, X.L.; YU, J. **High efficiency production of bioplastics from biodegradable organic solids**. Journal of Polymers and the Environment, vol. 12, p. 89-94, 2004.

ELLIOT, J.C.; HOLCOMB, D.W.; YOUNG, R.A. **Ifared determination of the degraee of substitution of hydroxyl by carbonate ions in human dental enamel calcif. tissue**. Int. vol.37, p.372-75, 1985.

ELLIOTT, J. C.; WILSON, R. M.; DOWKER, S. E. P. **Apatite structures.** Journal of Dental Research, vol.45, p.172-181, 2002.

ENGEL, G.; KLEE, W.E. J. Infrared spectra of the hydroxyl ions in various apatites. Journal of Solid State Chemistry, vol.5, p. 28-34, 1972.

FEDOTOV, A. Y.; BAKUNOVA, N. V.; KOMLEV, V. S.; BARINOV, S. M. **High porous** calcium phosphate bioceramics reinforced by chitosan infiltration. Chemical Technology. vol. 439, n°2, p. 233–236, 2011.

FERNANDES A. J. D. **Fosfatos de cálcio modificados organicamente com mercaptopropil-síntese, caracterização e aplicação**. João Pessoa, 2007. Dissertação (mestrado), Universidade Federal da Paraíba, 2007.

FRANCHETTI, S. M. M. e MARCONATO, J. C. - **Polímeros biodegradáveis - uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos.** Quimíca Nova, vol. **29**, p.811, 2006.

GALEGO, N.; ROZSA, C.; SÁNCHEZ, R.; FUNG, J.; VÁZQUEZ, A.; TOMÁS, J.S. Characterization and application of poly(β-hydroxyalkanoates) family as composite biomaterials. Polym Test., vol.19, p. 485–492, 2000.

GUNARATNE, L.M.W.K.; SHANKS, R.A; AMARASINGHE G. **Thermal history effects on crystallization and melting of poly(3-hydroxybutyrate)**. Thermochimica acta, vol. 423, p. 127-135, 2004.

HAYATI, A. N.; REZAIE, H.R.; HOSSEINALIPOUR, S.M. **Preparation of poly(3-hydroxybutyrate)/nano-hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering**. Materials Letters, vol. 65, 736–739, 2011.

HAYEK. E.; NEWESELY, H. RUMPEL, M. L. Pentacalcium monohydroxyorthophosphate: (hydroxyapatite)''. Inorganic Syntheses, vol. 7, p. 63-65, May 1963.

HEIMKE, G. Ceramics for osseo-integrated implants. Adv. Ceram. Mater., vol. 2, n°. 4, p. 764-770, 1987.

HELMUS, M. N. E TWEDEN, K. Encydopedic handbook of biomaterials and bioengineering: Boston, Massachusetts: Donald L. Wise, vol. 1, p. 27-59. 1995.

HENCH, L. L.; **Bioceramics**. Journal of Americam Ceramic Society, vol. 81, n°.7, p. 1705-1728, 1998.

HENCH, L. L.; WILSON, J. An Introduction to Bioceramics. Flórida, vol. 1, p. 370, 1993.

HOLLINGER, J.; BATTISTONE, G.C. **Biodegradable bone repair materials: Synthetic polymers and ceramics.** Clin Orthop Rel Res, vol. 201, p. 290, 1986.

HUTMACHER, D. W. **Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage**. Biomaterials, vol. 21, p.2529, 2000.

IGNJATOVIC, N.; USKOKOVIC, D. . Synthesis and application of hydroxyapatite/polylactide composite biomaterial. Applied Surface Science, vol. 238, p. 314–319, 2004.

JOHN, C. MIDDLETON, ARTHUR J. TIPTON. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. Biomaterials, vol. 21,p.2335-2346, 2000.

KAWACHI, E. Y. **Fosfatos de Cálcio: porosidade, cristalinidade, potencial de interface e comportamento** *in vivo*. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C. A.; REIS, R. R.; ALVES, O. L. **Biocerâmicas:** tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. Quím. Nova, vol.23, n°.4, p. 518-522, 2000.

