

CENTRO UNIVERSITÁRIO FEI  
JULIANA SATIE WATAI

**DEGRADAÇÃO HIDROLÍTICA DO POLI (ÁCIDO LÁCTICO) (PLA) E DE  
COMPOSTOS DE PLA/NANO-HIDROXIAPATITA**

São Bernardo do Campo

2018

JULIANA SATIE WATAI

**DEGRADAÇÃO HIDROLÍTICA DO POLI (ÁCIDO LÁCTICO) (PLA) E DE  
COMPOSTOS DE PLA/NANO-HIDROXIAPATITA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Centro  
Universitário FEI para obtenção do título de  
Mestre em Engenharia Mecânica com ênfase  
em Materiais e Processos. Orientado pela Prof.<sup>a</sup>  
Dr.<sup>a</sup> Adriana Martinelli Catelli de Souza.

São Bernardo do Campo

2018

Watai, Juliana Satie.

Degradação hidrolítica do poli (ácido láctico) (PLA) e de compostos de PLA/nano-hidroxiapatita / Juliana Satie Watai. São Bernardo do Campo, 2018.

100 f. : il.

Dissertação - Centro Universitário FEI.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Adriana Martinelli Catelli de Souza.

1. Poli (ácido láctico). 2. Nano-hidroxiapatita. 3. Degradação hidrolítica. I. Souza, Adriana Martinelli Catelli de , orient. II. Título.

**Aluno:** Juliana Satie Watai

**Matrícula:** 216312-9

**Título do Trabalho:** Degradação hidrolítica do poli (ácido láctico) (PLA) e de compostos de PLA/nano-hidroxiapatita.

**Área de Concentração:** Materiais e Processos

**Orientador:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Martinelli Catelli de Souza

**Data da realização da defesa:** 31/08/2018

**ORIGINAL ASSINADA**

**Avaliação da Banca Examinadora:**

---

---

---

---

---

---

---

---

São Bernardo do Campo,     /     /     .

**MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA**

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Martinelli Catelli de Souza     Ass.: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Alex Sandro Babetto     Ass.: \_\_\_\_\_

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ticiane Sanches Valera     Ass.: \_\_\_\_\_

A Banca Julgadora acima-assinada atribuiu ao aluno o seguinte resultado:

APROVADO

REPROVADO

**VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO**

**APROVO A VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO EM QUE  
FORAM INCLUÍDAS AS RECOMENDAÇÕES DA BANCA  
EXAMINADORA**

Aprovação do Coordenador do Programa de Pós-graduação

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Rodrigo Magnabosco

Dedico este trabalho à minha família, que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Ciro e Tereza e a minha irmã Patrícia, que são a minha base e inspiração para sempre seguir em frente. À minha avó Shizuka, por ser meu exemplo e por me apoiar em todos os momentos. Aos meus tios e primos por todo o incentivo ao longo de toda caminhada. Aos meus avôs, Bunji e Kazuki, que deixaram seus ensinamentos, com muito amor e carinho, para minha formação como pessoa.

À minha orientadora Adriana Martinelli Catelli de Souza pela paciência, compreensão, dedicação e auxílio na construção desse trabalho. À professora Patrícia Schmid Calvão pelo auxílio, dedicação e contribuição na realização dessa dissertação. Muito obrigada às duas não apenas pela orientação, mas também pelo incentivo na minha formação.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e ao Centro Universitário FEI pela concessão da bolsa de estudos.

Ao departamento de Engenharia de Materiais, pelo ótimo ensino e orientação para o meu desenvolvimento. Em especial aos professores Baltus Cornelius Bonse, que me concedeu o primeiro contato com a pesquisa acadêmica, e Alex Sandro Babetto, pelo auxílio e ótimas contribuições para o trabalho. Aos professores Rodrigo, Gilberto, Fernando, William, Alcindo, Abel, Gigliola, Daniella, Jorge, Júlio e Ricardo, que marcaram meus anos de estudos na FEI e me inspiraram para a carreira acadêmica. Aos técnicos e amigos do CLM: Fabrício, Caio, Lucian, Geleci, Mirom, Jailson, Adelaide, Marcela e Cátia. Aos funcionários do CLQ: Simone, Carina e Paulo. Aos amigos Airton e Leandro. Obrigada pela amizade desenvolvida e apoio durante o trabalho.

Aos amigos da FEI, com quem dividi alegrias, medos e vitórias durante a trajetória na graduação e Mestrado, sempre enxergando de forma positiva todo obstáculo: Letícia Marin, Felipe Beluche, Mariana Matheus, Louise Ruiz, Rafael Bringel, Rodrigo Freitas, Felipe Rodrigues, André Oliveira, Flávia Fagundes, Gabriel Prosofsky, Ivy Frazão, Lais Alves, Gabriella Spedo, Rosi, Elias Soares e Everton de Moraes. Aos amigos que sempre estiveram comigo: Gemima Duarte, Jefferson Rasmussen, Gabriela Sutti, Pedro Cabral, Viviane Bianchi, Simone Rodrigues, Suellen Santo, Adriano Ribeiro, Felipe Okabe, Letícia Shiose, Larissa Riveglini, Mariane Fugita, Rafael Duarte, André Cabral, Adriana Valerio, Isis Stelmo, Raphael Martinez, Sendy Rocha e Caroline Carvalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“Se mantivermos a mente voltada somente para o lado positivo, as ondas de nossa mente serão sintonizadas de modo a captar e receber somente coisas boas.”

Masaharu Taniguchi

## RESUMO

O Poli (ácido láctico) (PLA) é um polímero alifático biodegradável e biorreabsorvível, obtido a partir de fontes renováveis, que possui boas propriedades mecânicas e biocompatibilidade, características que o permitem ser utilizado como biomaterial. Para que este material possa ser utilizado como biomaterial, é necessário que este seja submetido a diversos testes. O comportamento dos biomateriais em um sistema que simula os fluidos do corpo humano pode ser estudado nas condições *in vitro* e *in vivo*. O objetivo deste trabalho foi o estudo do comportamento térmico, morfológico e de perda de massa do PLA puro e de compostos de PLA/nano-hidroxiapatita (nHA), contendo 2 e 5% em massa de nHA, submetidos a ensaios de degradação hidrolítica *in vitro* em solução fosfato salina, que simulam o ambiente do corpo humano. Todos os compostos foram processados em um misturador interno (mixer) acoplado a um reômetro de torque e prensados em formato de placas. Essas placas foram colocadas em degradação *in vitro* em solução fosfato salina (PBS) de pH 7,4 e em diferentes temperaturas (37°C, 48°C, 60°C e 72°C). As amostras foram caracterizadas, termicamente e morfológicamente, através de ensaios de perda de massa, absorção de água, calorimetria exploratória diferencial (DSC) e difração de raios-X (DRX). Os compostos apresentaram perda de massa significativa maior a 72 e 60°C do que no de 48°C, devido a temperatura de ensaios mais altas e diminuição da  $T_g$  do PLA durante a degradação hidrolítica, facilitando a difusão da água e cisão das cadeias. Também foi observada uma maior absorção de água dos compostos em temperaturas maiores. Na análise pelo método de Arrhenius, o PLA puro apresentou menor energia de ativação que os compostos PLA/nHA. Os resultados obtidos por DSC indicam que durante a degradação hidrolítica provavelmente houve cisão de cadeia do PLA, resultando em diminuição da  $T_g$ , rearranjo dessas moléculas em estruturas cristalinas menos perfeitas e degradação das regiões amorfas do PLA, que foi evidenciado pelo desaparecimento do pico de cristalização a frio, do duplo pico de fusão e aumento da cristalinidade. Em períodos de degradação mais longos foi também observado degradação das regiões cristalinas. Padrões típicos dos planos cristalinos do PLA e da nano-hidroxiapatita foram observados para os compostos antes e após passarem por degradação. Foram observados sinais de degradação em todas as amostras após ensaio de degradação hidrolítica.

Palavras-chave: Poli (ácido láctico). Nano-hidroxiapatita. Degradação hidrolítica.

## ABSTRACT

Poly (lactic acid) (PLA) is an aliphatic and bioresorbable biopolymer obtained from renewable sources that presents good mechanical properties and biocompatibility. When this material is used as biomaterial, degradation studies in vitro and in vivo are fundamental. The aim of this work was to study thermal behavior, morphology and weight loss of PLA and compounds PLA/nHA with nanohydroxyapatite (2% and 5% wt% nHA). All materials were processed in an internal mixer and then compressed molded into plates. These plates were degraded in phosphate buffer saline solution (PBS) of pH 7,4 at 37 °C, 48°C, 60°C and 72°C. All samples were characterized by weight loss test, water absorption, differential scanning calorimetry (DSC) and X-ray diffraction measurements (XRD). The compounds showed higher significant weight loss and water absorption at 72°C and 60°C than 48°C. Neat PLA showed the lowest energy of activation by Arrhenius equation analysis. The results by DSC indicate that probably PLA chain scission occurred during hydrolytic degradation, decreasing  $T_g$ , and leading to a rearrangement of these molecules to a crystalline structure and erosion of the amorphous parts. This fact was evidenced by disappearance of cold crystallization and double melting peaks and by increase in crystallinity. At long times also the crystalline regions undergo hydrolysis. X-ray plots showed typical PLA and nHA peaks for all samples without degradation and after hydrolytic degradation test. All compounds showed erosion after hydrolytic degradation.

Keywords: Poly (lactic acid). Nanohydroxyapatite. Hydrolytic degradation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Biomateriais poliméricos e suas aplicações .....	19
Figura 1 - Estrutura química do poli (ácido láctico) (PLA) .....	22
Figura 2 - Estrutura do poli (tereftalato de etileno) (PET) .....	22
Figura 3 - Rota metabólica do Poli (ácido láctico) (PLA).....	28
Figura 4 - Mecanismo de hidrólise de poliésteres em meio ácido e alcalino .....	30
Figura 5 - Evolução da porcentagem de cristalinidade em função da perda de massa durante os testes de hidrólise .....	33
Figura 6 - Estrutura cristalina hexagonal da hidroxiapatita.....	35
Quadro 2 - Diferentes métodos para preparação de partículas de hidroxiapatita.....	37
Figura 7 - Molde utilizado na prensagem dos compostos .....	40
Figura 8 - Sistema de degradação hidrolítica .....	42
Figura 9 - Perda de massa em função do tempo para o PLA puro degradado a 72°C, 60°C e 48°C .....	46
Figura 10 - Perda de massa em função do tempo para o PLA/nHA 98/2 degradado a 72°C, 60°C e 48°C.....	46
Figura 11 - Perda de massa em função do tempo para o PLA/nHA 95/5 degradado a 72°C, 60°C e 48°C.....	47
Figura 12 - Perda de massa em função do tempo para todos os compostos degradados a 72°C .....	47
Figura 13 - Perda de massa em função do tempo para todos os compostos degradados a 60°C .....	48
Figura 14 - Perda de massa em função do tempo para todos os compostos degradados a 48°C .....	48
Figura 15 - Curva de logaritmo do tempo de perda de massa ( $\ln(t_{20\%})$ ) em função de $1/T$ e as equações das retas obtidas para o PLA puro .....	50
Figura 16 - Curva de logaritmo do tempo de perda de massa ( $\ln(t_{20\%})$ ) em função de $1/T$ e as equações das retas obtidas para o PLA/nHA 98/2.....	51
Figura 17 - Curva de logaritmo do tempo de perda de massa ( $\ln(t_{20\%})$ ) em função de $1/T$ e as equações das retas obtidas para o PLA/nHA 95/5.....	51
Figura 18 - Absorção de água em função do tempo para o PLA puro degradado a 72, 60 e 48°C .....	53

Figura 19 - Absorção de água em função do tempo para o PLA/nHA 98/2 degradado a 72, 60 e 48°C .....	54
Figura 20 - Absorção de água em função do tempo para o PLA/nHA 95/5 degradado a 72, 60 e 48°C .....	54
Figura 21 - Absorção de água em função do tempo para todos os compostos degradados a 72°C .....	55
Figura 22 - Absorção de água em função do tempo para todos os compostos degradados a 60°C .....	55
Figura 23 - Absorção de água em função do tempo para todos os compostos degradados a 48°C .....	56
Figura 24 - Curvas de DSC para todos os compostos sem passar por degradação .....	57
Figura 25 - Curvas de DSC para o PLA puro degradado a 60°C .....	62
Figura 26 - Porcentagem de cristalinidade de todos os compostos degradados a 72°C .....	65
Figura 27 - Porcentagem de cristalinidade de todos os compostos degradados a 60°C .....	65
Figura 28 - Porcentagem de cristalinidade de todos os compostos degradados a 48°C .....	66
Figura 29 - Porcentagem de cristalinidade de todos os compostos degradados a 37°C .....	66
Figura 30 - Porcentagem de cristalinidade do PLA puro degradado a 72, 60, 48 e 37°C .....	67
Figura 31 - Porcentagem de cristalinidade do PLA/nHA 98/2 degradado a 72, 60, 48 e 37°C .....	67
Figura 32 - Porcentagem de cristalinidade do PLA/nHA 95/5 degradado a 60, 48 e 37°C .....	68
Figura 33 - Evolução da cristalização em função da perda de massa para ensaio a 72°C .....	70
Figura 34 - Evolução da cristalização em função da perda de massa para ensaio a 60°C .....	70
Figura 35 - Evolução da cristalização em função da perda de massa para ensaio a 48°C .....	71
Figura 36 – Curvas de difração de raios X da nanohidroxiapatita e de todos os compostos sem passarem por degradação .....	72
Figura 37 – Curvas de difração de raios X do PLA puro degradado a 60°C .....	73
Figura 38 – Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 98/2 degradado a 60°C .....	73
Figura 39 – Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 95/5 degradado a 60°C .....	74
Figura 40 - Amostras degradadas a 72°C .....	76
Figura 41 - Amostras degradadas a 60°C .....	77
Figura 42 - Amostras degradadas a 48°C .....	78
Figura 43 - Amostras degradadas a 37°C .....	79
Figura 44 - Curvas de DSC para o PLA puro degradado a 72°C .....	89
Figura 45 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 98/2 degradado a 72°C .....	89
Figura 46 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 95/5 degradado a 72°C .....	90

Figura 47 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 98/2 degradado a 60°C.....	90
Figura 48 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 95/5degradado a 60°C.....	91
Figura 49 - Curvas de DSC para o PLA puro degradado a 48°C .....	91
Figura 50 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 98/2 degradado a 48°C.....	92
Figura 51 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 95/5degradado a 48°C.....	92
Figura 52 - Curvas de DSC para o PLA puro degradado a 37°C .....	93
Figura 53 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 98/2 degradado a 37°C.....	93
Figura 54 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 95/5degradado a 37°C.....	94
Figura 55 - Curvas de difração de raios X do PLA puro degradado a 72°C.....	96
Figura 56 - Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 98/2 degradado a 72°C.....	96
Figura 57 - Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 95/5 degradado a 72°C.....	97
Figura 58 - Curvas de difração de raios X do PLA puro degradado a 48°C.....	97
Figura 59 - Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 98/2 degradado a 48°C.....	98
Figura 60 - Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 95/5 degradado a 48°C.....	98
Figura 61 - Curvas de difração de raios X do PLA puro degradado a 37°C.....	99
Figura 62 - Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 98/2 degradado a 37°C.....	99
Figura 63 - Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 95/5 degradado a 37°C.....	100

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Temperatura de fusão dos lactatos .....	23
Tabela 2 - Comparação de propriedades físicas entre o PLA e polímeros sintéticos.....	24
Tabela 3 - Propriedades de diferentes estruturas cristalinas do PLA .....	26
Tabela 4 - Composição química de PBS .....	41
Tabela 5 - Dados obtidos por meio do cálculo segundo Arrhenius para todos os compostos..	52
Tabela 6 - Eventos térmicos e grau de cristalinidade obtidos por DSC para ensaio a 72°C ....	58
Tabela 7 - Eventos térmicos e grau de cristalinidade obtidos por DSC para ensaio a 60°C ....	59
Tabela 8 - Eventos térmicos e grau de cristalinidade obtidos por DSC para ensaio a 48°C ....	60
Tabela 9 - Eventos térmicos e grau de cristalinidade obtidos por DSC para ensaio a 37°C ....	61

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DRX	Difração de raios X
HA	Hidroxiapatita
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
PBS	Solução Fosfato Salina
PCL	Poli ( $\epsilon$ -caprolactona)
PET	Poli (tereftalato de etileno)
PGA	Poli (ácido glicólico)
PLA	Poli (ácido láctico)
PLLA	Poli (L – ácido láctico)
PDLA	Poli (D – ácido láctico)
PDLLA	Poli (D,L – ácido láctico)
PLGA	Poli (ácido láctico-co-ácidoglicólico)
PTFE	Politetrafluoretileno
$T_c$	Temperatura de cristalização
$T_f$	Temperatura de fusão
$T_g$	Temperatura de transição vítrea
$TiO_2$	Dióxido de titânio
$\Delta H_{Tc}$	Entalpia exotérmica associada à cristalização durante o aquecimento
$\Delta H_{Tf}$	Entalpia endotérmica de fusão
$X_c$	Grau de cristalinidade

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
2.1	BIOMATERIAIS .....	18
2.2	POLI (ÁCIDO LÁCTICO) (PLA) .....	21
<b>2.2.1</b>	<b>Cristalização do PLA</b> .....	25
<b>2.2.2</b>	<b>Degradação do PLA</b> .....	26
2.3	HIDROXIAPATITA (HA) E COMPOSTOS PLA/NANO-HIDROXIAPATITA.....	35
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	39
3.1	MATERIAIS .....	39
3.2	METODOLOGIA.....	39
<b>3.2.1</b>	<b>Preparação das amostras</b> .....	39
<b>3.2.2</b>	<b>Degradação Hidrolítica</b> .....	41
<b>3.2.3</b>	<b>Ensaio de perda de massa e absorção de água</b> .....	42
<b>3.2.4</b>	<b>Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</b> .....	43
<b>3.2.5</b>	<b>Difração de raios X (DRX)</b> .....	44
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	45
4.1	ENSAIOS DE PERDA DE MASSA E ABSORÇÃO DE ÁGUA.....	45
<b>4.1.1</b>	<b>Ensaio de perda de massa</b> .....	45
<b>4.1.2</b>	<b>Ensaio de absorção de água</b> .....	53
4.2	CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	57
<b>4.2.1</b>	<b>Diminuição da temperatura de transição vítrea (<math>T_g</math>)</b> .....	63
<b>4.2.2</b>	<b>Desaparecimento do pico relativo a temperatura de cristalização a frio (<math>T_c</math>)</b> .....	63
<b>4.2.3</b>	<b>Diminuição e desaparecimento do duplo pico de fusão</b> .....	64
<b>4.2.4</b>	<b>Aumento da cristalinidade</b> .....	64
4.3	DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX) .....	71
4.4	ANÁLISE VISUAL DAS AMOSTRAS.....	75

<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO</b> .....	80
5.1	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	80
5.2	CONCLUSÕES .....	81
5.3	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	82
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	83
	<b>APÊNDICE A – CURVAS DE DSC</b> .....	88
	<b>APÊNDICE B – CURVAS DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X</b> .....	95

## 1 INTRODUÇÃO

O poli (ácido láctico) (PLA) é um termoplástico alifático derivado de fontes renováveis e biodegradável. Nos últimos anos, novas técnicas possibilitaram a produção econômica de PLA com alta massa molar média, que contribuiu decisivamente no aumento de sua utilização. Dessa forma, o PLA ganhou também atenção nos setores de embalagem e têxtil, sendo alternativa aos polímeros sintéticos (DOMENEK; COURGNEAU; DUCRUET, 2011; MURARIU; DUBOIS, 2016).

O PLA também possui outras propriedades interessantes, como transparência, ausência de odor e características de impermeabilidade a gases, além de ser biodegradável, biocompatível e biorreabsorvível, características que o permitem ser utilizado como biomaterial. Por esses motivos, esse termoplástico tem sido bastante aplicado nas áreas biomédicas, farmacêuticas e de engenharia de tecidos, incluindo implantes, liberação controlada e localizada de fármacos e suturas reabsorvíveis (MURARIU; DUBOIS, 2016).

O PLA possui um comportamento de cristalização bastante interessante. Este material pode apresentar estrutura amorfa ou semicristalina de acordo com seu histórico térmico (LIM; AURAS; RUBINO, 2008). De acordo com o estudo de Saiedlou et al. (2012), diferentes morfologias cristalinas podem ser observadas, dependendo das condições de cristalização. Sabe-se que a morfologia cristalina dos polímeros tem impacto direto nas suas propriedades físicas, especialmente as propriedades mecânicas.

Apesar de apresentar baixa estabilidade térmica e baixa resistência ao impacto, o PLA apresenta alta resistência à tração e módulo de elasticidade (FAN et al., 2004; CARRASCO et al., 2009; LASPRILLA et al., 2012). A fim de melhorar suas propriedades mecânicas e térmicas, pode-se adicionar cargas e aditivos ao PLA. Novas áreas de aplicações dos biomateriais têm considerado a nanotecnologia como um estudo importante para o desenvolvimento de outros materiais. Por exemplo, nanopartículas podem auxiliar na terapia de fármacos de forma localizada e precisa, em tempo controlado (PARK; LAKES, 2007). Dentre as cargas que têm sido utilizadas pode-se citar a nano-hidroxiapatita (nHA) que é o constituinte principal (70%) do tecido ósseo. Quando incorporado na matriz de polímero além de atuar como carga de reforço, pode promover uma regeneração óssea mais rápida e induzir o crescimento de células-tronco (RIBEIRO NETO et al., 2012). Assim, a combinação das propriedades do PLA e da nHA pode produzir compostos com características de bioatividade, biocompatibilidade, bioreabsorvível, osteocondução e biodegradação (AKINDOYO et al., 2018).

Para um material poder ser utilizado como implante, é necessário que este seja submetido a diversos testes. O comportamento dos biomateriais em um sistema que simula os fluidos do corpo humano pode ser estudado nas condições *in vitro* e *in vivo*. Estes ensaios seguem normas como a F1635-16 (ASTM, 2016), que padroniza os métodos de degradação hidrolítica *in vitro* em polímeros utilizados para implantes cirúrgicos. A degradação *in vitro* se apresenta como uma boa alternativa aos testes *in vivo*, pois os seus custos são menores e o processo pode ser acelerado. Além disto, as condições de ensaio, como temperatura, pH, produtos e subprodutos de degradação podem ser quantificadas e monitoradas. (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005; MOTTA; DUEK, 2006).

Este trabalho tem como objetivo o estudo do comportamento térmico, morfológico e de perda de massa do PLA puro e de compostos de PLA/nHA, contendo 2 e 5% em massa de nHA, submetidos a ensaios de degradação hidrolítica *in vitro* em solução fosfato salina, que simulam o ambiente do corpo humano. O estudo da degradação hidrolítica é importante para entender seu comportamento em aplicações onde a biodegradação é interessante, como implantes temporários, suturas e suportes para engenharia de tecidos. Quatro diferentes temperaturas foram utilizadas no ensaio de degradação hidrolítica em pH 7,4: 37°C, 48°C, 60°C e 72°C e amostras foram retiradas em diferentes tempos. As temperaturas de 48°C, 60°C e 72°C foram utilizadas para acelerar a degradação do PLA e dos compostos PLA/nHA. Ensaios de perda de massa, análise por método de Arrhenius, absorção de água, análises térmicas (DSC) e morfológicas (DRX) foram realizados antes, durante e após a degradação *in vitro*.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Para o estudo sobre os biomateriais alguns pontos são de suma importância. Nos itens subsequentes será apresentada uma revisão sobre biomateriais poliméricos, as principais propriedades do termoplástico estudado nesse trabalho, o PLA (Poli (ácido láctico)), e características principais da carga a ser incorporada (nano-hidroxiapatita) ao PLA.

### 2.1 BIOMATERIAIS

Biomaterial é definido como qualquer material, ou combinação de materiais naturais ou sintéticos, que pode ser utilizado como reposição de qualquer tecido ou órgão do corpo de maneira segura e confiável. (PARK; LAKES, 2007; CARVALHO; BASSI; PEREIRA, 2004). Uma definição mais atual de biomaterial para a Sociedade Européia de Biomateriais (ESB) é “material destinado a interagir com sistemas biológicos para avaliar, tratar, expandir ou substituir algum tecido, órgão ou funcionalidade do corpo”, em tradução livre (ESB, 2017).

Os materiais metálicos e cerâmicos contribuíram para o avanço da medicina na área de implantes e próteses, mas são mais pesados e possuem processabilidade limitada. Por serem leves, com comportamento mecânico diverso e de fácil processabilidade, os polímeros que podem ser utilizados como biomateriais vêm ganhando espaço em aplicações biomédicas (LOPES; JARDINI; MACIEL, 2012; ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012).

O quadro 1 apresenta alguns biomateriais poliméricos e suas aplicações em tecidos e partes do corpo humano.

Quadro 1 – Biomateriais poliméricos e suas aplicações

<b>Biomateriais poliméricos</b>	<b>Aplicação</b>
Polietileno	Reparo do crânio
Poli (metacrilato de metila), hidrogéis, Poli (dimetil siloxano)	Lentes intraoculares e de contato
Polietileno, Poli (tereftalato de etileno), Poli (tetraflúor etileno), resina vinílica e compostos bioativos	Implante ortolaringológico
Polietileno e resina vinílica	Reconstrução maxilofacial
Resina vinílica, Poli (metacrilato de metila), resinas epoxídicas	Restaurações dentárias
Polímeros biodegradáveis (como o Poli (ácido láctico)), Poliuretanos, Poli (dimetil siloxano)	Preenchimento de partes alveolares
Polímeros biodegradáveis, resinas vinílicas	Obliteração da cavidade periodontal
Polietileno, Poli (tereftalato de etileno), Poli (tetraflúor etileno)	Dispositivos de acesso percutâneo
Poliuretanos, Poli (tereftalato de etileno), Poli (tetraflúor etileno)	Válvulas cardíacas artificiais
Polietileno	Coluna vertebral
Polietileno, compósitos bioativos, poliuretanos, polímeros biodegradáveis	Defeitos do íliaco
Polietileno, Poli (metacrilato de metila)	Reparo coxofemoral
Polietileno, polissulfonas, Poli (éter éter cetona), polímeros biodegradáveis, compósitos bioativos	Aplicações ortopédicas estruturais
Poliamidas, Poli (metacrilato de metila), polímeros biodegradáveis	Fixação de dispositivos ortopédicos
Poliamidas	Tendões e ligamentos
Poli (tetraflúor etileno), Polietileno, Poli (metacrilato de metila)	Articulações

Fonte: Autor “adaptado de” Oréfice, Pereira, Mansur, 2012

Os polímeros biocompatíveis e biodegradáveis possuem grande potencial para aplicações biomédicas, na engenharia de tecidos (uso de *scaffolds*), na liberação de medicamentos no organismo, em implantes, entre outras. Os polímeros biodegradáveis são classificados em polímeros naturais, que incluem os polissacarídeos e proteínas, e em sintéticos, que apresentam propriedades mecânicas e físicas reprodutíveis, como resistência à tração, módulo de elasticidade e taxa de degradação (DAVACHI et al., 2016).

Os polímeros biodegradáveis sintéticos, que podem ser degradados *in vivo*, vêm ganhando espaço na área de biomateriais. O PLA (poli (ácido láctico)), PGA (poli (ácido glicólico)), PHB (poli (hidroxibutirato)), PHBV (poli (hidroxibutirato-*co*-hidroxivalerato)) e PCL (policaprolactona) são alguns exemplos de polímeros biodegradáveis usados na área biomédica (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012).

A fim de evitar inflamações causados por implantes permanentes e evitar novas cirurgias no caso de implantes temporários, os polímeros biodegradáveis, como o PLA, vêm ganhando espaço nas aplicações biomédicas, devido à vantagem da não necessidade de sua remoção e por não causarem efeitos indesejáveis em longo prazo (JAHNO, 2005; ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012). Esses polímeros apresentam redução de sua massa molar quando em contato com fluidos corpóreos a partir de reações de degradação e essas reações podem ser originadas tanto da atuação de entidades biológicas (micro-organismos e enzimas), como do ataque de íons, radicais livres ou água (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012). Na biodegradação, formam-se fragmentos ou outros subprodutos de degradação, podendo ser removidos do seu local de ação, mas não necessariamente do organismo. Pode-se diferenciar o modo de degradação dos polímeros biodegradáveis em dois tipos: os biorreabsorvíveis e os bioabsorvíveis.

Os biorreabsorvíveis são polímeros ou dispositivos sólidos reabsorvidos *in vivo*, ou seja, são eliminados por rotas metabólicas do organismo. Na biorreabsorção ocorre a eliminação total do material e de seus subprodutos de degradação, que são compostos de baixa massa molar, sem efeitos colaterais residuais (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005), podendo ser ácidos de acordo com os grupos funcionais presentes na cadeia polimérica. Por exemplo, na degradação de poliésteres em presença de água, ocorre a quebra hidrolítica das cadeias, formando oligômeros. Nesse processo de degradação são formados produtos ácidos, inócuos ao organismo e estes funcionam como catalisadores na hidrólise (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005).

Por sua vez, são considerados bioabsorvíveis os materiais poliméricos ou dispositivos sólidos que conseguem se dissolver nos fluidos do corpo sem clivagem da cadeia

macromolecular ou diminuição de massa molar. Um exemplo é a lenta dissolução de implantes solúveis em fluidos orgânicos ácidos (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005).

Para o estudo da biodegradação desses polímeros, pode-se realizar estudos *in vivo* e *in vitro*. A degradação *in vivo* ocorre com um mecanismo de eventos celulares e bioquímicos. O polímero é implantado no organismo e este responde com uma reação inflamatória ao corpo estranho. Assim, peróxidos, enzimas e células fagocitárias gerados nessa resposta do organismo influenciam no estudo dos polímeros biorreabsorvíveis (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005). Por sua vez, os ensaios *in vitro* estudam a hidrólise abiótica e as condições como temperatura e pH podem ser melhores controlados e até alterados para acelerar o processo de degradação (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012; BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005).

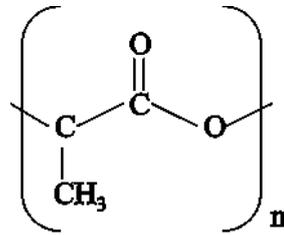
Ao longo dos anos foram desenvolvidos polímeros sintéticos com o objetivo de degradarem quando em contato com fluidos do corpo (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012). O PLA (poli (ácido láctico)), PGA (poli (ácido glicólico)), PLGA (poli (ácido láctico-co-ácidoglicólico)), PCL (poli ( $\epsilon$ -caprolactona)) e seus respectivos copolímeros são exemplos de polímeros sintéticos biodegradáveis. Esses polímeros apresentam grupos polares em suas cadeias poliméricas, suscetíveis ao ataque hidrolítico e de enzimas (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012; BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005).

Dentre os biomateriais poliméricos que têm sido estudados nos dias de hoje, destaca-se o PLA. Maiores detalhes sobre esse material serão apresentados no tópico seguinte.

## 2.2 POLI (ÁCIDO LÁCTICO) (PLA)

O PLA é um poliéster termoplástico alifático proveniente de fontes renováveis e produzido através da policondensação do ácido láctico ou pela polimerização por abertura do anel desse ácido (MURARIU; DUBOIS, 2016; SAEIDLOU et al., 2012). Ele foi descoberto por Wallace Carothers e outros químicos na DuPont em 1932 (DOMENEK; COURGNEAU; DUCRUET, 2011). O ácido láctico ( $C_3H_6O_3$ ) pode ser produzido a partir da fermentação de matéria-prima renovável, como alguns alimentos ricos em açúcares e carboidratos, por exemplo o milho, cana de açúcar, batata, beterraba, entre outros. Também pode ser quimicamente sintetizado (LIM; AURAS; RUBINO, 2008). A estrutura química do PLA (poli (ácido láctico)) está apresentada na figura 1.

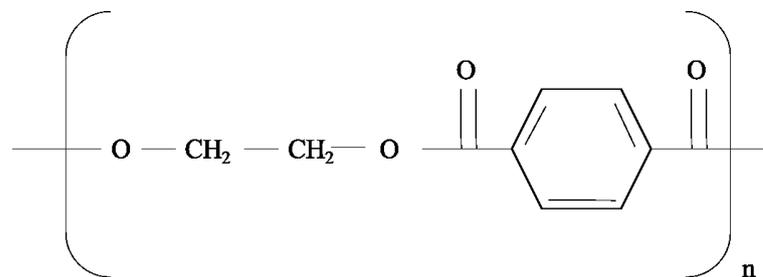
Figura 1 - Estrutura química do poli (ácido láctico) (PLA)



Fonte: Autor “adaptado de” Callister; Rethwisch, 2013

Ao observar a estrutura química do PLA, pode-se ver que ao contrário do PET (poli (tereftalato de etileno)) (figura 2) que possui em sua cadeia polimérica anéis benzênicos (deixando-o estável hidroliticamente), ele apresenta seus grupos ésteres mais suscetíveis ao ataque hidrolítico, causando quebra das cadeias poliméricas e biodegradação (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012).

Figura 2 - Estrutura do poli (tereftalato de etileno) (PET)



Fonte: Autor “adaptado de” Oréface, Pereira, Mansur, 2012

Curiosamente o uso do PLA foi abandonado por um tempo por conta da sua suscetibilidade à degradação hidrolítica. Foi apenas nos anos 1960 que o PLA chamou atenção por causa das suas vantagens em aplicações biomédicas, justamente devido à suas estruturas hidrolisáveis. Desde 1970 as aplicações do PLA como biomaterial são desenvolvidas na área biomédica (DOMENEK; COURGNEAU; DUCRUET, 2011).

Inicialmente, a utilização do PLA era limitada em aplicações médicas, como implantes, *scaffolds* (suportes para engenharia de tecidos) e suturas, por causa do seu alto custo, baixa disponibilidade e massa molecular limitada (MURARIU; DUBOIS, 2016). Nos últimos anos, novas técnicas possibilitaram a produção econômica de PLA com alta massa molecular, que contribuiu decisivamente no aumento de sua utilização. Dessa forma, o PLA ganhou atenção em outros setores, como os de embalagem e têxtil, sendo alternativa para outros polímeros

sintéticos como o do poli (tereftalato de etileno) (PET), poliestireno (PS) e polietileno (PE) (DOMENEK; COURGNEAU; DUCRUET, 2011; MURARIU; DUBOIS, 2016).

Conforme já mencionado, o PLA pode ser produzido através da policondensação do ácido láctico ou pela polimerização por abertura do anel desse ácido. O ácido láctico pode apresentar duas formas opticamente ativas devido ao átomo de carbono assimétrico: L – ácido láctico e D – ácido láctico. O ácido láctico sintetizado quimicamente permite uma mistura de 50% D e 50% L. Por outro lado, a fermentação é um processo bem específico, permitindo a produção de um estereoisômero, essencialmente, constituído por 99,5% de L e 0,5% de D, aproximadamente (MURARIU; DUBOIS, 2016).

Ao se produzir PLA a partir do ácido láctico, três formas são possíveis: O LL – láctico obtido a partir de dois L – lactatos, o DD – láctico a partir de dois D – lactatos e o LD ou Meso – láctico obtido pela combinação de L e D – lactato (SAEIDLOU et al., 2012). A tabela 1 apresenta as temperaturas de fusão de diferentes lactatos, incluindo o LD ou Meso-láctico.

