UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ELTON FARIA DE SOUZA LIMA

Materiais híbridos obtidos via fixação de CO₂ com potencial para serem empregados como biomateriais: obtenção de compósitos de poli(hidroxiuretana)s derivadas de polidimetilsiloxano com fosfato de cálcio

Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências (Área Química).
Área de concentração: Química Analítica e Inorgânica.

Exemplar revisado

O exemplar original encontra-se em
acervo reservado na Biblioteca do IQSC-USP

São Carlos

2020

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese a minha mãe Neuzita Sebastiana Faria, meu irmão Edgar Faria de Souza Lima e a minha avó Sebastiana Rosa da Silva (in memoriam).

*“É necessário sempre acreditar que o sonho é possível
Que o céu é o limite e você, truta, é imbatível
Que o tempo ruim vai passar, é só uma fase
Que o sofrimento alimenta mais a sua coragem”*

A Vida é Desafio – Racionais MC's

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ubirajara Pereira Rodrigues Filho, pela oportunidade de fazer parte do GQMatHI, por toda dedicação, paciência e boa vontade empregada em suas orientações e ensinamentos ao longo desses quatro anos de muitos aprendizados. Tenho plena convicção que a realização desta pesquisa que foi bastante desafiadora, seria muito mais difícil não fosse a sua competência como orientador/pesquisador.

Ao Prof. Dr. Hidetake Imasato, também do GQMatHI, pela colaboração ao longo do desenvolvimento de todo o trabalho.

Aos colegas do GQMatHI Ma. Amanda Pasquoto Perissinotto, Dr. Elias Paiva Ferreira Neto, Me. Mateus B. Simões, Dr. Carlos Alexandre Holanda, Dra. Taína Zampieri Fermino, Me. Guilherme Carvalho Tremiliosi, Dr. Sajjad Ullah, Dr. Florian Steffen Gunther, Juliana Jarussi dos Santos, Caio Menezes Ribeiro Galdiano, Me. Anderson Maida Siqueira Oliveira, Bianca Oliveira Mattos e ao técnico Me. José Augusto Fragale Baio, pelo auxílio nas atividades experimentais e também na interpretação dos resultados dos experimentos.

Ao Me. Johnatan Mucelini do grupo de Teoria Quântica de Nanomateriais do IQSC – USP pelo auxílio na utilização do software VESTA empregado para construção das estruturas cristalinas apresentadas na presente tese.

Ao Prof. Dr. Márcio Luiz dos Santos e a Dra. Tânia A. Pasetti da UNIAN-SP; ao Prof. Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar e a Ma. Renata Pereira da FOP Unicamp; ao Prof. Dr. Iran Malavazi e a Dra. Marina C. Rocha do DGE UFSCar, ao Prof. Dr. Klaus Rischka e a Dra. Maria do Carmo Aguiar Jordão Mainardi do IFAM (Alemanha), pela colaboração nos ensaios de atividade antimicrobiana e citotoxicidade realizados neste estudo.

A Prof. Dra. Ana Maria Guzzi Plepis e a Dra. Virginia da Conceição Amaro Martins do grupo de Bioquímica e Biomateriais do IQSC, pela colaboração com os ensaios do método da imersão alternada em meio aquoso e síntese da Hidroxiapatita.

Ao Prof. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro e a Dra. Ana Paula Garcia Ferreira do LATEQS – IQSC, pela colaboração nas análises térmicas dos materiais.

Ao Prof. Edilson V. Benvenutti do Laboratório de Sólidos e Superfícies do IQ – UFRGS, pela colaboração nas análises de porosimetria dos materiais e interpretação dos resultados.

Ao Prof. Dr. Luiz Alberto Colnago da Embrapa Instrumentação de São Carlos pela parceria nas análises de RMN no estado sólido realizadas no presente estudo.

Ao Prof. Dr. Renato Goulart Jasinevicius da SEM – EESC – USP, pela colaboração nas análises de perfilometria ótica das superfícies de filmes finos estudados na presente pesquisa.

A Prof. Dra. Lidiane Cristina Costa do DEMA UFSCar, pela presteza em colaborar com as análises de microscopia eletrônica de varredura presentes neste trabalho.

Ao Dr. Marcelo Luiz Calegaro da Central de Análises Químicas Instrumentais do IQSC, pela colaboração nas análises de DRX e interpretação dos resultados.

A todos os técnicos da Central de Análises Químicas Instrumentais, à Assistência Administrativa e os funcionários à ela ligados (Manutenção, Oficinas e Limpeza), aos funcionários do Serviço de Pós-Graduação e de Convênios do IQSC que foram muito importantes para o desenvolvimento desse estudo.

Aos Professores do IQSC que ministraram as disciplinas que contribuíram para minha formação profissional e fundamentação teórica empregada nesta pesquisa.

Ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo pela oportunidade de estudar nessa renomada instituição e fazer parte de um curso de excelência em sua área.

A Alexandra Asanovna Elbakyan por seus esforços para proporcionar o livre acesso a ciência por meio da plataforma sci-hub que permite o acesso igualitário as informações científicas a qualquer interessado.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pela bolsa concedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por financiar o projeto de auxílio à pesquisa 2018/19785-1 do Programas de Inovação Tecnológica / PFPMCG - Programa FAPESP de Pesquisa sobre Mudanças Climáticas Globais / PFPMCG - Projeto de Pesquisa - Regular - Fluxo Contínuo cuja temática inclui o trabalho desta Tese.

A todos, os meus mais sinceros agradecimentos!

RESUMO

A busca por novos processos sustentáveis atualmente tem sido tema central dentro do contexto de desenvolvimento de novos materiais, nesse interim, o mesmo direcionamento tem sido empregado em estudos visando a obtenção de novos biomateriais. As poli(hidroxiuretana)s (PHU's) obtidas usando uma metodologia que emprega a rota verde de fixação de CO₂, pode ser uma interessante alternativa para lidar com desafio de produzir materiais poliméricos sustentáveis. Dentro deste contexto, o grupo de Química de Materiais Híbridos e Inorgânicos (GQMatHI) tem realizado pesquisas sobre o desenvolvimento de hidroxiuretanais derivadas de PDMS (PDMSUr) com especial enfoque dado ao desenvolvimento de biomateriais. O objetivo deste trabalho foi desenvolver metodologias de obtenção de compósitos do híbrido PDMSUr com fosfato de cálcio, visando o seu potencial uso na reconstrução e reparação óssea e agente de fixação/adesão de implantes aplicados na odontologia e ou ortopedia. Para tanto uma formulação de PDMSUr foi desenvolvida e três metodologias de obtenção de compósito foram testadas: Método da Mistura Física (MMF), Método da Síntese Reativa (MSR), Método da Imersão Alternada (MIA). Dentre eles o MSR não se mostrou interessante, pois o compósito final apresentou baixo teor de fosfato de cálcio e a matriz polimérica mesmo após a adição do agente reticulante (APTES) não se tornou um sólido (não curou). Os resultados das caracterizações apontam a obtenção dos Compósitos por MMF (Comp MMF) e MIA (Comp MIA) foi alcançada com sucesso. O primeiro método mostra-se adequado para situações nas quais a matriz de PDMSUr ainda não está curada (reticulada). Por sua vez, o MIA é interessante para ser empregado quando o PDMSUr já está reticulado. Diferentemente da metodologia MIA já existente na literatura, no presente estudo reporta-se o primeiro uso deste método em meio não-aquoso para obtenção de fosfatos de cálcio. Essa particularidade dá a vantagem de poder-se mineralizar fosfatos de cálcio no interior de matrizes hidrofóbicas, condição esta que o método original de MIA não contempla. A principal fase de fosfato de cálcio formada no Comp MIA foi o DCPA, uma fase interessante para propósitos de regeneração óssea, consequentemente o Comp MIA tem potencial para ser empregado em estudos com este propósito. As membranas de PDMSUr e Comp MIA apresentaram atividade antimicrobiana para todos microrganismos testados. Além disso, a membrana de PDMSUr no ensaio preliminar de citotoxicidade mostrou-se citocompatível. Desta forma, os materiais desenvolvidos no presente estudo podem passar para as fases posteriores de estudos e validação como materiais híbridos biocompatíveis para aplicações em dispositivos odontológicos e ortopédicos.

Palavras-chave: Poli(hidroxiuretana)s, PDMSUr, fosfato de cálcio, Método da Imersão Alternada, Materiais Híbridos.

ABSTRACT

Nowadays the search for new sustainable processes has been a central theme in the context of developing new materials. In that respect, the same perspective has been used by researches looking for obtaining new biomaterials. Hydroxypolyurethanes (PHU's) obtained using a methodology that uses the green route of CO₂ fixation methodology can be an interesting way to deal with the challenge of producing sustainable polymeric materials. In this regard, the Group of Chemistry of Hybrid and Inorganic Materials (GQMatHI) has carried out research about the development of hydroxyurethanes derived from PDMS (hereafter named PDMSUr) with a special focus on the development of biomaterials. The aim of this work was to develop methodologies for obtaining PDMSUr hybrids with calcium phosphate, aiming at its potential use in bone reconstruction and repair and fixation/adhesion agent of implants applied in dentistry and or orthopedics. For that, a PDMSUr formulation was developed and three methodologies for obtaining composite were tested: Physical Mixing Method (MMF), Reactive Synthesis Method (MSR), Alternating Soaking Method (MIA). Among them, the MSR was not interesting because the final material had a low content of calcium phosphate and the polymeric matrix lost its ability to cure. The characterization results indicate that the Composites were obtained successfully by MMF (Comp MMF) and MIA (Comp MIA). The first method is suitable for situations in which the PDMSUr matrix is not yet cured (reticulated). On the other hand, the MIA is for already reticulated PDMSUr. Unlike the traditional MIA reported in the literature, the present study reports the first non-aqueous MIA protocol. This particularity gives an advantage of being able to mineralize calcium phosphates in hydrophobic matrices, a condition that the original method of MIA does not contemplate. The main calcium phosphate phase formed using MIA protocol was anhydrous dicalcium phosphate (DCPA), which is an interesting phase for bone regeneration applications, therefore the Comp MIA has the potential to be used in studies with this purpose. The PDMSUr and Comp MIA membranes showed antimicrobial activity for all tested microorganisms. In addition, the PDMSUr membrane in the preliminary cytotoxicity assay proved to be cytocompatible. Therefore, the materials developed in the present study are to go to the next testing phase to become a hybrid biocompatible material for orthopedics and orthodontics.