KHAN, S.N.; BOSTROM, M.P.; LANE, J. **Bone growth factors**. Orthop. Clin. North. Am., vol. 31, p.375-87, 2000.

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

KWON, S.W.; KIM, Y.S.; WOO, Y.K.; KIM, S.S.; PARK, J.B. **Hydroxyapatite impregnated bone cement: in vitro and in vivo studies.** Bio-Medical Materials and Engineering; vol.7: p.129–40, 1997.

KHAN, M.T.; IBBOTSON, C.; STOCKLEY, I. **Allograft bone transplants a sheffield experience**. Ann Cou. Surg. Engi., n° 80, p. 150-153, 1998.

KURTZ, S. M. ; MURATOGLU, O. K.; EVANS, M. , EDIDIN, A. A. Advances in the processing, sterilization, and crosslinking of ultra-high molecular weight polyethylene for total joint arthroplasty. Biomaterials, vol. 20, p. 1659–1688, 1999.
LEE, R.; OGISO, M.; WATANAB, E. A.; ISHIHARA, K. **Examination of hydroxyapatite filled 4-META/MMA-TBB adhesive bone cement in in vitro and in vivo environment**. Biomed Mater. Res., vol. 38, p.11–6, 1997.

LEGEROS, R.Z. The unit-cell dimensions of human enamel apatite: Effect of chloride imcorporation. Arch. Oral Biol., vol. 20, p. 63-71, 1974.

LEGEROS, R.Z. **Biological and synthetic apatites**. In: Brown, P.W., Constantz B, editors. Hydroxyapatite and related materials. Boca Raton: CRC Press. p. 3–28, 1994.

LEMOIGNE M.; Produit de déshydratation et de polymérisation de l'ácide β - oxybutyrique. Bull. Soc. Chim. Biol., vol. 8, p. 770-82, 1926.

LIMA, J.L. **Blendas de poli(hidroxibutirato) e elastômero de Epicloridrina**. Dissertação (mestrado em química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

LIU, X.; CHU, P. K.; DING, C. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. Materials Science and Engineering: R: Reports. vol. 47, p.49–121, 2004.

LUKLINSKA, Z.B.; SCHLUCKWERDER, H. In vivo response to HApolyhydroxybutyrate/polyhydroxyvalerate composite. Mycrosc., vol.211, p.121-129, 2003.

MARCHESSALT, R.H.; BLUHUM, T.L.; DESLANDES Y., HAMER, G.K.; ORTES, W. J.; SUNDARAJAN, P. R.; TAYLOR, M.G.; BLOEMBERJEM, S.; HOLDEN, D. A. Poly(βhidroxyalkanoates): biorefinery polymers I search of application. makromulekulare chemia-macromuleculare symposia. Basel, vol. 19, p. 235-254, 1988.

MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, F. J.; PERERA, F. H.; MIRANDA, P.; PAJARES, A.; GUIBERTEAU, F. **Improving the compressive strength of bioceramic robocast scaffolds by polymer infiltration**. Acta Biomaterial, vol. 6, p. 4361–4368, 2010.

MC DONALD, D.J.; ENNEKING, W.F.; SUNDARAM, M. Metal-associated angiosarcoma of bone: report of two cases and review of literature. Clin. Orthop. Relat. Res., vol.396, p.206-214, 2002.

MENDONÇA, R.H.; **Imobilização de Fibronectina na Superfície de Suportes Porosos de PHB para Aplicação em Engenharia Óssea**. Dissertação (mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais). Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

METSGER, D. S.; M. RIEGER, R.; FOREMAN, D. W. Mechanical properties of sintered hydroxyapatite and tricalcium phosphate ceramic. Mat. Sci.: Materials In Medicine, vol. 1 0, p.9-17, 1999.