Tabela 1 - Temperatura de fusão dos lactatos

	<b>Temperatura de fusão (°C)</b>
<b>L-lactato</b>	95 - 98
<b>D-lactato</b>	95 - 98
<b>Meso-lactato</b>	53 - 54

Fonte: Autor “adaptado de” Masutami e Kimura, 2015

O PLA pode apresentar três formas estereoquímicas: poli (L – ácido láctico) (PLLA), poli (D – ácido láctico) (PDLA) e poli (D, L – ácido láctico) (PDLLA) (NAMPOOTHIRI; NAIR; JOHN, 2010). As propriedades térmicas, mecânicas e de biodegradação do PLA dependem da escolha e da distribuição dos estereoisômeros nas cadeias poliméricas. O PLLA é mais utilizado em aplicações em que alta resistência mecânica e longo tempo de degradação são desejados. A pureza óptica do PLA exerce influência nas propriedades térmicas, de barreira e mecânicas do polímero. PLA contendo mais de 90% do isômero L tende a ser semicristalino, enquanto que em grau menor, tende a ser amorfo. Por sua vez, com o aumento do isômero D na composição do PLA, as temperaturas de fusão ( $T_f$ ) e de transição vítrea ( $T_g$ ) diminuem. O PLA com menos isômero D é mais indicado em aplicações para polímeros semicristalinos, enquanto o de maior percentual de D é geralmente indicado quando polímeros amorfos são necessários (MURARIU; DUBOIS, 2016). Como as aplicações em engenharia demandam uma alta estabilidade térmica ou utilização em altas temperaturas, a tendência é de se utilizar uma matriz de PLA como baixíssimo percentual de isômero D, sendo um polímero semicristalino,

apresentando maior temperatura de fusão ( $T_f$ ) e grau de cristalinidade (MURARIU; DUBOIS, 2016).

Comparado a outros polímeros sintéticos, o PLA (Poli (Ácido láctico)) apresenta propriedades interessantes, conforme pode ser visto na tabela 2.

Tabela 2 - Comparação de propriedades físicas entre o PLA e polímeros sintéticos

	PLA	PS	PET
Densidade relativa	1,24	1,04 - 1,06	1,37
Aparência	transparente	transparente	transparente
<b>PROPRIEDADES MECÂNICAS</b>			
Resistência à tração (MPa)	48 - 110	34 - 46	47
Módulo de elasticidade (GPa)	3,5 - 3,8	2,9 - 3,5	3,1
Alongamento (%)	2,5 - 100	3 - 4	50 - 300
Resistência ao Impacto (Izod), 23°C (J/m)	13,00		79
<b>PROPRIEDADES TÉRMICAS</b>			
Temperatura de transição vítrea (°C)	60,00	95	75
Temperatura de fusão (°C)	153,00		250
Temperatura de processamento (°C)	210,00	230	255

Fonte: Autor “adaptado de” Carrasco et al., 2009

Como observado na tabela 2, o PLA apresenta resistência à tração e módulo de elasticidade adequados, porém possui baixa estabilidade térmica e baixa resistência ao impacto quando comparado ao poliestireno (PS) e poli (tereftalato de etileno) (PET). Essas propriedades podem ser modificadas a partir da obtenção de compostos com adição de cargas, plastificantes e outros materiais poliméricos borrachosos (DOMENEK; COURGNEAU; DUCRUET, 2011; MURARIU; DUBOIS, 2016).

O PLA, além de apresentar boas propriedades mecânicas, possui características de um biomaterial, pois é biocompatível, biorreabsorvível e biodegradável (FAN et al., 2004; CARRASCO et al., 2009; LASPRILLA et al., 2012). Esse material tem recebido atenção em diversas áreas de aplicações biomédicas e, segundo Oréfice, Pereira e Mansur (2012), o PLA pode ser aplicado como suturas biodegradáveis, em matrizes para liberação controlada de fármacos, implantes ortopédicos biodegradáveis e como suporte para o crescimento de tecidos.

Na área biomédica, o PLA é o polímero biodegradável mais utilizado como biomaterial, uma vez que suas propriedades podem ser modificadas de acordo com a composição do copolímero. Por exemplo, os copolímeros do PLA (L e D,L – lactato) e poli (ácido glicólico) (PGA), conhecido como poli (ácido láctico –co – ácido glicólico) (PLGA) são hidroliticamente

instáveis e as mudanças na sua composição permitem o controle da taxa de biodegradação. Dessa forma, esses copolímeros são utilizados como polímeros biodegradáveis nas aplicações biomédicas já citadas (MURARIU; DUBOIS, 2016).

### 2.2.1 Cristalização do PLA

O PLA pode apresentar uma microestrutura amorfa ou semicristalina, de acordo com sua síntese ou condições de resfriamento durante o processamento. Ele pode ser cristalizado por aquecimento, resfriamento ou dissolução em solvente (WANG; KUMAR; LI, 2012). Tem sido relatado na literatura (SAEIDLOU et al., 2012; SONG et al., 2012; LUO; WANG, X; WANG, Y., 2012; LI; GORASSI; PANTANI, 2013; HUNEAULT, 2007) que o PLA pode apresentar diferentes estruturas cristalinas dependendo das condições de cristalização a que foi submetido. A forma mais comum é  $\alpha$  e ocorre pela cristalização a frio em temperaturas acima de 120°C (SONG et al., 2012). Outra forma é  $\alpha'$ , cuja conformação de cadeia e sistema cristalino são similares à estrutura  $\alpha$ , porém, com um empacotamento menor e menos ordenado. Estudos recentes sugerem a ocorrência de cristais  $\alpha'$  somente em temperaturas abaixo de 100°C e a coexistência de  $\alpha'$  e  $\alpha$  na cristalização entre 100 e 120°C. Por conta do menor empacotamento e estrutura desordenada, a forma  $\alpha'$  resulta em um material com menor módulo de elasticidade e maior alongamento na ruptura, quando comparado ao cristal  $\alpha$  (SAEIDLOU et al., 2012). A forma  $\alpha'$  se transforma em  $\alpha$  após um aquecimento até a fusão ou após recozimento em alta temperatura (entre 120 e 160°C), e assim a unidade celular se torna mais compacta (DOMENEK; COURGNEAU; DUCRUET, 2011).

A forma  $\beta$  é uma forma de  $\alpha$  estirada em alta temperatura. Sua temperatura de fusão é por volta de 10°C menor que o do cristal  $\alpha$  e, portanto, a forma  $\beta$  é menos estável termicamente. Uma outra forma, chamada  $\gamma$ , é obtida a partir da cristalização epitaxial do PLA em hexametilbenzeno e nela, duas cadeias são orientadas antiparalelamente à célula cristalina (SONG et al., 2012). Estas duas cadeias podem se co-cristalizar e formar um estereocomplexo contendo uma cadeia PLLA e outra PDLA. A temperatura de fusão desse estereocomplexo é de cerca de 50°C maior que o PLA com apenas um tipo de cristal, sendo mais estável termicamente (SAEIDLOU et al., 2012). As propriedades das diferentes estruturas cristalinas citadas do PLA são apresentadas na tabela 3.

Tabela 3 - Propriedades de diferentes estruturas cristalinas do PLA

Tipo de Cristal	Sistema Cristalino	Conformação de cadeia	Parâmetros celulares						$\rho_{teórico}$ (g/cm <sup>3</sup> )
			a (nm)	b (nm)	c (nm)	$\alpha$ (°)	$\beta$ (°)	$\gamma$ (°)	
$\alpha$	Pseudo-ortorrômbico	10 <sub>3</sub> helicoidal	1,07	0,645	2,78	90	90	90	1,247
$\alpha$	Ortorrômbico	10 <sub>3</sub> helicoidal	1,05	0,61	2,88	90	90	90	1,297
$\beta$	Ortorrômbico	3 <sub>1</sub> helicoidal	1,031	1,821	0,90	90	90	90	1,275
$\beta$	Trigonal	3 <sub>1</sub> helicoidal	1,052	1,052	0,88	90	90	120	1,277
$\gamma$	Ortorrômbico	3 <sub>1</sub> helicoidal	0,995	0,625	0,88	90	90	90	1,312
Esterеоcomplexo	Triclinico	3 <sub>1</sub> helicoidal	0,916	0,916	0,87	109,2	109,2	109,8	1,274
Esterеоcomplexo	Trigonal	3 <sub>1</sub> helicoidal	1,498	1,498	0,87	90	90	90	1,274

Fonte: Autor “adaptado de” Saeidlou et al., 2012

O PLA é um poliéster que apresenta cristalização a frio dependendo das condições de aquecimento/resfriamento a que é submetido. Em alguns casos, duas peculiaridades podem ser observadas no aquecimento no ensaio de DSC do PLA semicristalino: 1) o aparecimento de um pequeno pico exotérmico um pouco antes do pico correspondente à fusão (cristalização a frio) e 2) ocorrência de um duplo pico de fusão. Quando o PLA é cristalizado em temperaturas correspondentes à formação de cristal  $\alpha'$ , o aparecimento de pequeno pico exotérmico um pouco antes do pico de fusão é devido à transformação de cristais  $\alpha'$  desordenados para a forma  $\alpha$  ordenada. Por outro lado, um comportamento duplo de fusão aparece quando a temperatura de cristalização se situa na região de formação simultânea de  $\alpha$  e  $\alpha'$ . Para altas temperaturas de cristalização, apenas cristais  $\alpha$  são produzidos, levando a um único pico de fusão (SAEIDLOU et al., 2012). O único pico de fusão endotérmico pode indicar que o material possui mais cristais com maior perfeição de mesma forma  $\alpha$  (HUANG et al.; 2013).

Tem sido observado na literatura que as nanocargas podem reduzir a cristalização do composto com PLA, provavelmente porque a restrição de mobilidade gerada por esses materiais atrapalha a nucleação de cristais (SAEIDLOU et al., 2012; HUANG et al., 2013). Por outro lado, algumas nanocargas funcionaram como nucleante.

### 2.2.2 Degradação do PLA

A degradação pode ser definida como um conjunto de processos, estimulados por agentes externos, que modificam a estrutura de um material e, conseqüentemente, as suas propriedades. O PLA, além de sofrer degradação térmica e biodegradação, também pode ser degradado por cisão de cadeia provocada pela presença de água (hidrólise) (DOMENEK; COURGNEAU; DUCRUET, 2011). Outros exemplos de biopolímeros que podem ser

degradados hidroliticamente são os poliésteres, policarbonatos, polianidridos e poliaminoácidos (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012).

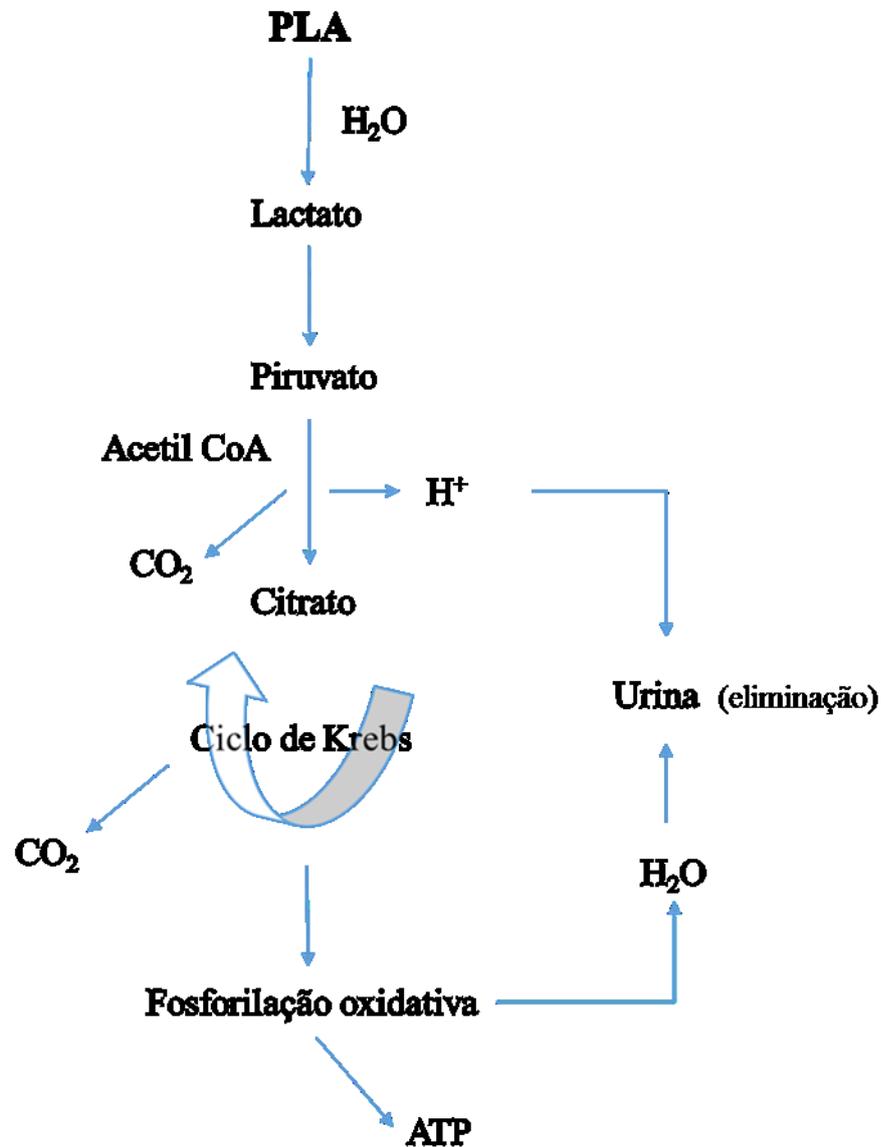
A hidrólise é a rota de degradação mais comum do PLA. Ela pode ocorrer como termo-hidrólise (abiótica), hidrólise sob condições fisiológicas em aplicações biomédicas (abiótica) ou degradação por micro-organismos (biótica) (DOMENEK; COURGNEAU; DUCRUET, 2011).

O poliéster PLA é degradado por hidrólise, formando ácido láctico (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012) e esse processo ocorre em dois estágios: o primeiro consiste na difusão da água nas regiões amorfas do polímero, causando cisão hidrolítica das ligações ésteres das cadeias poliméricas e aumento da cristalinidade. O segundo estágio ocorre após a degradação de grande parte da região amorfa. Nesse estágio, a degradação prossegue na porção cristalina, levando inclusive à formação de novos cristais através do rearranjo das cadeias de menor massa molar (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005). A clivagem de poliésteres, por conta do ataque hidrolítico, forma cadeias menores, com baixas massas molares e funcionalidades polares nas extremidades (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012). Os grupos carboxílicos formados agem como autocatalisadores na degradação por hidrólise. A degradação procede heterogeneamente, sendo mais rápida dentro da estrutura molecular do que na superfície (ELSAWY et al., 2017)

Conforme as definições de mecanismos de biodegradação de polímeros, o PLA é um termoplástico biorreabsorvível, ou seja, ele se decompõe e seus subprodutos de degradação são eliminados totalmente sem efeitos colaterais residuais. Quando exposto aos fluidos aquosos corpóreos, o material sofre hidratação e suas ligações são quebradas por hidrólise, gerando produtos na forma de oligômeros (ou monômeros) não tóxicos (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005). Para aplicações médicas é importante entender o comportamento de degradação do PLA pois sabe-se que os produtos de degradação do PLA podem reduzir o pH do local, acelerar a degradação e induzir reações inflamatórias (GORASSI; PANTANI, 2013 apud SIPARSKY; VOORHEES; MIAO, 1998).

A figura 3 apresenta a rota metabólica de biorreabsorção do PLA pelo organismo, que ocorre gerando produtos ácidos do Ciclo de Krebs. Pode-se observar no ciclo que após a entrada de água no material a degradação segue com a oxidação do PLA à ácido láctico. Posteriormente, ocorre a liberação de CO<sub>2</sub> com a presença de Acetil coenzima A (Acetil CoA) e decomposição em citrato. Este citrato resultante participa do Ciclo de Krebs e resulta em CO<sub>2</sub> e água que podem ser eliminados por vias metabólicas, através da urina e respiração (BARBANTI; ZAVAGLIA, DUEK, 2005).

Figura 3 - Rota metabólica do Poli (ácido láctico) (PLA)



Fonte: Autor “adaptado de” Barbanti; Zavaglia e Duek, 2005

Normas, como a F1635-16 (ASTM, 2016), sugerem o uso de sistemas com solução fosfato-salina, temperatura de banho a  $37^\circ C$  e pH 7,4 para o estudo da degradação hidrolítica *in vitro*. A degradação *in vitro* dos polímeros biorreabsorvíveis, incluindo o PLA, se apresenta como um processo heterogêneo no material. A presença de terminais ácidos carboxílicos dentre os produtos de hidrólise das ligações ésteres catalisa a reação de degradação, sendo esse fenômeno chamado de efeito autocatalítico dos poli ( $\alpha$ -hidróxi ácidos). A degradação consiste num processo que inicialmente é homogêneo, gerando oligômeros solúveis em água. Esses produtos gerados na hidrólise são difundidos da superfície da matriz para o seu interior,

entretanto, ocorre um acúmulo de ácidos na parte interna do material, devido à baixa taxa de difusão (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005). Assim, ocorre uma erosão inicial na superfície do material e uma degradação mais acentuada em seu interior (BARBANTI; ZAVAGLIA, DUEK, 2005; DOMENEK; COURGNEAU; DUCRUET, 2011).

De acordo com Gorrasi e Pantani (2013 apud VIEIRA et al., 2011), os grupos ésteres podem ser facilmente hidrolisados, resultando em cisões da cadeia polimérica. Na hidrólise dos ésteres, há formação de um ácido carboxílico e de um álcool ou fenol, quando aquecidos com soluções aquosas alcalinas ou ácidas (MORRISON; BOYD, 2002).

Em condições alcalinas, o carboxilato formado será na forma de sal. Os álcalis hidrolisam os ésteres pela espécie química  $\text{OH}^-$ , que é nucleófilo. Essa reação em meio alcalino é irreversível (MORRISON; BOYD, 2002).

Por sua vez, os ácidos também hidrolisam os ésteres, sendo essa reação reversível. Por consequência, a hidrólise é o mecanismo de sentido oposto da esterificação. Os ácidos minerais aceleram esses dois processos através da protonação do oxigênio carbonílico, tornando o carbono da carbonila, dessa forma, mais suscetível ao ataque nucleófilo. Nesse processo de hidrólise a molécula de água é o nucleófilo (MORRISON; BOYD, 2002).

A figura 4 apresenta o mecanismo de hidrólise de ésteres em meio ácido e alcalino. No mecanismo de hidrólise catalisada por ácido, a protonação do grupo carbonila ativa o grupo éster para o ataque nucleofílico da molécula de água, gerando um intermediário tetraédrico. Com a transferência de um próton, o  $\text{OR}'$  (grupo abandonador) forma álcool, ácido carboxílico e reconstitui o sistema ácido (McMURRY, 2014). Por sua vez, na hidrólise em meio alcalino, um íon hidróxido ataca o carbono da carbonila e o intermediário tetraédrico, o qual produzirá por decomposição, álcool e carboxilato. (SOLOMONS; FRYGLE, 2012).



também o desaparecimento da temperatura de cristalização ( $T_c$ ) após 2 semanas no PLLA, pois a degradação ocorre na parte amorfa, causando um rearranjo das cadeias poliméricas e formação de novos cristais. Ao longo do tempo da degradação o material vai se tornando mais cristalino e a possibilidade de formação de novos cristais diminui.

Huang et al. (2013) estudaram a degradação hidrolítica, num sistema a 58°C com água deionizada, em diferentes blendas de PLA com borracha natural, utilizando amostras com 0, 1, 3 e 5% em massa de borracha natural. Apesar da borracha aumentar a hidrofobicidade da superfície do PLA, isso não causou uma diminuição da absorção de água no PLA. A perda da massa molar média foi menor nas blendas com teores maiores de borracha natural e todas as amostras apresentaram uma perda mais significativa de massa após 20 dias de degradação. Com relação a temperatura de cristalização ( $T_c$ ), as blendas apresentaram temperaturas maiores que o PLA, mostrando que a adição de borracha afeta a cristalização do PLA, porém, todas as composições apresentaram queda na  $T_c$  ao longo da degradação hidrolítica. A degradação hidrolítica resultou em queda da  $T_g$ , devido à redução da massa molar durante o ensaio, e no aumento da cristalinidade de todos os compostos estudados por Huang et al. (2013).

Gorassi e Pantani (2013) estudaram a degradação hidrolítica em diferentes tipos de PLA, em um sistema de água destilada a 58°C com pH de 5,7. Esse estudo mostrou que a perda de massa de todas as amostras se apresentou mais acentuada após 30 dias de degradação hidrolítica. Também foi observado, através de ensaio DSC que a cristalinidade ( $\%X_c$ ) aumentou e a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) diminuiu ao longo dos testes, mostrando a influência da degradação hidrolítica na cristalinidade do PLA. De acordo com os autores, o grau de cristalinidade do PLA durante o ensaio de degradação hidrolítica pode aumentar devido a dois possíveis fenômenos: a cristalização de regiões amorfas por rearranjo molecular e erosão dessas regiões. O estudo de Gorassi e Pantani (2013) sugeriu que pode-se ter um entendimento mais aprofundado sobre este fenômeno através análise gráfica da evolução da cristalinidade e da perda de massa das amostras em conjunto.

O grau de cristalinidade ( $X_c$ ) pode ser definido pela equação 1:

$$X_c = \frac{M_c}{M_t} = \frac{M_c}{M_c + M_a} \quad (1)$$

em que  $M_t$  é a massa total da amostra,  $M_a$  a massa da parte amorfa e  $M_c$  a massa da parte cristalina. Assumindo que a  $M_c$  não se altera durante o tempo, ou seja, não ocorre cristalização ou hidrólise da parte cristalina, o tempo derivado da equação 1 resulta na equação 2:

$$\frac{1}{X_C} \frac{dX_C}{dt} = \frac{1}{M_t} \frac{dM_t}{dt} \quad (2)$$

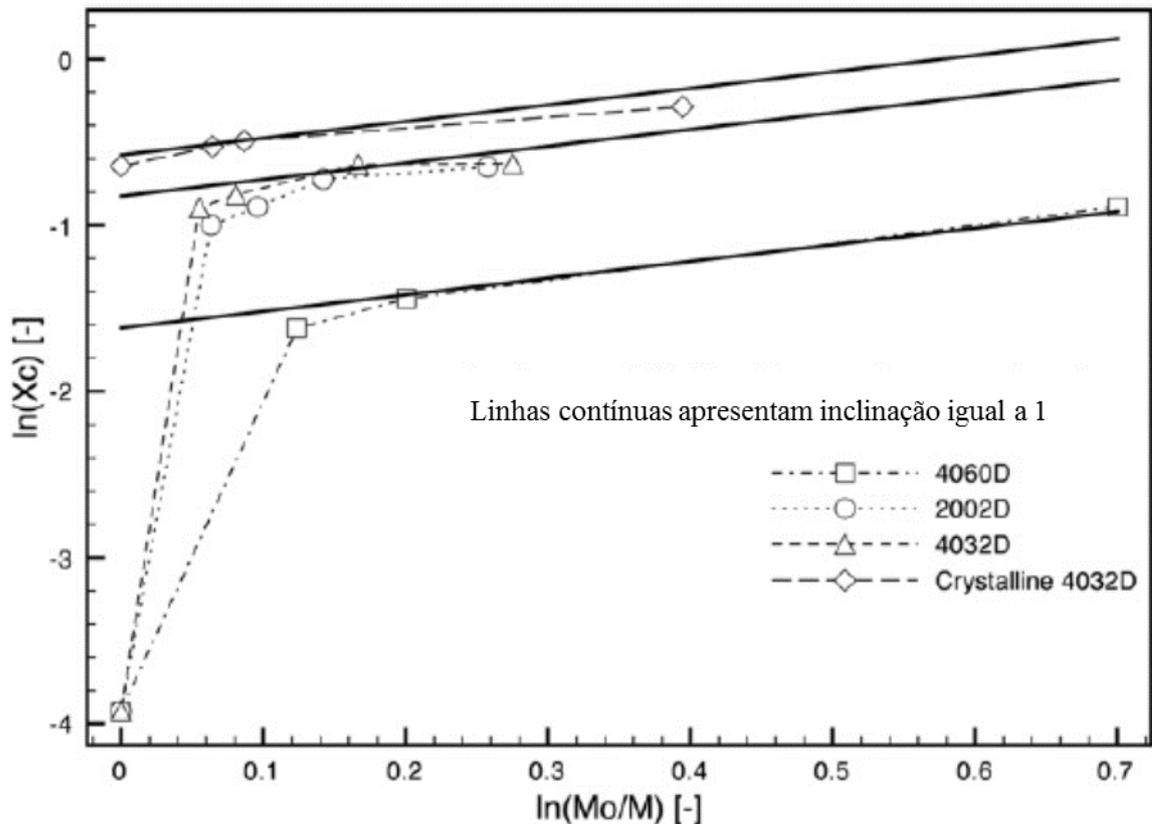
que também pode ser escrito segundo a equação 3:

$$\frac{d \ln(X_C)}{dt} = \frac{d \ln\left(\frac{M_0}{M_t}\right)}{dt} \quad (3)$$

em que  $M_0$  é a massa inicial da amostra.

A equação 3 mostra que se a massa da parte cristalina da amostra não se altera ao longo do tempo e, considerando que há erosão das regiões amorfas, o gráfico logarítmico da porcentagem de cristalinidade em função da razão  $M_0/M_t$  apresentará inclinação da reta igual a 1. Uma inclinação maior que 1 pode indicar que a porcentagem de cristalinidade aumenta também com o efeito da cristalização das partes amorfas. Por sua vez, uma inclinação menor que 1 indica que regiões cristalinas também sofrem degradação. A figura 5 apresenta a análise de Gorassi e Pantani (2013) considerando a porcentagem de cristalinidade em função da perda de massa.

Figura 5 - Evolução da porcentagem de cristalinidade em função da perda de massa durante os testes de hidrólise



Fonte: Autor “adaptado de’ Gorassi e Pantani, 2013

Neste gráfico pode-se notar que em tempos curtos, a inclinação da curva é maior que 1 indicando que o grau de cristalinidade aumentou devido a cristalização das regiões amorfas. Em tempos maiores, a inclinação tende a ser próxima a 1 indicando que, nesta fase, o grau de cristalinidade aumentou devido a erosão das regiões amorfas. Nos últimos tempos avaliados, a inclinação menor que 1 indica a erosão da fase cristalina.

A adição de nanopartículas pode aumentar a biodegradação do PLA. Apesar de não haver resultados que concluem claramente esta hipótese, a presença de algumas nanopartículas como as argilas podem aumentar a hidrofiliabilidade do PLA, dependendo da modificação superficial. Porém, uma boa distribuição também pode reduzir a difusão de água para o interior dos nanocompósitos, diminuindo a quantidade de água disponível na matriz polimérica (ARMENTANO et al., 2013).

Diaz, Sandonis e Valle (2014) observaram a influência da degradação hidrolítica em compostos de PCL (Poli( $\epsilon$ -caprolactona)) com nano-hidroxiapatita (nHA) num banho fosfato-salino (PBS) de pH 7,2 e temperatura de 37°C durante 16 semanas. O PCL também é um poliéster e, por conta disso, pode servir de guia para entender o comportamento do PLA nessas

condições. Os resultados indicaram que os compostos com nHA perderam mais massa que o PCL (hidrofóbico) durante o período de degradação. Também foi observado que a variação da porcentagem de massa molar média do composto foi baixa devido à pouca ruptura das cadeias poliméricas, até a semana 12. Após isso, a perda de massa molar foi mais significativa, indicando que o nHA agiu como acelerador da taxa de degradação em solução fosfato-salina.

Luo; Wang, X. e Wang Y. (2012), por sua vez, estudaram o efeito da adição de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  no PLA. Segundo esse estudo de degradação hidrolítica em solução fosfato salina (PBS) a  $37^\circ\text{C}$ , o PLA/ $\text{TiO}_2$  apresenta perda de massa significativa após tempos longos de degradação hidrolítica, sendo que eles observaram mudança significativa na perda de massa do PLA após 70 semanas de hidrólise. Esse comportamento era esperado, pois cadeias menores de PLA e oligômeros de ácido láctico não são solúveis em solução fosfato salina, apesar de absorverem água (LUO; WANG, X; WANG, Y., 2012).

Fukushima et al. (2011) estudaram o efeito da temperatura e o tipo de nanoargila na degradação hidrolítica do PLA. Filmes de  $60 \times 10 \times 0,1 \text{ mm}^3$  de nanocompósitos de PLA foram estudados em hidrólise em solução fosfato salina a  $37$  e  $58^\circ\text{C}$  em  $\text{pH } 7,0 \pm 0,2$ , sendo um de 5% em massa de montmorilonita, o segundo de 5% de fluoromica sintética e o último com 5% em massa de sepiolita. Segundo este trabalho, a degradação a  $58^\circ\text{C}$  foi mais rápida devido ao aumento da temperatura, além das mudanças microestruturais e rearranjos moleculares que ocorreram no PLA, resultando numa maior absorção de água no polímero. A adição de montmorilonita e sepiolita atrasaram a degradação do PLA a  $37^\circ\text{C}$ , porém o compósito com fluoromica apresentou maior perda de massa que o PLA puro em 8 semanas, na mesma temperatura. Fukushima et al., atribuíram essa diferença na taxa de degradação devido à capacidade de captação de água das nanoargilas montmorilonita e sepiolita, reduzindo a quantidade de água disponível para hidrólise na matriz polimérica. Esse efeito foi reduzido no compósito com fluoromica, pois esta argila possui menor capacidade de absorção de água, apesar de também ser hidrofílica.

Castro-Aguirre et al. (2016), realizaram um estudo sobre a atual situação do PLA no mundo, desde produção até aplicações e processos de degradação. Segundo esse estudo, a temperatura também influencia na hidrólise do PLA, sendo que a taxa de degradação aumenta com a temperatura, resultando numa quebra mais rápida das ligações ésteres. Quando o PLA é imerso em água a  $30$ ,  $40$  e  $50^\circ\text{C}$  a quebra de cadeias é acelerada com o aumento da temperatura e a formação de grupos carboxila também é esperada.

Elsawy et al. (2017) realizaram uma revisão da degradação hidrolítica do PLA. Segundo esses autores, a taxa de degradação do polímero também depende da difusão da água na matriz

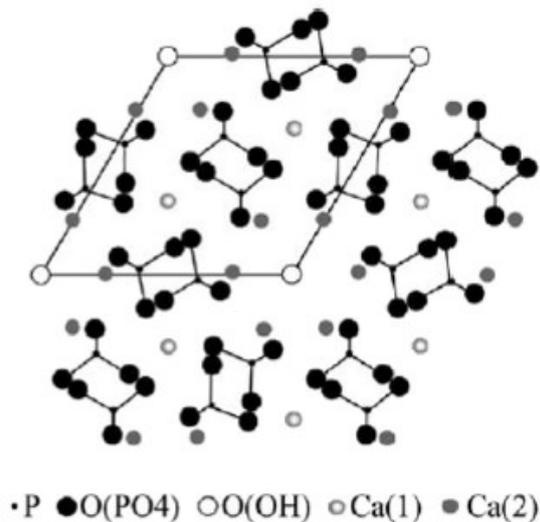
polimérica e da temperatura. Por exemplo, a degradação da matriz PLA fica restrita à sua superfície em temperaturas de degradação menores que a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) do PLA. Além disso, o pH e o comportamento auto-catalítico do PLA são alguns parâmetros que também controlam o processo de degradação. Segundo o estudo de Elsaywy et al. (2017), a degradação é bem mais rápida em meios muito básicos ou muito ácidos, quando comparada em condições de pH neutro.

### 2.3 HIDROXIAPATITA (HA) E COMPOSTOS PLA/NANO-HIDROXIAPATITA

A hidroxiapatita (HA) é o principal constituinte mineral das estruturas ósseas e dentes e lidera a lista de materiais utilizados como substitutos dos ossos. Os ossos são sistemas compostos por hidroxiapatita (HA) e fibras de colágeno do tipo I. Segundo a revisão de Szczes'; Holysz e Chibowski (2017), os ossos são constituídos por 70% de hidroxiapatita, 20% de colágeno e 10% de água.

Sua fórmula estequiométrica é  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  e se encontra organizada em uma estrutura cristalina monoclínica ou hexagonal (RIGO; GEHRKE; CARBONARI, 2007; COSTA et al., 2009). A estrutura hexagonal é apresentada na figura 6, em que pode-se observar que o Cálcio pode ter duas posições, identificadas por Ca(1) e Ca(2).

Figura 6 - Estrutura cristalina hexagonal da hidroxiapatita



Fonte: Piccirillo; Castro, 2017 apud Nzihou, 2010

Esse material pertence à família da apatita e é uma das formas mais comuns de fosfato de cálcio. Por conta da sua estrutura, a hidroxiapatita consegue formar soluções sólidas e aceita substituintes aniônicos e catiônicos, estabelecendo ligações de natureza química com o tecido ósseo (bioatividade). Essa variedade de propriedades, como biocompatibilidade, bioatividade e osteocondução, possibilita o uso da hidroxiapatita em diversas aplicações biomédicas (FIHRI et al., 2017; RIGO; GEHRKE; CARBONARI, 2007; COSTA et al., 2009; ARBOLEDA et al., 2016). Devido à sua similaridade química com a fase mineral dos tecidos ósseos, a hidroxiapatita tem sido aplicada em biomateriais, principalmente em aplicação ortopédicas e dentárias, para reparação dos ossos, engenharia de tecidos, implantes e sistemas de liberação de medicamentos no organismo (SZCZES’; HOLYSZ; CHIBOWSKI, 2017). Sua importância nessa área se deve à sua capacidade de permitir a regeneração óssea por osteocondução, sem causar inflamações ou reações no corpo humano (ARBOLEDA et al., 2016; SADAR-SHOJAI et al., 2013). Ela também pode ser utilizada no tratamento de tumores, como suporte de ação prolongada, e na introdução de drogas anticancerígenas em blocos de hidroxiapatita porosa. É uma técnica atrativa para a área médica, pois combina o tratamento do tumor, liberando gradualmente a droga no organismo, com a nova formação do osso reabsorvido (COSTA et al., 2009).

Diversos métodos podem ser utilizados para o preparo de partículas de hidroxiapatita com controle preciso da sua microestrutura. O quadro 2 apresenta 5 grupos de métodos e suas respectivas características do pó obtido: seco (com dois subgrupos), úmido (com seis subgrupos), em alta temperatura (com dois subgrupos), síntese a partir de fontes biogênicas e processos combinados.

Quadro 2 - Diferentes métodos para preparação de partículas de hidroxiapatita

Método		Características do pó		
		Morfologia	Cristalinidade	Tamanho
Método seco	Estado-sólido	diversa	muita alta	geralmente micro
	Mecanoquímico	diversa	muita alta	nano
Método úmido	Precipitação química	diversa	frequentemente baixa	geralmente nano
	Hidrólise	diversa	variável	variável
	Sol-gel	diversa	variável (geralmente baixa)	nano
	Hidrotermal	frequentemente em formato de agulha	muita alta	nano ou micro
	Emulsão	frequentemente em formato de agulha	frequentemente baixa	nano
	Sonoquímica	diversa (geralmente em formato de agulha)	variável	nano
Métodos em alta temperatura	Combustão	diversa (geralmente formato irregular)	variável	geralmente nano
	Pirólise	diversa	alta	nano-partículas e micro-agregados
Síntese a partir de fontes biogênicas		diversa	variável	variável
Processos combinados		diversa (geralmente em formato de agulha)	frequentemente alta	geralmente nano

Fonte: Autor “adaptado de” Sadar-Shojai et al., 2013

Dentre os vários tipos de estruturas de hidroxiapatita, a hidroxiapatita nanométrica (nHA), com morfologia adequada e pureza, podem ser utilizadas em aplicações biomédicas. Essas nanopartículas possuem tamanho de grão menor que 100 nm em pelo menos uma direção e apresenta alta atividade superficial e estrutura ultrafina, similar ao mineral encontrado em tecidos. Estudos recentes mostram que a hidroxiapatita nanométrica pode melhorar a biocompatibilidade e a bioatividade (ARBOLEDA et al., 2016).

Apesar de apresentar propriedades desejáveis para aplicações biomédicas, a hidroxiapatita é dura e frágil, características que dificultam o processamento em formatos específicos. Além disso, a hidroxiapatita possui baixa resistência mecânica, limitando o seu uso em aplicações de alta carga. Dessa forma, a hidroxiapatita tem sido estudada como carga para diferentes matrizes poliméricas na produção de biomateriais com maior resistência mecânica (AKINDOYO et al., 2018).