Keywords: Hydroxypolyurethane, PDMSUr, Calcium Phosphate, Alternating Soaking Method, Hybrid Material.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Aumento dos níveis de emissão de CO ₂ ao longo do tempo.....	4
Figura 2 – Algumas rotas sintéticas que empregam CO ₂ como matéria prima para obtenção de compostos orgânicos.	6
Figura 3 – Estrutura geral de um ciclocarbonato.....	7
Figura 4 – Rotas empregando CO ₂ como matéria prima para obtenção de ciclocarbonatos.....	8
Figura 5 – Reação de adição de CO ₂ ao anel epóxido.....	9
Figura 6 – Representação estrutural dos compostos brometo de 1-propil-4-azo-1-azôniobiciclo[2,2,2]octano (P-DABCO) e brometo de tetrapropilamônio (TPA).	10
Figura 7 - Representação estrutural das moléculas de 1,2-epóxi-3-fenoxipropano, EpPP (em azul) e do ciclocarbonato derivado desta, CCepPP (em verde).	10
Figura 8 – Produção de poli(uretana)s via reação entre isocianatos e dióis).....	13
Figura 9 – Representação esquemática da reação de isocianatos com água produzindo uma amina e liberando gás carbônico.	14
Figura 10 - Representação esquemática reação de aminólise do bis ciclocarbonato e seus possíveis produtos.	15
Figura 11 - Representação esquemática da ligação da PDMSUr Dopamina terminada com a superfície metálica de uma liga de titânio. A região dentro do quadrado azul representa os grupos uretânicos, a porção vermelha representa o grupo dopamina da PDMSUr ligada a superfície metálica.....	19
Figura 12 – Estruturas cristalinas dos cristais de Hap e DCPA. As bolas em azul representam os átomos de cálcio, Ca; as bolas em vermelho representam os átomos de oxigênio, O; as bolas em roxo representam os átomos de fósforo, P e as bolas em verde os átomos de hidrogênio, H. Os tetraedros em lilás ajudam a identificar a localização os grupos fosfato.	23
Figura 13 – Representação esquemática da obtenção de compósitos PDMSUr/fosfato de cálcio visando obter materiais com potencial para serem emegados na área biomédica.....	26
Figura 14 - Reator do tipo PARR empregado na síntese do CCPDMS: a) Reator montado para uso, com a manta aquecedora (1) abaixada. (2) mangueira de entrada de gás com sua respectiva válvula. (3) sensor para leitura da pressão. (4) sensor termopar para leitura e controle da temperatura do meio reacional. b) Copo do reator desmontado. (5) cinta e braçadeira metálicas desmontadas. c) Tampa do reator vista de baixo. (6) pás inclinadas (45°) para agitação. (7) tubo metálico para introdução do gás	29
Figura 15 – Representação esquemática do Método da Mistura Física (MMF).	33
Figura 16 – Representação esquemática do Método da Síntese Reativa.....	34
Figura 17 – Representação esquemática do método da imersão alternada.....	35
Figura 18 – Construção do nome das amostras de Comp MIA.....	35
Figura 19 – Fluxograma simplificado de obtenção e caracterização dos materiais.	43
Figura 20 – Mecanismo de reação para adição de CO ₂ ao EPDMS catalisada por brometo de tetraetilamônio, os cátions tetraetilamônio foram omitidos ao longo da representação esquemática da reação de formação de ciclocarbonatos.	45
Figura 21 – Espectro de absorção na região do infravermelho médio do CCPDMS (linha preta) e do EPDMS (linha vermelha).	47
Figura 22 – Representação esquemática dos dois tipos de estiramentos assimétricos dos grupos Si-O-Si presentes na fração PDMS do CCPDMS e EPDMS.	48

Figura 23 – Análise Termogravimétrica do CCPDMS em atmosfera de ar sintético. A curva em vermelho apresenta a TG e a em azul a DTG.....	49
Figura 24 – Representação esquemática do processo de formação de oligômeros voláteis produtos da degradação térmica da fração PDMS.....	50
Figura 25 – Representação do processo de oxidação térmica da fração PDMS.....	50
Figura 26 – Representação esquemática do processo de obtenção da poli(hidroxiuretana) de PDMS, PDMSUr. As linhas onduladas representam as cadeias de PDMS.....	52
Figura 27 – Espectros FTIR das formulações de PDMSUr 1 a 5.....	53
Figura 28 – Imagem dos materiais resultantes das 5 formulações de PDMSUr testadas, as porcentagens em cima das setas indicam o teor de grupos amina (APTES e IPDA) em relação a quantidade total de grupos ciclocarbonatos.....	54
Figura 29 – Espectro Raman PDMSUr.....	55
Figura 30 – Estrutura proposta para a PDMSUr.....	56
Figura 31 – Espectro de RMN HPDec – MAS para membrana de PDMSUr-NCat (PDMSUr obtida em o emprego de catalisador) para átomos de ^{29}Si	56
Figura 32 – Representação da classificação dos átomos de silício segundo o número de ligações com átomos de oxigênio na estrutura da molécula de PDMSUr.....	57
Figura 33 – Espectro de RMN CP – MAS para PDMSUr-NCat (PDMSUr obtida sem a utilização do catalizador) para átomos de ^{13}C	58
Figura 34 – Representação da possível estrutura da fração não reticulada da PDMSUr.....	60
Figura 35 – Imagens de gotas de água sobre PDMSUr imediatamente após sua deposição sobre a superfície (esquerda, “A”) e 300s após sua deposição (direita. “B”).	60
Figura 36 - Termograma para amostra de PDMSUr, a curva vermelha apresenta TG e a azul a DTG.....	62
Figura 37 – Imagem 3D gerada pelo software de análises de dados do perfilômetro óptico para 4 regiões (A, B, C e D) do filme da PDMSUr, o modo de análise foi de interferometria de mudança de fase (PSI), a área de cada região do filme analisada foi de $462\text{ }\mu\text{m} \times 608\text{ }\mu\text{m}$	63
Figura 38 – Imagem 2D gerada pelo software de análises de dados do perfilômetro óptico para 4 regiões (A, B, C e D) do filme da PDMSUr, o modo de análise foi o de interferometria de mudança de fase (PSI), a área de cada região do filme analisada foi de $462\text{ }\mu\text{m} \times 608\text{ }\mu\text{m}$	64
Figura 39 – Rugosidade média de uma superfície.....	65
Figura 40 – Representação da relação entre coeficiente de assimetria, perfil de rugosidade em superfícies e sua distribuição.....	66
Figura 41 – Representação da relação entre curtose, perfil de rugosidade em superfícies e sua distribuição.....	67
Figura 42 – Imagem MEV obtida com detetor de elétrons retroespalhados da membrana de PDMSUr região A (membrana produzida empregando 1% de H_3PO_4 como catalizador) e da membrana de PDMSUr-NCat região B (membrana produzida sem a utilização de quaisquer catalisador).....	68
Figura 43 – Difratoograma experimental do híbrido PDMSUr curado (linha preta cheia), difratograma calculado (linha cheia vermelha), componentes individuais pseud-Voigt e linha obtidas por ajuste de curva (linhas azuis tracejadas). Na imagem inferior é mostrado o resíduo obtido pela diferença entre o espectro calculado e o experimental.	69
Figura 44 – Espectro de FTIR da Hap sintetizada.....	70
Figura 45 – Espectro Raman da Hap sintetizada.....	72

Figura 46 – Modos vibracionais do grupo fosfato na estrutura da Hap (v_1 , v_2 , v_3 e v_4). As bolas verdes representam os átomos de oxigênio e as bolas vermelhas no centro, por sua vez, representam os átomos de fósforo.	72
Figura 47 – Difrátogramas da Hap sintetizada e da Hap padrão ICSD.	73
Figura 48 – Análise termogravimétrica da Hap em atmosfera de ar sintético.	74
Figura 49 – Imagem MEV obtida com detector de elétrons secundários da amostra de Hap sintetizada.	75
Figura 50 – - Espectro de emissão de raios – x com modo de detecção dispersivo em energia (EDS) da Hap sintetizada.	76
Figura 51 – Imagem de Microscopia Eletrônica de Transmissão em campo claro da Hap sintetizada.	78
Figura 52 – Histograma de distribuição de tamanho de partículas (DTP) obtido por Difração de Laser para amostra de Hap sintetizada, entre parênteses na região superior da figura é apresentado o diâmetro médio de partícula para cada medida (D_{med}).	79
Figura 53 - - Isotermas de adsorção e dessorção de N_2 para Hap sintetizada.	80
Figura 54 – Espectro FTIR do DCPA sintetizado.	81
Figura 55 – Espectro Raman do DCPA sintetizado.	82
Figura 56 – Espectros de RMN HPDec MAS da amostra de DCPA sintetizado e do padrão Sigma Aldrich.	83
Figura 57 - – Diferentes sítios de P presentes na estrutura do DCPA, as linhas pontilhadas representam as distâncias entre os átomos de P e os prótons. As linhas tracejadas representam as ligações de hidrogênio.	84
Figura 58 – - Difrátograma do DCPA sintetizado e do DCPA base de dados ICSD.	84
Figura 59 – (A) Difrátogramas de amostras sintetizadas usando diferente percentagem de água adicionada na solução de síntese e (B) difratogramas das amostra sintetizadas com 0% de água (curva em preto) e 40% de água (curva em roxo), assim como, a diferença entre a amostra 40% e 0% (curva em verde).	85
Figura 60 – Difrátogramas de DCPA obtidos empregando razões Ca/P 1:1 (linha preta); 1:0,6 (linha vermelha) e DCPA padrão ICSD (linha azul).	86
Figura 61 – - Difrátogramas do produto obtido sem o processo de lavagem e seco a temperatura ambiente (linha vermelha) com os de DCPA base de dados ICSD (linha azul) e $CaClH_2PO_4 \cdot H_2O$ base de dados ICCD (linha verde) e $CaClH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ base de dados ICCD (linha preta).	87
Figura 62 - Difrátogramas do precipitado obtido sem o processo de lavagem e seco a 70°C (linha vermelha) com os de DCPA base de dados ICSD (linha azul) e $CaClH_2PO_4 \cdot H_2O$ base de dados ICCD (linha verde) e $CaClH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ base de dados ICCD (linha preta).	88
Figura 63 – Difrátogramas de DCPA padrão ICSD (linha vermelha) e de DCPA obtido com secagem a temperatura ambiente (linha preta).	89
Figura 64 – Refinamento Rietveld DCPA sintetizado, difratograma DCPA sintetizado (em preto), difratograma DCPA calculado (vermelho) e resíduo (azul).	89
Figura 65 – Análise termogravimétrica do DCPA sintetizada, a curva em corresponde a TG e a em azul a DTG.	90
Figura 66 - - Imagens MEV da amostra de DCPA obtidas com detector de elétrons secundários.	91