MITOMO, H.; WATANBE, Y.; ISHIGAKI, I.; SAITO T. Radiation – induced degradation of poly (3-hydroxibutirate) and the copolymer poly (3-hydroxibutirate-co-3-hydroxivalerate). vol. 45, p. 11-17, 1994.

MONARETTI, F. H. **Estudo de viabilização de método e técnicas de manufatura de corpos porosos estruturais para engenharia de tecidos**. São Carlos, 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica), Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

NA, X.e NIANZHI, J. Formation of polyhydroxyalkanoate in aerobic anoxygenic phototrophic bacteria and its relationship to carbon source and light availability. Applied and environmental microbiology, vol. 77, p. 7445–7450, 2011.

NI, J. e WANG, M. In vitro evaluation of hydroxybutyrate reinforced polyhydroxybutyrate composite. Mat. Sci and Eng, vol. 20, p.101-109, 2002.

NONATO, R.; ROSSEL, C. **Obtenção de polímeros biodegradáveis a partir de fontes renováveis: cana de açúcar**. Quim. Nova, vol. 29, p. 811-816, 2006.

NOVAES, A.B. **Procedimentos Cirúrgicos em Periodontia e Implantodontia**. Artes Médicas, vol.5, p. 89-105, 2004.

OCARINO, N.M.; MARUBAYASHI, U.; CARDOSO, T.G.S. GUIMARÃES, C.V. SILVA, A.E. TÔRRES, R.C.S. SERAKIDES, R. **Physical activity in osteopenia treatment improved the mass of bones directly and indirectly submitted to mechanical impact**. J. Musculoskelet Neuronal Interac., vol.7, n°1, p.84-93, 2007.

OHARA, G. H.; KOJIMA, K. E.; ROSSI, J. C.; TELLES, M.; SOARES, T. V. C.; SALOMÃO, C.; SANDA, M. **Estudo experimental da biocompatibilidade do polímero poliuretano da mamona implantada intraóssea e intra-articular em coelhos**. Acta ortopédica brasileira. vol. 2, n°. 3, p. 62-68, 1995. OLIVEIRA, L.M. Efeitos da radiação gama no polímero biodegradável poli(hidroxibutirato) e no copolímero poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato). Recife, 2006. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Recife, 2006.

ORTEGA F. S. **O potencial da agroindústria canavieira do Brasil.** São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas. 2006. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/Departamentos/FBT/HP_Professores/Penna/EstudoDirigido/Agroindu stria_Canavieira.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2010.

ORTEGA, F. S.; PAIVA, A. E. M.; RODRIGUES, J. A.; PANDOLFELLI, V. C. **Propriedades mecânicas de espumas cerâmicas produzidas via ''gelcasting''**. Cerâmica, vol.49, n°309, p. 01-05, 2003.

PARK, E., CONDRATE, R.A., LEE, D. Infrared spectral investigation of plasma spray coated hydroxyapatite. Mater. Lett., vol. 36, p.38-43, 1998.

RADASH, R.M. **Biomechanischis of bone and fractures**.Vet. Clin. N. Am.: Small Anim. Pract., vol.29, p.1045-1082, 1999.

RAO, R. R.; ROOPA, H. N.; KANNAN, T. S.; RAO, K. J. **Preliminary studies on the synthesis and characterization of hydroxyapatites**. Metals Materials and Processes, vol. 8, p. 309-313, 1997.

ROSA, A. L.; SHAREEF, M. Y.; VAN N. R. **Efeito das condições de preparação e sinterização sobre a porosidade da hidroxiapatita**. Pesqui. Odontol. Bras., vol. 14, n° 3, p. 273-277, 2000.

ROSA, D.S.; SALVINI, V.R.; PANDOLFELLI, V.C. **Processamento e avaliação das propriedades de tubos cerâmicos porosos para microfiltração de emulsões**. Cerâmica, vol. 52, p. 157-171, 2006.