Por exemplo, na engenharia de tecidos, há dois tipos de polímeros utilizados na preparação de *scaffolds*: os naturais e os sintéticos. Os polímeros naturais exibem excelente afinidade celular enquanto os sintéticos apresentam resistência mecânica superior e taxa de

degradação ajustável. Estudos recentes focam em hidrogéis e biopolímeros devido à sua similaridade extracelular com os fluidos do corpo humano. Os polímeros naturais mais utilizados são: quitosana, gelatina, alginato, colágeno, celulose, entre outros. Por sua vez, os sintéticos mais utilizados são: poli (vinil álcool) (PVA), poli (2-hidroxietil metacrilato) (pHEMA), policaprolactona (PCL), poli (ácido láctico-*co*-ácido glicólico) (PLGA), poli (ácido láctico) (PLA), entre outros (SZCZES'; HOLYSZ; CHIBOWSKI, 2017).

A maioria dos polímeros naturais apresentam alta bioatividade e biocompatibilidade, porém deve-se evitar a perda da sua estrutura durante a preparação do *scaffold*. Por outro lado, esse problema é menor nos polímeros sintéticos, em que deve-se ter mais atenção em sua biocompatibilidade (SZCZES'; HOLYSZ; CHIBOWSKI, 2017). Pode-se fabricar *scaffolds* nano-híbridos para tecido ósseo por cristalização *in situ* da hidroxiapatita (HA) na matriz polimérica através da mistura de nanopartículas de HA com o polímero (SZCZES'; HOLYSZ; CHIBOWSKI, 2017).

Neste trabalho, compostos de poli (ácido láctico) (PLA) e nano-hidroxiapatita (nHA) foram estudados. A combinação das propriedades do PLA e da nHA pode produzir compostos com características de bioatividade, biocompatibilidade, bioreabsorvível, osteocondução e biodegradação (AKINDOYO et al., 2018).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesse capítulo serão apresentados os materiais e a metodologia utilizada nesse trabalho.

#### 3.1 MATERIAIS

Os materiais utilizados neste trabalho foram:

- a) PLA (Poli(ácido láctico)) da Nature Works (Ingeo Resin 4000 series; MFI= 6 g/10 min);
- b) Hidroxiapatita nanométrica (nHA) sintética ( $(Ca_5(OH)(PO_4)_3)$ ); tamanho de partícula <200nm e massa molar média de 502,31 g/mol) da “Sigma Aldrich”.

É importante ressaltar que os materiais utilizados nesse trabalho não apresentam grau de pureza específico para serem utilizados como biomateriais e tampouco passarão por etapa de esterilização.

#### 3.2 METODOLOGIA

A metodologia consistiu em várias etapas que serão apresentadas a seguir.

##### 3.2.1 Preparação das amostras

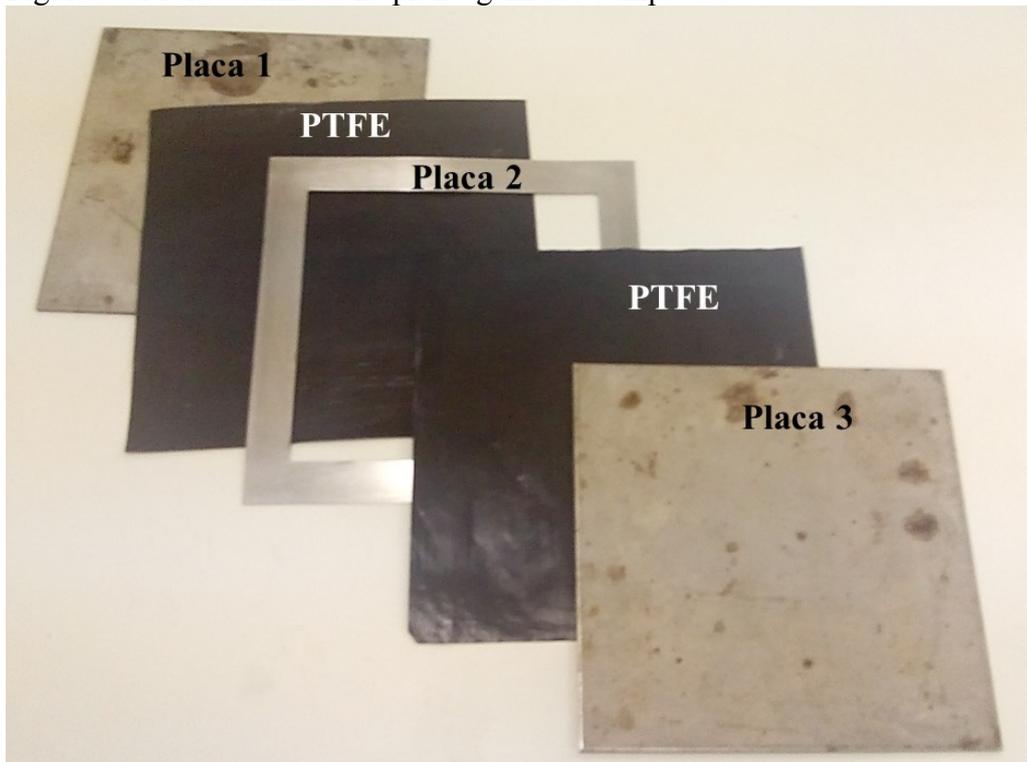
As porcentagens de 2% e 5% da carga nano-hidroxiapatita adicionada ao PLA foram escolhidas de acordo com o que é usualmente utilizado e reportado na literatura (SAEIDLOU et al., 2012): nanocargas são adicionadas em baixas concentrações (até no máximo 3 ou 5% em massa, dependendo da carga).

Antes do processamento, o PLA foi seco em estufa à vácuo a 80°C durante 24h. Após a secagem, uma prévia mistura de 50 g dos componentes da composição foi realizada manualmente e, posteriormente, foi processada em um misturador interno (mixer modelo HAAKE™ Rheomix OS) acoplado a um reômetro de torque (Thermo Scientific™ HAAKE PolyLab OS System) a 160°C e rotação de 50 rpm por 7 minutos.

Após o processamento em misturador interno, os compostos obtidos no mixer foram prensados em formatos de placas de 15 cm x 10 x 0,1 cm em uma prensa hidráulica de 15 t à

190°C. Antes da prensagem, os compostos foram secos em estufa à vácuo por 24h a 80°C, a fim de evitar umidade e formação de bolhas nas amostras. Foram realizadas duas prensagens no sistema apresentado na figura 7: a placa número 1, depois a placa 2 com o material preenchendo a cavidade e depois a placa 3. Entre essas placas, o PTFE (politetrafluoretileno) foi colocado para evitar a adesão do material às placas. Após a montagem, o conjunto foi submetido a um pré-aquecimento durante 4 minutos, após essa etapa foi imposta uma carga de 2t por 30s, um alívio na carga, depois mais uma carga de 2t por 30s, alívio de carga e, por fim, uma carga de 3t foi imposta durante 1 min. Foram realizadas duas prensagens. A primeira foi realizada após secagem em estufa à vácuo do material no formato em que saiu do reômetro de torque e a segunda com o material obtido na primeira prensagem. Foram realizadas duas prensagens, pois a primeira tinha como objetivo nivelar o material para se obter placas na segunda prensagem.

Figura 7 - Molde utilizado na prensagem dos compostos



Fonte: Autor

Para a degradação *in vitro* (degradação hidrolítica) as placas obtidas por prensagem foram cortadas em placas menores de dimensões de 10 x 15 x 1 mm. A norma F1635-16 (ASTM, 2016), que padroniza um método de degradação hidrolítica *in vitro* para resinas e implantes cirúrgicos, não especifica uma dimensão certa para as amostras, porém, devem ser dimensões representativas considerando a massa molar média do material, além de possuírem o mesmo formato e mesmas condições de processamento.

### 3.2.2 Degradação Hidrolítica

A degradação hidrolítica (*in vitro*) foi realizada de acordo com a norma F1635-16 (ASTM, 2016). Amostras em formato de placas foram submersas em recipientes com solução fosfato salina (PBS) de pH  $7,4 \pm 0,2$ . A composição da solução fosfato salina é apresentada na tabela 4.

Tabela 4 - Composição química de PBS

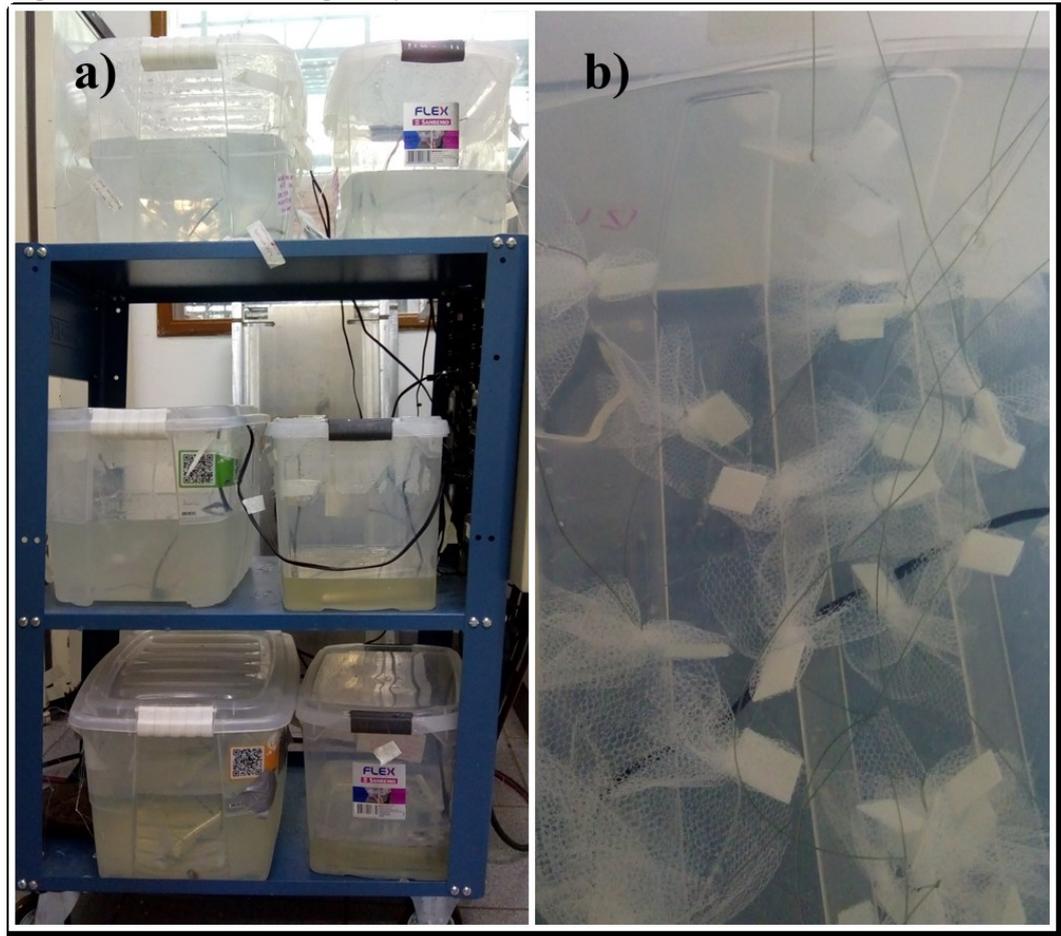
Reagentes	Concentração (g/l)
NaCl	7,0
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10,0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2,72

Fonte: Autor

Cada placa foi envolvida em tule e amarradas com fio de poliamida. Foram montados sistemas com 4 temperaturas de ensaio diferentes: 37°C, 48°C, 60°C e 72°C. Segundo a norma F1635-16 (ASTM, 2016), a temperatura de ensaio de degradação *in vitro* é de  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ , simulando o meio do corpo humano. Para acelerar o processo de degradação e conseguir prever o comportamento dos compostos em tempos maiores, foram utilizadas três temperaturas mais altas (48, 60°C e 72°C). A temperatura de  $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  é igual a  $T_g$  do PLA e a de 72°C é maior. Dois sistemas de cada temperatura foram montados para separar amostras de PLA puro dos compostos de PLA/nHA evitando assim uma provável contaminação do PLA puro por partículas de nHA durante os ensaios. Para se manter a temperatura do sistema, aquecedores e controladores de temperatura foram utilizados. A medida que a solução salina evaporava, mais solução salina era adicionada ao sistema para manutenção do volume. O pH foi monitorado frequentemente para se manter nos limites aceitáveis de acordo com a norma.

A figura 8 mostra os seis sistemas utilizados para a degradação hidrolítica *in vitro* (figura 8-a) e as placas envolvidas em tule e amarradas com fio de poliamida (figura 8-b)

Figura 8 - Sistema de degradação hidrolítica



Fonte: Autor

Legenda: a) Sistemas utilizados na degradação hidrolítica *in vitro* e (b) placas envolvidas com tule e amarradas com fio de nylon.

O tule com tamanho de malha de 1 mm foi utilizado para envolver as amostras e evitar que elas se soltassem, de forma a reduzir erros na pesagem das placas.

As amostras foram retiradas periodicamente, devidamente caracterizadas quanto às propriedades térmicas e morfológicas, e não voltaram a ser imersas no banho. Foram realizadas 6 retiradas do sistema de 72°C, 7 retiradas semanalmente do sistema de 60°C, 7 retiradas quinzenalmente do sistema de 48°C e 7 retiradas mensais do sistema de 37°C. A norma ASTM F1635-16 (ASTM, 2016) não especifica os tempos de retirada, porém os dias devem ser padronizados para cada amostra em cada ensaio.

### 3.2.3 Ensaio de perda de massa e absorção de água

O ensaio de perda de massa foi realizado de acordo com a norma F1635-16 (ASTM, 2016). Todas as amostras estudadas foram secas em estufa à vácuo por 48h a 40°C e pesadas

numa balança analítica de precisão (0,0001g), antes de serem colocadas nos sistemas de degradação em solução fosfato salina e após o ensaio de teor de umidade. Cada amostra foi pesada para a análise de perda de massa durante o período que ficaram imersas na solução salina. Depois de pesadas, as amostras não retornaram ao banho fosfato salino.

Em cada retirada, a perda de massa foi calculada de acordo com a equação 4:

$$\text{Perda de massa (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (4)$$

Sendo  $m_i$  a massa inicial seca e  $m_f$  a massa final seca.

Antes da pesagem para a verificação da perda de massa do material, também foi realizado uma medida do teor de umidade presente nas amostras imediatamente após a retirada destas da solução fosfato salina. As placas foram retiradas do banho (o excesso de água foi retirado com papel absorvente) e pesadas logo em seguida em balança analítica de precisão de 0,0001g. A absorção de água foi calculada de acordo com a equação 5:

$$\text{Absorção de água (\%)} = \frac{m_{\text{úmida}} - m_f}{m_{\text{úmida}}} \times 100 \quad (5)$$

Sendo  $m_{\text{úmida}}$  a massa da amostra úmida e  $m_f$  a massa final seca da amostra.

Neste trabalho também foi utilizada a Equação de Arrhenius (equação 6) para estudar o comportamento da perda de massa do PLA e seus compostos em função do tempo. O modelo de Arrhenius é baseado na superposição de temperaturas de incubação elevadas, definidas de modo a manter a energia de ativação (E) constante.

$$k(T) = A \cdot \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (6)$$

em que A é o fator pré-exponencial ( $\text{dias}^{-1}$ ) ou fator de frequência;  $E_a$  é a energia de ativação (J/mol); R a constante universal dos gases (8,314 J/mol.K) e T a temperatura em Kelvin (HOUSECROFT; CONSTABLE, 2006).

### 3.2.4 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Os ensaios de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram realizados utilizando-se de um equipamento TA Instruments (Modelo DSC Q20), do Centro Universitário FEI, a uma

taxa de aquecimento de 10°C/min, de 25°C à 180°C sob atmosfera de nitrogênio gasoso, com amostras de massa próximas de 10 mg.

Através da entalpia endotérmica de fusão ( $\Delta H_{Tf}$ ) e a entalpia exotérmica associada à cristalização durante o aquecimento ( $\Delta H_{Tc}$ ) obtidos no ensaio de DSC, é possível calcular o grau de cristalinidade  $X_c$  dos materiais poliméricos semicristalinos, através da equação 7 (DOMENEK; COURGNEAU; DUCRUET, 2011):

$$X_c (\%) = \frac{\Delta H_{Tf} - \Delta H_{Tc}}{x \cdot \Delta H_{Tf}^{\infty}} \cdot 100 \quad (7)$$

em que:  $x$  é a fração em massa do PLA no composto,  $\Delta H_{Tf}$  é a entalpia endotérmica de fusão,  $\Delta H_{Tc}$  é a entalpia exotérmica associada à cristalização durante o aquecimento e  $\Delta H_{Tf}^{\infty}$  a entalpia teórica do polímero 100% cristalino (PEREIRA; MORALES, 2014).

Neste trabalho, foi considerado o valor de entalpia teórica ( $\Delta H_{Tf}^{\infty}$ ) do PLA 100% cristalino como 93 J/g (DOMENEK; COURGNEAU; DUCRUET, 2011).

### 3.2.5 Difração de raios X (DRX)

Análises de difração de raios X foram realizadas em um aparelho XRD-6000 Shimadzu para caracterizar a fase cristalina das amostras antes e após a degradação hidrolítica. Foram realizadas varreduras de 5 a 40° e de 5 a 80° com taxa de 2°/min, tensão de aceleração de 40kV, corrente de filamento de 30 mA e monocromador de Cu.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esse capítulo apresenta os resultados obtidos nesse trabalho e as discussões dos mesmos. Serão apresentados os resultados da perda de massa e absorção de umidade das amostras ao longo do tempo de degradação hidrolítica. A análise térmica por DSC e análise de difração de raios X das amostras com e sem degradação serão apresentadas e discutidas na sequência. Por fim, fotos das amostras ensaiadas serão apresentadas.

### 4.1 ENSAIOS DE PERDA DE MASSA E ABSORÇÃO DE ÁGUA

Nesta seção serão apresentados os resultados de perda de massa e absorção de água

#### 4.1.1 Ensaio de perda de massa

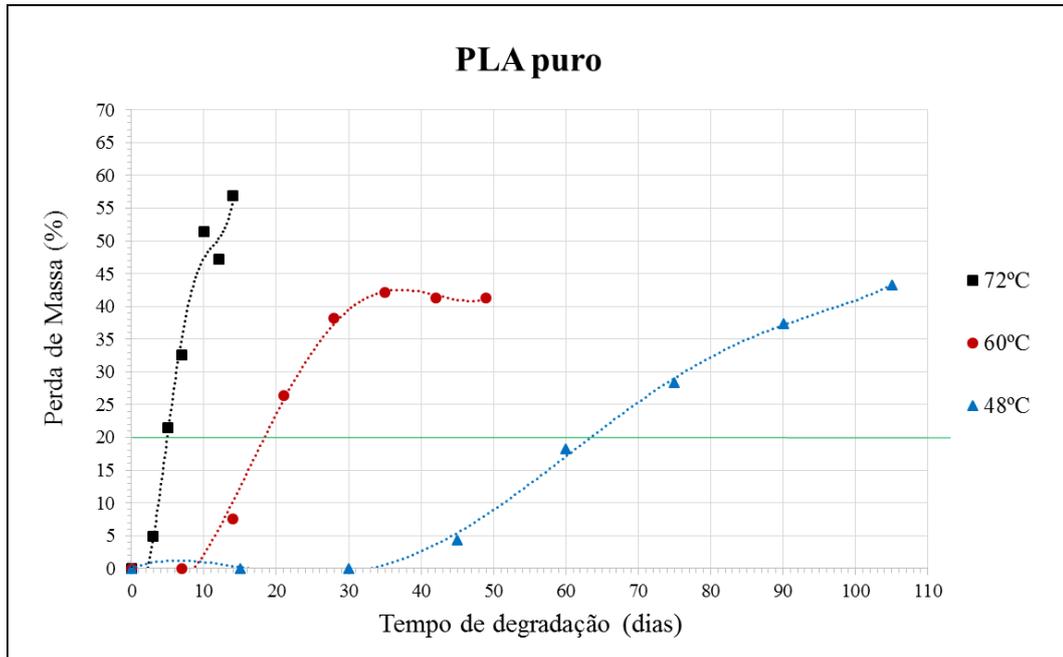
O ensaio de perda de massa após o material ficar imerso por certo tempo em solução salina pode ser uma das formas de se estudar a degradação hidrolítica dos biomateriais.

Segundo a norma ASTM F1635-16 (ASTM, 2016), a temperatura de ensaio de degradação *in vitro* é de 37°C, simulando o meio do corpo humano. Conforme já estudado na literatura (FUKUSHIMA et al., 2011; GORASSI; PANTANI, 2013; CASTRO-AGUIRRE et al., 2016), para acelerar o processo de degradação e conseguir prever o comportamento dos compostos em tempos maiores, pode-se utilizar temperaturas maiores de ensaio. Dessa forma, três temperaturas mais altas (48, 60 e 72°C) foram utilizadas. Como o ensaio de degradação a 37°C não apresentou perda de massa significativa, apenas os dados obtidos a 48, 60 e 72°C foram apresentados.

As figuras de 9 a 11 apresentam o comportamento da perda de massa em função do tempo e da temperatura para o PLA puro, PLA/nHA 98/2 e PLA/nHA 95/5, respectivamente. As linhas representam o polinômio que melhor se adequou aos dados.

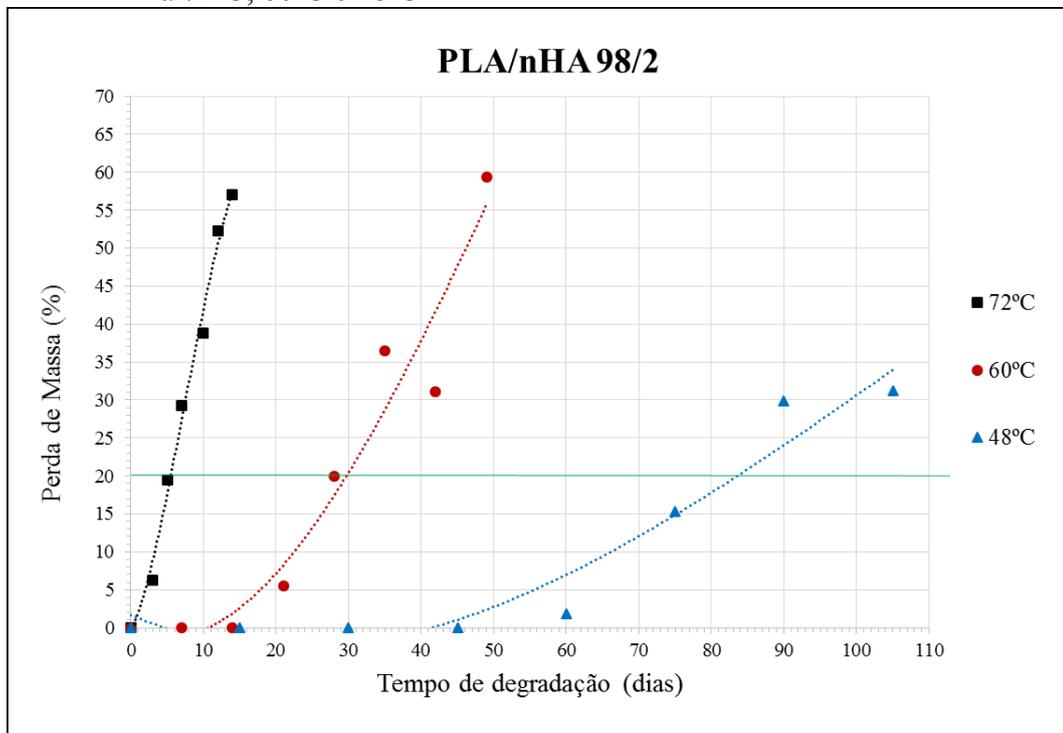
Por sua vez, as figuras 12 a 14 apresentam o efeito da concentração da nano-hidroxiapatita no comportamento da perda de massa em função do tempo do PLA nas temperaturas de 72°C, 60°C e 48°C, respectivamente. As linhas representam o polinômio que melhor se adequou aos dados.

Figura 9 - Perda de massa em função do tempo para o PLA puro degradado a 72°C, 60°C e 48°C



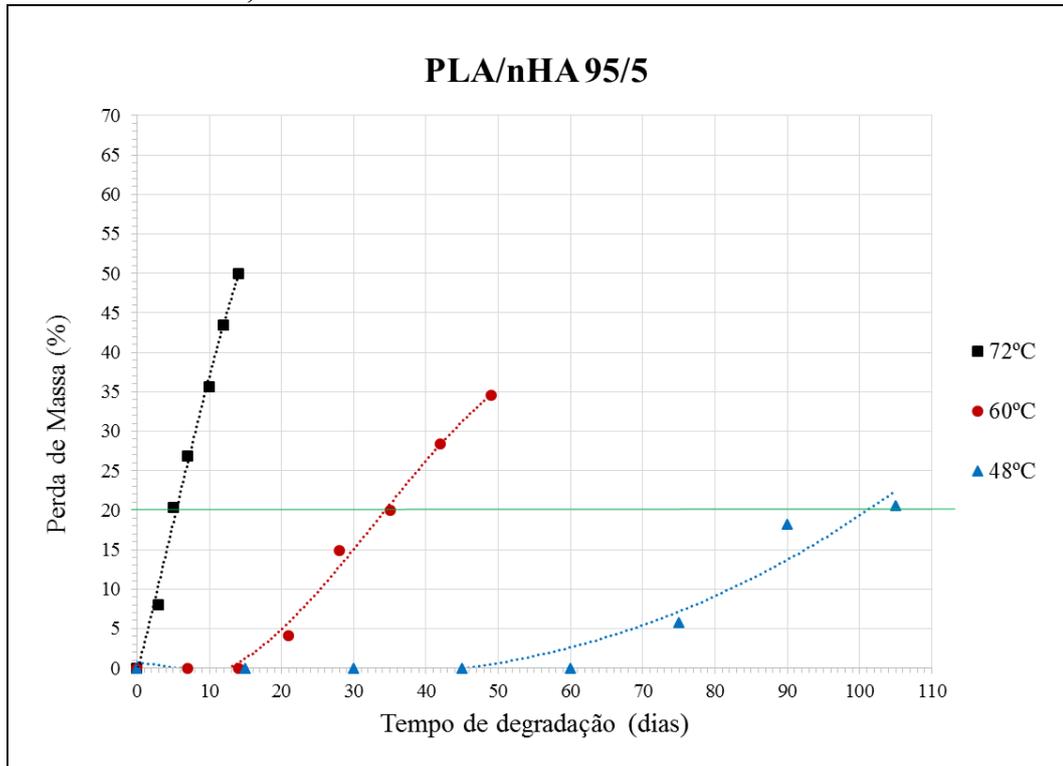
Fonte: Autor

Figura 10 - Perda de massa em função do tempo para o PLA/nHA 98/2 degradado a 72°C, 60°C e 48°C



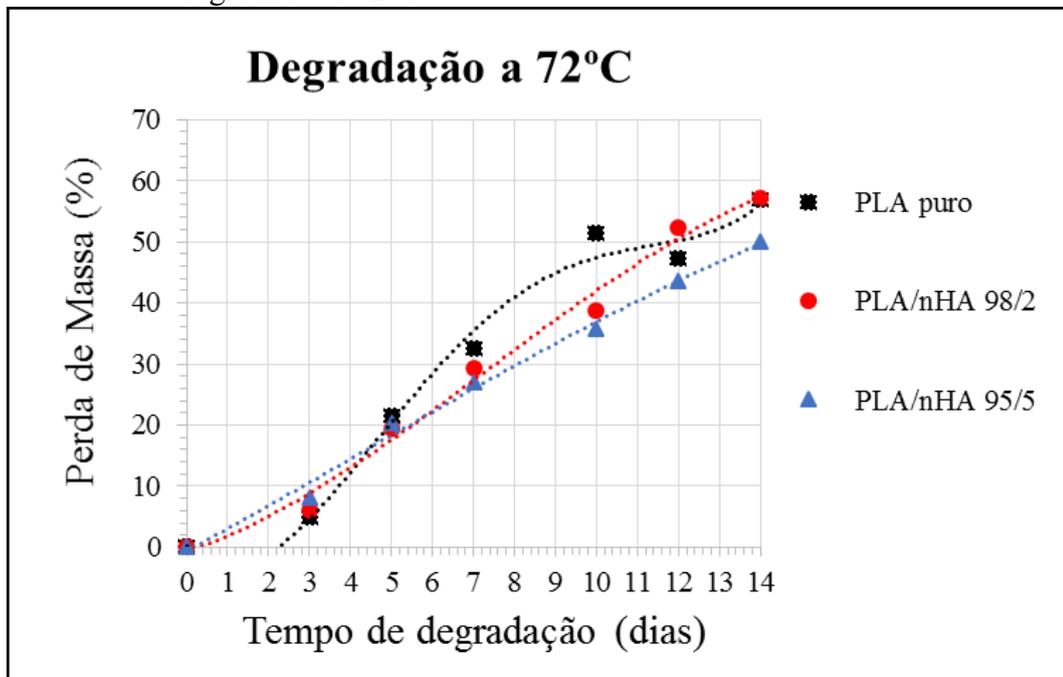
Fonte: Autor

Figura 11 - Perda de massa em função do tempo para o PLA/nHA 95/5 degradado a 72°C, 60°C e 48°C



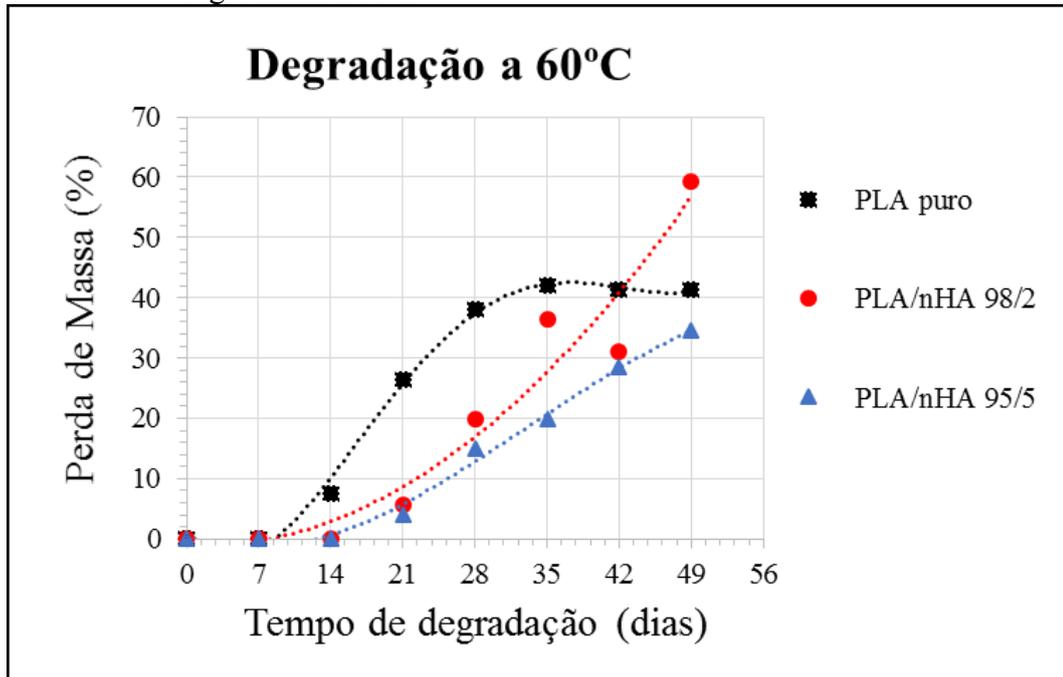
Fonte: Autor

Figura 12 - Perda de massa em função do tempo para todos os compostos degradados a 72°C



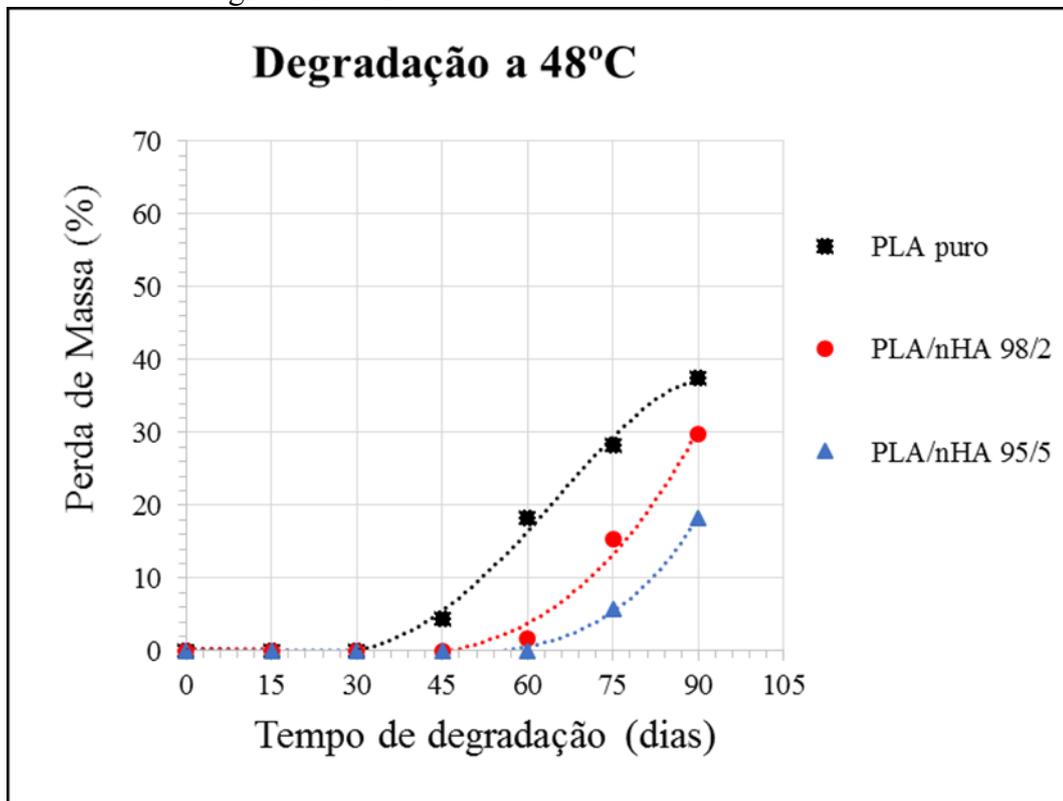
Fonte: Autor

Figura 13 - Perda de massa em função do tempo para todos os compostos degradados a 60°C



Fonte: Autor

Figura 14 - Perda de massa em função do tempo para todos os compostos degradados a 48°C



Fonte: Autor

Observando os gráficos das figuras 9 a 11, pode-se perceber que o aumento da temperatura acelera o processo de degradação e a perda de massa é mais significativa em temperaturas maiores. Para os ensaios realizados a 72 e 60°C a perda de massa é maior que para 48°C em tempos menores de degradação. Segundo Fukushima et al., (2011) e Elsayy et al., (2017) a perda de massa em temperaturas maiores se deve à maior facilidade da entrada de água nas regiões amorfas e cristalinas da matriz polimérica, causando quebra mais rápida por hidrólise das cadeias poliméricas nessas duas regiões.

Através da análise das figuras 12 a 14, observa-se que no ensaio a 72°C todos os compostos já apresentaram perda de massa após 3 dias e ao final do ensaio (14 dias) todos apresentaram perda de massa superior a 50%, sendo o PLA/nHA 95/5 o composto com menor perda de massa ao longo da degradação. Por sua vez, no ensaio a 60°C o PLA puro começou a apresentar perda de massa significativa após 14 dias, enquanto que os compostos com nano-hidroxiapatita (nHA) começaram a perder massa após 21 dias. No ensaio a 48°C o PLA puro apresentou perda significativa de massa após 45 dias, o composto PLA/nHA 98/2 após 60 dias e o PLA/nHA 95/5 após 75 dias.