Figura 67 - Histograma de distribuição de tamanho de partículas (DTP) obtido por Difração de Laser da amostra de DCPA sintetizada, entre parênteses na região superior da figura é apresentado o diâmetro médio de partícula para cada medida (D_{med}).....	92
Figura 68 - - Isotermas de adsorção e dessorção de N_2 da amostra de DCPA sintetizado.....	93
Figura 69 – Espectro Raman da PDMSUr (linha preta) e de Comp. MMF 5% Hap (linha vermelha).	94
Figura 70 – Espectro Raman da PDMSUr (linha preta) e de Comp. MMF 20% Hap (linha vermelha).	95
Figura 71 – Difrátogramas da Hap sintetizada (linha preta) e do Comp MMF 10% Hap (linha vermelha).	95
Figura 72 – Difrátogramas de Comp MSR 01 (linha vermelha), $Ca(OH)_2$ (linha azul) e DCPA (linha verde) do banco de dados ICSD	97
Figura 73 – Espectros Raman de Comp MSR 01 (linha vermelha) e PDMSUr (linha preta)..	98
Figura 74 – Difrátogramas de Comp MSR 02 (linha vermelha), DCPA base de dados ICSD (linha verde) e $Ca(OH)_2$ base de dados ICSD (linha azul).	99
Figura 75 – Espectros Raman de Comp MSR 02 (linha vermelha) e PDMSUr (linha preta)..	99
Figura 76 – Espectro Raman das amostras de PDMSUr (preto), Comp MIA (vermelho) e DCPA sintetizado (azul).....	103
Figura 77 - Difrátogramas da DCPA padrão ICSD (linha azul), Comp MIA (linha vermelha) e PDMSUr (linha preta).	104
Figura 78 – Difrátogramas de Comp MIA 01 - 3 x Ciclos de 20 minutos (linha azul) e 3 Ciclos de 20 minutos + 20 min Ca (linha preta), DCPA (linha vermelha) e MCPM (linha verde). .	104
Figura 79 – Difrátograma de Comp MIA 02 - 1 x Ciclo de 20 min (linha vermelha), DCPA (linha azul) e MCPM (linha preta) (ambos obtidos na base de dados ICSD).	106
Figura 80 – Difrátogramas de Comp MIA que passaram pelo ensaio de imersão em KOH, do DCPA e do MCPM.....	107
Figura 81 – Representação esquemática do processo de hidrólise alcalina da fração PDMS.	108
Figura 82 – Espectros de RMN CP-MAS de ^{13}C do Comp MIA 02 – 1 x C 20 min e do PDMSUr.	109
Figura 83 – Espectros de RMN de ^{31}P do Comp MIA 02 – 1 x C 20 min obtidos usando CP – MAS (linha azul) e HPDec – MAS (linha verde).....	110
Figura 84 – Espectros de RMN CP - MAS para ^{31}P de DCPA (linha vermelha) sintetizado e Comp MIA 02 - 1 x C 20 min (linha verde).....	111
Figura 85 – Curvas termogravimétricas das amostras de PDMSUr (linha preta), DCPA sintetizado (linha vermelha) e Comp MIA 02 – 1 x C de 20 min (linha azul).	114
Figura 86 – Termogramas da amostra de Comp MIA 02 – 1 x C 20 min, TG (linha vermelha) e DTG (linha azul).....	116
Figura 87 – Imagem de Gota d'água usada para medida de ângulo de contato estático do Comp MIA 01 – 2 x Ciclos de 20 min + 2h $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ – 1,0 mol L^{-1} imediatamente após a deposição da gota sobre a superfície.	116
Figura 88 – Imagens obtidas por MEV com detector de elétrons retroespalhados da seção transversal das membranas de Comp MIA com diferentes tempos de imersão nas soluções precursoras de $CaCl_2$ e H_3PO_4	118

Figura 89 – Variação da espessura da região contendo fosfato de cálcio (linha vermelha) e variação da espessura do núcleo de PDMSUr (linha preta) nas membranas de Comp MIA 02 x Contra o tempo de imersão em cada ciclo.	119
Figura 90 – - Imagens obtidas por MEV empregando detector de elétrons secundários das para as superfícies das membranas de Comp MIA 02 – 1 x Ciclo 5min (A e B), 10min (A1 e B1), 20min (A2 e B2), 40min (A3 e B3) e 80min (A4 e B4).	120
Figura 91 – Imagens 3D obtidas por perfilometria ótica da superfície do filme fino depositado via <i>spin coating</i> sobre lâmina de vidro de Comp MIA 02 – 1 x Ciclo 5 min (A), 10min(B), 20min(C), 40min(D) e 80min(E).	122
Figura 92 – Modelo biofísico que explica como uma superfície contendo nanopilares pode atuar rompendo a membrana celular bacteriana.	124
Figura 93 – Espectro de Fluorescência de Raios-X para o ensaio preliminar de liberação de íons Cálcio e fosfato.	126
Figura 94 – Porcentagem de crescimento dos microrganismos testados nos extratos em contato com as membranas de PDMSUr e Comp MIA. As barras verticais representam o crescimento dos microrganismos nos diferentes materiais testados (cada coloração representa um material). Dentro da região tracejada em verde estão as bactérias testadas, por sua vez, na região com a linha tracejada azul estão os fungos testados. * $p < 0,005$	127
Figura 95 – Representação esquemática do processo de transformação do WST-1 em formazan.	131
Figura 96 – Citocompatibilidade Relativa da PDMSUr depois de 24 horas.	132

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fases de fosfato de cálcio com suas respectivas razões Ca/P e fórmulas.....	21
Tabela 2 - Solubilidade e faixa de pH estável dos fosfatos de cálcio em meio aquoso.	22
Tabela 3 - Tabela de proporções molares de aminas utilizadas na síntese da PDMSUr.....	30
Tabela 4 - Teor de elementos encontrados por EDXRF no CCPDMS após as cinco lavagens com acetato de etila e água.	46
Tabela 5 – Resultados dos Ensaio de grau de inchamento em água e etanol e determinação do grau de reticulação.....	59
Tabela 6 – Parâmetros de Rugosidade para as superfícies de filme fino de PDMSUr.....	65
Tabela 7 – Resultado da Análise Elementar (CHNS) para a Hap sintetizada.	71
Tabela 8 – Análise de porosidade para amostras de PDMSUr e Comp MMF 5% Hap.....	96
Tabela 9 – Principais fases de fosfato de cálcio e seus respectivos deslocamentos químicos em RMN sólido para ^{31}P	112
Tabela 10 - Teor de resíduos e teor de fosfato de cálcio nas amostras de Comp MIA.	115
Tabela 11 - Análise textural para as amostras de Comp MIA e PDMSUr.....	121
Tabela 12 – Parâmetros de Rugosidade para as superfícies de filme fino de PDMSUr e Comp MIA.	123
Tabela 13 – Teor dos elementos cálcio e fósforo determinados por EDXRF no ensaio preliminar de liberação de íons Cálcio e fosfato da membrana de Comp MIA em solução salina.....	126
Tabela 14 - Resultados do ensaio de atividade antimicrobiana para as membranas de PDMSUr e Comp MIA, a sigla “Bcd” significa atividade biocida e “Btc”, por sua vez, bioestática. ...	128
Tabela 15 - Concentrações inibitória mínima (CIM) e concentração biocida mínima (CBM) dos precursores da PDMSUr em μL	129

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ACP: Fosfato de cálcio amorfo;
- APTES: 3-trietoxisililpropilamina ou 3-aminopropiltrietóxisilano;
- ASTM: American Society for Testing and Materials;
- Bcd: Biocida;
- Bct: Bioestático;
- BET - Método criado por Brunauer, Emmett e Teller que calcula a área superficial total;
- BJH- Método criado por Barret, Joyner e Halenda que calcula a distribuição dos tamanhos de poros;
- CBM: Concentração Biocida Mínima;
- CCepPP: Ciclocarbonato derivado de 1,2-epóxi-3-fenoxipropano;
- CCPDMS: Bis-ciclocarbonato derivado de poldimetilsiloxano;
- CDHap: Hidroxiapatita deficiente de cálcio;
- CIM: Concentração Inibitória Mínima;
- Comp MIA: Compósito obtido pelo método da imersão alternada;
- Comp MMF: Compósito obtido pelo método da mistura física;
- Comp MSR: Compósito obtido pelo método da síntese reativa;
- CP – MAS: Técnica de Ressonância Magnética Nuclear que utiliza transferência de magnetização de um núcleo abundante, usualmente ^1H , para outro menos abundante por sequência de pulso de Polarização Cruzada com a amostra em rotação em torno do ângulo mágico;
- CTAB: Brometo de cetiltrimetilamônio;
- DCPA: CaHPO_4 , Fosfato de dicálcio anidro, monetita;
- DCPD: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Fosfato de dicálcio diidratado, bruxita;
de um sólido por unidade de massa;
- DFT: Teoria do Funcional de Densidade;
- DRX: Difração de Raios – X, método do pó;
- DTG: Termogravimetria derivada;
- DTP: Distribuição de Tamanhos das Partículas;
- EDXRF: Espectroscopia de Fluorescência de Raios X com detetor em modo de Energia Dispersiva;
- EPDMS: Bis-epóxido derivado de PDMS Poli(dimetilsiloxano) terminado com glicidil éter;

- EpPP: 1,2-Epóxi-3-fenoxipropano;
- Fap: $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ Fluorapatita;
- FTIR: Espectroscopia absorção na região do infravermelho médio com transformada de Fourier;
- GQMatHI: Grupo de Química de Materiais Híbridos e Inorgânicos;
- Hap: Hidroxiapatita;
- HEMA: 2-Hidroxietilmetacrilato ou 1,2-Etanediol mono(2-metilpropenoato);
- HPDec – MAS: Técnica de Ressonância Magnética que realiza Desacoplamento do ^1H aplicando-se uma radiofrequência com potência elevada;
- IPDA: 5-amino-1,3,3-trimetilciclohexano metilamina ou isoforesodiamina;
- IQSC – USP: Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo;
- IUPAC: União Internacional de Química Pura e Aplicada;
- LATEQS – IQSC – USP: Laboratório de Análise Térmica, Eletroanalítica e Química de Soluções do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo;
- LBGA – DGE – UFSCar: Laboratório de Bioquímica e Genética Aplicada do Departamento de Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos;
- LCE – DEMA – UFSCar: Laboratório de Caracterização Estrutural do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos;
- LSS – IQ – UFRGS: Laboratório de Sólidos e Superfícies do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul;
- MAS: Técnica de Ressonância Magnética para Sólidos para eliminar anisotropia de acoplamento dipolar e deslocamento químico com Rotação em torno do Ângulo Mágico;
- MCPA: $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ou Fosfato de monocálcio anidro ou bis(hidrogenofosfato) de dicálcio anidro;
- MCPM: $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ou Fosfato de monocálcio anidro ou bis(hidrogenofosfato) de dicálcio hidratado;
- MD: Técnica de Química Computacional chamada de Dinâmica Molecular;
- Mep: *Mytilus edulis* ou uma das espécies de mexilhão;
- MET: Microscopia Eletrônica de Transmissão;
- MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura;
- MIA: Método da Imersão Alternada;
- MMF: Método da Mistura Física;