ROSSI, A.M.; TERRA, J.; MAVROPOULOS, E.;MOREIRA, E.L. A ciência e tecnologia das biocerâmicas. Disponível em:<u>www.cbpf.br/revistacbpf/pdf/BioMat.pdf</u>. Acesso em: 16 de novembro de 2005.

REHMAN, I., BONFIELD, W. Characterization of hydroxyapatite and carbonated apatite by photo acoustic ftir spectroscopy. Mater. Sci.: Mater. Med., vol.8, p.1-4, 1997.

REYES, L. C. V. **Aplicação de um vidro bioativo em tíbias de coelho**. São Carlos, 2000. Dissertação de Mestrado, Universidade De São Paulo, 2000.

RIBEIRO, C. **Processamento e caracterização de cerâmicas à base de hidroxiapatita e fosfato-tricálcico**. São Paulo, 2003. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo, 2003.

RIGO, E. C. S.; GEHRKE, S. A.; CARBONARI, M. **Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação**. Dental Press Periodontia Implantol., vol.1, n°3, p.39-50, 2007.

RIGO, E. C. S.; OLIVEIRA, L. C.; SANTOS, L. A.; SANTOS, L.; BOSCH, A.; CARRODEGUAS, R. G. **Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita**. Rev. Bras. Eng. Biom., vol. 15, p. 21-29, 1999.

RHO, J.Y.; SPEARING, L.K;. ZIOUPOS, P. Mechanical properties and hierarchical structur of bone. Mater. Eng. & Phys., vol. 20, p. 92-102, 1998.

RODRIGUES, J. A. F. R.; PARRA, D. F.; A. LUG B. **Crystallization on films of phb/peg blends. Evaluation by DSC**. Thermal Analysis and Calorimetry, vol. 79, 379–381, 2005.

ROETHER, J. A; BOCCACCINI, A.R.; HENCH, L.L.; MAQUET, V.; GAUTIER, S.; JÉRÔME, R. Development and in vitro characterization of novel bioresorbable and bioactive composite materials based on polylactide foams and bioglass®for tissue engineering applications. Biomaterials, vol. 23, p. 3871-3878, 2002.

SANDER, M.M. Estudo da ação plastificante de polímero obtido a partir de ácido oleico, em matriz de polipropileno e polietileno. Porto Alegre, 2010. Dissertação de mestrado.

SANTOS, A.F. **Caracterização, modificação e estudo cinético não isotérmico de poli(3-hidroxibutirato**), Dissertação(mestrado em química), Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2005.

SEPÚLVEDA, P.; PANDOLFELLI, V. C.; ROGERO, S. O.; HIGA, O. Z.; BRESSIANI, J. C.; Hidroxiapatita porosa produzida através do gelcasting de espumas visando aplicações biomédicas, Rev. Cerâmica, v. 45, n.296, Nov./Dez. 1999.

SERAFIM, S. L.; LEMOS P.C.; REIS M.A.M. **Produção de Bioplásticos por Culturas Microbianas Mistas**. **Boletim de Biotecnologia**, vol. 76, p. 15-20, 2003.

SILVA, S.; FILOMENA, M. R.; GOMEZ, J. G. **Biodiversidade brasileira é fonte de microorganismos produtores de plásticos e elastômeros biodegradáveis**. Quim. Nova, vol. 30, p. 1732-1743, 2007.

STIFFLER, K.S. Internal fracture fixation. Clin. Tech. Small Anim. Pract., vol.19, p.105-113, 2004.

SUCHANEK, W. YOSHIMURA, M. processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. Journ. Mater. Res, vol.13, n°1, p.94-117, 1998.

SUDESH, K.; ABE, H.; DOI, Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. Progress in Polymer Science, vol. 25, p. 1503-1555, 2000.

SUTTIWIJITPUKDEE, N.; SATO, H.; ZHANG, J.; HASHIMOTO, T.; OZAKI, Y. Intermolecular interactions and crystallization behaviors of biodegradable polymer blends between poly (3-hydroxybutyrate) and cellulose acetate butyrate studied by DSC, FT-IR, and WAXD. Polymer. vol. 52, p. 461–471, 2011.