Conforme já mencionado na revisão bibliográfica desse trabalho, a degradação por hidrólise ocorre primeiramente com a difusão da água nas regiões amorfas do PLA, causando cisão hidrolítica das ligações ésteres das cadeias poliméricas. Essa cisão leva à diminuição da massa molar do polímero, o que resulta em aumento de mobilidade das cadeias e, portanto, numa diminuição da  $T_g$ . Além disso, alguns autores descrevem que água e os oligômeros de ácido láctico podem funcionar como plastificante no PLA, reduzindo sua  $T_g$  (LUO; WANG; WANG, 2012; GORASSI; PANTANI, 2013).

Assim, o aumento da temperatura de ensaio e a diminuição da  $T_g$  do material durante a degradação hidrolítica facilitou a difusão da água para o interior das amostras, acelerando a degradação.

Por meio dos gráficos das figuras 12 a 14 também pode-se observar a influência da adição e da concentração da nanocarga nHA na degradação hidrolítica do PLA. A perda de massa dos compostos com nHA é menor que do PLA puro, e a concentração contendo 5% de nHA apresentou a menor perda de massa. A nano-hidroxiapatita, por ser hidrofílica, pode comprometer a degradação do polímero por conta da sua capacidade de absorver água e reduzir a sua quantidade disponível para hidrólise na matriz polimérica (FUKUSHIMA et al., 2011).

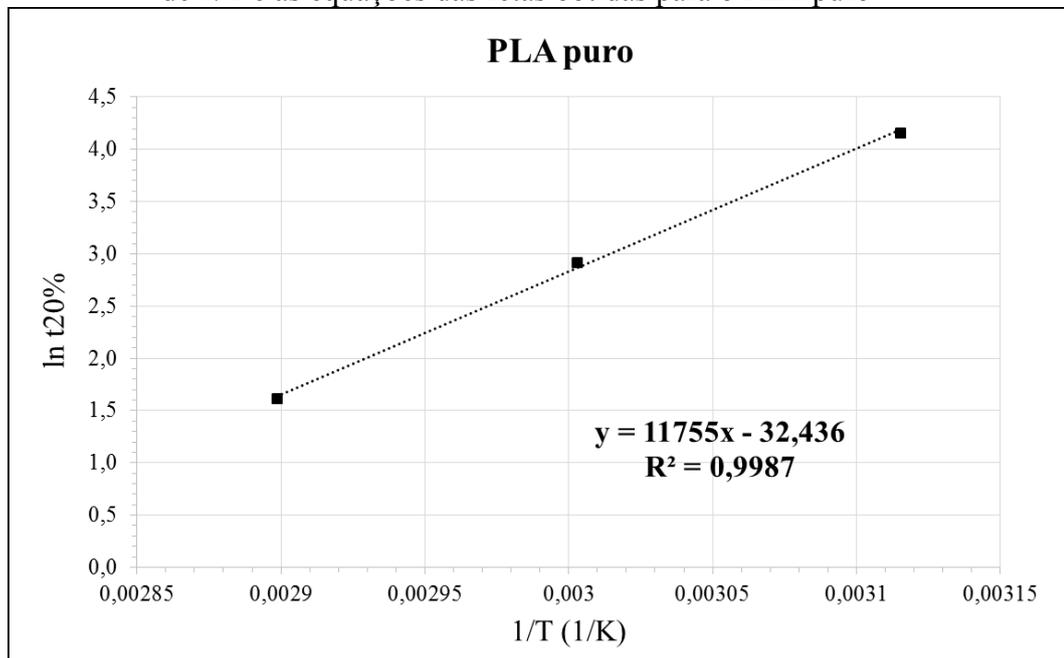
Outra hipótese é de que, por esta carga ser hidrofílica, ela provavelmente dificultou a difusão dos oligômeros no PLA, devido à interação da carga com os produtos da hidrólise, atrasando a perda de massa nessas composições. Segundo já reportado na literatura (LUO,

WANG, X.; WANG, Y., 2012; HUANG et al., 2013), compostos com adição de cargas apresentam perda de massa menor que a do PLA puro. Cadeias menores de PLA ou oligômeros de ácido láctico são formados durante a hidrólise e não são solúveis em solução fosfato salina. Assim, a nanocarga nHA pode dificultar a saída dos oligômeros para a solução, apresentando menor perda de massa (LUO, WANG, X.; WANG, Y., 2012; HUANG et al., 2013).

Através dos dados obtidos após os ensaios de degradação hidrolítica em várias temperaturas (figuras 9 a 11), construiu-se curvas segundo o modelo de Arrhenius (logaritmo do tempo de perda de massa ( $\ln(t_{20\%})$ ) em função de  $1/T$  (onde  $T$  é a temperatura em Kelvin)) e obteve-se a equação da reta que descreve o comportamento da perda de massa em função do tempo para o PLA puro e seus compostos. Foi escolhido 20% de perda de massa pois este foi o valor máximo perdido no caso da amostra PLA/nHA 95/5 a 48°C.

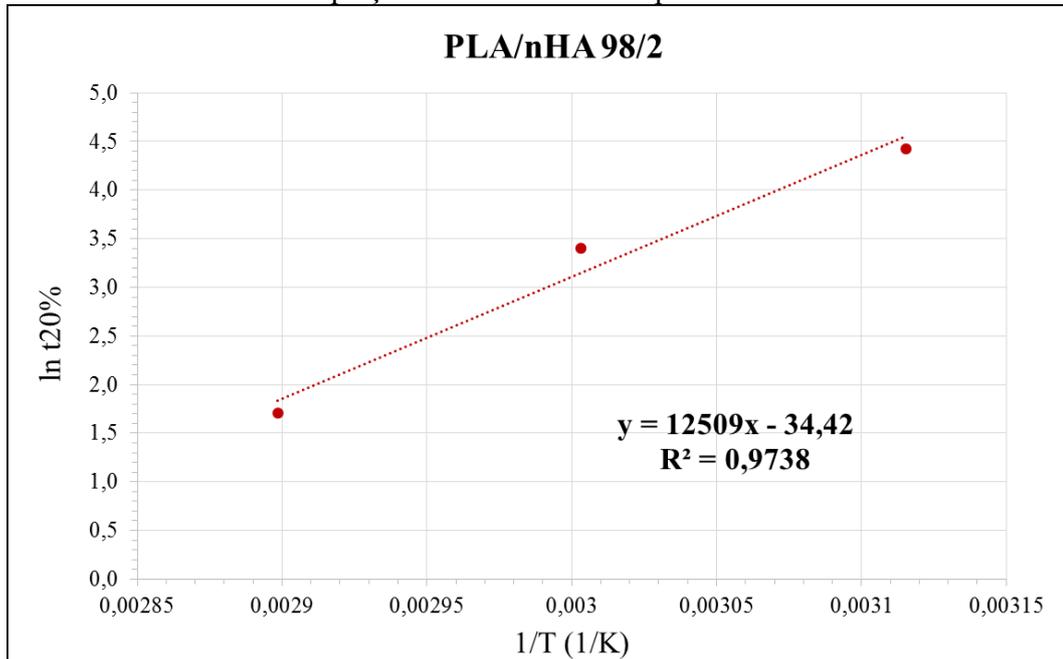
As figuras 15 a 17 apresentam as curvas de logaritmo do tempo de perda de massa ( $\ln(t_{20\%})$ ) em função de  $1/T$  e as equações das retas obtidas.

Figura 15 - Curva de logaritmo do tempo de perda de massa ( $\ln(t_{20\%})$ ) em função de  $1/T$  e as equações das retas obtidas para o PLA puro



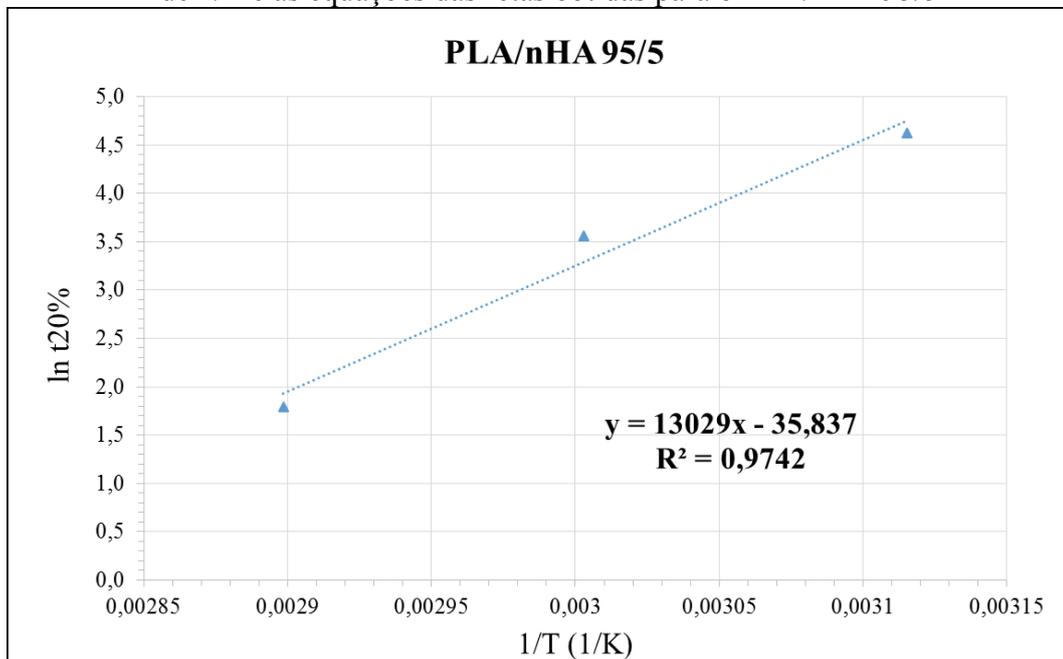
Fonte: Autor

Figura 16 - Curva de logaritmo do tempo de perda de massa ( $\ln(t_{20\%})$ ) em função de  $1/T$  e as equações das retas obtidas para o PLA/nHA 98/2



Fonte: Autor

Figura 17 - Curva de logaritmo do tempo de perda de massa ( $\ln(t_{20\%})$ ) em função de  $1/T$  e as equações das retas obtidas para o PLA/nHA 95/5



Fonte: Autor

De posse das equações obtidas foi possível calcular as energias de ativação de perda de massa para o PLA puro e seus compostos. Os resultados encontram-se na tabela 5.

Tabela 5 - Dados obtidos por meio do cálculo segundo Arrhenius para todos os compostos

	Temperatura (°C)	t (dias de degradação)	Energia de ativação (J/mol)	Estimativa para perda de massa de 20% a 37°C (dias)
PLA puro	72	5,0	97731,07	241
	60	18,5		
	48	64,0		
PLA/nHA 98/2	72	5,5	103999,83	377
	60	30,0		
	48	83,5		
PLA/nHA 95/5	72	6,0	108323,11	489
	60	35,0		
	48	102,0		

Fonte: Autor

Observando os dados da tabela 5, verifica-se que para o PLA puro a energia de ativação de 97.731,07 J/mol é menor que as energias de ativação do PLA/nHA 98/2 (103.999,83 J/mol) e do PLA/nHA 95/5 (108.323,11 J/mol). Como a energia de ativação do PLA puro é menor, ele apresenta perda de massa a 20% mais rápida que os compostos com nano-hidroxiapatita (nHA). Verifica-se também que o composto com maior teor de nHA (PLA/nHA 95/5) apresenta energia de ativação maior e maior tempo até apresentar 20% em perda de massa.

Como as amostras ensaiadas a 37°C não apresentaram perda de massa significativa, foi realizada uma estimativa do tempo de degradação necessário para ocorrer uma perda de massa de acordo com o cálculo por método de Arrhenius.

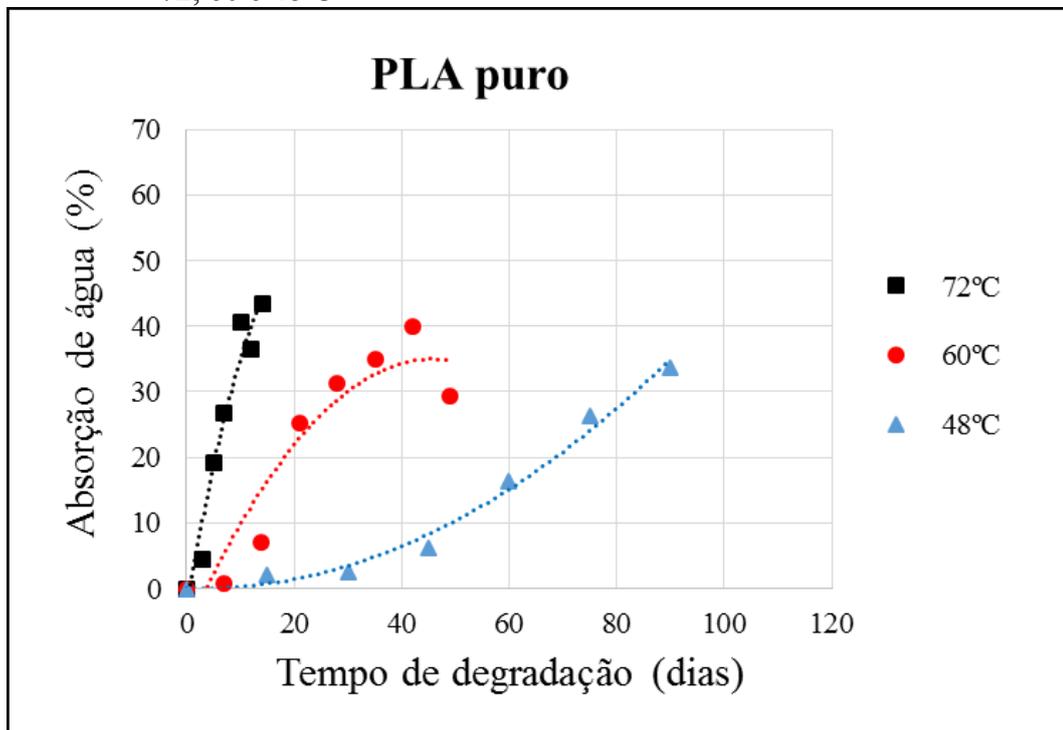
Por meio da mesma tabela 5, observa-se que a estimativa é de 241 dias para que ocorra uma perda de massa a 20%. Porém, no ensaio realizado nesse trabalho, o material ainda não apresentou perda de massa significativa após 240 dias de degradação. Provavelmente em ensaios abaixo da  $T_g$  do material, o comportamento não siga a mesma equação obtida para as temperaturas de 72, 60 e 48°C, próximas e acima da  $T_g$  do PLA, pois a degradação da matriz PLA fica restrita à sua superfície em temperaturas de degradação menores que a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) do PLA (ELSAWY et al., 2017).

Por outro lado, os compostos com nano-hidroxiapatita apresentaram uma estimativa maior que 1 ano de degradação. Segundo Domenek, Courgneau e Ducruet (2011), o PLLA pode demorar 4 anos para degradar completamente por hidrólise. Então, as estimativas de 377 e 489 dias para uma perda de massa de 20% dos compostos PLA/nHA 98/2 e PLA/nHA 95/5, respectivamente, estão coerentes.

#### 4.1.2 Ensaio de absorção de água

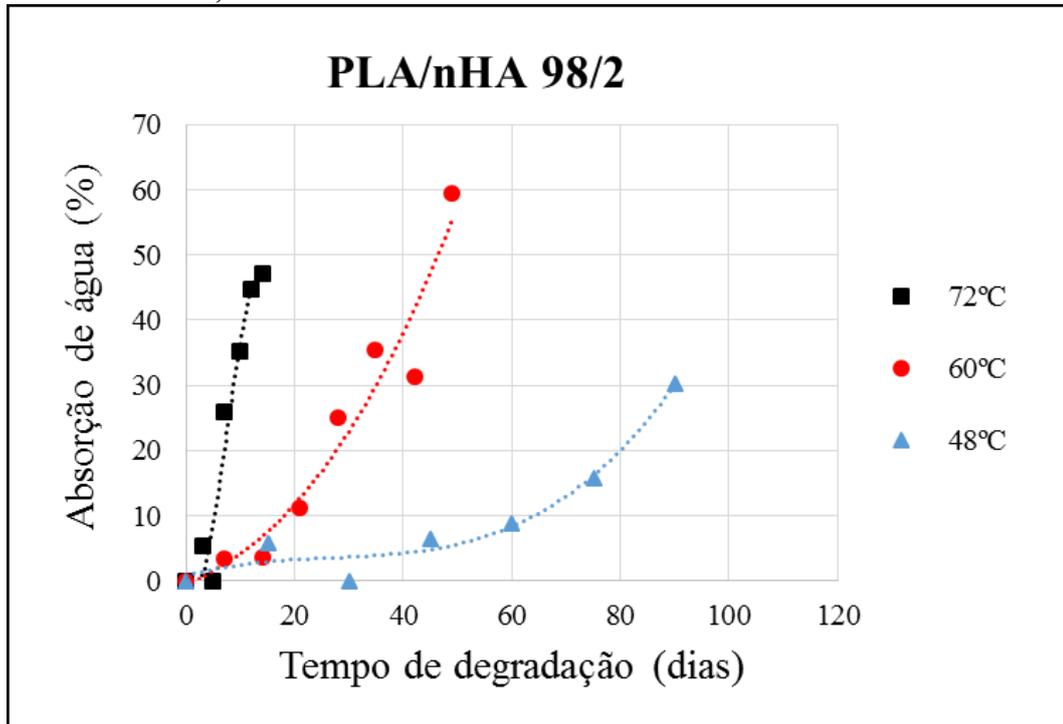
Nesse trabalho foi realizado um ensaio para verificar o teor de absorção de água das composições ao longo da degradação *in vitro*. As figuras de 18 a 20 apresentam o efeito da temperatura na absorção de água do PLA e seus compostos e as figuras 21 a 23 apresentam o efeito da adição e da concentração da nano-hidroxiapatita na capacidade de absorção de água do PLA.

Figura 18 - Absorção de água em função do tempo para o PLA puro degradado a 72, 60 e 48°C



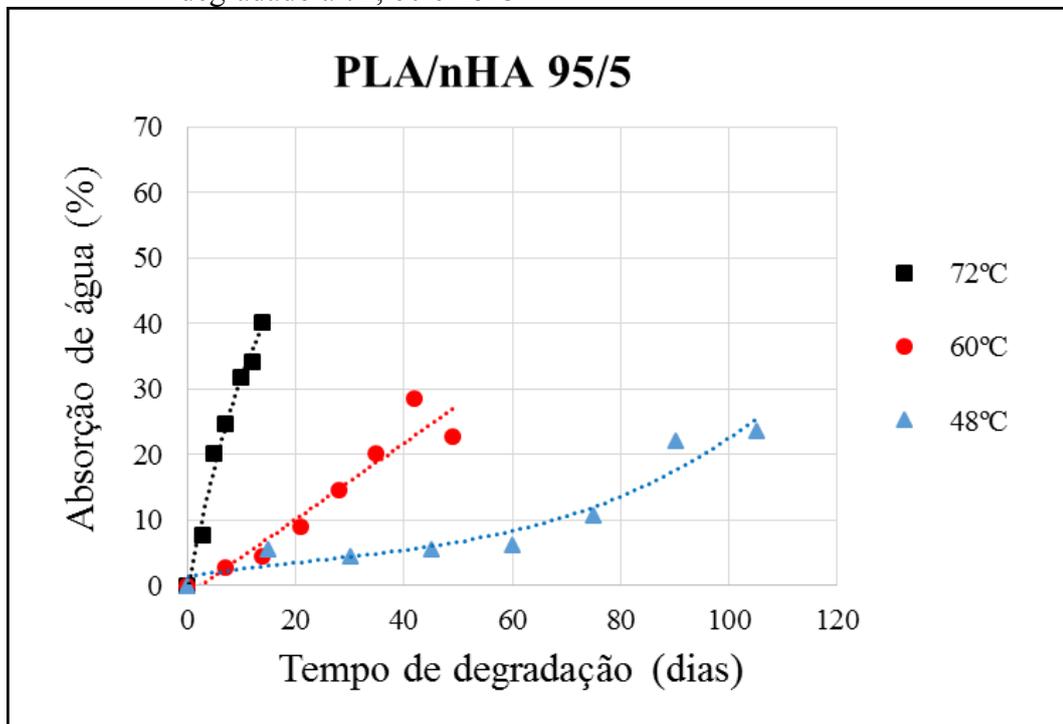
Fonte: Autor

Figura 19 - Absorção de água em função do tempo para o PLA/nHA 98/2 degradado a 72, 60 e 48°C



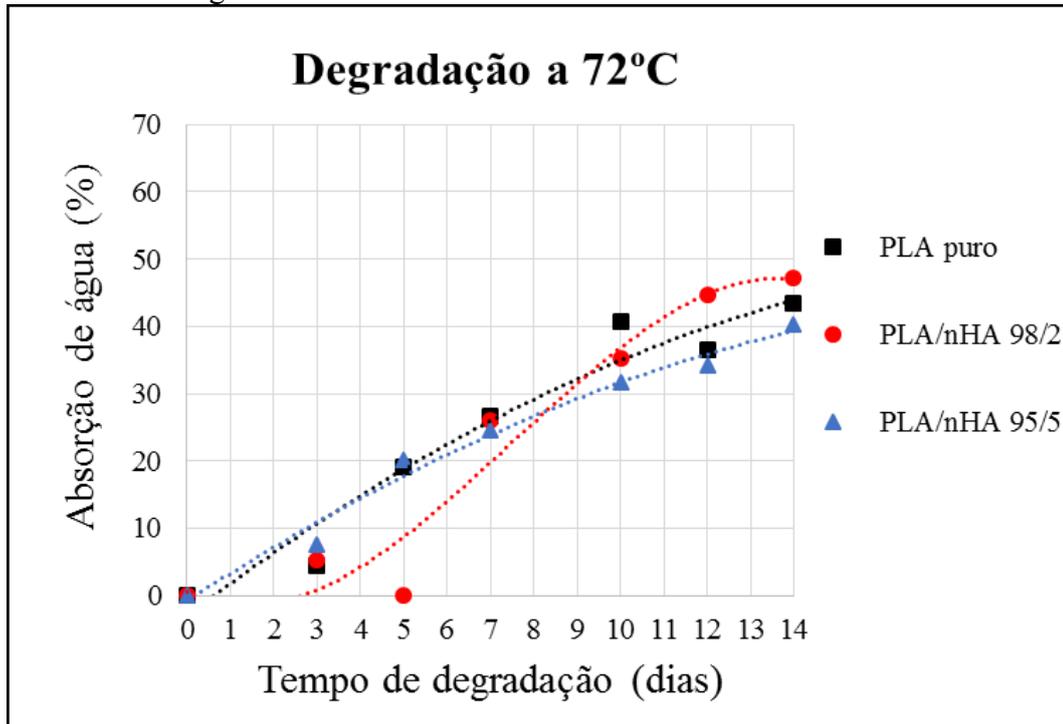
Fonte: Autor

Figura 20 - Absorção de água em função do tempo para o PLA/nHA 95/5 degradado a 72, 60 e 48°C



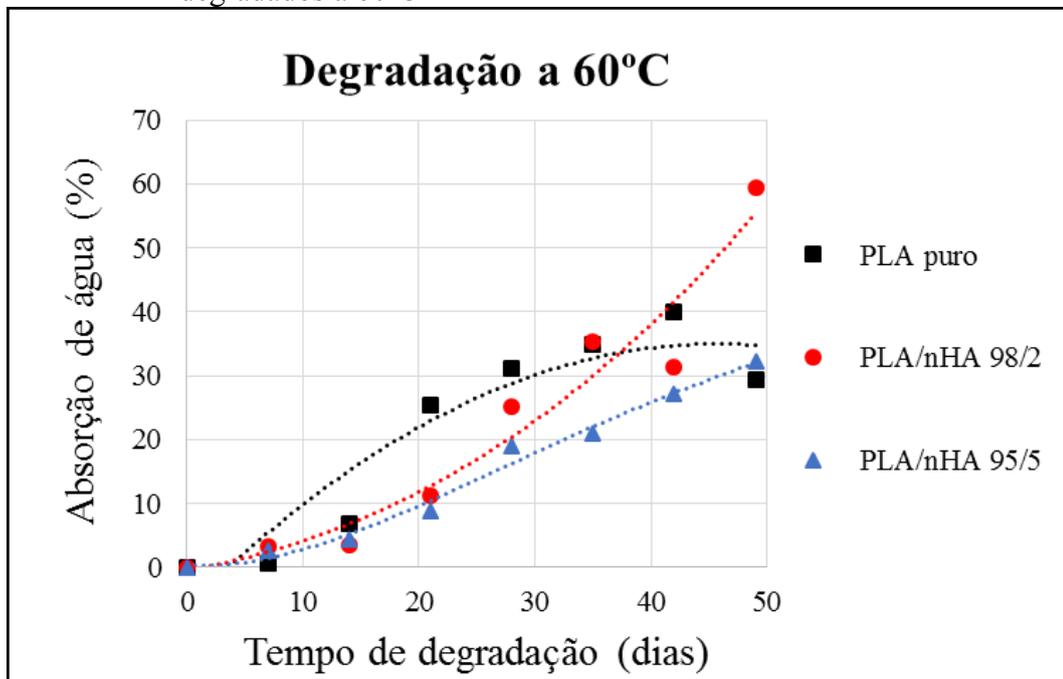
Fonte: Autor

Figura 21 - Absorção de água em função do tempo para todos os compostos degradados a 72°C



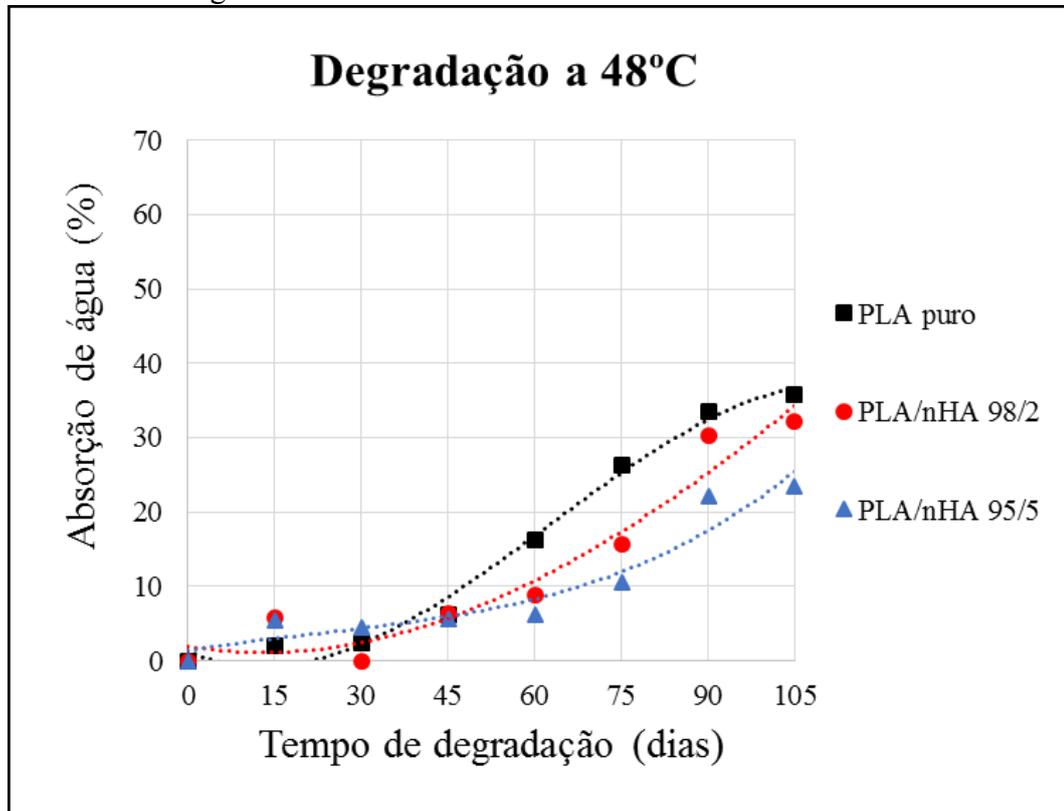
Fonte: Autor

Figura 22 - Absorção de água em função do tempo para todos os compostos degradados a 60°C



Fonte: Autor

Figura 23 - Absorção de água em função do tempo para todos os compostos degradados a 48°C



Fonte: Autor

A partir das figuras 18 a 20, pode-se observar que nos ensaios a 72°C a absorção de água foi maior que nos realizados a 60 e 48°C. As amostras degradadas a 60°C tiveram uma porcentagem de absorção de água maior que 28% em 42 dias, enquanto que as amostras ensaiadas a 48°C apresentaram teores menores que 6% em 45 dias de degradação. Por sua vez, as amostras ensaiadas a 72°C já apresentaram teores maiores que 30% em apenas 10 dias de degradação. Também, a absorção começou a ocorrer em tempos menores nos ensaios realizados a 72 e 60°C. Assim, o aumento da temperatura de ensaio e a diminuição da  $T_g$  do material durante a degradação hidrolítica, conforme já mencionado, facilitou a difusão da água para o interior do material (FUKUSHIMA et al., 2011; ELSAWY et al., 2017).

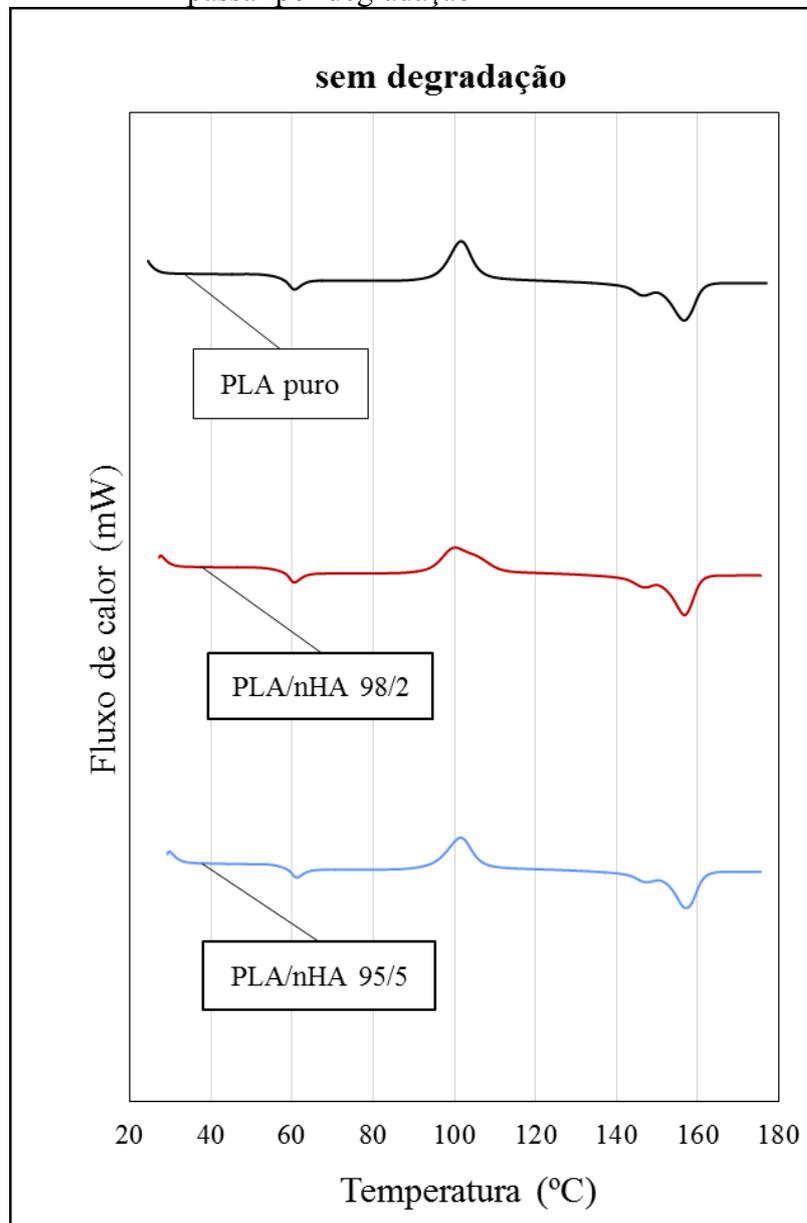
Por meio das figuras 21 a 23, pode-se observar que os compostos com adição de nano-hidroxiapatita (nHA) apresentaram menor absorção de água em tempos menores de degradação, para todas as temperaturas. Porém, no composto PLA/nHA 98/2 a absorção de água foi maior que o PLA puro nas temperaturas de 72 e 60°C e menor que o PLA puro na temperatura de 48°C em tempos maiores de ensaio de degradação. Segundo Fukushima et al. (2011), a nano-hidroxiapatita, é hidrofílica e pode absorver mais água que a matriz polimérica. Provavelmente

com o passar do tempo de degradação, aliado ao aumento da temperatura que facilita a entrada de água na matriz polimérica, o composto com nano-hidroxiapatita absorveu mais água, aumentando o teor de absorção de umidade das amostras.

#### 4.2 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

A figura 24 apresenta as curvas de DSC de todos os compostos sem passar por degradação.

Figura 24 - Curvas de DSC para todos os compostos sem passar por degradação



Fonte: Autor

A partir da figura 24, pode-se observar que as amostras não degradadas apresentam uma temperatura de cristalização a frio ( $T_c$ ) evidente e que a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), temperatura de cristalização ( $T_c$ ) e temperatura de fusão ( $T_f$ ) são semelhantes para todos os compostos. Também foi observado um perfil de dupla fusão para todas as composições. Segundo relatado na literatura (SAEIDLOU et al., 2012; SONG et al., 2012; LUO; WANG, X.; WANG, Y, 2012; LI; GORASSI; PANTANI, 2013; HUNEAULT, 2007; AKINDOYO et al., 2018), esse comportamento da curva obtida por DSC pode indicar uma coexistência de cristais  $\alpha'$  (menos perfeitos) e  $\alpha$  (mais perfeitos) na estrutura desses compostos, visto que esses tipos de cristais podem se formar em temperaturas de cristalização a frio ( $T_c$ ) entre 100 e 120°C.

As tabelas de 6 a 9 apresentam os dados obtidos por DSC no primeiro aquecimento para todos os compostos não degradados e após degradação hidrolítica a 72°C, 60°C, 48°C e 37°C. A figura 25 apresenta as curvas obtidas para o PLA puro submetido à degradação *in vitro* a 60°C. Os outros compostos apresentaram comportamentos semelhantes e que serão discutidos a seguir. As outras curvas de DSC estão apresentados no apêndice A.