- MSR: Método da Síntese Reativa;
- Nano(Ag): nanopartículas de prata;
- Nano(ZnO): nanopartículas de óxido de zinco;
- NC: controle negativo;
- NCCLS: *National Committee for Clinical Laboratory Standards* ou Instituto Nacional de Padrões Clínicos e Laboratoriais;
- NIPU: PoliuretanaPoli(uretana)s livres de Iisocianatos ou Poli(uretana)s obtidas sem o uso de Isocianato;
- Nuc⁻: Núcleófilo;
- Oap: Oxiapatita ou oxohexakis(fosfato) de decacálcio;
- OCT: Ca₁₀O₂₅P₆ ou dihidrogeno hexakis(fosfato) de octacálcio pentaidratado ou Fosfato de octacálcio;
- P – DABCO: Brometo de 1-propil-4-azo-1-azôniobiciclo[2,2,2]octano;
- PC: controle positivo;
- PDMS: Poli(dimetilsiloxano);
- PDMSUr: hidroxietiluretana contendo bloco PDMS;
- PHU's: Poli(hidroxietiluretana)s;
- ppm: Partes por milhão;
- PTFE: Poli(tetrafluoretileno);
- PU's: Poli(uretana)s;
- REACH: Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (Agência de Regulação da Produção e Uso de Substâncias Químicas da União Europeia);
- RMN: Ressonância Magnética Nuclear;
- SEM – EESC – USP: Departamento de Engenharia Mecânica da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo;
- TCP: Ca₃(PO₄)₂, Fosfato Tricálcico ou Fosfato de Tricálcio;
- TEBA: Brometo de Tetra(etilamônio);
- Tg: transição vítrea;
- TG: Análise termogravimétrica;
- TMS: Tetrametilsilano;
- TTCP: oxodi(fosfato) de tetracálcio ou Fosfato de Tetracálcio;
- UFC: Unidades formadoras de Colônia;

- WPA: Ácido fosfotúngstico ou ácido dodecatungstofosfórico;
- WST-1: Sal monossódico de 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-dissulfofenil)-2H-tetrazólio.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	4
2.1	Aquecimento global e a necessidade de reduzir as emissões de dióxido de carbono..	4
2.2	Uso de CO ₂ como matéria prima em sínteses químicas	5
2.3	Obtenção de ciclocarbonatos a partir de dióxido de carbono	7
2.4	Poli(uretana)s livres de isocianatos obtidas por reação de Aminólise com ciclocarbonatos	12
2.5	Poli(uretana)s como biomateriais	16
2.6	Materiais híbridos de poli(hidroxiuretana)s derivadas de PDMS como biomateriais	16
2.7	Biocerâmicas de fosfato de cálcio.....	20
2.8	Materiais compósitos do híbrido PDMSUr e fosfato de cálcio	25
3	OBJETIVOS.....	26
3.1	Objetivos gerais	26
3.2	Objetivos Específicos	26
4	METODOLOGIA	27
4.1	Materiais	27
4.1.1	Reagentes para síntese do bis-ciclorcarbonato polidimetilsiloxano (CCPDMS)	27
4.1.2	Reagentes para síntese da hidroxiuretana baseada em PDMS (PDMSUr).....	27
4.1.3	Reagentes para síntese das biocerâmicas.....	27
4.1.4	Reagentes para obtenção dos compósitos.....	27
4.2	Síntese do bis-ciclorcarbonato polidimetilsiloxano (CCPDMS).....	29
4.3	Síntese da Hidroxiuretana derivada de PDMS (PDMSUr).....	29
4.4	Obtenção dos filmes finos por <i>Spin coating</i>	30
4.5	Síntese das biocerâmicas	31
4.5.1	Síntese da hidroxiapatita (Hap)	31
4.5.2	Síntese de Fosfato de Dicalcico Anidro (DCPA).....	31
4.6	Obtenção dos compósitos	32
4.6.1	Obtenção do compósito PDMSUr/ fosfato de cálcio pelo Método da Mistura Física (MMF)	32
4.6.2	Obtenção do compósito PDMSUr/Fosfato de Cálcio pelo Método da Síntese Reativa (MSR).....	33
4.6.3	Obtenção compósito PDMSUr/fosfato de cálcio pelo Método da Imersão Alternada (MIA).....	34
4.7	Ensaio de imersão de Comp MIA em solução etanólica de KOH.....	35

4.8	Métodos de caracterização	36
4.8.1	Espectroscopia de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva (EDXRF)	36
4.8.2	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	36
4.8.3	Espectroscopia Raman.....	36
4.8.4	Difração de Raios -X (DRX)	36
4.8.5	Titulação Karl Fischer	37
4.8.6	Tensiometria (Molhabilidade)	37
4.8.7	Ressonância magnética nuclear no estado sólido	37
4.8.8	Ensaio de inchamento e determinação do grau de reticulação	38
4.8.9	Porosidade	38
4.8.10	Ensaio de Análise Elementar	39
4.8.11	Ensaio de Perfilometria Ótica.....	39
4.8.12	Análise Termogravimétrica (TG)	39
4.8.13	Determinação da distribuição de tamanho de partículas (DTP).	39
4.8.14	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	39
4.8.15	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	40
4.9	Ensaio preliminar de liberação de íons Cálcio e Fosfato	40
4.10	Ensaio antimicrobiano	40
4.10.1	Ensaio de atividade antimicrobiana das membranas	40
4.10.2	Concentrações inibitórias e biocidas mínimas de precursores da PDMSUr	41
4.11	Ensaio de citotoxicidade do PDMSUr	42
4.12	Fluxograma de obtenção e caracterização dos materiais	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	44
5.1	Hidroxiuretanais Baseada em PDMS (PDMSUr).....	44
5.1.1	Síntese e caracterização do CCPDMS	44
5.1.2	Síntese e Caracterização da PDMSUr	52
5.2	Biocerâmicas.....	70
5.2.1	Caracterização da Hidroxiapatita (Hap)	70
5.2.2	Caracterização do DCPA.....	81
5.3	Compósito mistura física (MMF)	94
5.4	Compósito método da Síntese Reativa Comp (MSR)	97
5.5	Compósito método da imersão alternada (MIA)	101
5.5.1	Caracterização por espectroscopia Raman e Difração de raios – X	103

5.5.2	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear no Estado Sólido	108
5.5.3	Considerações a Respeito da Fase de Fosfato de Cálcio Formada em MIA	113
5.5.4	Estudo das Propriedades Térmicas por Termogravimetria.....	114
5.5.5	Ângulo de contato.....	116
5.5.6	Microscopia eletrônica de varredura	117
5.5.7	Análise de Porosidade	121
5.5.8	Rugosidade dos Filmes Finos de Compósitos obtidos via MIA sobre Vidro...	121
5.6	Ensaio preliminar de liberação de íons cálcio e fosfato de Comp MIA	126
5.7	Ensaio de atividade antimicrobiana e biocompatibilidade.....	127
5.7.1	Ensaio de atividade antimicrobiana.....	127
5.7.2	Ensaio de citocompatibilidade.....	130
6	CONCLUSÃO.....	133
7	PERSPECTIVAS FUTURAS	135
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	136

1 INTRODUÇÃO

A busca por novos processos sustentáveis atualmente tem sido tema central dentro do contexto de desenvolvimento de novos materiais, nesse interim, a mesma perspectiva tem sido empregada em estudos visando a obtenção de novos biomateriais (GUPTA et al., 2015). Os biomateriais são uma classe de materiais que podem ser definidos como dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos objetivando aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas. Eles podem ser tanto de origem sintética ou natural (vegetal ou animal), bem como de materiais naturais quimicamente modificados. Além disso, eles podem se apresentar tanto na forma líquida, sólida ou como géis e pastas (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015; HUDECKI et al., 2019).

Os biomateriais podem ser classificados de acordo com a resposta quando em contato com o meio biológico em basicamente quatro categorias: bioinertes, bioativos, bioestáveis e bioabsorvíveis (degradáveis). Os materiais bioativos são aqueles que estimulam a ligação com os tecidos circundantes. Já os bioinertes, são aqueles que causam mínima ou nenhuma resposta nos tecidos. Por sua vez, os reabsorvíveis são aqueles que liberam sua massa pouco a pouco se dissolvendo completamente após um período. Em contrapartida, os materiais bioestáveis são aqueles que não são degradados em contato com organismo (HUDECKI et al., 2019). Além disso, eles podem também ser classificados em metálicos, cerâmicos, poliméricos e compósitos (PARIDA; BEHERA; CHANDRA, 2012; PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

Dentre os biomateriais compósitos, os polímero-cerâmicos atraem bastante atenção devido a possibilidade de combinar as propriedades características dos materiais poliméricos (fácil processabilidade, flexibilidade, leveza) com os dos cerâmicos (alta rigidez, estabilidade térmica, boa resistência mecânica) produzindo materiais que combinam as vantagens das duas classes citadas (ŠUPOVÁ; MARTYNKOVÁ; BARABASZOVÁ, 2011; LOW, 2014; NOUREDDINE RAMDANI, 2019). Recentemente o termo híbrido tem sido aplicado aos materiais compósitos que possuem uma fase orgânica e outra inorgânica, sendo que uma destas foi obtida durante a formação do híbrido usando-se precursores moleculares (KICKELBICK, 2007).

Nesse contexto, matrizes poliméricas de poli(uretana)s têm sido largamente empregadas como biomateriais devido suas propriedades mecânicas e físico-químicas que podem ser facilmente controladas através da escolha apropriada dos monômeros que constituíram seus componentes. Essas características permitem selecionar as propriedades gerais importantes para um biomaterial (baixa toxicidade, biocompatibilidade) e também controlar as propriedades

necessárias à aplicação específica a que se pretende destinar o biomaterial (propriedades mecânicas, térmicas, degradabilidade, ter conformação/morfologia dependente do pH entre outras) (AGRAWAL; KAUR; WALIA, 2017; MARZEC et al., 2017; KIM; LIU, 2018).

Apesar de todas essas vantagens, infelizmente até o presente momento as rotas convencionais de obtenção de poli(uretana)s empregam procedimentos que tem impactos consideráveis no meio ambiente em todas as fases de sua produção. As hidroxipoli(uretana)s podem ser obtidas usando uma metodologia que emprega a rota verde baseada na aminólise de bis-ciclocarbonatos (obtidos via fixação de CO₂). Essa rota se apresenta como uma estratégia interessante para lidar com o desafio de encontrar um meio mais sustentável de produzir esses materiais (ROKICKI; PARZUCHOWSKI; MAZUREK, 2015; CORNILLE et al., 2017a; CARRÉ et al., 2019).

Dentro deste contexto, o grupo de Química de Materiais Híbridos e Inorgânicos (GQMatHI) tem realizado pesquisas sobre o desenvolvimento de hidroxietananas derivadas de PDMS (PDMSUr). Esta matriz de PDMSUr foi empregada em estudos para obtenção de compósitos utilizando diferentes tipos de nanopartículas como carga (SiO₂, TiO₂, Ag, ZnO e Polioxometalatos), resultando em materiais com muitas potenciais aplicações. Dentre elas, pode-se mencionar a fotônica (SIMÕES et al., 2018), dispositivos eletrônicos (ALVES, 2018), e o especial enfoque dado desenvolvimento de biomateriais candidatos a: recobrimento anticorrosivo de biomateriais metálicos; recobrimento antimicrobiano de implantes; recobrimento de dispositivos metálicos ortodônticos; adesivos biomiméticos para aplicação de implantes médicos e odontológicos (AGUIAR, 2015; FERMINO, 2018; HOLANDA, 2018).