TADA, E. S. **Blendas com poli(3-hidroxibutirato) (PHB) e copolímeros aleatórios: comportamento de fases e cinética de cristalização**. Campinas, 2009. Tese (Ciências). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

TADIC, D e EPPLE. A thorough physicochemical charicterization of 14 calcium phosphate based bone substitution materials in comparison to natural one. Biomaterials, vol. 25, p. 987-94.

TADIC, D. F.; PETERS, M. E. Continuous synthesis of amorphous carbonated apatites. Biomaterials, vol. 23, n° 12, p. 2553–2559, 2002.

TAGA, E.M. **Biomateriais para uso em clínica médico-odontológica**. Revista Brasileira de Cirurgia e Implantodontia, vol. 3, n°. 1, p. 59-69, 1996.

VALLET-REGÍ, M.; PEREZ-PARIENTE, .J.; IZQUIERDO-BARBA.; SALINAS A.J. Influence of P₂O₂ on Crystallinity of apatite formed in vitro of surfasse of bioactive glasses. Biomed. Mater. Resort., vol. 51,p. 560-565, 1999a.

VALLET-REGÍ M.; ROMERO A.M.; RAGEL C.V; LEGEROS R.Z. **XRD, SEM-EDS and FTIR studies of** *in vitro* **growth of an apatite-like layer on sol–gel glasses**. Biomed. Mater Res; vol. 44, p. 416–421, 1999b.

VANIN, M.; SANTANA, C.C; TORRIANI, I.L.; PRIVELIC, T.; DUEK, E. A. R. In vitro study of degradation of poly(b-hydroxybutyrate) (PHB) / poly(L-lactic acid) (PLLA) blends in the form of films. Polímeros, vol.14 n°3, 2004.

VERT, M.; LI, M. S.; SPENLEHAUER, G.; GUERIN, P. **Bioreabsorbable polymers for cell culture substrate and tissue engineering**. Mater. Sci., vol.3, p.432, 1992.

VIEGAS, C.P.R.; Estudo da produção de polihidroxialcanoatos (PHAs) por Chromobacterium violaceum. Santa Catarina, 2005. Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

UHTHOFF, H.K.; POITRAS, P.; BACKMAN, D.S. Internal fixation of fractures: short history and recent developments. Orthop. Sci., vol.11, p.118-126, 2006.

WALLEN, L.L.; ROHWEDDER, W.K. **Poly-β-hydroxyalkanoate from activated sludge. Environment**. Science and Technology, vol. 8, p. 576-579, 1974.

WANG, M. **Developing bioactive composite materials for tissue replacement**. Biomaterials, vol.24, n°13, p.2133-2151, 2003.

WANG, M.; WENG, J.; NI J.; GOH, C.H.; XIU, C. **Developing Tricalcium Phosphate/ Polyhydroxybutyrate Composite as a New Biodegradable Material for Clinical Applications**. Bioceramics, vol. 13, p. 193-195, 2001.

WILLIANS D, F. **Definições em Biomateriais.** Conference of the European Society for Biomateriais, mar. 3-5, Chester, England, Elsevier, Amesterdam, 1987,n°6, p. 49-59, 1995.

WILLIANS, D.F. **Review: Tissue-biomaterial interactions**. Materials. Sci. - Mater. Med, vol. 22, p. 3421-3445, 1987.

WU, L. B. & DING, J. D. **2004 In vitro degradation of three-dimensional porous poly(D,L-lactide-co-glycolide) scaffolds for tissue engineering**. Biomaterials, vol. 25, p.5821, 2004.

YOSHIDA, W.B; NARESSE, L.E; RODRIGUES, A.C; FABRIS, V.E, ANGELELI, A.Y. **End-to-end arterial anastomosis with fibrin glue in larger arteries: histology, hydroxyproline concentration and tensile strength study in carotids of rabbits**. Acta Cir. Bras., vol.17, p. 4-11, 2002.