Tabela 6 - Eventos térmicos e grau de cristalinidade obtidos por DSC para ensaio a 72°C

		Degradação a 72°C						
	Tempo de degradação (dias)	$T_g$ (°C)	$T_c$ (°C)	$\Delta H_{Tc}$ (J/g)	$T_{f1}$ (°C)	$T_{f2}$ (°C)	$\Delta H_{Tf}$ (J/g)	$X_c$ (%)
PLA PURO	0	59,5 ± 0,6	101,4 ± 0,3	29,3 ± 1,2	146,3 ± 0,1	156,6 ± 0,0	36,1 ± 0,8	7,3
	3	-	-	-	-	147,0 ± 0,3	58,1 ± 10,7	62,5
	5	-	-	-	-	145,4 ± 0,2	81,5 ± 0,6	87,7
	7	-	-	-	-	144,5 ± 0,1	83,5 ± 3,8	89,8
	10	-	-	-	-	145,0 ± 0,2	75,4 ± 0,5	81,1
	12	-	-	-	-	144,7 ± 0,4	78,1 ± 0,1	84,0
	14	-	-	-	-	143,8 ± 0,2	77,6 ± 4,9	83,4
PLA/nHA 98/2	0	58,5 ± 0,2	99,7 ± 0,6	32,9 ± 3,0	146,4 ± 0,5	156,6 ± 0,1	39,6 ± 4,0	7,3
	3	-	-	-	-	147,0 ± 0,0	62,2 ± 1,2	68,2
	5	-	-	-	-	145,3 ± 0,2	84,1 ± 5,1	92,3
	7	-	-	-	-	144,5 ± 0,2	80,0 ± 0,9	87,8
	10	-	-	-	-	145,2 ± 0,2	77,2 ± 4,7	84,7
	12	-	-	-	-	144,9 ± 0,2	86,0 ± 1,4	94,4
	14	-	-	-	-	143,5 ± 0,1	81,5 ± 2,2	89,5
PLA/nHA 95/5	0	59,0 ± 0,8	100,7 ± 1,3	30,6 ± 4,7	146,1 ± 1,4	156,5 ± 0,9	37,6 ± 3,7	7,9
	3	-	-	-	-	148,1 ± 0,0	67,0 ± 1,0	75,9
	5	-	-	-	-	144,7 ± 0,0	70,1 ± 2,3	79,4
	7	-	-	-	-	143,7 ± 0,1	76,1 ± 5,0	86,1
	10	-	-	-	-	144,4 ± 0,4	80,5 ± 5,7	91,1
	12	-	-	-	-	143,7 ± 0,8	75,2 ± 0,0	85,1
	14	-	-	-	-	144,1 ± 0,8	70,8 ± 2,0	80,2

Fonte: Autor

Legenda:  $T_g$ : temperatura de transição vítrea;  $T_c$ : temperatura de cristalização;  $\Delta H_{Tc}$ : entalpia exotérmica de cristalização durante o aquecimento;  $T_f$ : temperatura de fusão;  $\Delta H_{Tf}$ : entalpia endotérmica de fusão;  $X_c$ : grau de cristalinidade, calculado a partir da equação 7.

Tabela 7 - Eventos térmicos e grau de cristalinidade obtidos por DSC para ensaio a 60°C

Degradação a 60°C								
	Tempo de degradação (dias)	T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	ΔH <sub>Tc</sub> (J/g)	T <sub>f1</sub> (°C)	T <sub>f2</sub> (°C)	ΔH <sub>Tf</sub> (J/g)	X <sub>c</sub> (%)
PLA PURO	0	59,5 ± 0,6	101,5 ± 0,3	29,3 ± 1,2	146,3 ± 0,1	156,6 ± 0,0	36,1 ± 0,8	7,3
	7	53,7 ± 0,3	-	-	-	154,1 ± 0,9	49,4 ± 8,8	53,1
	14	-	-	-	-	138,2 ± 0,0	65,5 ± 5,6	70,4
	21	-	-	-	-	140,6 ± 0,6	81,4 ± 9,9	87,5
	28	-	-	-	-	141,2 ± 0,3	74,6 ± 6,3	80,3
	35	-	-	-	-	141,5 ± 0,6	74,0 ± 11,1	79,6
	42	-	-	-	-	141,9 ± 0,1	61,5 ± 9,2	66,1
	49	-	-	-	-	142,8 ± 0,9	63,6 ± 1,1	68,3
PLA/nHA 98/2	0	58,5 ± 0,2	99,7 ± 0,6	32,9 ± 3,0	146,4 ± 0,5	156,6 ± 0,1	39,6 ± 4,0	7,3
	7	58,3 ± 0,5	-	-	-	155,2 ± 0,2	46,6 ± 0,5	51,2
	14	53,5 ± 0,4	-	-	-	152,6 ± 0,7	41,3 ± 2,2	45,3
	21	-	-	-	-	140,3 ± 0,4	60,9 ± 0,4	66,8
	28	-	-	-	-	140,8 ± 0,5	72,8 ± 3,4	79,9
	35	-	-	-	-	140,8 ± 0,5	68,0 ± 12,2	74,6
	42	-	-	-	-	141,8 ± 0,2	75,2 ± 4,6	82,5
	49	-	-	-	-	142,1 ± 0,4	67,3 ± 6,8	73,9
PLA/nHA 95/5	0	59,0 ± 0,8	100,7 ± 1,34	30,6 ± 4,7	146,1 ± 1,4	156,5 ± 0,9	37,6 ± 3,7	7,9
	7	56,4 ± 3,1	-	-	-	155,1 ± 0,2	39,0 ± 2,3	44,2
	14	57,0 ± 0,6	-	-	-	154,2 ± 0,0	37,6 ± 2,6	42,5
	21	-	-	-	-	141,9 ± 0,1	50,9 ± 10,2	57,6
	28	-	-	-	-	140,8 ± 0,3	72,5 ± 2,6	82,1
	35	-	-	-	-	140,4 ± 0,2	60,0 ± 0,5	67,9
	42	-	-	-	-	141,4 ± 0,3	69,1 ± 2,7	78,2
	49	-	-	-	-	141,4 ± 0,2	60,3 ± 0,6	68,3

Fonte: Autor

Legenda: T<sub>g</sub>: temperatura de transição vítrea; T<sub>c</sub>: temperatura de cristalização; ΔH<sub>Tc</sub>: entalpia exotérmica de cristalização durante o aquecimento; T<sub>f</sub>: temperatura de fusão; ΔH<sub>Tf</sub>: entalpia endotérmica de fusão; X<sub>c</sub>: grau de cristalinidade, calculado a partir da equação 7.

Tabela 8 - Eventos térmicos e grau de cristalinidade obtidos por DSC para ensaio a 48°C

Degradação a 48°C								
	Tempo de degradação (dias)	T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	ΔH <sub>Tc</sub> (J/g)	T <sub>f1</sub> (°C)	T <sub>f2</sub> (°C)	ΔH <sub>Tf</sub> (J/g)	X <sub>c</sub> (%)
PLA PURO	0	59,5 ± 0,5	101,4 ± 0,3	29,3 ± 1,2	146,3 ± 0,1	156,6 ± 0,0	36,1 ± 0,8	7,3
	15	57,9 ± 0,1	-	-	-	155,0 ± 0,1	49,0 ± 4,5	52,7
	30	58,1 ± 0,8	-	-	-	147,5 ± 9,7	54,0 ± 16,0	58,1
	45	-	-	-	-	138,7 ± 5,0	47,9 ± 7,8	51,5
	60	-	-	-	-	133,3 ± 0,1	80,3 ± 19,2	86,3
	75	-	-	-	-	136,8 ± 0,2	66,7 ± 1,6	71,8
	90	-	-	-	-	138,1 ± 0,1	68,1 ± 6,3	73,3
	105	-	-	-	-	138,3 ± 0,1	67,3 ± 3,4	72,4
PLA/nHA 98/2	0	58,5 ± 0,2	99,7 ± 0,6	32,9 ± 3,0	146,4 ± 0,5	156,6 ± 0,1	39,6 ± 4,0	7,3
	15	59,0 ± 0,1	-	-	-	154,8 ± 0,0	44,0 ± 1,1	48,3
	30	53,8 ± 4,0	-	-	-	151,3 ± 2,4	53,7 ± 9,0	58,9
	45	54,7 ± 0,0	-	-	-	151,3 ± 1,3	43,2 ± 0,8	47,8
	60	-	-	-	-	134,6 ± 1,0	75,9 ± 10,4	83,2
	75	-	-	-	-	136,7 ± 0,3	84,9 ± 1,1	93,2
	90	-	-	-	-	139,2 ± 1,1	87,7 ± 0,2	96,2
	105	-	-	-	-	138,2 ± 0,1	76,5 ± 5,6	84,0
PLA/nHA 95/5	0	59,0 ± 0,7	100,7 ± 1,3	30,6 ± 4,7	146,1 ± 1,4	156,5 ± 0,9	37,6 ± 3,7	7,9
	15	60,0 ± 0,3	-	-	-	154,6 ± 0,1	37,0 ± 1,0	41,9
	30	58,7 ± 0,1	-	-	-	153,9 ± 0,4	45,7 ± 10,2	51,7
	45	56,4 ± 1,0	-	-	-	152,4 ± 0,1	41,5 ± 0,4	47,0
	60	51,5 ± 1,4	-	-	-	145,9 ± 0,7	46,2 ± 1,0	52,3
	75	-	-	-	-	138,5 ± 0,2	74,8 ± 0,7	84,6
	90	-	-	-	-	138,5 ± 0,3	79,0 ± 9,4	89,4
	105	-	-	-	-	138,2 ± 0,2	69,1 ± 2,3	78,2

Fonte: Autor

Legenda: T<sub>g</sub>: temperatura de transição vítrea; T<sub>c</sub>: temperatura de cristalização; ΔH<sub>Tc</sub>: entalpia exotérmica de cristalização durante o aquecimento; T<sub>f</sub>: temperatura de fusão; ΔH<sub>Tf</sub>: entalpia endotérmica de fusão; X<sub>c</sub>: grau de cristalinidade, calculado a partir da equação 7.

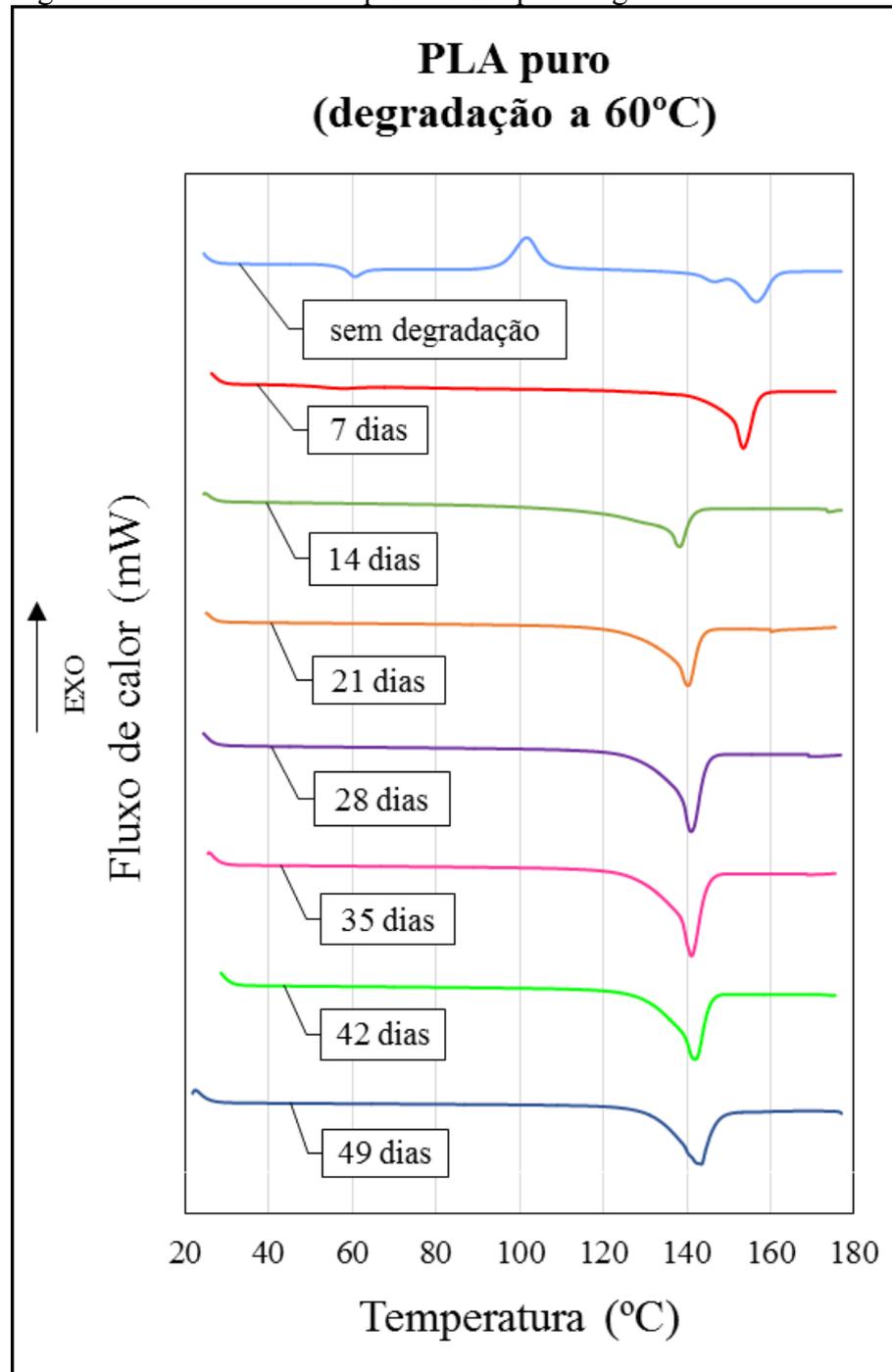
Tabela 9 - Eventos térmicos e grau de cristalinidade obtidos por DSC para ensaio a 37°C

Degradação a 37°C								
	Tempo de degradação (dias)	T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	ΔH <sub>Tc</sub> (J/g)	T <sub>f1</sub> (°C)	T <sub>f2</sub> (°C)	ΔH <sub>Tf</sub> (J/g)	X <sub>c</sub> (%)
PLA PURO	0	59,5 ± 0,6	101,4 ± 0,3	29,3 ± 1,2	146,3 ± 0,1	156,6 ± 0,0	36,1 ± 0,8	7,3
	30	60,7 ± 0,3	97,0 ± 0,5	26,3 ± 0,7	144,3 ± 0,0	155,5 ± 0,2	36,2 ± 2,6	10,7
	60	62,6 ± 1,0	98,4 ± 0,2	30,3 ± 0,2	145,7 ± 0,8	156,0 ± 0,2	38,3 ± 0,6	8,6
	90	60,0 ± 1,3	96,4 ± 1,6	30,0 ± 9,6	144,2 ± 1,0	155,6 ± 0,6	39,8 ± 11,6	10,6
	120	61,7 ± 0,8	95,9 ± 0,7	35,0 ± 5,2	144,4 ± 0,6	155,0 ± 0,3	43,2 ± 6,0	8,9
	150	61,8 ± 0,3	96,9 ± 0,1	32,7 ± 1,1	144,6 ± 0,4	156,0 ± 0,6	43,6 ± 2,8	11,8
	210	58,4 ± 0,2	91,7 ± 0,5	23,9 ± 0,4	-	154,0 ± 0,5	39,7 ± 2,0	17,0
	240	55,2 ± 0,0	82,0 ± 0,9	23,8 ± 0,2	-	152,9 ± 0,3	36,6 ± 0,3	13,7
PLA/nHA 98/2	0	58,5 ± 0,2	99,7 ± 0,6	33,0 ± 3,0	146,4 ± 0,5	156,6 ± 0,1	39,6 ± 4,0	7,3
	30	60,8 ± 0,2	94,2 ± 0,4	27,1 ± 2,5	142,5 ± 0,7	155,6 ± 0,3	36,0 ± 4,2	9,8
	60	61,8 ± 0,4	94,3 ± 0,3	28,3 ± 0,7	144,0 ± 1,4	155,5 ± 0,3	36,0 ± 0,5	8,4
	90	59,0 ± 0,6	90,4 ± 0,6	27,4 ± 1,8	-	154,4 ± 0,8	36,7 ± 1,2	10,3
	120	61,9 ± 0,2	94,0 ± 0,5	29,8 ± 0,3	143,8 ± 0,6	155,1 ± 0,5	37,1 ± 0,5	8,0
	150	59,1 ± 0,2	88,5 ± 0,6	30,7 ± 0,7	-	154,5 ± 1,1	42,0 ± 2,3	12,4
	210	58,7 ± 0,6	87,6 ± 0,9	27,6 ± 0,5	-	154,2 ± 0,7	38,2 ± 1,0	11,5
	240	56,4 ± 1,1	84,7 ± 2,4	29,0 ± 2,2	-	152,8 ± 0,8	41,5 ± 1,7	13,7
PLA/nHA 95/5	0	59,0 ± 0,7	100,7 ± 1,3	30,6 ± 4,7	146,1 ± 1,4	156,5 ± 0,9	37,6 ± 3,7	7,9
	30	60,9 ± 0,3	91,0 ± 0,7	25,7 ± 3,1	-	155,0 ± 0,3	34,0 ± 3,4	9,3
	60	61,9 ± 0,6	89,9 ± 0,2	27,8 ± 2,0	-	155,4 ± 0,4	35,8 ± 1,7	9,0
	90	58,1 ± 2,0	86,0 ± 1,0	24,9 ± 2,8	-	154,0 ± 0,2	32,8 ± 3,3	9,0
	120	60,2 ± 0,2	85,5 ± 0,3	28,3 ± 0,4	-	154,3 ± 0,5	36,8 ± 0,3	9,6
	150	59,8 ± 0,5	84,5 ± 0,6	27,6 ± 0,6	-	153,8 ± 1,2	35,7 ± 1,4	9,1
	210	58,0 ± 0,4	81,9 ± 1,1	24,6 ± 1,4	-	152,5 ± 0,6	37,5 ± 0,0	14,6
	240	56,7 ± 0,0	79,5 ± 0,8	23,8 ± 1,0	-	151,3 ± 0,2	38,0 ± 2,4	16,0

Fonte: Autor

Legenda: T<sub>g</sub>: temperatura de transição vítrea; T<sub>c</sub>: temperatura de cristalização; ΔH<sub>Tc</sub>: entalpia exotérmica de cristalização durante o aquecimento; T<sub>f</sub>: temperatura de fusão; ΔH<sub>Tf</sub>: entalpia endotérmica de fusão; X<sub>c</sub>: grau de cristalinidade, calculado a partir da equação 7.

Figura 25 - Curvas de DSC para o PLA puro degradado a 60°C



Observando as tabelas de 6 a 9 e as curvas obtidas por DSC (figura 25), foi possível verificar comportamentos semelhantes para todas as composições com o aumento do tempo de degradação hidrolítica em todas as temperaturas de ensaio. Esses comportamentos já foram observados em alguns trabalhos na literatura (SAEIDLOU et al., 2012; SONG et al., 2012; LUO; WANG, X; WANG, Y., 2012; HUANG et al., 2013; GORASSI; PANTANI, 2013) e serão melhor explicados a seguir.

#### 4.2.1 Diminuição da temperatura de transição vítrea ( $T_g$ )

Pode-se observar na tabela 6 que após 3 dias de degradação a 72°C as amostras apresentaram diminuição da  $T_g$ . O PLA puro ensaiado a 60°C (tabela 7) apresentou diminuição da  $T_g$  após 7 dias de degradação e os compostos PLA/nHA apresentaram após 14 dias. Por sua vez, no ensaio a 48°C (tabela 8) a diminuição da  $T_g$  do PLA puro foi observada após 45 dias de degradação, enquanto que para os compostos PLA/nHA foi observada após 30 dias de testes. No ensaio a 37°C (tabela 9) a diminuição da  $T_g$  foi observada após 210 dias de degradação para o PLA puro e após 240 dias para os compostos PLA/nHA.

Conforme citado por Barbanti, Zavaglia e Duek (2005), o processo de degradação por hidrólise do PLA ocorre em dois estágios, sendo o primeiro a entrada e a difusão de água nas regiões amorfas do polímero, causando cisão hidrolítica das ligações ésteres das cadeias poliméricas. Essa cisão leva à diminuição da massa molar do polímero, o que resulta em aumento de mobilidade das cadeias e, portanto, numa diminuição da  $T_g$ . Além disso, alguns autores descrevem que água e os oligômeros de ácido láctico podem funcionar como plastificante no PLA, reduzindo sua  $T_g$  (FUKUSHIMA et al., 2011; LUO; WANG, X.; WANG, Y, 2012; GORASSI; PANTANI, 2013).

Como o aumento da temperatura acelera o processo de degradação, acelerando a quebra das cadeias por hidrólise (CASTRO-AGUIRRE et al., 2016), explica-se a diminuição da  $T_g$  em tempos menores para o ensaio a 72 e 60°C, quando comparado aos testes realizados a 48°C e 37°C.

#### 4.2.2 Desaparecimento do pico relativo a temperatura de cristalização a frio ( $T_c$ )

No ensaio de degradação *in vitro* a 72°C foi observado um desaparecimento da temperatura de cristalização a frio ( $T_c$ ) para todos os compostos após 3 dias de degradação. No ensaio a 60°C foi observado após 7 dias de degradação hidrolítica. Para o ensaio a 48°C, por sua vez, esse desaparecimento foi observado após 15 dias. Nos testes realizados a 37°C não foi observado o desaparecimento da  $T_c$ , mesmo em tempos maiores de degradação. Porém, já é observada uma diminuição da  $T_c$  após 30 dias de degradação e como os ensaios em temperaturas maiores aceleram o processo, permitindo extrapolar e prever resultados, pode-se esperar que esse desaparecimento da temperatura de cristalização a frio também seja observado nessa temperatura em tempos maiores de degradação.

Segundo o estudo de Barbanti, Zavaglia e Duek (2005), após a degradação inicial da região amorfa, a degradação prossegue na porção cristalina, levando inclusive à formação de novos cristais por conta do rearranjo das cadeias de menor massa molar. Esse fato pode ter contribuído para uma modificação da microestrutura semicristalina do PLA e o aumento da cristalinidade dos compostos.

#### **4.2.3 Diminuição e desaparecimento do duplo pico de fusão**

Foi observado que para todos os compostos estudados o comportamento característico de dupla fusão na curva de DSC deu lugar à um pico endotérmico único de fusão com temperatura em torno de 155°C. Na degradação a 72°C esse comportamento foi observado após 3 dias de ensaio. Por sua vez, na degradação a 60°C e a 48°C isso foi observado após 7 e 15 dias de ensaio, respectivamente. Na degradação a 37°C esse comportamento foi observado após 90 dias de degradação para o PLA/nHA 98/2 e após 30 dias para o PLA/nHA 95/5. Por outro lado, o PLA puro apresentou o pico endotérmico de fusão após 210 dias. O pico endotérmico único de fusão observado pode indicar que, durante o processo de imersão, ocorreu um rearranjo molecular e uma estrutura cristalina foi formada (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005).

Com o aumento do tempo de degradação, observa-se que o pico endotérmico de fusão, deslocou-se gradativamente para temperaturas menores, indicando que os cristais devem estar se tornando menos perfeitos.

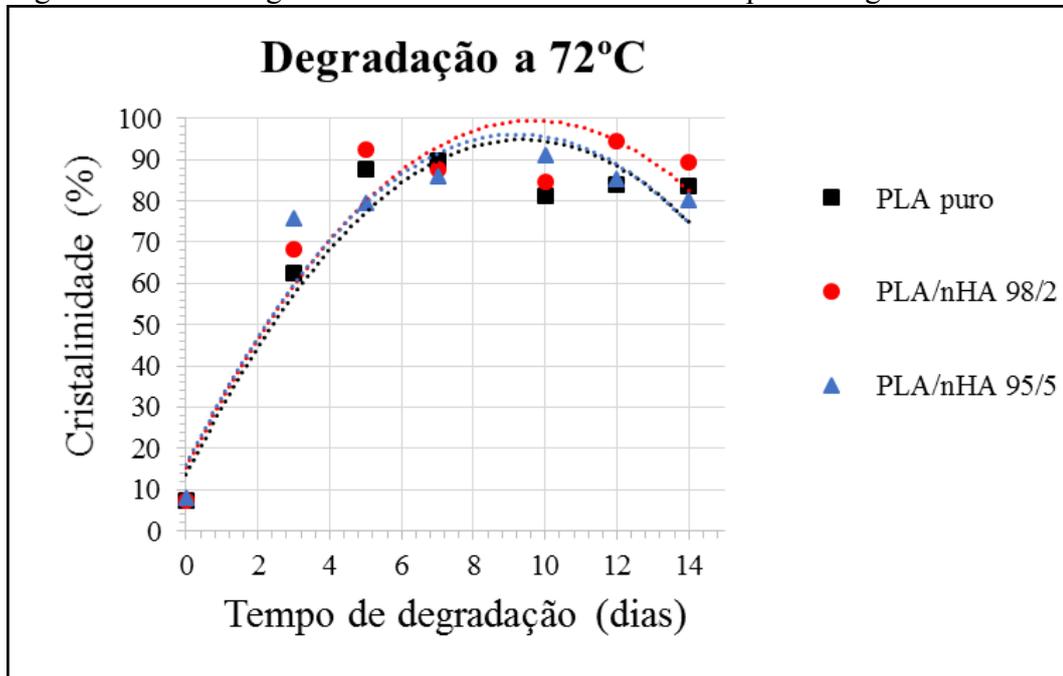
Pode-se observar ainda, que para o composto PLA/nHA, a diminuição da  $T_f$  ocorreu em tempos maiores quando comparado ao PLA puro. Esses resultados podem indicar que a nano-hidroxiapatita retarda o efeito de degradação por hidrólise, corroborando os resultados de absorção de umidade e de perda de massa. Conforme já mencionado, a nano-hidroxiapatita, por ser hidrofílica, pode atrasar a degradação do polímero por conta da sua capacidade de absorver água e reduzir a sua quantidade disponível para hidrólise na matriz polimérica (FUKUSHIMA et al., 2011).

#### **4.2.4 Aumento da cristalinidade**

As figuras 26 a 29 apresentam gráfico de porcentagem de cristalinidade (% $X_c$ ) em função do tempo de degradação para todos os compostos nas temperaturas estudadas nesse trabalho. Por sua vez, as figuras de 30 a 32 apresentam gráficos mostrando a influência da

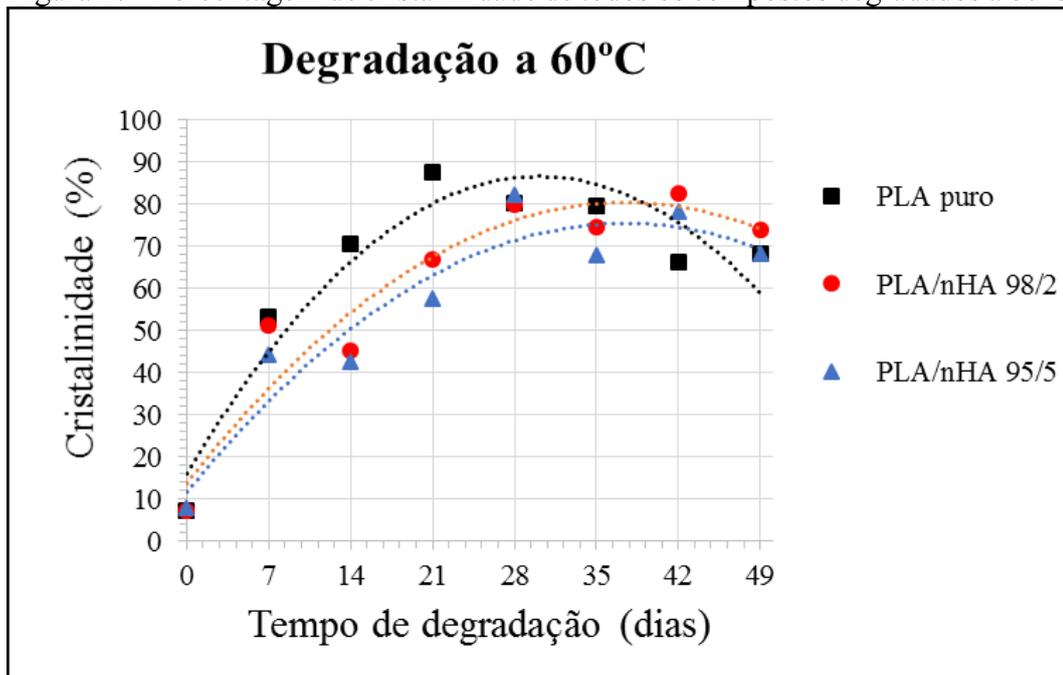
temperatura de ensaio em cada composição. Uma linha foi utilizada como guia para facilitar a análise dos dados.

Figura 26 - Porcentagem de cristalinidade de todos os compostos degradados a 72°C



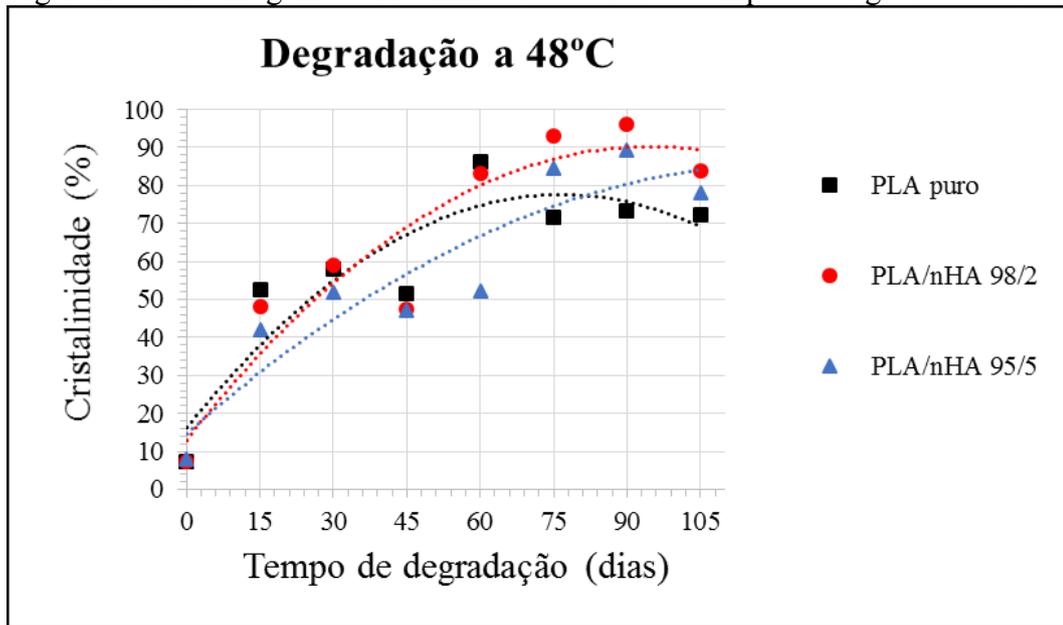
Fonte: Autor

Figura 27 - Porcentagem de cristalinidade de todos os compostos degradados a 60°C



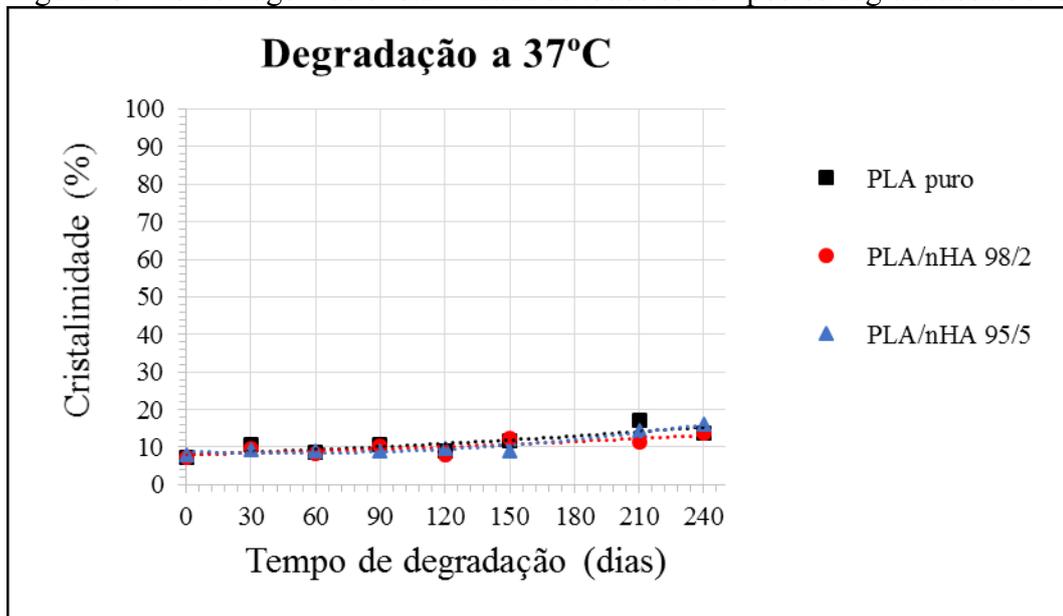
Fonte: Autor

Figura 28 - Porcentagem de cristalinidade de todos os compostos degradados a 48°C



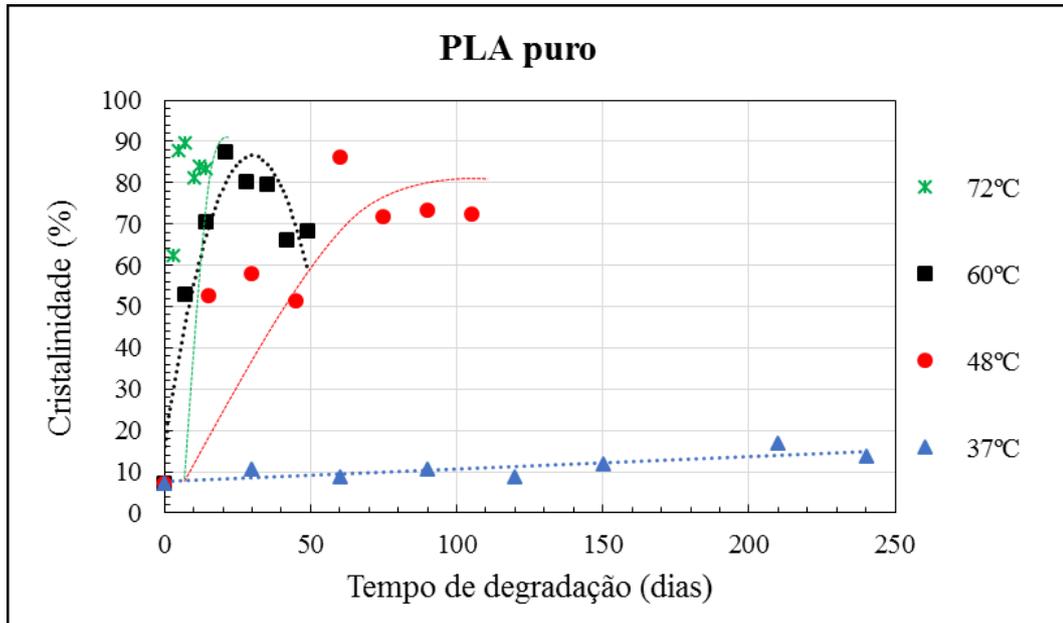
Fonte: Autor

Figura 29 - Porcentagem de cristalinidade de todos os compostos degradados a 37°C



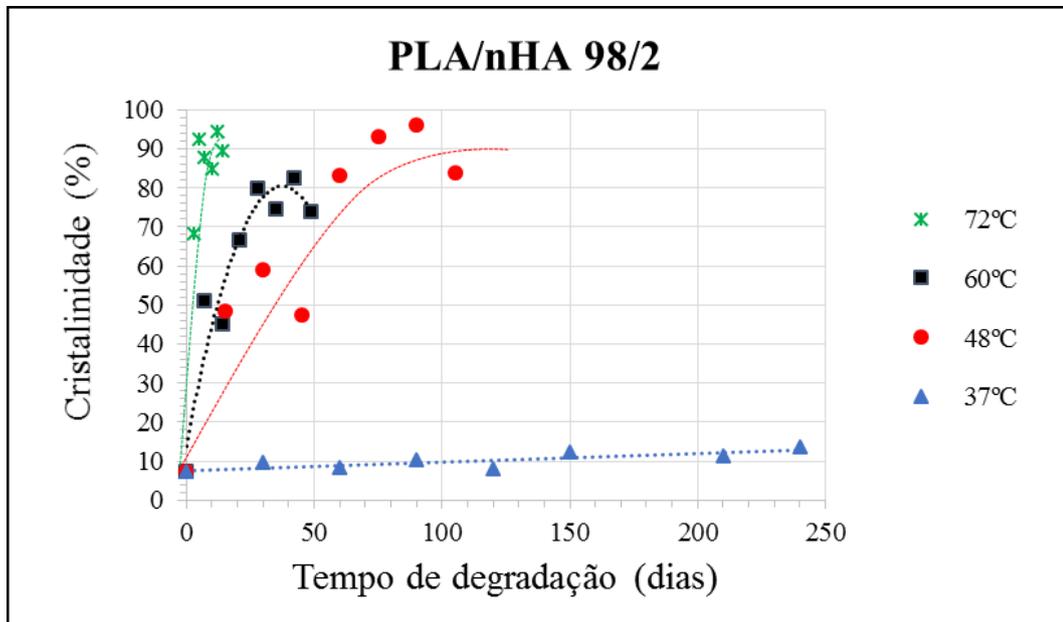
Fonte: Autor

Figura 30 - Porcentagem de cristalinidade do PLA puro degradado a 72, 60, 48 e 37°C



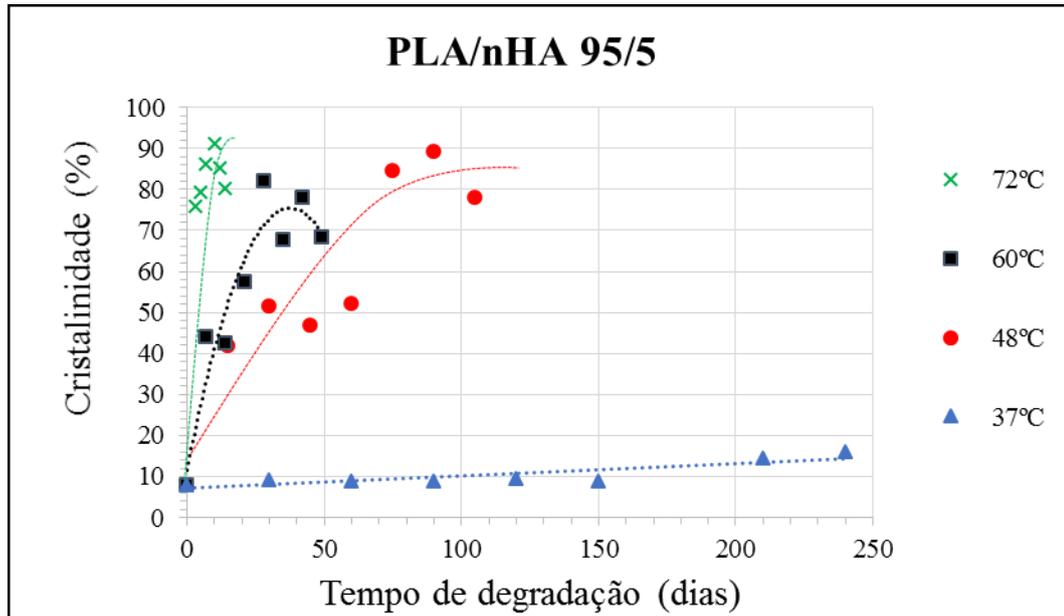
Fonte: Autor

Figura 31 - Porcentagem de cristalinidade do PLA/nHA 98/2 degradado a 72, 60, 48 e 37°C



Fonte: Autor

Figura 32 - Porcentagem de cristalinidade do PLA/nHA 95/5 degradado a 60, 48 e 37°C



Fonte: Autor

Pode-se observar nos gráficos que para todos os compostos há um aumento significativo da porcentagem de cristalinidade com o tempo de degradação. Esse aumento, conforme já explicado anteriormente, pode estar relacionado a um rearranjo das cadeias do PLA como resultado do processo de degradação, e formação de cristais. Além da cristalização das regiões amorfas, o aumento da cristalinidade também pode estar relacionado com a degradação dessas regiões amorfas (GORASSI; PANTANI, 2013). O desaparecimento dos picos associados a temperatura de cristalização a frio ( $T_c$ ) também podem indicar a cristalização dos materiais durante o ensaio de degradação hidrolítica, aumentando sua cristalinidade (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005).