Uma vez que é amplamente conhecido a respeito da capacidade do grupo uretano induzir a calcificação em biomateriais em contato com sistema biológico (MARZEC et al., 2017), adicionar fosfato de cálcio a nova matriz polimérica híbrida de PDMSUr pode produzir um material com propriedades interessantes para o emprego em dispositivos da área odontológica e médica. Os fosfatos de cálcio são uma classe de biomaterial cerâmico com aplicações na Medicina e na Odontologia devido à sua biocompatibilidade, bioatividade, osseocondução e estabilidade (MARZEC et al., 2017; SANGEETHA; JAIN, 2018).

Ademais, a presença do fosfato de cálcio pode melhorar a capacidade de interação do biomaterial com tecidos vivos, uma vez que a fração PDMS tem caráter inerte e é incapaz de se ligar a estes (DEMÉTRIO et al., 2018). Deste modo desenvolver metodologias para obtenção do compósito PDMSUr/fosfato de cálcio pode permitir alcançar materiais com potencial para

serem utilizados como biomaterial empregado em processos de regeneração óssea e adesão/fixação de implantes na Odontologia e Ortopedia.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Aquecimento global e a necessidade de reduzir as emissões de dióxido de carbono

A emissão de gases causadores do efeito estufa, sobretudo dióxido de carbono (CO_2), tem crescido em níveis alarmantes desde o início da revolução industrial até os dias atuais. A Figura 1 apresenta o crescimento acentuado dessas emissões desde o final da década de 50 até novembro de 2017 quando emissão de CO_2 atingiu o patamar de 405,14 ppm. O impacto ambiental dessas emissões no ambiente pode causar severos danos em decorrência das mudanças climáticas associadas ao aumento de temperatura. O recente acordo visando reduzir as emissões de CO_2 em um contexto de desenvolvimento sustentável, assinado por 195 países em Paris na França no ano de 2015, do qual o Brasil é participante, reforça a necessidade da adoção de medidas para combater o aumento dessas emissões (EUROPEAN UNION, 2017).

Figura 1 – Aumento dos níveis de emissão de CO_2 ao longo do tempo.

Fonte: CO₂ earth (“Earth’s CO₂ Home Page”, 2020)

De modo que, apontar alternativas tecnológicas que permitam mitigar essas emissões dando outras aplicações ao CO_2 e agregando valor ao mesmo, tornou-se de fundamental importância. Nesse contexto, muitas pesquisas têm sido realizadas buscando desenvolver metodologias nas quais esse gás possa ser aplicado em processos industriais ou mesmo utilizado como material de partida em diversas sínteses.

2.2 Uso de CO₂ como matéria prima em sínteses químicas

É comum dizer que dióxido de carbono é uma molécula estável tanto do ponto de vista termodinâmico como cinético, a qual requer energia para sua conversão em outras formas químicas, e de fato, ela é a mais estável forma dos compostos oxidados de carbono (ARESTA, 2006, 2010; GRIGNARD et al., 2019). Entretanto, dentro de certas condições ele pode reagir com baixa demanda de energia, como quando na presença de nucleófilos fortes. Contudo, o uso de CO₂ em larga escala com condições mais favoráveis permitindo transformações com substratos menos reativos ainda é um desafio. Além disso, reações de CO₂ que requerem elevada quantidade de energia para transpor a barreira de ativação de conversão de CO₂ em matérias primas úteis não são ambientalmente benéficas. Uma vez que o auto consumo de energia necessário para que elas ocorram, levará a uma produção de CO₂ maior que o consumido na sua conversão (DIBENEDETTO, 2015; LIU et al., 2015).

De um ponto de vista energético as reações envolvendo CO₂ podem ser classificadas em duas classes principais:

- Classe 1: Quando a molécula de CO₂ é utilizado em sua totalidade como nas reações de carboxilação nas quais ligações do tipo C-C ou C-heteroátomo são formadas com alguns substratos ricos em energia (olefinas, ânions, aminas, e compostos similares)(MCGHEE et al., 1995; PEREIRA et al., 2008; GRIGNARD et al., 2019).
- Classe 2: Reações nas quais ocorre a redução do carbono do CO₂. Esse tipo de reação é empregado para obter-se combustíveis. Neste caso uma fonte de energia (elétrons, radiação, aquecimento) junto com outros compostos é necessária para que o processo ocorra (KONDRATENKO et al., 2013).

De maneira geral, pode ser dito que se o estado de oxidação do carbono permanece inalterado (igual a 4) no produto, a conversão de CO₂ não demandará energia e o processo pode ser denominado exergônico. Dentro deste contexto, as reações de classe 1 podem ser consideradas um exemplo de sustentabilidade uma vez que elas permitem a possibilidade de síntese de carboxilatos usando diversas matérias primas, reciclando carbono e minimizando a produção de resíduos. Além disso, é possível que sobre condições apropriadas a carboxilação direta de substratos orgânicos possa consumir baixa quantidade de energia em relação aos processos empregados atualmente na indústria (ARESTA, 2006, 2010; DIBENEDETTO, 2015).

O CO₂ tem encontrado aplicação na síntese de ureias, síntese de ácido salicílico, carbonatos inorgânicos, ácido fórmico, carbamatos, síntese carbonatos orgânicos,

ciclocarbonatos entre outros. A Figura 2 apresenta algumas rotas sintéticas nas quais os CO₂ tem sido aplicado como matéria prima na obtenção de compostos orgânicos.

Figura 2 – Algumas rotas sintéticas que empregam CO₂ como matéria prima para obtenção de compostos orgânicos.

Fonte: Adaptada de Liu e colaboradores, reproduzido com permissão de Springer Nature (LIU et al., 2015).

Uma das rotas mais promissoras para a utilização de CO₂ é a síntese de polímeros. Isso porque eles são preparados em larga escala e tem potencial para sequestrar o CO₂ por um tempo significativamente mais longo do que em outras aplicações. Duas classes de polímeros incorporando CO₂ estão próximos de ingressar no mercado: policarbonatos e poli(uretana)s (PU)s (NORTH; STYRING, 2015). As últimas também podem ser obtidas a partir de ciclocarbonatos por meio da reação de aminólise.

2.3 Obtenção de ciclocarbonatos a partir de dióxido de carbono

Ciclo carbonatos possuem a estrutura geral mostrado na Figura 3 (COMERFORD et al., 2015), a seguir:

Figura 3 – Estrutura geral de um ciclocarbonato.

Fonte: Autoria própria.

Existem diversas rotas utilizadas para obtenção ciclocarbonatos empregando-se CO₂ como reagente. Ciclocarbonatos com anéis de cinco membros podem ser obtidos partindo-se de dióis, haloidrinas, olefinas, álcoois propargílicos e epóxidos (Figura 4). Dentre essas rotas o caminho de reação com economia atômica de 100 % na qual o CO₂ é adicionado ao anel epóxido é a mais largamente estudada e empregada (rota “c” da Figura 4) (COMERFORD et al., 2015; MAISONNEUVE et al., 2015; LANG; HE, 2016; KAMPHUIS; PICCHIONI; PESCARMONA, 2019)

Figura 4 – Rotas empregando CO₂ como matéria prima para obtenção de ciclocarbonatos.

Fonte: Autoria própria.

A reação de adição de CO₂ ao anel epóxido não ocorre em tempo hábil sem catálise, pois, apesar de ser altamente exotérmica sua energia de ativação é bastante elevada (da ordem de 209 a 251 kJ mol⁻¹ dependendo do epóxido utilizado). Deste modo, uma grande variedade de catalisadores tem sido desenvolvida para serem empregados na síntese de ciclo carbonatos contendo anéis de 5 membros, cálculos químicos-quânticos *ab initio* usando a Teoria do Funcional de Densidade (DFT) indicam que estes geralmente diminuem a energia de ativação da reação entre 25 e 35 kcal mol⁻¹. Além disso, vale ressaltar que não obstante, frequentemente seja necessária elevadas pressões para realizar essa reação, o emprego de um catalisador adequado permite atingir elevados rendimentos (COMERFORD et al., 2015; MAISONNEUVE et al., 2015).

O mecanismo geral para a síntese de ciclocarbonatos partindo de epóxidos independentemente do catalisador usado é apresentado na Figura 5. De maneira geral, pode se dizer que o catalisador irá prover ativação do anel epóxido por meio de ácido ou uma base de Lewis.

Figura 5 – Reação de adição de CO₂ ao anel epóxido.

Fonte: Autoria própria.

No esquema representado na Figura 5, um ácido de Lewis interage com o oxigênio do anel oxirano tornando-o mesmo mais eletronegativo e consequentemente ativando o anel (b). Em seguida, o nucleófilo promove a abertura do anel oxirano formando um alcóxido (c) o qual reage com dióxido de carbono produzindo um carbonato (d). Então, no passo seguinte o nucleófilo que deve ser um bom grupo de saída é liberado no meio permitindo a formação do anel de cinco membros (e) (COMERFORD et al., 2015).

Para o caso em estudo, os haletos (especialmente Br e I⁻) são tanto bons nucleófilos, quanto bons grupos de saída. Em verdade, muitos processos comerciais têm usado sais um haleto de tetra-alquilamônio ou fosfônio como catalisadores para obtenção de ciclocarbonatos a partir de epóxidos. Esses catalisadores oferecem entre suas vantagens o baixo custo e a simplicidade. Dentro dessa classe, o brometo de tetrabutilamônio tem sido o composto mais empregado como catalisador e ou cocatalisador na síntese de carbonato de etileno partindo-se de óxido de etileno (BÜTTNER et al., 2017).

Recentemente Leite em sua dissertação desenvolvida no GQMathI conduziu um estudo comparativo entre a ação catalítica do brometo de 1-propil-4-azo-1-azôniobiciclo[2,2,2]octano (P-DABCO), frente ao catalisador brometo de tetrapropilamônio (TPA), já descrito na literatura (Figura - 6). Eles foram estudados com relação ao emprego na cicloadição de CO₂ a epóxidos orgânicos. No referido trabalho foi usado como epóxi representativo o composto 1,2-epóxi-3-

fenoxipropano (EpPP), e o ciclorcarbonato dele derivado foi denominado CCepPP, Figura 7. Nessa pesquisa a análise dos mecanismos de reação desses catalisadores foi realizada por meio de modelos cinéticos e com suporte de cálculos teóricos de química quântica empregando DFT (LEITE, 2015).

Figura 6 – Representação estrutural dos compostos brometo de 1-propil-4-azo-1-azôniobiciclo[2,2,2]octano (P-DABCO) e brometo de tetrapropilamônio (TPA).