O aumento da porcentagem de cristalinidade é bem mais acentuado nos ensaios a 72°C e 60°C do que nos de 48°C e 37°C, mostrando a influência da temperatura nesse parâmetro. No ensaio a 72°C, o PLA puro e o PLA/nHA 98/2 já apresentaram cristalinidade maior que 50% após 3 dias de degradação. Em 7 dias de degradação a 60°C todas as composições apresentaram cristalinidade maior que 40%, enquanto que no ensaio a 48°C essa porcentagem foi observada após 15 dias de degradação. Por outro lado, as composições ensaiadas a 37°C apresentaram um menor aumento (não passando de 16% de cristalinidade) mesmo em tempos de degradação bem maiores (240 dias). Também foi observado que os compostos PLA/nHA apresentaram menores aumentos na porcentagem de cristalinidade que o PLA puro nos ensaios nas três temperaturas. Isso pode indicar que a carga hidrofílica nano-hidroxiapatita (nHA), pode comprometer a degradação do polímero por conta da sua capacidade de absorver água e reduzir a sua

quantidade disponível para hidrólise na matriz polimérica (FUKUSHIMA et al., 2011). Assim, a cristalização do material também é dificultada, quando comparada ao PLA puro. Além disso, tem sido observado na literatura que as nanocargas podem reduzir a cristalização do composto com PLA, provavelmente porque a restrição de mobilidade gerada por esses materiais atrapalha a nucleação dos cristais (SAEIDLOU et al., 2012; HUANG et al., 2013).

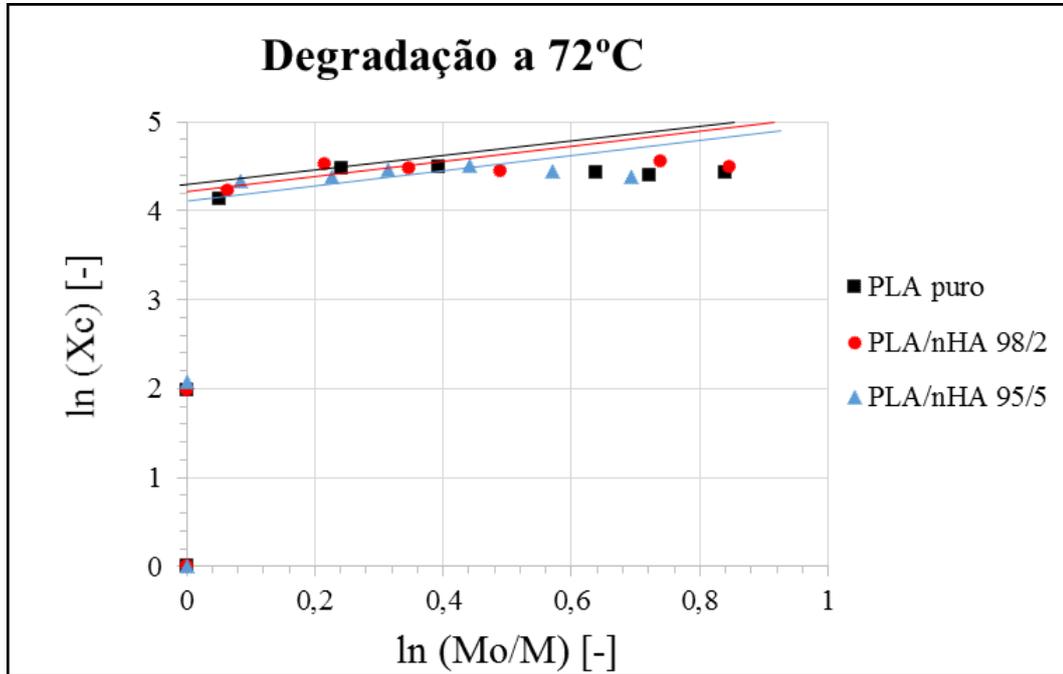
No ensaio de degradação hidrolítica a 72, 60 e 48°C também foi observada uma queda na cristalinidade após tempos maiores de ensaio, sendo mais acentuada no PLA puro. Essa queda pode estar relacionada com a degradação dos cristais poliméricos após longos tempos de degradação (GORASSI; PANTANI, 2013).

Para o melhor entendimento dos fenômenos que envolvem o aumento do grau de cristalinidade do PLA puro e dos compostos de PLA/nHA durante o processo de degradação hidrolítica, foi realizado a análise sugerida por Gorassi e Pantani (2013), apresentada na revisão bibliográfica. As figuras 33 a 35 apresentam a evolução da cristalização em função da perda de massa obtidos nos ensaios de degradação hidrolítica a 72°C, 60°C e 48°C, calculados de acordo com a equação 3 e plotados em gráfico. A linha contínua representa uma inclinação da reta igual a 1. O ensaio de degradação hidrolítica a 37°C não foi analisado, pois não apresentou perda de massa.

Pode-se observar uma tendência para as amostras que no início (até 3 dias para 72°C, 7 dias para 60°C e 15 dias para 48°C) há uma inclinação bem maior que 1, indicando que, o grau de cristalinidade aumentou devido a cristalização das regiões amorfas. Neste caso, não houve perda de massa, somente aumento da cristalinidade. Como a temperatura de ensaio é um pouco maior que a  $T_g$  do PLA, houve mobilidade para as moléculas das regiões amorfas se rearranjarem e se cristalizarem. Também, pode ter ocorrido cisões de cadeias da região amorfa que apresentaram maior facilidade para cristalização (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005; GORASSI; PANTANI, 2013).

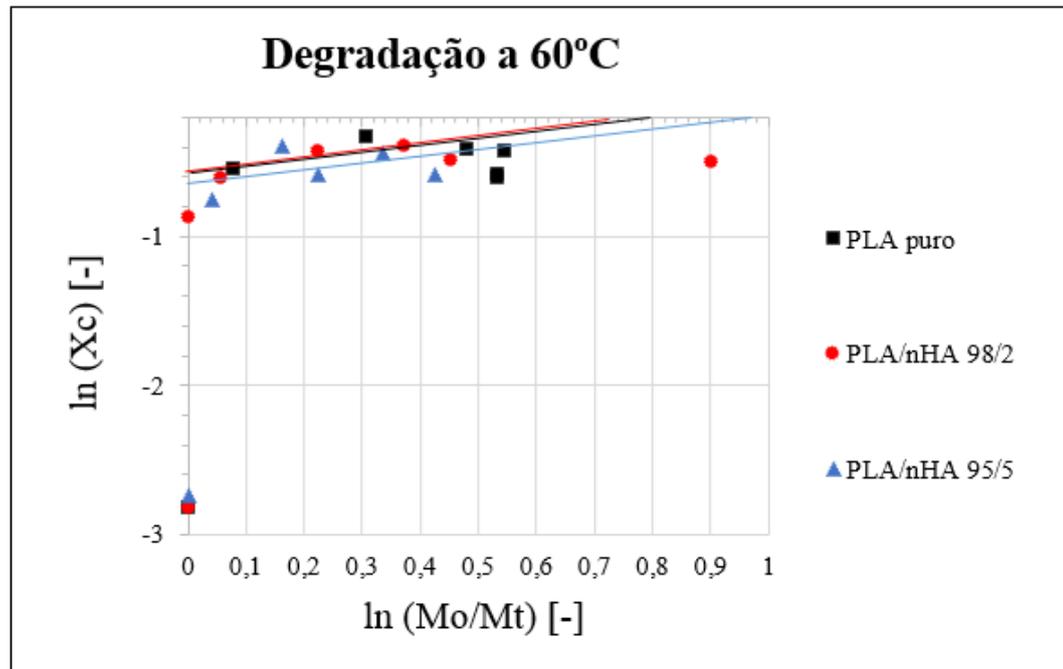
Em tempos maiores, a inclinação tende a ser próxima a 1 indicando que, nesta fase, o grau de cristalinidade aumentou devido a erosão das regiões amorfas. Nos últimos tempos avaliados, a inclinação menor que 1 indica que as regiões cristalinas também foram degradadas (GORASSI; PANTANI, 2013).

Figura 33 - Evolução da cristalização em função da perda de massa para ensaio a 72°C



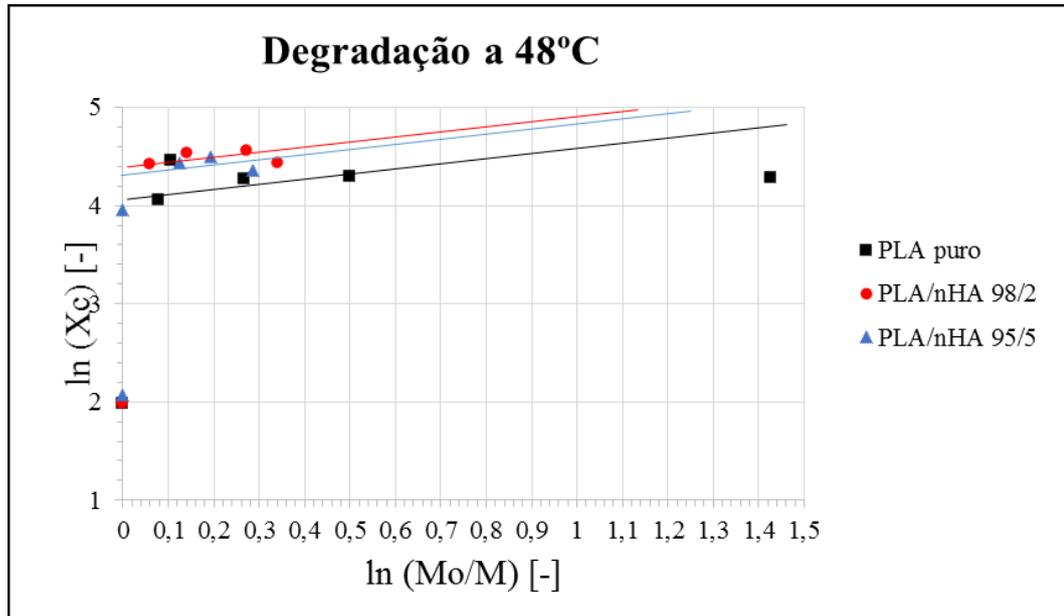
Fonte: Autor

Figura 34 - Evolução da cristalização em função da perda de massa para ensaio a 60°C



Fonte: Autor

Figura 35 - Evolução da cristalização em função da perda de massa para ensaio a 48°C

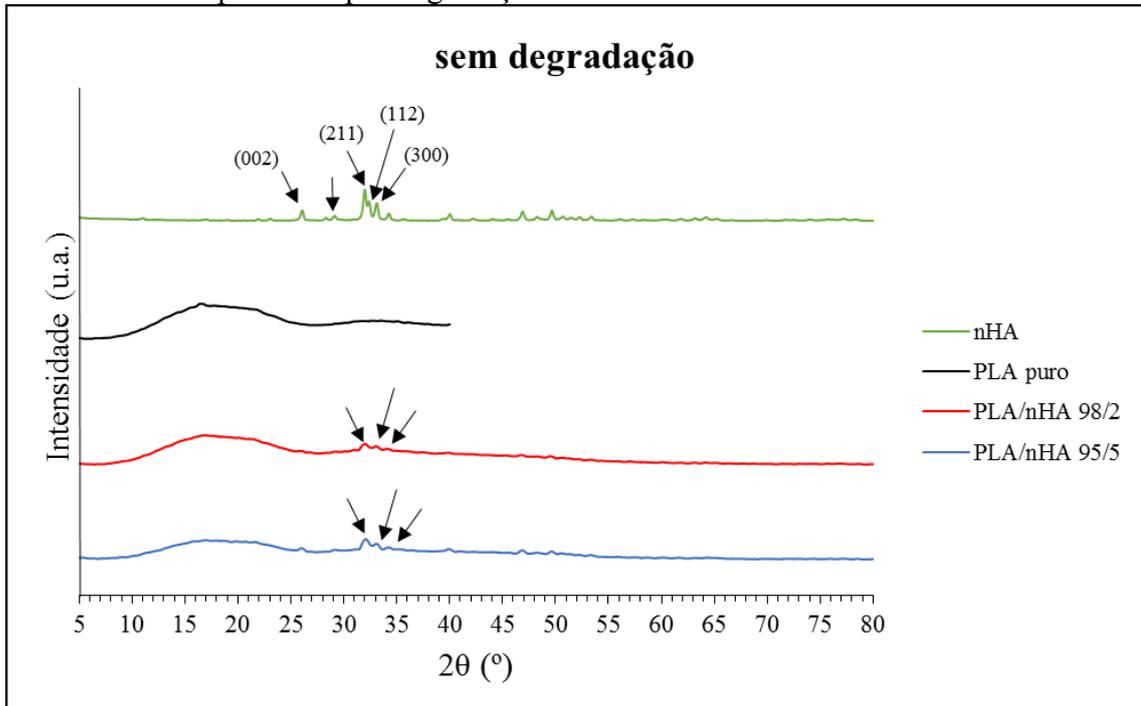


Fonte: Autor

#### 4.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

Análises qualitativas das amostras degradadas foram obtidas por DRX. A figura 36 apresenta as curvas de difração de raios X da nano-hidroxiapatita e das composições estudadas nesse trabalho sem passar por degradação. Segundo Arboleda et al., (2016) e Rigo; Gehrke e Carbonari (2007), alguns picos são mais relevantes e que são mostrados também na figura 36 por meio de setas. Esses picos referentes à nano-hidroxiapatita também foram observados nas curvas de difração dos compostos PLA/nHA, porém com menor intensidade, confirmando a presença de nHA nos compostos estudados.

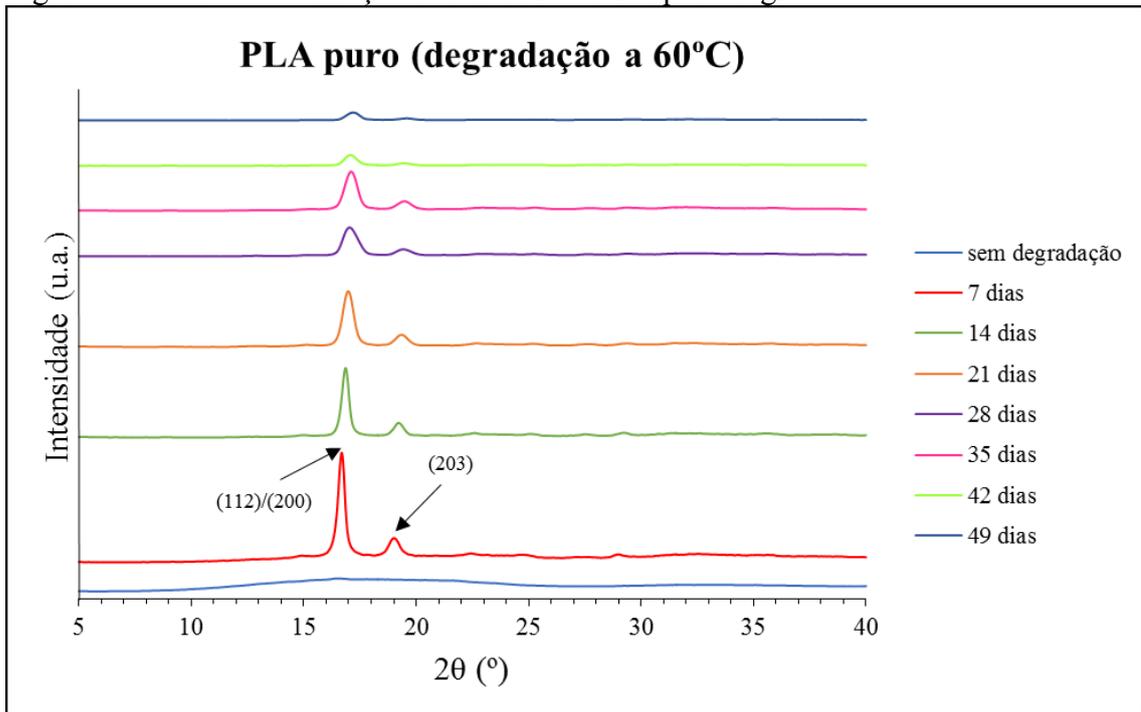
Figura 36 – Curvas de difração de raios X da nanohidroxiapatita e de todos os compostos sem passarem por degradação



Fonte: Autor

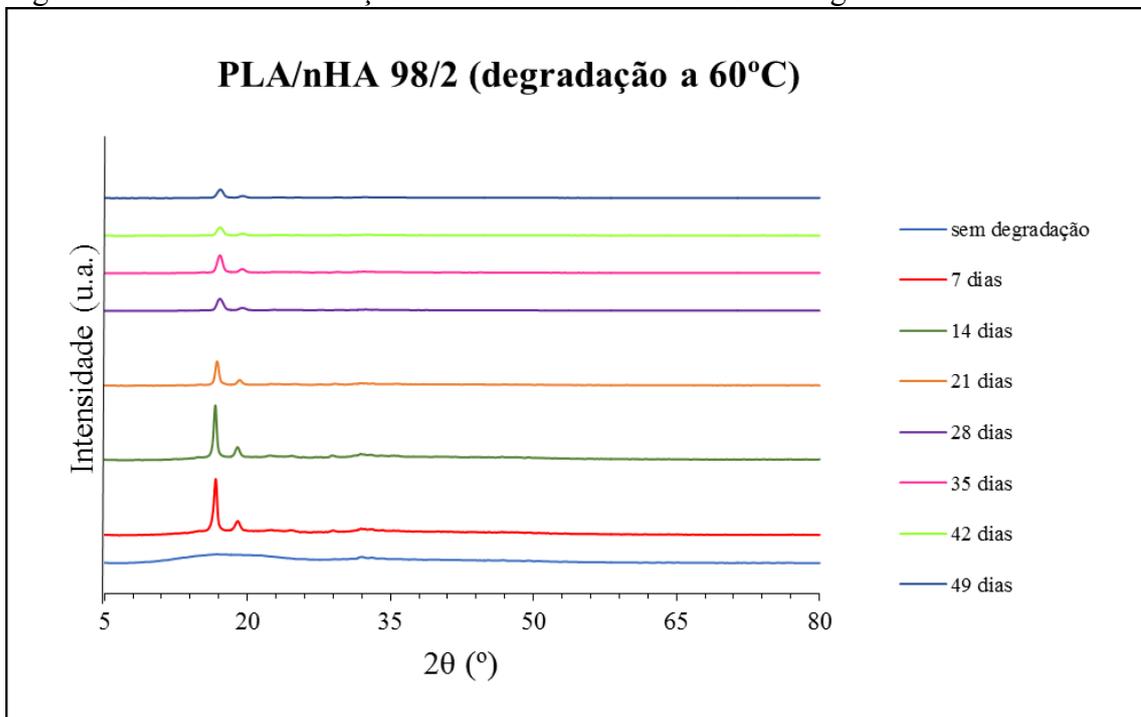
As figuras 37, 38 e 39 apresentam as curvas de difração de raios X do PLA puro, PLA/nHA 98/2 e PLA/nHA 95/5 degradados a 60°C, respectivamente. Os outros compostos ensaiados a 72°C e 48°C (com exceção dos 37°C que não apresenta os picos relativos aos cristais de PLA) apresentaram o mesmo comportamento e estão no apêndice B desse trabalho.

Figura 37 – Curvas de difração de raios X do PLA puro degradado a 60°C



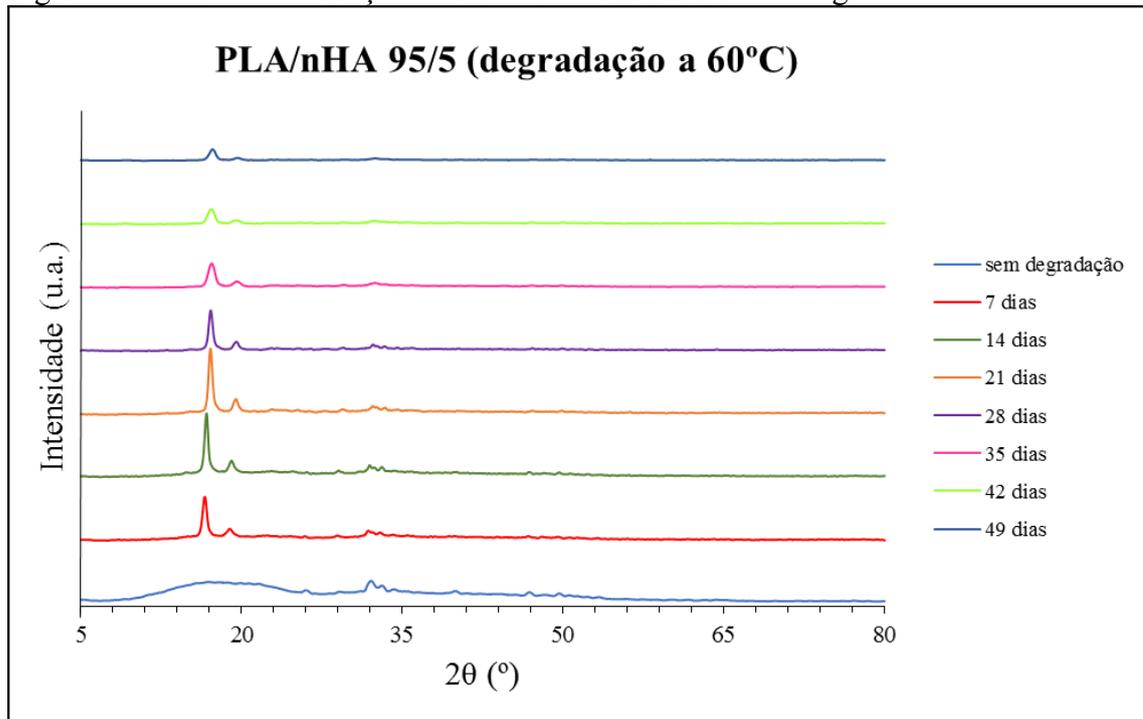
Fonte: Autor

Figura 38 – Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 98/2 degradado a 60°C



Fonte: Autor

Figura 39 – Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 95/5 degradado a 60°C



Fonte: Autor

Pode-se observar na curva de difração de raios X do PLA puro (figura 37) que inicialmente a amostra sem degradação apresenta apenas o halo amorfo, porém, após 7 dias de degradação já apresenta picos relativos a cristais. Conforme estudo de autores como Pan e Inoue (2009), Gorassi e Pantani (2013) e Huang et al., (2017), os picos correspondentes a  $2\theta = 16,5^\circ$  (110/200) e  $19^\circ$  (203) correspondem aos cristais  $\alpha'$  e  $\alpha$ , respectivamente. Essa coexistência de fases  $\alpha'$  e  $\alpha$  também foi reportada nos ensaios de DSC desse trabalho, representada pelo comportamento de dupla fusão.

Para os compostos com nano-hidroxiapatita (figuras 38 e 39), além dos picos relativos ao PLA, também foram observados os picos relativos a nano-hidroxiapatita, que foram mostrados na figura 36. Os picos relativos a nano-hidroxiapatita são mais intensos nas curvas de difração de raios X do PLA/nHA 95/5 que nos de PLA/nHA 98/2, mostrando que o teor maior desse material influencia na intensidade desses picos.

Em todos os compostos pode-se observar que a intensidade dos picos diminui à medida que as amostras foram se tornando pó, sendo que a 60°C o PLA puro já degradou em forma de pó a partir de 21 dias e os compostos PLA/nHA a partir de 28 dias. Essa diferença no formato de amostra permitiu apenas uma análise qualitativa e apesar de apresentar os dois tipos de cristais até o fim dos ensaios de degradação, a coexistência de cristais  $\alpha'$  e  $\alpha$  não foi observada nos ensaios de DSC em tempos maiores de degradação.

#### 4.4 ANÁLISE VISUAL DAS AMOSTRAS

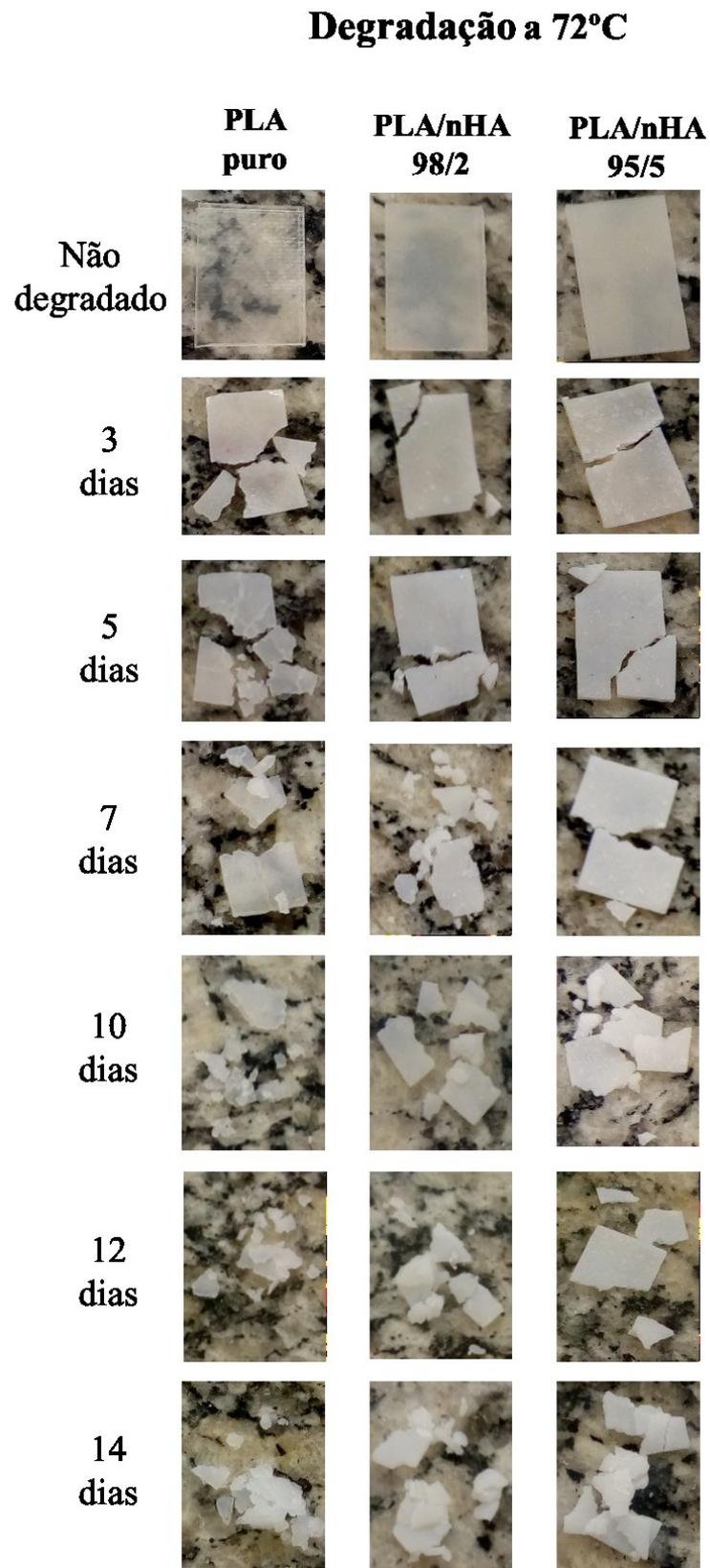
As figuras 40 a 43 apresentam as imagens das amostras ensaiadas a 72, 60, 48 e 37°C respectivamente. Em todas as figuras observa-se que as amostras de PLA puro não degradadas são transparentes, enquanto que as de PLA/nHA são opacas, por conta da adição de nano-hidroxiapatita. Também é possível observar que todas as amostras apresentaram sinais de degradação, como quebra das placas e fissuras.

Observando a figura 40, é possível observar que logo após 3 dias de degradação todos os compostos quebraram e o PLA puro já apresentou opacidade, indicando que houve cristalização. Com o passar do tempo de degradação, as amostras foram se quebrando mais, se tornando pó. Essas evidências corroboram com as análises por DSC (aumento da cristalinidade) e DRX. Por sua vez, as amostras de PLA puro ensaiadas a 60°C (figura 41) quebraram após 14 dias de degradação, enquanto que o PLA/nHA 98/2 quebrou após 21 dias e o PLA/nHA 95/5 quebrou após 35 dias. As amostras de PLA puro a 60°C também apresentaram opacidade, porém foi após 7 dias de degradação.

Na figura 42, pode-se observar que o PLA puro quebrou após 60 dias de ensaio a 48°C, enquanto que o PLA/nHA 98/2 quebrou após 90 dias. Por outro lado, na figura 42 o PLA/nHA 95/5 não apresentou quebra, porém, após ser seco em estufa à vácuo essas amostras quebraram.

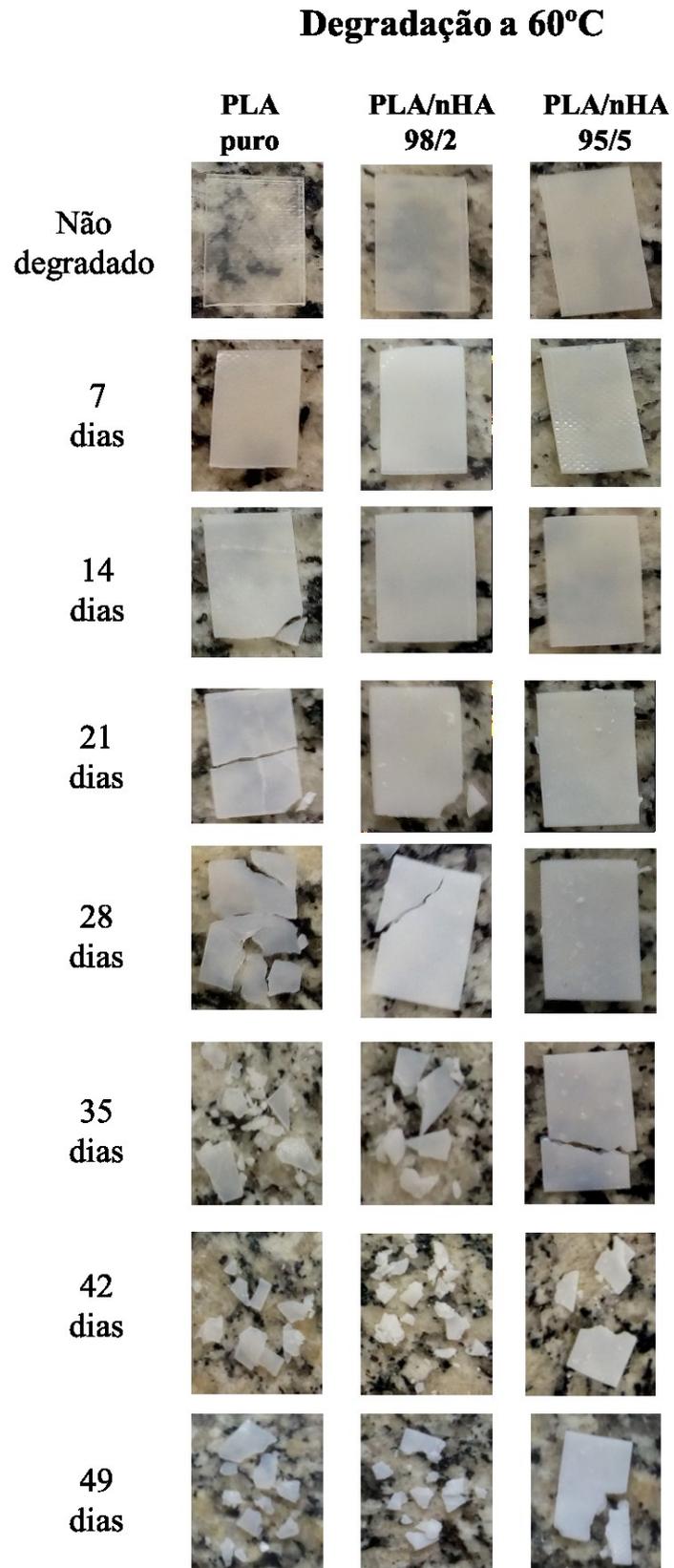
Por sua vez, na figura 43 é apresentada as amostras degradadas a 37°C. Nenhuma das amostras quebrou, porém as amostras de PLA puro começaram a ficar opacas após 210 dias de degradação. Essa evidência está de acordo com os dados obtidos por DSC, que apresentou desaparecimento do duplo pico de fusão após 210 dias. O pico endotérmico único de fusão após degradação hidrolítica pode indicar que durante o processo ocorreu um rearranjo molecular, e uma estrutura cristalina foi formada (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005). As amostras degradadas a 37°C não quebraram, pois a degradação da matriz PLA fica restrita à sua superfície em temperaturas de degradação menores que a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) do PLA (ELSAWY et al., 2017). As amostras degradadas em temperaturas próximas ou maiores que a  $T_g$  também apresentaram erosão interna e, por isso, quebraram.