**Brometo de tetrapropilamônio
(TPA)**

**Brometo de 1-propil-4-azo-1-azôniobiciclo[2,2,2]octano
(P-DABCO)**

Fonte: Autoria própria

Figura 7 - Representação estrutural das moléculas de 1,2-epóxi-3-fenoxipropano, EpPP (em azul) e do ciclocarbonato derivado desta, CCepPP (em verde).

**1,2-Epóxi-3-fenoxipropano
(EpPP)**

**Ciclocarbonato derivado de
1,2-epóxi-3-fenoxipropano
(CCepPP)**

Fonte: Autoria Própria

Os resultados obtidos por Leite apontam que dentro das condições de experimentais testadas (150° C; 1,0 MPa e N,N-Dimetilacetamida como solvente) ambos catalisadores apresentam ações catalíticas similares (velocidade de formação de ciclocarbonato e valores de constantes de velocidade reacionais próximos). Deste modo, o P-DABCO pode ser considerado um catalisador comparável ao TPA e consequentemente apropriado para síntese de

ciclocarbonatos. Com base nos resultados foi proposto um modelo cinético de pseudo primeira ordem para a reação e este representou bem aos valores experimentais encontrados. Além disso, foi possível evidenciar que para ambos os catalisadores abertura do anel epóxido é a etapa determinante da velocidade da reação, uma vez que apresenta a maior barreira de ativação reacional a ser rompida em todo o processo.

No entanto, os resultados mostraram que tanto o cátion de TPA como o de P- DABCO não participam diretamente do processo de abertura do anel. Essa condição leva esses sais a possuírem comportamentos cinéticos similares dentro das condições analisadas. Deste modo, baseado nos resultados obtidos, Leite concluiu que a busca por catalisadores mais eficientes para cicloadição de CO₂ ao grupo oxirano, deve focar na diminuição da barreira energética da abertura do anel epóxido (LEITE, 2015). Essa afirmação está em acordo com outros resultados encontrados na literatura, no quais foi demonstrado que a ausência de qualquer componente ácido para ativar o anel epóxido resulta na necessidade de aplicar elevadas temperaturas e/ou pressões. Deste modo, em virtude dessa condição muitos sistemas catalíticos ácido-base de Lewis de dois componentes tem sido desenvolvidos. Esses, geralmente combinam um sal de haleto com um metal para obter ciclo carbonatos em condições mais brandas (COMERFORD et al., 2015; LAN et al., 2016; ARTZ et al., 2017).

Vale ressaltar que além dos ciclocarbonatos com anéis de cinco membros, também é possível obter ciclocarbonatos com seis membros em reações de cicloadição de CO₂. Os ciclocarbonatos com anéis de seis membros podem ser preparados pela reação de dióis com CO₂ na presença dos catalisadores CeO₂ e 2-cianopiridina com altos rendimentos (superior a 99%) (HONDA et al., 2014; MAISONNEUVE et al., 2015). De maneira análoga a reação de CO₂ com óxido de 1,3-propileno (oxetano) é realizada, entretanto, essa rota de cicloadição não é tão bem estabelecida quanto a dos epóxidos, pois ela conta com poucos catalisadores eficientes e isso torna seu emprego um desafio (HOSSEINIAN et al., 2018).

Dentre as alternativas de catalisadores disponíveis para cicloadição de CO₂ ao oxetano o iodeto de tetrafenilstibônio (Ph₄SbI) apresenta promissores resultados, entretanto, o rendimento reacional dos processos nos quais ele é utilizado varia muito em função do número e da natureza dos grupos substituintes ligados ao anel oxirano (19 a 95%) (BABA; KASHIWAGI; MATSUDA, 1985; HOSSEINIAN et al., 2018). Outra possibilidade, e a reação de haloidrinas com CO₂ usando carbonato de cério como catalisador e DMF como solvente, essa rota apresentou rendimentos de até 95% (REITHOFER; SUM; ZHANG, 2013; MAISONNEUVE et al., 2015).

Uma importante característica dos ciclocarbonatos com seis membros ou superiores é sua reatividade superior aos de cinco membros. Isso, é importante quando pretende-se obter polímeros, tal como a formação de poli(hidroxiureta)s via reação com uma amina, pois, a maior reatividade desses ciclocarbonatos possibilita que a reação com as aminas seja realizada em temperaturas mais brandas. Consequentemente, evita-se a ocorrência de reações secundárias frequentemente presentes processos que empregam elevadas temperaturas. As reações secundárias impedem o crescimento da cadeia polimérica levando a polímeros com baixa massa molar e consequente afetando as propriedades mecânicas e termais do material resultante (CORNILLE et al., 2016a, 2017b).

No entanto, a despeito da existência de algumas rotas alternativas que utilizam o CO₂ como matéria prima, possuindo um caráter menos agressivo ao meio ambiente, de maneira geral, as rotas sintéticas mais estabelecidas para produção de ciclocarbonatos com anéis de 6 membros ou superiores empregam o uso precursores tóxicos tais como fosgênio e seus derivados. Assim, apesar de sua baixa reatividade quando comparado com outros ciclocarbonatos, os anéis de 5 membros tem sido os mais estudados em virtude de serem facilmente sintetizados por rotas menos agressivas ao meio ambiente e menos dispendiosas do ponto de vista financeiro (CORNILLE et al., 2017a).

2.4 Poli(uretana)s livres de isocianatos obtidas por reação de Aminólise com ciclocarbonatos

As PUs foram inventadas no ano de 1930 por Otto Bayer e colaboradores tendo como base o trabalho de Wütz o qual descobriu a reação entre álcool e isocianatos levando a formação de uretanas. A versatilidade das PUs e sua habilidade de substituir outros materiais estimulou o desenvolvimento de inúmeras aplicações. Atualmente as PUs são aplicadas na indústria de construção civil e militar, veículos, indústria de sapatos, mobiliários, tecidos móveis, carros, roupas, sapatos, elastômeros, recobrimentos, paredes e isolamentos de telhados, adesivos, espumas entre outros. No ano de 2016 a produção global de PU foi da ordem de 18 Mt, ocupando o sexto lugar no rank mundial entre os polímeros mais produzidos (ROKICKI; PARZUCHOWSKI; MAZUREK, 2015; CORNILLE et al., 2016b, 2017a).

De acordo com os atributos do polioli usado (ex. números de grupos OH reativos, massa molar e estrutura molecular) é possível controlar as propriedades a serem alcançadas nas PUs. De maneira geral, o segmento do mercado desses materiais é subdividido em três grandes famílias: espumas flexíveis, espumas rígidas e materiais não porosos. Essa classificação reflete a densidade e rigidez das PUs (ROKICKI; PARZUCHOWSKI; MAZUREK, 2015).

A maior parte das PUs são sintetizadas num processo de duas etapas, no qual a primeira etapa corresponde a reação entre poliol e um excesso de isocianato que produz um prepolímero de PU com terminações NCO. O segundo passo consiste na reação entre o prepolímero e outro poliol que atuará como extensor de cadeia ou agente reticulante. Esses dois passos são importantes para contornar a diferença de reatividade entre os polióis e melhorar as propriedades do material. A Figura 8 apresenta um esquema representativo da síntese de PUs a partir de isocianatos (FIGOVSKY et al., 2013; KATHALEWAR et al., 2013; JANIK; MARZEC, 2015; YILGÖR; YILGÖR; WILKES, 2015).

Figura 8 – Produção de poli(uretana)s via reação entre isocianatos e dióis).

Fonte: Autoria Própria.

Apesar de ser ainda largamente empregada em escala industrial a síntese de PUs utilizando isocianatos possui uma série de desvantagens associadas principalmente aos impactos ambientais causadas por sua produção.

Os impactos ambientais de substâncias químicas podem ser avaliados através de três estágios do ciclo de vida do polímero:

1. Durante a síntese dos monômeros: A síntese de isocianatos requer o uso de fosgênio, um gás organoclorado de coloração branca, o qual é tóxico e corrosivo, possuindo elevada letalidade. Nessa rota o fosgênio é empregado para converter aminas em isocianatos (NEW JERSEY DEPARTMENT OF HEALTH AND SENIOR SERVICES, 2004; LI; PAULUHN, 2014; MAISONNEUVE et al., 2015; CORNILLE et al., 2017a).
2. Durante a polimerização: Dois dos isocianatos mais utilizados na indústria de PUs (Diisocianato de difenilmetano e Diisocianato de tolueno) são classificados como carcinogênicos, mutagênicos e reprotóxicos. Consequentemente, estas substâncias têm efeito nocivos no homem e no ambiente, estudos apontaram que prolongada exposição a essas podem causar asma, dermatite, conjuntivite e envenenamento agudo (WOOLRICH, 1982; CORNILLE et al., 2017a). Uma discussão aprofundada a respeito da toxicologia e os riscos para a saúde humana associados ao uso de isocianatos fogem aos escopo dessa revisão, mas informações mais detalhadas podem ser encontradas em vários trabalhos na literatura (WOOLRICH, 1982; NAKASHIMA; TAKESHITA;

MORIMOTO, 2002; MISHRA et al., 2008; SENTHILKUMAR; SAH; GANESH, 2012; HUGHES et al., 2014)

3. Destinação final após o uso do material: Após sua vida útil, as PUs geralmente são queimadas ou colocadas em aterros sanitários. Entretanto, durante a combustão, PUs são degradadas e liberam isocianatos que se decompõe principalmente em HCN, um gás venenoso utilizado como arma química. Por outro lado, se descartadas em aterros sanitários PUs sofrem hidrólise gerando aminas tóxicas. De maneira que se pode dizer que PUs oriundas de isocianatos exibem perigo em todo o seu ciclo de vida, principalmente devido a presença dos precursores isocianato e fosgênio (YANG et al., 2012; CORNILLE et al., 2017a).

Tendo em vista os problemas associados a produção e uso de PUs oriundas de isocianatos, na Europa, através da agência de regulação da produção e uso de substâncias químicas da União Europeia (REACH) foi determinado que uso de isocianatos deve ser progressivamente banido. Vários estudos tem apresentado propostas como alternativas ao uso de isocianatos na síntese de PUs mas até o presente momento nenhuma das tecnologias apresentada foi escolhida como rota padrão da indústria (MAISONNEUVE et al., 2015).

Outras desvantagens associadas a produção de PUs empregando isocianatos é sensibilidade a humidade, uma vez que os últimos sofrem reação irreversível com água formando ureia e liberando CO₂, como representado na Figura 9. Além disso, PUs convencionais possuem uma instabilidade inerente a estrutura da sua cadeia principal. Essa estrutura possui ligações hidroliticamente instáveis que as tornam mais susceptíveis a intempéries e reduzem a resistência mecânica, prejudicando assim o tempo de vida útil do material (KATHALEWAR et al., 2013).

Figura 9 – Representação esquemática da reação de isocianatos com água produzindo uma amina e liberando gás carbônico.