Figura 40 - Amostras degradadas a 72°C



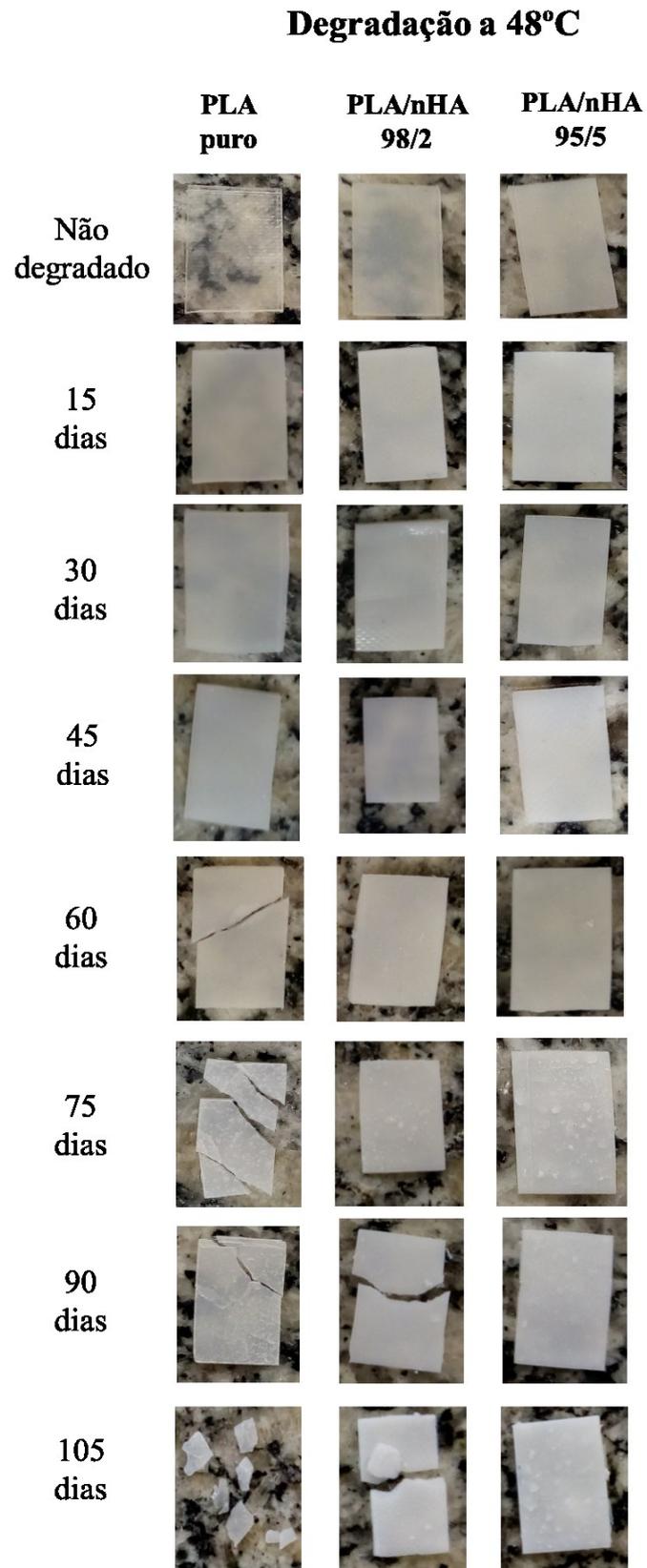
Fonte: Autor

Figura 41 - Amostras degradadas a 60°C



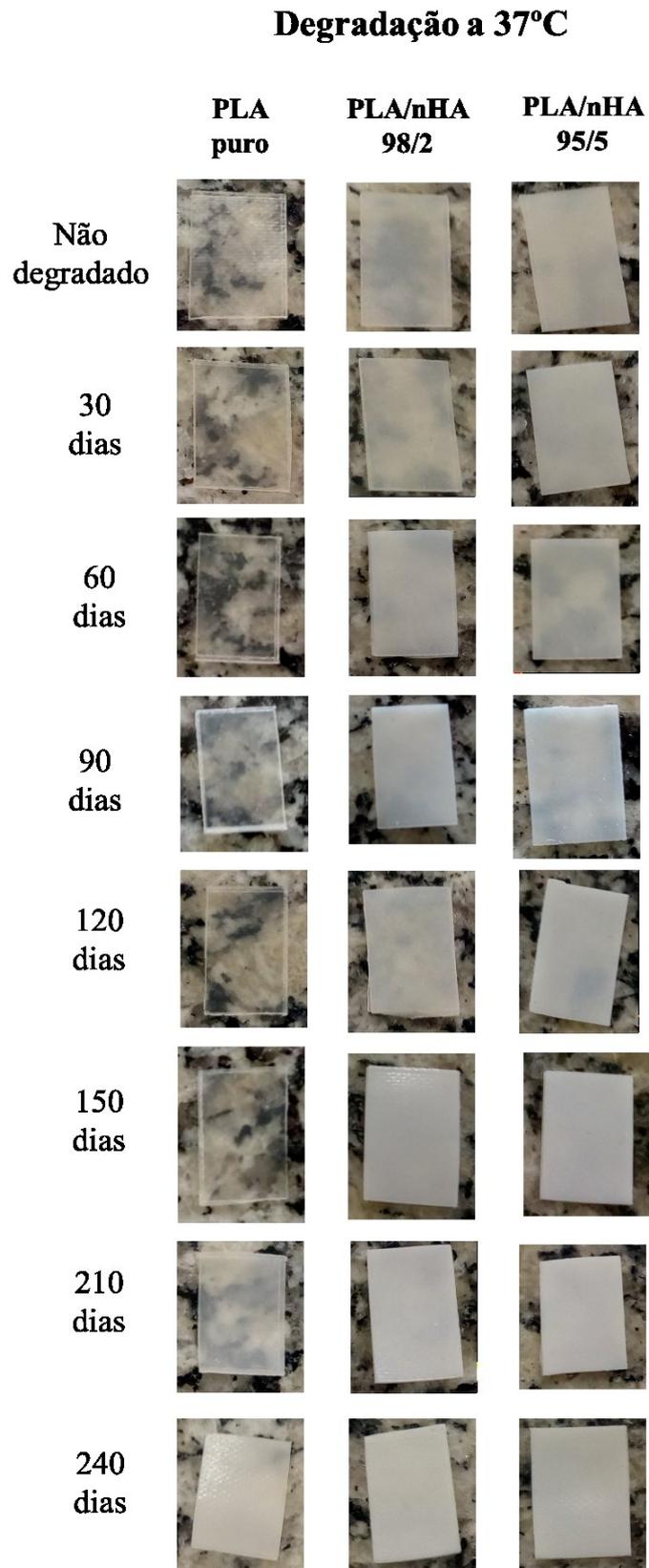
Fonte: Autor

Figura 42 - Amostras degradadas a 48°C



Fonte: Autor

Figura 43 - Amostras degradadas a 37°C



Fonte: Autor

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO

Neste capítulo serão apresentadas as considerações e conclusões dos resultados obtidos nesse trabalho. No final, uma conclusão geral será apresentada.

### 5.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os compostos apresentaram perda de massa significativa maior nos ensaios a 72 e 60°C do que no de 48°C, devido à temperatura de ensaios relativamente mais elevadas e diminuição da  $T_g$  do PLA durante a degradação hidrolítica, facilitando a difusão da água e cisão das cadeias.

Foi observado a influência da adição da nHA na degradação hidrolítica do PLA, que provavelmente absorveu a água e dificultou a difusão da água para a matriz polimérica, comprometendo a degradação nos compostos PLA/nHA. Além disso, uma hipótese que explicou a perda de massa menor é que a nanocarga pode ter dificultado a saída de oligômeros para a solução.

Segundo o modelo de Arrhenius, verificou-se que a energia de ativação do PLA puro é menor que as dos compostos PLA/nHA e, portanto, sua perda de massa de 20% será mais rápida. Também se verificou que o PLA puro teria uma perda de 20% em massa após 241 dias, porém, mesmo após 240 dias de ensaio nesse trabalho, o material ainda não apresentou perda de massa. Como essa degradação está abaixo da  $T_g$  do PLA, provavelmente o comportamento de degradação não siga a mesma equação obtida para temperaturas acima ou próximas da  $T_g$ .

Temperaturas maiores influenciam na absorção de água dos compostos, pois podem ter facilitado a difusão da água, por estarem mais próximas e acima da  $T_g$  do PLA.

Nos ensaios de DSC, a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) de todos os compostos diminuiu nas curvas de DSC ao longo da degradação, por conta da cisão hidrolítica das ligações ésteres das cadeias poliméricas, que leva à diminuição da massa molar do polímero, resultando em aumento da mobilidade das cadeias e diminuição da  $T_g$ . Além disso, a água e os oligômeros de ácido láctico podem funcionar como plastificante no PLA.

Em todos os compostos foi observado um desaparecimento da temperatura de cristalização a frio ( $T_c$ ) após degradação hidrolítica, com exceção dos compostos ensaiados a 37°C, provavelmente devido à modificação da estrutura cristalina do PLA durante a degradação, o que levou a um aumento na cristalinidade dessas composições.

Foi observado que, para todos os compostos estudados após degradação hidrolítica o comportamento característico de dupla fusão na curva de DSC deu lugar a um pico endotérmico

único de fusão, indicando que durante a degradação hidrolítica, moléculas dos cristais menores e menos ordenados podem ter sofrido um rearranjo, dando lugar a uma estrutura cristalina com cristais menos perfeitos.

Houve um aumento da porcentagem de cristalinidade com o tempo de degradação para todos os compostos estudados. Esse aumento pode estar relacionado ao rearranjo das cadeias do PLA durante o processo de degradação, formando cristais, e também a degradação das regiões amorfas do PLA.

Na análise gráfica da evolução da cristalização em função da perda de massa foi observada uma tendência para as amostras com uma inclinação bem maior que 1 no início dos testes, indicando que, além do efeito da degradação das regiões amorfas, a cristalinidade também aumenta significativamente com a cristalização dessas regiões. Em tempos maiores, a inclinação tende a ser próxima a 1 indicando que, nesta fase, o grau de cristalinidade aumentou devido a degradação das regiões amorfas. Nos últimos tempos avaliados, a inclinação menor que 1 pode indicar que as regiões cristalinas também foram degradadas.

Padrões típicos dos planos cristalinos do PLA e da nano-hidroxiapatita foram observados para os compostos antes e após passarem por degradação.

Por meio da análise visual das amostras, foi possível observar sinais de degradação como fissuras e quebra das placas para todos os compostos após degradação.

## 5.2 CONCLUSÕES

O estudo da influência da adição da nano-hidroxiapatita na degradação hidrolítica do PLA foi importante para compreender o comportamento desses compostos em um meio simulando o corpo humano. Com o aumento da temperatura de ensaio, foi possível prever resultados que seriam possíveis apenas em longos tempos de ensaio de degradação *in vitro*. Esse trabalho tem sido importante para compreender a cristalização, comportamento térmico e morfologia do PLA e do PLA/nHA, características essenciais para saber se o material é mais resistente e se pode ser utilizado em certas aplicações biomédicas, como implantes e *scaffolds*.

O comportamento térmico e morfologia são influenciados pela adição de nano-hidroxiapatita, comprovado pela menor perda de massa e menores porcentagens de cristalinidade, quando comparado ao PLA puro.

Os compostos estudados apresentaram sinais de degradação no sistema de degradação *in vitro* e, portanto, apresentam potencial para serem utilizados em aplicação em que a biodegradação seja necessária, como suturas, matriz para liberação controlada de fármacos,

implantes temporários e suportes para crescimento celular na engenharia de tecidos (*scaffolds*). Como a nano-hidroxiapatita promove a osteocondução além da biocompatibilidade, compostos de PLA/nHA podem ser utilizados em implantes temporários e scaffolds. Assim, pode-se concluir que esses materiais possuem potencial como biomateriais, desde que processados de forma a garantir o maior grau de pureza possível.

### 5.3 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Avaliação da perda de massa molar média por cromatografia de permeação em gel (GPC).

Ensaio de degradação hidrolítica entre 37 e 48°C para verificação da perda de massa molar média em função do tempo em temperaturas menores que a  $T_g$  do PLA.

## REFERÊNCIAS

- AKINDOYO, J. O.; BEG, M. D. H.; GHAZALI, S.; HEIN, H. P. Impact modified PLA-hydroxyapatite composites – Thermo-mechanicals properties. **Composites Part A**, v. 107, p. 326 – 333, Elsevier, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2018.01.017>>. Acesso em: 10 ago. 2018.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS. **ASTM F1635 – 16**. Standard test method for *in vitro* Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants, 2016. Disponível em: <[https://compass-astm.ez328.periodicos.capes.gov.br/EDIT/html\\_annot.cgi?F1635+16](https://compass-astm.ez328.periodicos.capes.gov.br/EDIT/html_annot.cgi?F1635+16)>. Acesso em: 10 ago. 2018.
- ARBOLEDA, A.; FRANCO, M.; CAICEDO, J.; TIRADO, L.; GOYES, C. Synthesis and chemical and structural characterization of hydroxyapatite obtained from eggshell and tricalcium phosphate. **Ingeniería y Competitividad**, v.18, n. 1, p. 71 – 78, 2016. Disponível em: <[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-30332016000100007&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-30332016000100007&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 04 out. 2018.
- ARMENTANO, I.; BITINIS, N.; FORTUNATI, E.; MATTIOLI, S.; RESCIGNANO, N.; VERDEJO, R.; LOPEZ-MANCHADO, M.A.; KENNY, J.M. Multifunctional nanostructured PLA materials for packaging and tissue engineering. **Progress in Polymer Science**, v. 38, p. 1720 – 1747, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.05.010>> Acesso em: 12 ago. 2018.
- BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A. C.; DUEK, E. A. R. Polímeros Bioreabsorvíveis na Engenharia de Tecidos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 1. ., p. 13 – 21.2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-14282005000100006&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282005000100006&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 04 out. 2018.
- CALLISTER, W. D.; RETHWISCH, D. G. **Ciência e engenharia de materiais: uma introdução**. Tradução Sérgio Murilo Stamile Soares. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.
- CARRASCO, F., PAGÈS, P., GÁMEZ-PÉREZ, J., SANTANA, O.O., MASPOCH, M.L. Processing of poly(lactic acid): characterization of chemical structure, thermal stability and mechanical properties. **Polymer Degradation and Stability**. p. 116 – 125, Elsevier, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2009.11.045>>. Acesso em: 12 ago. 2018.
- CARVALHO, P.S.P., BASSI, A.P.F., PEREIRA, L.A.V.D. Revisão e proposta de nomenclatura para os biomateriais. **Revista Implant News**, São Paulo, VM Comunicações, v. 1, n. 3, p. 255-260, 2004. Disponível em: <[http://bdpi.usp.br/single.php?\\_id=001603385](http://bdpi.usp.br/single.php?_id=001603385)>. Acesso em: 12 ago. 2018.
- CASTRO-AGUIRRE, E., IÑIGUEZ-FRANCO, F.; SAMSUDIN, H.; FANG, X.; AURAS, R. Poly(lactic acid) – Mass production, processing, industrial applications, and end of life. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 107, p. 333 – 366, Elsevier, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.03.010>>. Acesso em: 05 ago. 2018.

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**. V.4.3. p. 29 – 38, 2009. Disponível em: <[www2.ufcg.edu.br/revista-remap/index.php/REMAP/article/download/105/123](http://www2.ufcg.edu.br/revista-remap/index.php/REMAP/article/download/105/123)>. Acesso em: 20 jul. 2018.

DAVACHI, S. M.; KAFFASHI, B.; TORABINEJAD, B.; ZAMANIAN, A. In-vitro investigation and hydrolytic degradation of antibacterial nanocomposites based on PLLA/triclosan/nano-hydroxyapatite. **Polymer**, v. 83, p. 101 – 110, Elsevier, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2015.12.015>>. Acesso em: 04 out. 2018.

DÍAZ, E.; SANDONIS, I.; VALLE, M. B. In vitro degradation of Poly(caprolactone)/nHA composites. **Journal of Nanomaterials**, p. 1 – 8, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2014/802435>>. Acesso em 10 out. 2018.

DOMENEK, S.; COURGNEAU, C.; DUCRUET, V. Characteristics and Applications of Poly(lactide). In: KALIA, Susheel; AVÉROUS, Luc. **Biopolymers: Biomedical and Environmental Applications**. Salem, MA: Scrivener Publishing, 2011. P. 183 – 217.

ELSAWY, M. A.; KIM, K.; PARK, J.; DEEP, A. Hydrolytic degradation of polylactic acid (PLA) and its composites. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, p. 1346 – 1352, Elsevier, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.143>>. Acesso em: 08 ago. 2018.

EUROPEAN SOCIETY FOR BIOMATERIALS. Disponível em: <<http://esbiomaterials.eu/Cms/Content/5>>. Acesso em: 12 jul. 2018.

FAN, Y., NISHIDA H., SHIRAI, Y., TOKIWA, Y., ENDO, T. Thermal behaviour of poly(lactic acid) stereocomplex. **Polymer Degradation and Stability**. Elsevier, p. 197 – 208, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2004.03.001>>. Acesso em> 26 jun. 2018.

FIHRI, A.; LEN, C.; VARMA, R. S.; SOLHY, A. Hydroxyapatite: A review of syntheses, structure and applications in heterogeneous catalysis. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 347. P. 48 – 76, Elsevier, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.06.009>>. Acesso em: 08 ago. 2018.

FUKUSHIMA, K.; TABUANI, D.; DOTTORI, M.; ARMENTANO, I.; KENNY, J. M.; CAMINO, G. Effect of temperature and nanoparticle type on hydrolytic degradation of poly(lactic acid) nanocomposites. **Polymer Degradation and Stability**, v. 96, p. 2120 – 2129, Elsevier, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2011.09.018>>. Acesso em: 10 ago. 2018.

GORRASI, G; PANTANI, R. Effect of PLA grades and morphologies on hydrolytic degradation at composting temperature: Assesment of structural modification and kinetic parameters. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, p. 1006 – 1014, Elsevier, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2013.02.005>>. Acesso em: 15 ago. 2018.

HOUSECROFT, C. E.; CONSTABLE, E. C. **CHEMISTRY: An introduction to Organic, Inorganic and Physical Chemistry**. 3. ed. England: Person Education Limited, 2006.

HUANG, Y.; CHEN F.; PAN Y.; CHEN, Chong; JIANG, Long; DAN, Yi. Effect of hydrophobic fluoropolymer and crystallinity on the hydrolytic degradation of poly(lactic acid). **European Polymer Journal**, v. 97, p. 308 – 318, Elsevier, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.09.044>>. Acesso em: 06 out. 2018.

HUANG, Y.; ZHANG, C.; PAN, Y.; ZHOU, Y.; JIANG L., DAN, Y. Effect of NR on the hydrolytic degradation of PLA. **Polymer Degradation and Stability**. Elsevier, p. 943 – 950, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2013.02.018>>. Acesso em: 06 out. 2018.

JAHNO, V. D. **Síntese e caracterização do Poli(L-ácido láctico) para uso como biomaterial**. 2005. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais – PPGEM. Porto Alegre. 2005. p. 10 – 12. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/6945/000492758.pdf>>. Acesso em> 05 out. 2018.

LASPRILLA, A. J.R., MARTINEZ, G. A. R., LUNELLI, B. H., JARDINI, A. L., MACIEL FILHO, R. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices – A review. **Biotechnology Advances**, v. 30, p. 321 – 328, Elsevier, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.06.019>>. Acesso em: 05 out. 2018.

LI, H.; HUNEAULT, M. A. Effect of nucleation and plasticization on the crystallization of poly(lactic acid). **Polymer**, v.48, Issue 23, p 6855 – 6866, Elsevier, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2007.09.020>>. Acesso em 20 jun. 2018.

LI, C.; WANG, F.; CHEN, P.; ZHANG, Z.; GUIDOIN, R.; WANG, L. Preventing collapsing of vascular scaffolds: The mechanical behavior of PLA/PCL composite structure prostheses during in vitro degradation. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 75, p. 455 – 462, Elsevier, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.08.015>>. Acesso em: 20 jun. 2018.

LIM, L.T.; AURAS, R; RUBINO, M. Processing Technologies for poly (lactic acid). **Progress in Polymer Science**, v. 33, p. 821 – 823, Elsevier, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.05.004>>. Acesso em: 17 mai. 2018.

LOPES, M.S., JARDINI, A.L., MACIEL FILHO, R. Poly (lactic acid) production for tissue engineering applications. **Procedia Engineering**, p. 1402 – 1413, Elsevier, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.proeng.2012.07.534>>. Acesso em: 17 mai. 2018.

LUO, Y.; WANG, X.; WANG, Y. Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on the long-term hydrolytic degradation behaviour of PLA. **Polymer Degradation and Stability**, v. 97, p. 721 – 728, Elsevier, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2012.02.011>>. Acesso em: 09 mar. 2018.

MCMURRY, J. **Química orgânica**. reimpr. da 2 ed. brasileira de 2011. São Paulo: Cengage Learning, 2014.

MORRISON, R. T.; BOYD, R. N. **Organic Chemistry**. 6. Ed. New Jersey: Prentice-Hall Inc., 2002.

MOTTA, A.C.; DUEK, E.A.R.. Síntese, caracterização e degradação “in vitro” do poli( L-ácido láctico-co-ácido glicólico). **Revista Matéria**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 3, p. 340 – 350, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1517-70762006000300024>>. Acesso em: 06 out. 2018.

MURARIU, M.; DUBOIS, P. PLA composites: From production to properties. **Advanced Drug Delivery Reviews**, V. 107, P. 17 – 46, Elsevier, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.003>>. Acesso em: 05 out. 2018.

NAMPOOTHIRI, K. M.; NAIR, N. R.; JOHN, R. P. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 8494 – 8495, Elsevier, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.05.092>>. Acesso em: 17 nov. 2018.

ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. de M.; MANSUR, H. S. **Biomateriais: fundamentos e aplicações**. 2. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2012.

PARK, J. B.; LAKES, R. S.; **Biomaterials: an introduction**. 3° Edição, Springer, New York, 2007.

PEREIRA, R. B.; MORALES, A. R. Estudo do comportamento térmico e mecânico do PLA modificado com aditivo nucleante e modificador de impacto. **Polímeros**, São Carlos, v. 24, n. 2, p. 198-202, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4322/polimeros.2014.042>>. Acesso em: 08 ago. 2018.

PEZZIN, A. P. T.; ZAVAGLIA, C. A. C.; DUEK, E. A. R. Estudo da degradação *in vitro* de blendas de Poli (p-dioxanona)/Poli(l-Ácido Láctico) (PPD/PLLA) preparadas por evaporação de solvente. **Polímeros: Ciência e tecnologia**, São Carlos, v. 12, n. 4, p. 285-294, 2002. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0104-14282002000400012>>. Acesso em: 09 out. 2018.

PICCIRILLO, C.; CASTRO, P. M. L. Calcium hydroxyapatite-based photocatalysts for environment remediation: Characteristics, performances and future perspectives. **Journal of Environmental Management**, v. 193, p 79 – 91, Elsevier, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.01.071>>. Acesso em: 03 ago. 2018.

RIBEIRO NETO, W. A.; PEREIRA, I. H. L.; AYRES, E.; DE PAULA, A. C. C.; AVEROUS, L.; GÓES, A. M.; ORÉFICE, R. L.; BRETAS, R. E. S. Influence of the microstructure and mechanical strength of nanofibers of biodegradable polymers with hydroxyapatite in stem cells growth. Electrospinning, characterization and cell viability. **Polymer Degradation and Stability**, v. 97, p. 2037 – 2051, Elsevier, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2012.03.048>>. Acesso em: 07 fev. 2018.

RIGO, E.C.D.S., GEHRKE, S.A., CARBONARI, M. Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação. **Rev. Dental Press Periodontia Implantol**, v.1, n.3. p. 39 – 50, 2007. Disponível em:

<<http://www.bionnovation.com.br/downloads/artigos/S%C3%ADntese%20e%20caracteriza%C3%A7%C3%A3o%20de%20hidroxiapatita.pdf>>. Acesso em: 08 out. 2018.

SADAT-SHOJAI, M.; KHORASANI, M.; DINPANAHI-KHOSHDARGI, E.; JAMSHIDI, A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. **Acta Biomaterialia**, v. 9, p. 7591 – 7621, Elsevier, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.04.012>>. Acesso em: 05 out. 2018.

SAEIDLOU, S.; HUNEAULT, M. A.; LI, H.; SAMMUT, P.; PARK, C. B. Evidence of a dual network/spherulitic crystalline morphology in PLA stereocomplexes. **Polymer**, p. 5816 – 5817, Elsevier, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2012.10.030>>. Acesso em: 04 out. 2018.

SAEIDLOU, S.; HUNEAULT, M. A.; LI, H.; PARK, C. B. Poly (lactic acid) crystallization. **Progress in Polymer Science**, v. 37, p. 1657 – 1677, Elsevier, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.07.005>>. Acesso em: 13 jan. 2018.

SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C.B. **Química orgânica: Volume 2**. 10 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

SONG, Y.; TASHIRO, K.; DING, X.; YUEZHEN, B. Crystallization behavior of poly(lactic acid)/microfibrillated cellulose composite. **Polymer**, v.54, Issue 13, p. 3417 – 3425, Elsevier, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2013.04.054>>. Acesso em: 13 jan. 2018.

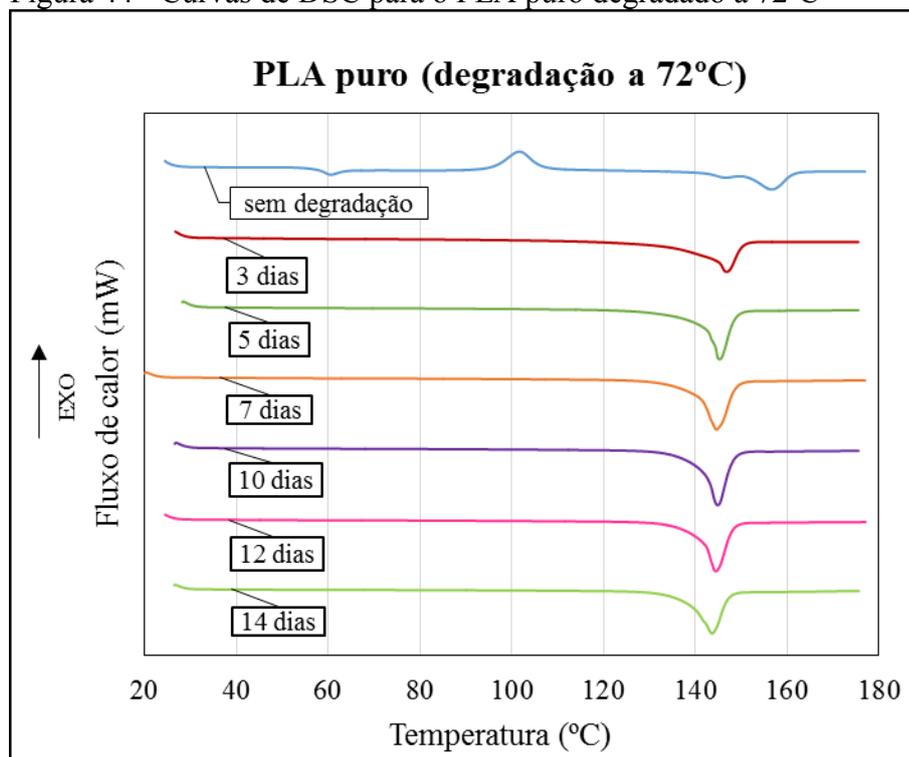
SZCZEŚ, Aleksandra; HOLYSZ, Lucyna; CHIBOWSKI, Emil. Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 249, p. 321 – 330, Elsevier, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.04.007>>. Acesso em: 15 ago. 2018.

TANIGUCHI, Masaharu. **O livro dos jovens**. 29. ed. São Paulo: Seicho-no-ie do Brasil, 2004.

WANG, Xiaoxi; KUMAR, Vipin; LI, Wei. Development of crystallization in PLA during solid-state foaming process using sub-critical CO<sub>2</sub>. **Cellular Polymers**, v. 31, Issue 1, p. 1 – 18, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/026248931203100101>>. Acesso em: 14 mai. 2018.

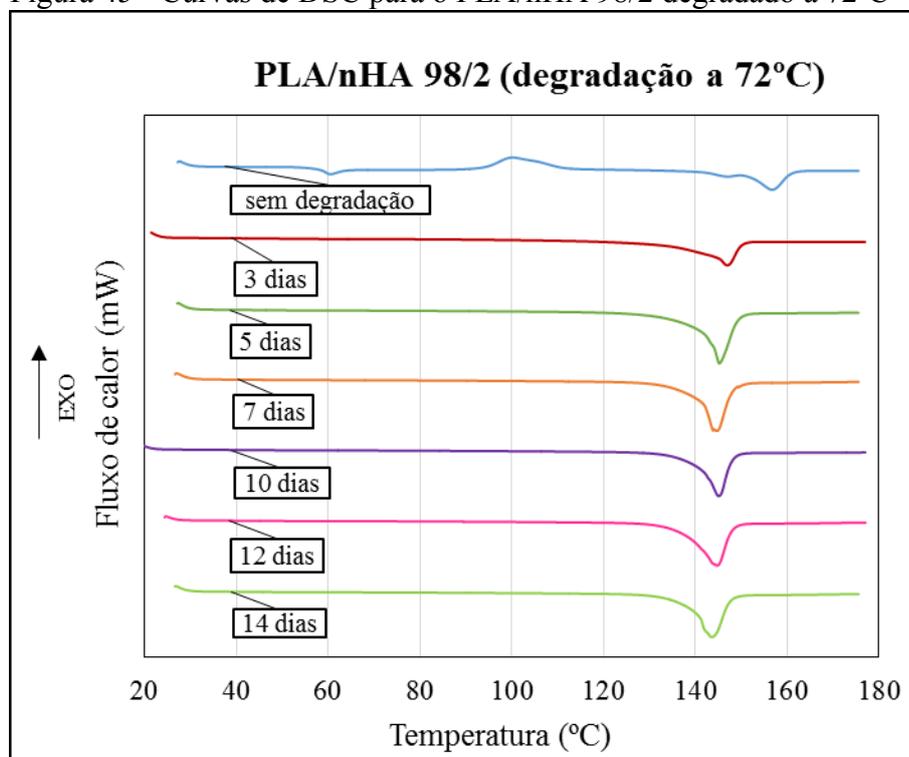
## **APÊNDICE A – CURVAS DE DSC**

Figura 44 - Curvas de DSC para o PLA puro degradado a 72°C



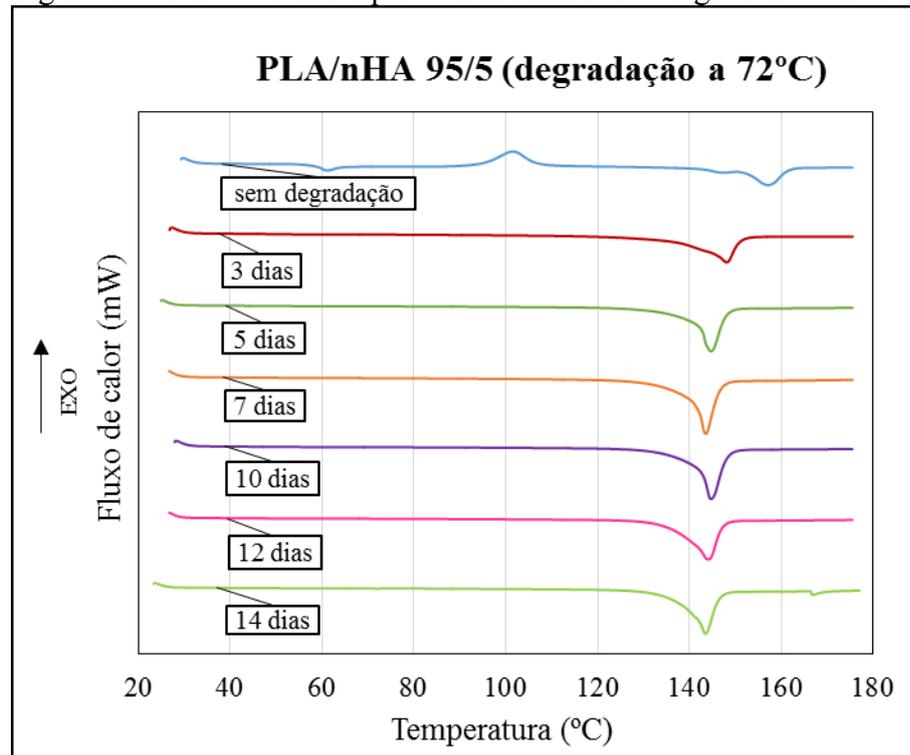
Fonte: Autor

Figura 45 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 98/2 degradado a 72°C



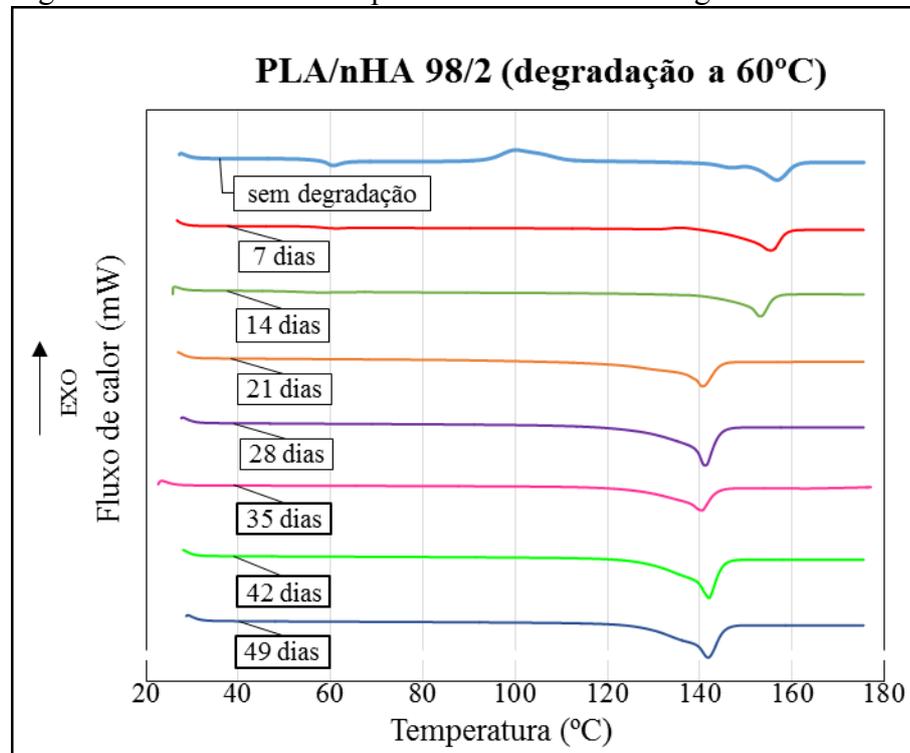
Fonte: Autor

Figura 46 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 95/5 degradado a 72°C



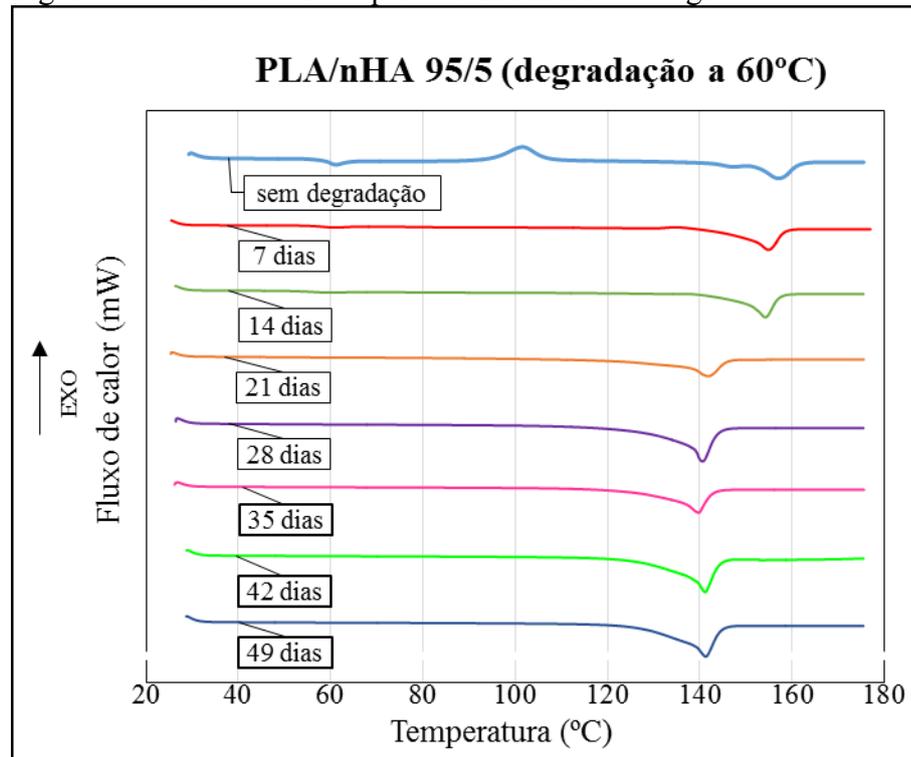
Fonte: Autor

Figura 47 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 98/2 degradado a 60°C



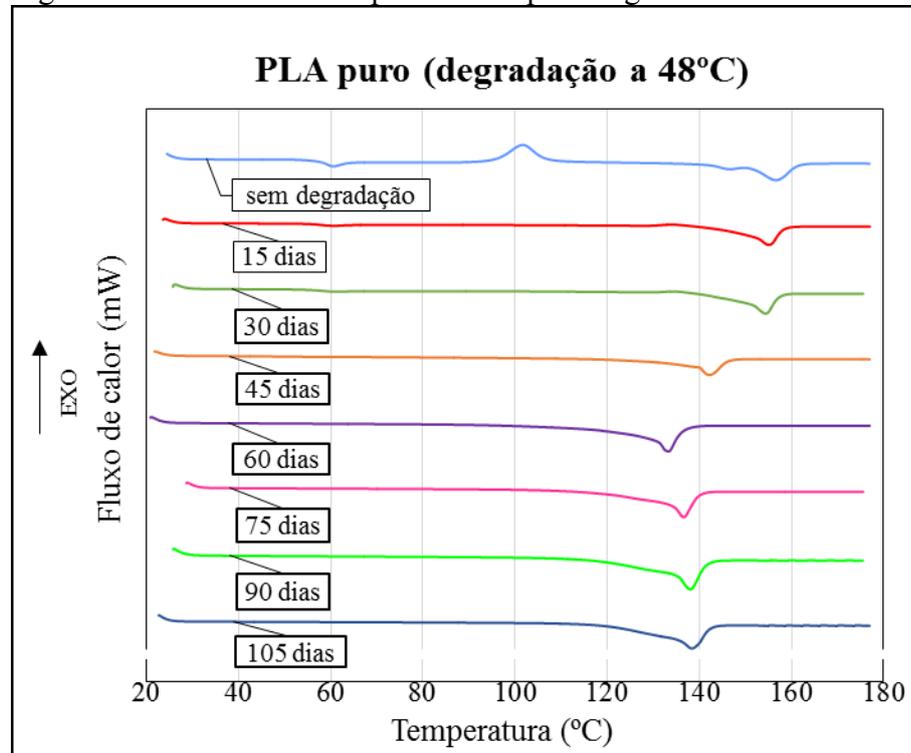
Fonte: Autor

Figura 48 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 95/5degradado a 60°C



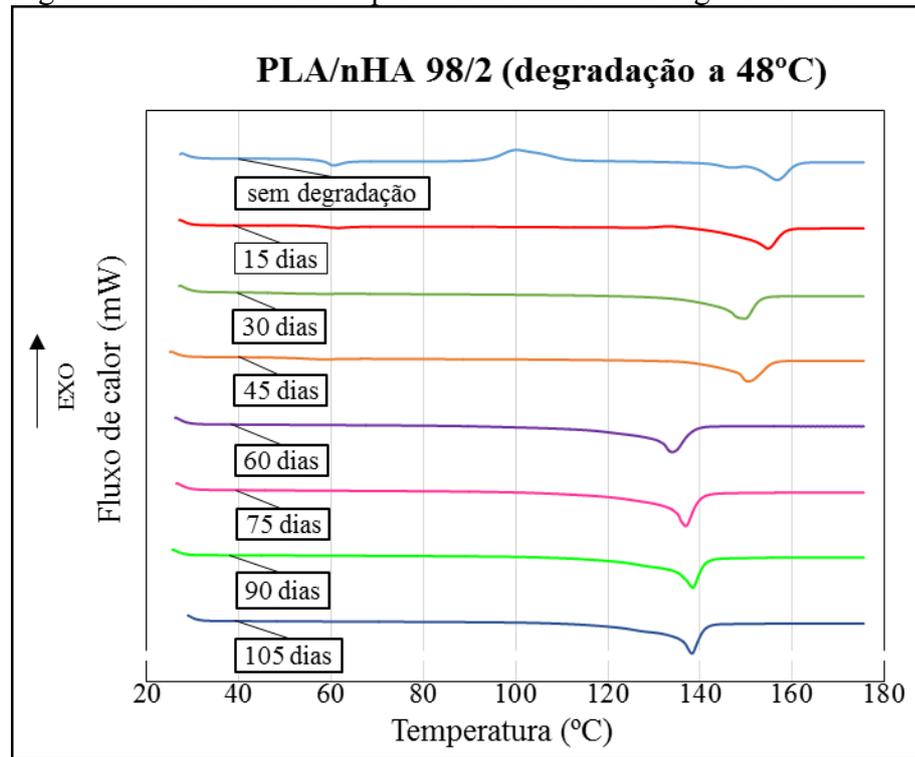
Fonte: Autor

Figura 49 - Curvas de DSC para o PLA puro degradado a 48°C



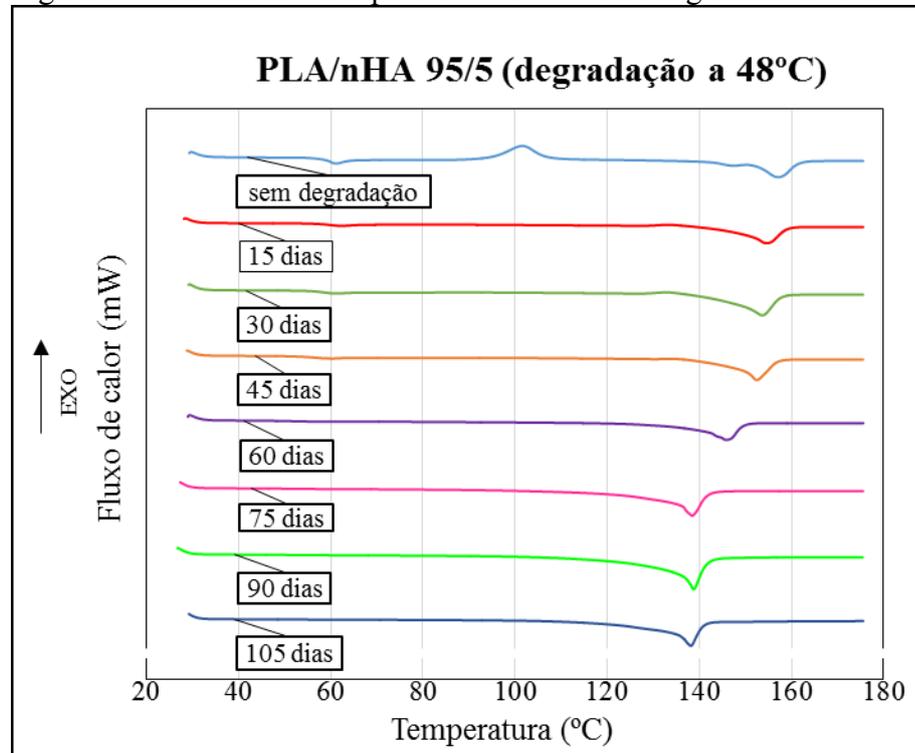
Fonte: Autor

Figura 50 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 98/2 degradado a 48°C



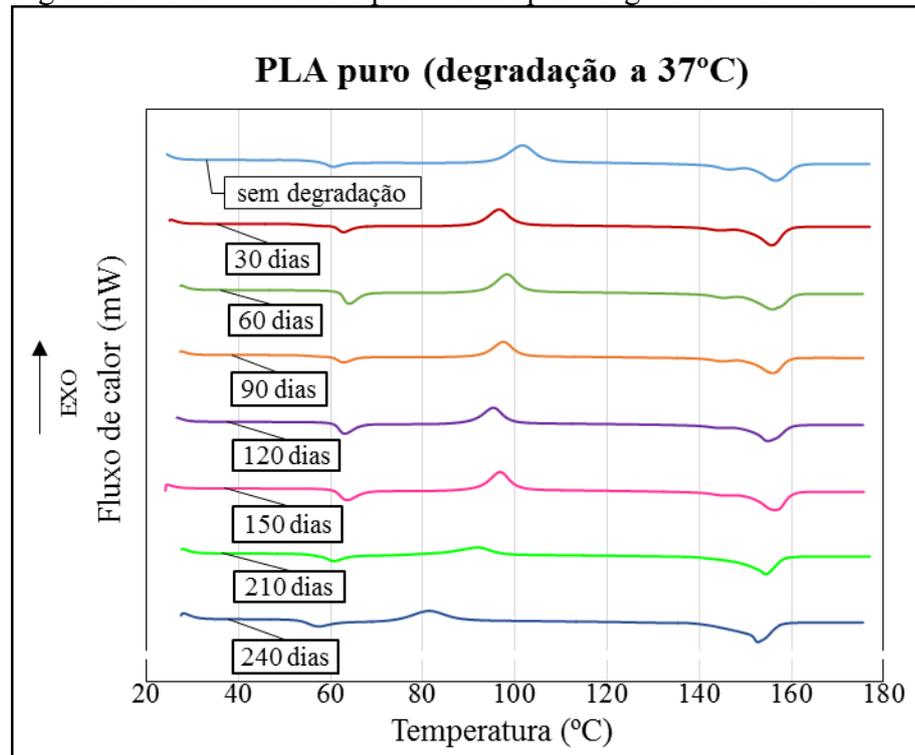
Fonte: Autor

Figura 51 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 95/5 degradado a 48°C



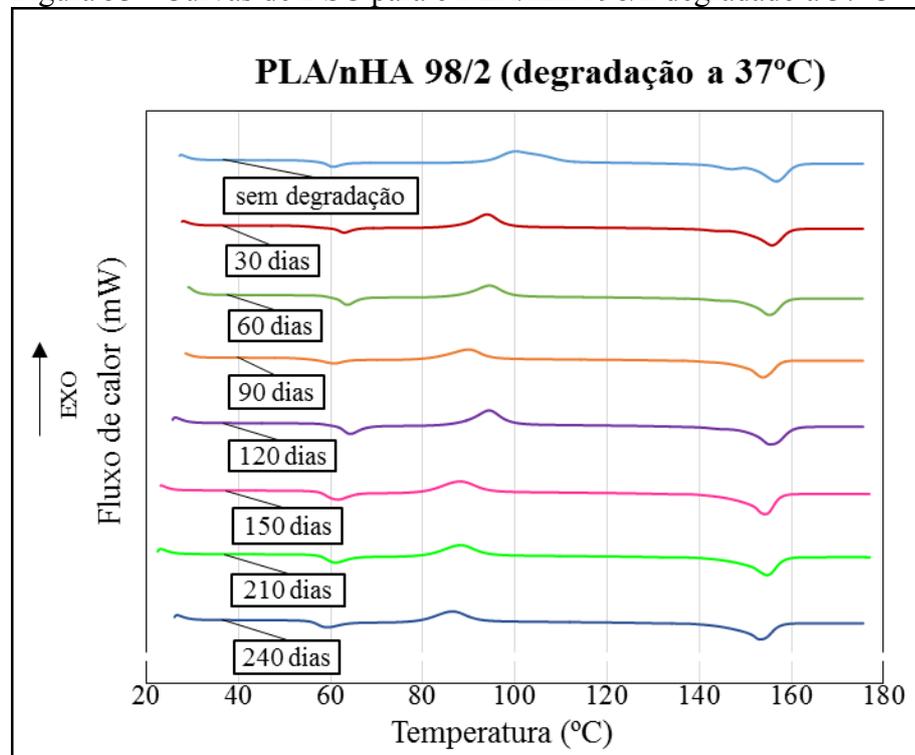
Fonte: Autor

Figura 52 - Curvas de DSC para o PLA puro degradado a 37°C



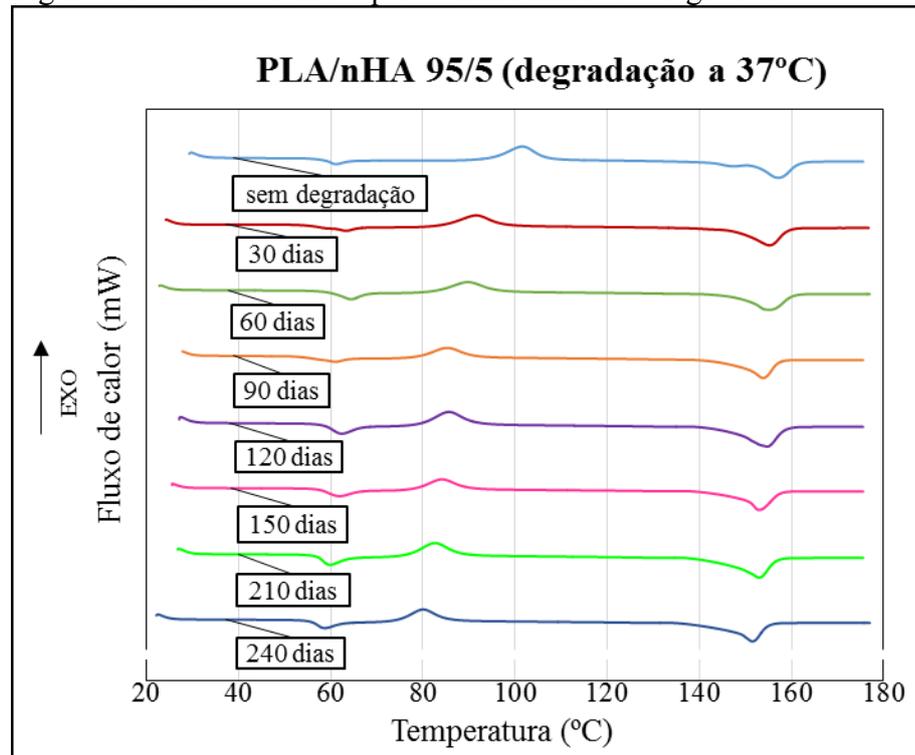
Fonte: Autor

Figura 53 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 98/2 degradado a 37°C



Fonte: Autor

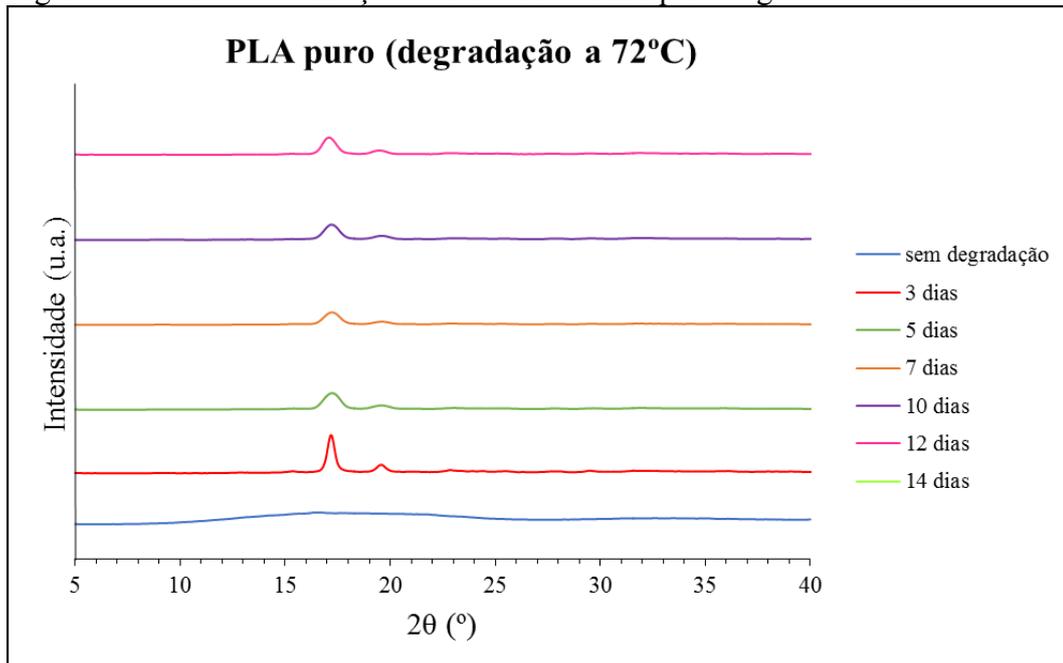
Figura 54 - Curvas de DSC para o PLA/nHA 95/5 degradado a 37°C



Fonte: Autor

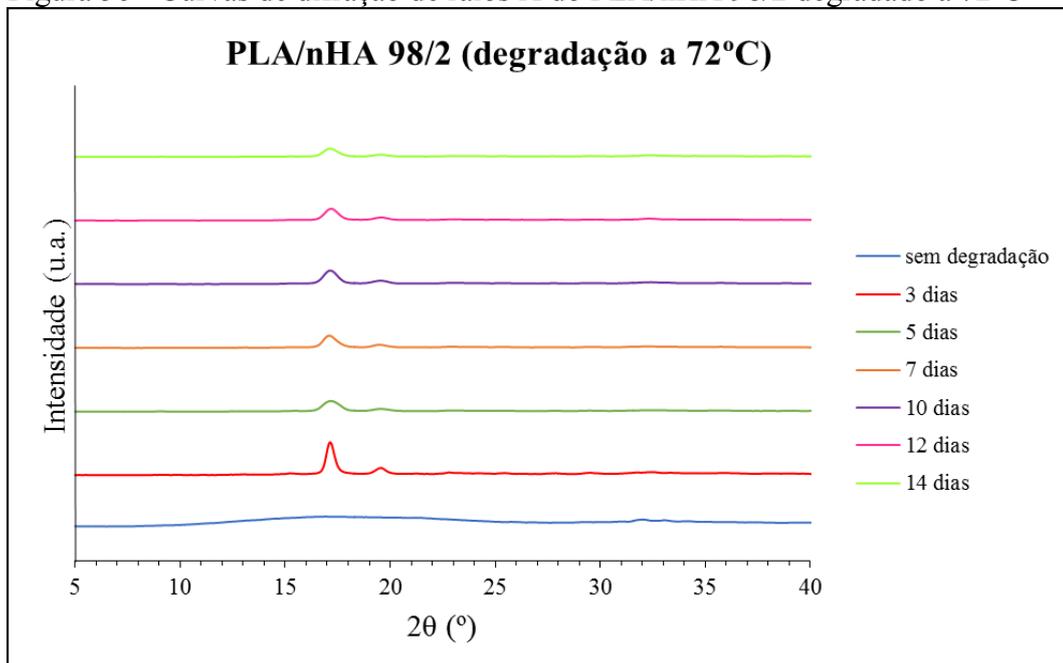
## **APÊNDICE B – CURVAS DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X**

Figura 55 - Curvas de difração de raios X do PLA puro degradado a 72°C



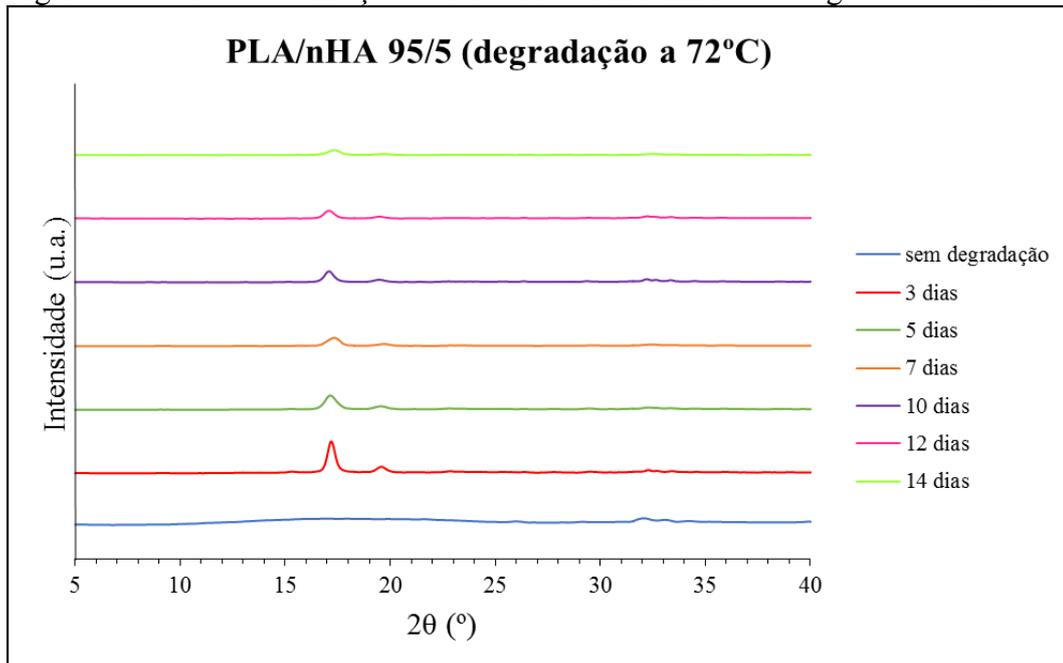
Fonte: Autor

Figura 56 - Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 98/2 degradado a 72°C



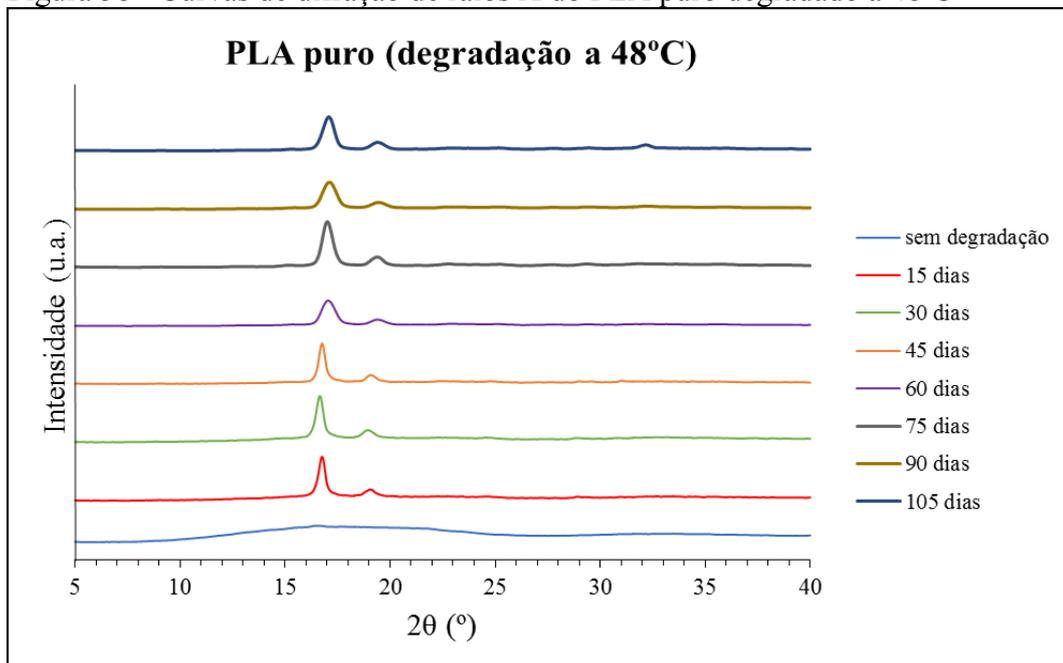
Fonte: Autor

Figura 57 - Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 95/5 degradado a 72°C



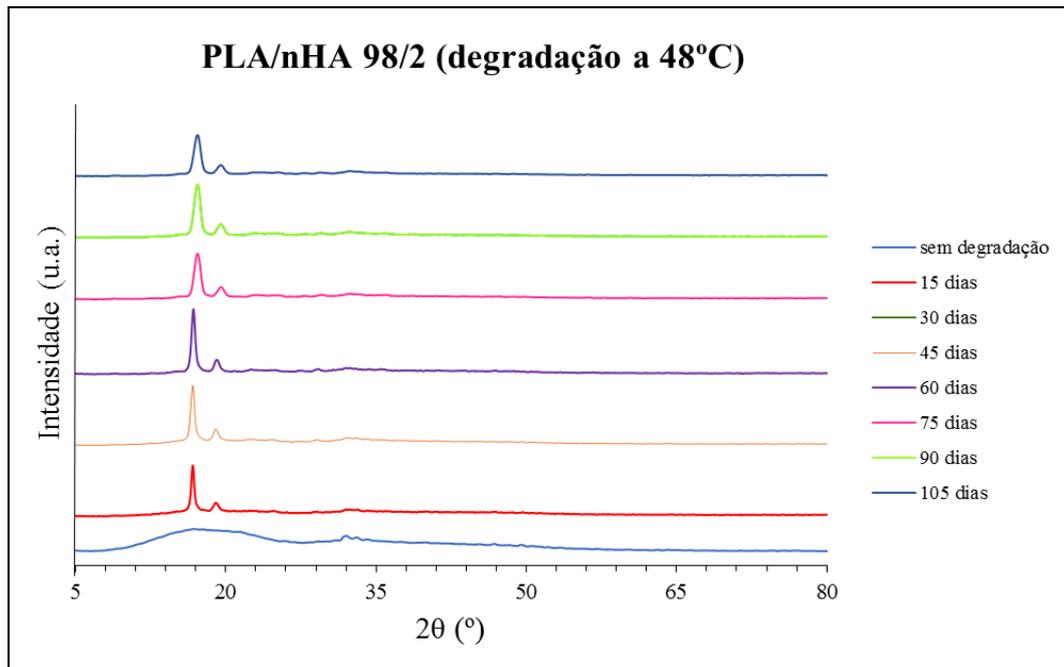
Fonte: Autor

Figura 58 - Curvas de difração de raios X do PLA puro degradado a 48°C



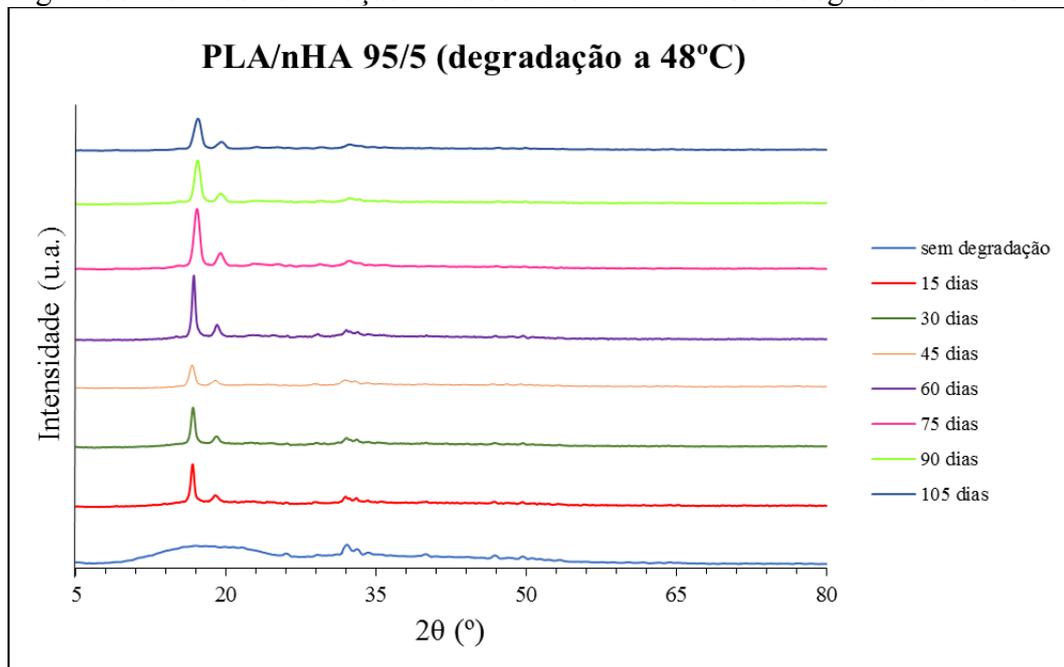
Fonte: Autor

Figura 59 - Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 98/2 degradado a 48°C



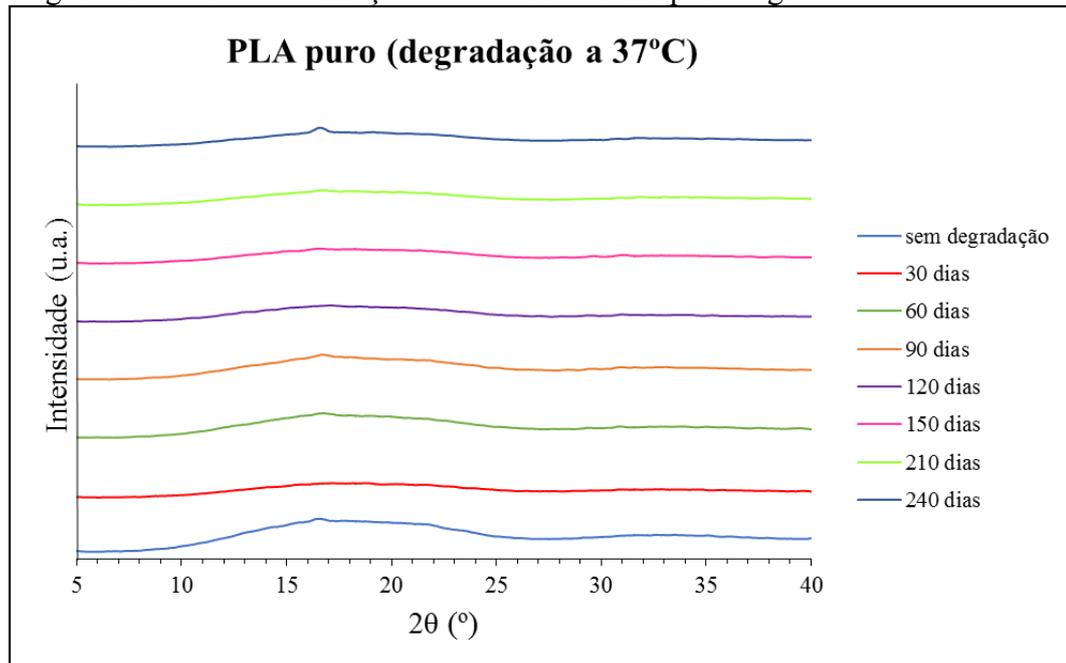
Fonte: Autor

Figura 60 - Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 95/5 degradado a 48°C



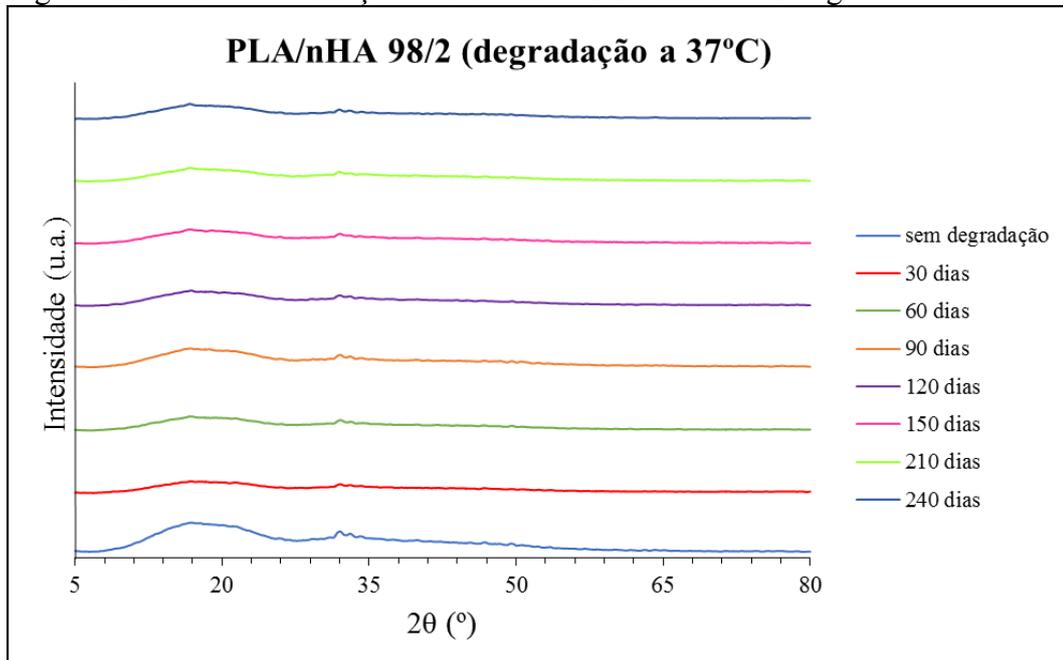
Fonte: Autor

Figura 61 - Curvas de difração de raios X do PLA puro degradado a 37°C



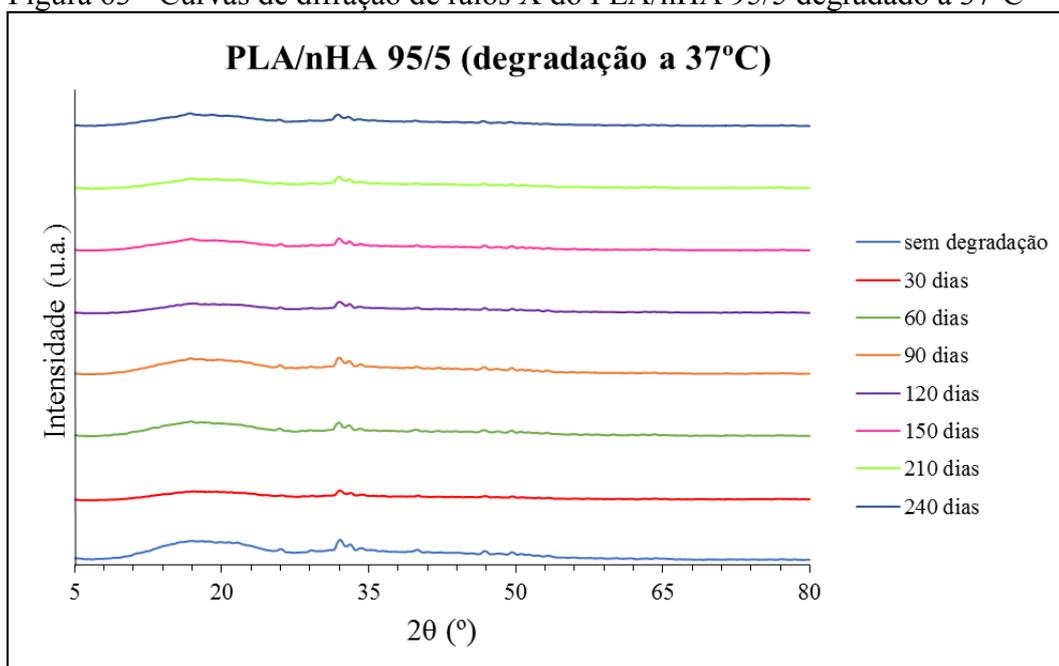
Fonte: Autor

Figura 62 - Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 98/2 degradado a 37°C



Fonte: Autor

Figura 63 - Curvas de difração de raios X do PLA/nHA 95/5 degradado a 37°C



Fonte: Autor