Fonte: Autoria Própria.

Uma alternativa para superar essas dificuldades associados a produção de PUs a partir de isocianatos e polióis é uso da reação de ciclocarbonatos com diaminas ou poliaminas. Pois, além de evitar os problemas associadas a toxicidade da produção de PUs associados com o primeiro, também é uma forma de sequestrar carbono. Essa reação tem sido considerada a mais promissora rota de síntese de PUs livres de isocianato (NIPU). Ela foi descoberta na década de 1950, época de sua primeira patente registrada. Desde então, muitos trabalhos têm sido

realizados e muitas patentes foram publicadas. Além disso, ciclocarbonatos não são tóxicos e são insensíveis a umidade, diferentemente dos isocianatos que podem sofrer reações laterais formando produtos como ureia e CO₂. Consequentemente, o armazenamento de ciclocarbonatos não necessita de qualquer precaução particular (CORNILLE et al., 2016c; KE et al., 2016).

A reação de ciclocarbonatos com aminas não libera componentes orgânicos voláteis, isso torna esta rota ideal para ser empregada em recobrimentos, a Figura 10 apresenta a reação de um anel de cinco membros com uma amina. O polímero resultante obtido é denominado poli(hidroxiuretana) (PHU) devido a presença de grupos hidroxila primários ou secundários ligados a cadeia principal do polímero. Consequentemente, a estrutura da PHU difere da PU convencional. Vale ressaltar que, a presença dos grupos hidroxila tem influência nas propriedades dos polímeros. Em verdade, esses grupos participam de ligações de hidrogênio inter e intra-molecular com os grupos carbamatos, permitindo assim uma melhoria na resistência química a solventes apolares (MAISONNEUVE et al., 2015; AGRAWAL; KAUR; WALIA, 2017).

Figura 10 - Representação esquemática reação de aminólise do bis ciclocarbonato e seus possíveis produtos.

Fonte: Autoria própria.

Por outro lado, com relação as propriedades térmicas das PHU's comparadas às PUs, existem na literatura divergências de resultados entre os autores. Vários autores observaram uma maior estabilidade térmica nas primeiras e tal evento foi creditado a presença de ligações de hidrogênios extras que elas apresentam devido a presença dos grupos hidroxila. (FIGOVSKY et al., 2013; ROKICKI; PARZUCHOWSKI; MAZUREK, 2015).

2.5 Poli(uretana)s como biomateriais

O primeiro estudo de PU empregada como biomaterial data de 1950. Desde então, PUs têm sido empregadas largamente em uma grande diversidade de dispositivos médicos, indo desde curativos para feridas até uso em os órgãos artificiais. Desta forma, ela tornou-se um biomaterial relevante, isso, principalmente devido as suas propriedades mecânicas e biocompatibilidade (WANG; WANG, 2012; COOPER; GUAN, 2016).

2.6 Materiais híbridos de poli(hidroxiuretana)s derivadas de PDMS como biomateriais

Os polissiloxanos possuem inúmeras aplicações médicas, como próteses, órgãos artificiais, implantes cardiovasculares, vasos sanguíneos artificiais, cateteres entre outros. Essas aplicações se dão por conta das propriedades do polidimetilsiloxano (PDMS), as quais surgem principalmente da natureza da ligação siloxano. Esse polímero possui boa permeabilidade à gases como o O₂, biocompatibilidade, de fácil moldagem, pode ser produzido com microcanais, boa adesão a cerâmicos e/ou outros materiais, baixa temperatura de cura, além do baixo custo de fabricação (SUBRAMANIAM; SETHURAMAN, 2014).

A unidade característica repetitiva, $\text{-O-Si(CH}_3\text{)}_2\text{-}$, é dotada de flexibilidade, alta estabilidade oxidativa e excelentes propriedades térmicas comparado com outros polímeros como polietileno e o poli(cloreto de vinila). Outras propriedades incluem baixa temperatura de transição vítrea (T_g), baixa energia superficial. Essas características do PDMS tornam um material interessante para ser empregado como seguimento flexível em PUs com finalidades biomédicas (PARK; PARK; BAE, 1999; SUBRAMANIAM; SETHURAMAN, 2014; FISCHER et al., 2016; GUILLAME; KHALIL; MISRA, 2017a).

Aguiar e colaboradores desenvolveu uma rota verde de obtenção de PHU derivada de PDMS (PDMSUr) a partir da aminólise de ciclocarbonatos baseados em PDMS obtidos via de adição de CO₂ ao anel epóxido (AGUIAR et al., 2014; AGUIAR, 2015). A partir desse estudo primário foram desenvolvidas outras pesquisas no GQMatHI nas quais variou-se as aminas e as proporções nas quais elas foram empregadas, visando diferentes aplicações na área biomédica.

Um estudo foi publicado sobre o potencial emprego da PDMSUr como revestimento de implantes de liga de titânio (Ti6Al4V) e/ou aço inoxidável (SS316L). Esse estudo foi elaborado tendo em vista que a resistência a corrosão de biomateriais usados como implantes ortopédicos e dentais é uma questão de grande relevância no campo de desenvolvimento de biomateriais. Uma vez que os implantes metálicos estarão em incessante contato com fluídos biológicos, o

qual devido ser rico em íons cloreto é capaz de promover a oxidação dos metais. O processo de oxidação dessas ligas pode liberar íons no organismo que gerem alguma resposta danosa ao mesmo (AGUIAR et al., 2016a).

Os experimentos foram realizados em filmes compósitos contendo 35% em massa de ácido fosfotúngstico (WPA) como carga. Os ensaios de corrosão realizados por meio de experimentos eletroquímicos, produziram curvas de polarização potenciodinâmicas. Estas mostraram que a densidade de corrente nos materiais recobertos com PDMSUr é menor quando comparado com substrato Ti6Al4V não revestido. Uma explicação para esta observação é que a camada de filme de PDMSUr evita a difusão de espécies como H^+ , oxigênio e mesmo água do meio para superfície metálica (AGUIAR et al., 2016a). Tal comportamento leva a uma menor densidade de corrente, uma vez que a disponibilidade de espécies químicas responsáveis pelas reações de oxidação é reduzida. Além disso, outra importante característica da PDMSUr/WPA que protege contra a corrosão é seu caráter hidrofóbico, os ensaios de ângulo de contato para ela apontaram ângulos que variam entre 102 e 104°. Deste modo, a PDMSUr/WPA pode ser considerado um material com potencial para ser utilizado como revestimento anticorrosivo para implantes de Ti6Al4V agindo como uma barreira física contra a corrosão (AGUIAR et al., 2016a).

Num outro estudo, Aguiar e colaboradores estudaram adesão celular (fibroblastos e osteoblastos) e também a adesão de bactérias (*E. coli* e *Lactobacillus casei*) a superfície do revestimento híbrido de PDMSUr/WPA objetivando obter informações a respeito de sua biocompatibilidade e resistência à formação de biofilmes. Esse tipo de estudo é importante porque ao lado da biocompatibilidade e biofuncionalidade a susceptibilidade do implante sofrer infecção bacteriana é um outro importante ponto a se considerar ao escolher um biomaterial. A formação de biofilmes na superfície dos biomateriais é uma das principais causas de falhas de implantes e dispositivos médicos. A primeira etapa para formação do biofilme geralmente consiste na colonização da superfície do biomaterial. O microorganismo *Lactobacillus casei* é uma bactéria Gram positiva associado a periodontitis/perioimplantitis e caries humanas. Por sua vez, *E. coli* é uma bactéria Gram negativa que pode colonizar implantes e causar inflamações no periodontal e nos tecidos periimplantar (AGUIAR et al., 2019).

Os resultados mostram que os revestimentos de PDMSUr/PWA foram capazes de evitar a adesão dos microrganismos na superfície dos substratos. A avaliação das soluções de lavagem usadas para remover as bactérias fracamente aderidas à superfície dos substratos, sugere que os revestimentos não são bactericidas, mas sim bacterioestáticos, inibindo a adesão bacteriana

inicial e consequentemente a formação de biofilmes na superfície nos substratos. Com relação aos ensaios de citotoxicidade os revestimentos apresentaram adesão tanto de fibroblastos como de osteoblastos e porcentagem de viabilidade celular superior a 70 % (AGUIAR et al., 2019).

Nos dois exemplos anteriores o grupo finalizador de cadeia responsável pela ligação da PDMSUr a superfície dos materiais foi o agente silanizante 3-trietoxisililpropilamina (APTES) que ao reagir o grupo amina com o ciclocarbonato expõe o grupo trietoxisilil responsável pela boa adesão a substratos como alumínio, aço e em especial vidro. No entanto, esta não foi a única estratégia de grupo de adesão usada para aderir a PDMSUr a superfície de biomateriais.

Em um outro trabalho uma abordagem alternativa foi empregada para revestir a superfícies metálicas e inorgânicas com o material hidrofóbico PDMSUr, no intuito de alcançar uma superfície repelente a água. Essa abordagem foi inspirada na proteína (Mefp) do pé de *Mytilus edulis* (Mexilhão), que possui grupos laterais catecol que são adesivos de alta eficiência (GRUNWALD et al., 2009; MOULAY, 2014). Neste contexto, foi utilizado como finalizador de cadeia o composto 4-(2-aminoethyl)benzene-1,2-diol, conhecido comercialmente como Dopamina (AGUIAR et al., 2018). Esta amina contém em suas extremidades, grupos catecóis que apresentam boa adesão em diferentes substratos em diferentes condições.

No referido estudo utilizando uma microbalança de cristal de quartzo, foi demonstrada a fixação bem-sucedida da PDMSUr terminada com Dopamina nas superfícies de titânio, bem como sua estabilidade contra a dessorção por lavagem com etanol. As medições experimentais foram acompanhadas por dinâmica molecular (MD) das moléculas de PDMSUr-Dopamina nas superfícies de SiO₂. Os resultados computacionais apontaram que o conjunto PDMSUr-dopamina está de acordo com as conclusões dos experimentos referentes à conformação da PDMSUr-dopamina em relação à superfície. Concluiu-se que os grupos terminais catecol são responsáveis por se aproximar da superfície, conforme ilustrado na Figura 11, de acordo com a química de coordenação de (poli) catecois (AGUIAR et al., 2018).

Figura 11 - Representação esquemática da ligação da PDMSUr Dopamina terminada com a superfície metálica de uma liga de titânio. A região dentro do quadrado azul representa os grupos uretânicos, a porção vermelha representa o grupo dopamina da PDMSUr ligada a superfície metálica

Fonte: Autoria própria

Fermino numa pesquisa mais aplicada também estudou o emprego da PDMSUr-dopamina terminada como biomaterial. Assim como nos resultados de Aguiar, ela encontrou uma boa adesão em ligas de titânio e também elevado grau de hidrofobicidade do material. Além disso, foi observado que quando aplicado como revestimento em ligas utilizadas em implantes médicos e odontológicos, este apresentou efeito antimicrobiano (inibição da formação de biofilme) para os microrganismos testados (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Streptococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*) e quando tratados com prata, essa atividade foi intensificada levando a resultados bastante satisfatórios tanto em testes colorimétricos com XTT quanto para halos de inibição de microrganismos (FERMINO, 2018).

Em outra tese, Holanda conduziu uma pesquisa visando desenvolver materiais para revestir bráquetes metálicos utilizados no tratamento ortodôntico. Ele trabalhou com duas PHUs, sendo uma delas derivada do monômero PDMS, tal como nos outros materiais já discutidos nos parágrafos anteriores dessa seção. Já a outra, foi derivado do monômero monodimetilsiloxano (MDMS). Em ambos as PHUs, o finalizador de cadeia foi um agente silanizante (APTES ou N-aminoetil-3-trimetoxisililpropilamina). Para elevar a capacidade antibiofilme desses materiais foram incorporadas nanopartículas de prata (nano Ag) ou nanoAg mais nanopartículas de óxido de zinco (nanoZnO) (HOLANDA, 2018).

De fato, todos os materiais desenvolvidos por Holanda apresentaram atividade antibiofilme, os microrganismos testados foram as bactérias *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus mutans*, bem como, para o fungo *Candida albicans*. A resistência abrasiva dos PHUs foi avaliada com base em ensaios de fricção utilizando-se escova e creme dental. Dentre as diversas formulações de PHUs testadas duas delas se mostraram promissoras

para aplicação desejada. Uma delas era derivada de PDMS e outra de MDMS, ambas apresentaram resistência mecânica apropriada para a proteção de aparelhos ortodônticos por períodos de tempos prolongados (HOLANDA, 2018).

Como pode ser visto as PHUs derivadas de PDMS obtidas via a rota verde que faz uso da adição de CO₂ ao anel epóxido, possuem bastante aplicações como recobrimentos de biomateriais empregados como dispositivos biomédicos. Essas aplicações em parte são resultantes do caráter hidrofóbico do material que provém de sua fração PDMS. Entretanto, em situações nas quais deseja-se uma integração entre o biomaterial e os tecidos circundantes essa a hidrofobicidade oriunda da fração PDMS pode dificultar a adesão dos tecidos vivos no material (SUBRAMANIAM; SETHURAMAN, 2014).

De fato, apesar de ser amplamente empregado como implantes em diversos tipos de cirurgia, o silicone devido ao seu caráter inerte não é capaz de se ligar aos tecidos vivos (FERREIRA; DEMÉTRIO; SANTOS, 2017; DEMÉTRIO et al., 2018). Por outro lado, biocerâmicas de fosfato de cálcio são bioativas e apresentam elevada biocompatibilidade. Além disso, o processo de biodegradação dessas biocerâmicas liberam componentes que podem promover a formação de novos tecidos ósseos. Assim, o microambiente de onde são liberados os componentes do material durante o processo de degradação aumenta o seu grau de rugosidade. O aumento da rugosidade facilita a adesão e crescimento de tecidos periféricos sobre o biomaterial na medida que a degradação avança. Essas características tornam as biocerâmicas de fosfato de cálcio um interessante material para ser empregado em compósitos com a matriz híbrida PDMSUr em aplicações nas quais se faz necessário uma boa integração com os tecidos circundantes.

Em verdade, muitos trabalhos encontrados na literatura tem aproveitado as vantagens de combinar PDMS e fosfato de cálcio (FEDDES et al., 2004; JOVANOVIĆ et al., 2004; SUCHÝ et al., 2011, 2013; BAREIRO; SANTOS, 2014; PROKOPOWICZ; SZEWCZYK; SAWICKI, 2016; FERREIRA; DEMÉTRIO; SANTOS, 2017; DEMÉTRIO et al., 2018; VASILAKOS et al., 2018).

2.7 Biocerâmicas de fosfato de cálcio

Os fosfatos de cálcio foram descobertos em 1769 e têm sido investigados desde então. Por definição todos os fosfatos de cálcio consistem em três elementos químicos principais: Cálcio na forma de Ca²⁺ e os íons fósforo (V) ligados aos íons óxido em unidades fosfato tetraédricas. Além disso, a composição química de muitos fosfatos de cálcio incluem hidrogênio na forma de um ânion de hidrogenofosfatos (HPO₄²⁻ ou H₂PO₄¹⁻), hidróxidos (Ca₁₀(PO₄)(OH)₂)

e ou água ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (DOROZHKIN, 2017). Fosfatos de cálcio são o principal constituinte de ossos e dentes e tem sido largamente estudado para serem empregados como biomateriais para restauração óssea desde a década de 1920, quando foram realizados os primeiros ensaios em animais (HABRAKEN et al., 2015; NEILL et al., 2017).

A tabela 1 a seguir apresenta as fases de fosfato de cálcio, com suas respectivas fórmulas químicas e razão Ca/P.

Tabela 1 – Fases de fosfato de cálcio com suas respectivas razões Ca/P e fórmulas.

Compostos	Razão Ca/P	Formula
Fosfato de monocálcio monoidratado (MCPM)	0,5	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Fosfato de Monocálcio Anidro (MCPA)	0,5	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$
Fosfato de Dicálcio Diidratado (DCPD)	1,0	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Fosfato de Dicálcio Anidro (DCPA)	1,0	CaHPO_4
Fosfato Octacálcio (OTC)	1,33	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
α – Fosfato de Tricálcio (α – TCP)	1,5	$\alpha - \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
β – Fosfato de Tricálcio (β – TCP)	1,5	$\beta - \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)	1,2 – 2,2	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$, $n = 3-4.5$; 15%–20% H_2O
Hidroxiapatita Cálcio deficiente (CDHap)	1,5 – 1,67	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ($0 < x < 1$)
Hidroxiapatita (Hap)	1,67	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Fluorapatita (Fap)	1,67	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$
Oxiapatita (Oap)	1,67	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$
Fosfato de tetracálcio (TTCP)	2,0	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$

Fonte: Dorozhkin (DOROZHKIN, 2010, 2015).

Por sua vez a tabela 2 apresenta a solubilidade em água dos fosfatos de cálcio e a faixa de pH na qual eles são estáveis.

Tabela 2 - Solubilidade e faixa de pH estável dos fosfatos de cálcio em meio aquoso.

Compostos	Nome mineral	Solubilidade a 25° C (-log(kps))	Solubilidade a 25° C (g L ⁻¹)	Faixa de pH Estável
MCPM	-----	1,14	18	0 – 2,0
MCPA	-----	1,14	17	b
DCPD	bruxita	6,59	0,088	2,0 – 6,0
DCPA	monetita	6,90	0,048	b
OCT	-----	96,6	0,0081	5,5 – 7,0
α – TCP	-----	25,5	0,0025	c
β – TCP	whitloquita	28,9	0,0005	c
ACP	-----	a	a	~5 – 12 ^d
CDHap	-----	~85,1	0,0094	6,5 – 9,5
Hap	Hidroxiapatita	116,8	0,0003	9,5– 12
Fap	Fluorapatita	120	0,0002	7 – 12
Oap	-----	~69	0,087	a
TTCP	Hilgenstockita	38 – 44	0,0007	a

“a” não pode ser medido precisamente, entretanto os seguintes valores foram encontrados na literatura 25.7 ± 0.1 (pH = 7.40), 29.9 ± 0.1 (pH = 6.00), 32.7 ± 0.1 (pH = 5.28).

“b” estável em temperaturas acima de 100°C;

“c” esses compostos não podem ser precipitados em meios aquosos;

“d” sempre metaestável.

Fonte: Dorozhkin e Braga (DOROZHKIN, 2010, 2015; BRAGA, 2019).

De maneira geral diferentes fases de fosfato de cálcio exibem diferentes bioatividades e bioreabsorvidades (DOROZHKIN, 2016). Essas características afetam as potenciais aplicações das diferentes fases de fosfato de cálcio como biocerâmicas. Nesse interim, de acordo com a destinação desejada para o biomaterial, é necessário escolher a fase mais apropriada ou ainda a combinação de fases que apresentem como um conjunto, as propriedades desejadas para aquilo que se objetiva (DOROZHKIN, 2012, 2016, 2018).

Assim, se o objetivo é que a fase de fosfato de cálcio permaneça por longos períodos no organismo sem ser degradada (ex: aplicação na qual o fosfato de cálcio tem a função de preservar as propriedades mecânicas do biomaterial implantado durante anos de uso) é melhor se empregar uma fase de fosfato de cálcio mais estável, tal como a Hap. Ela é fase de fosfato de cálcio mais estável em condições fisiológicas e sua baixa solubilidade em meio aquoso faz com que esta tenha uma lenta cinética de reabsorção. Por outro lado, se o objetivo é possuir um biomaterial no qual o fosfato de cálcio estimule a regeneração óssea (osteoindução) é necessária empregar uma fase de fosfato de cálcio mais biodegradável, tal como β – TCP ou DCPA

(DOROZHKIN, 2012; ORYAN; ALIDADI; BIGHAM-SADEGH, 2017). A Figura 12 apresenta uma representação esquemática das estruturas cristalinas de Hap e DCPA.

Figura 12 – Estruturas cristalinas dos cristais de Hap e DCPA. As bolas em azul representam os átomos de cálcio, Ca; as bolas em vermelho representam os átomos de oxigênio, O; as bolas em roxo representam os átomos de fósforo, P e as bolas em verde os átomos de hidrogênio, H. Os tetraedros em lilás ajudam a identificar a localização os grupos fosfato.

Fonte: Autoria própria.

Existem muitas vantagens na utilização da fase DCPA em biomateriais voltados para regeneração óssea, pois ele possui características que o tornam uma interessante alternativa para esse propósito. O primeiro ponto é que ele possui composição química e solubilidades próximas de DCPD. Ou seja, alta solubilidade em ambiente biológico quando comparado com outras biocerâmicas de ortofosfato de cálcio e isto garante uma adequada liberação de íons durante seu processo de biodegradação. Por outro lado, apesar de possuir uma estrutura com grande

similaridade estrutural com DCPD o comportamento *in vivo* de DCPA é marcadamente diferente (TAMIMI et al., 2010; CAMA et al., 2013; BOROUJENI et al., 2014; SCHAMEL et al., 2017).

O DCPD a princípio dissolve-se rapidamente *in vivo* e volta a precipitar na forma de Hap. Essa por ser altamente estável em ambiente biológico, consequentemente, também é pobremente reabsorvível. Logo, essa característica limita a capacidade reabsortiva do DCPD. Por sua vez, o DCPA não precipita na forma de Hap após sua dissolução *in vivo*, ao contrário esse último é altamente reabsorvível. Estas características dão ao DCPA propriedades tais como osteocondutividade e osteoindutividade as quais são fundamentais para o processo de regeneração óssea. (TAMIMI et al., 2010; CAMA et al., 2013; BOROUJENI et al., 2014; SCHAMEL et al., 2017).

Estudos *in vivo* de Oryan e colaboradores (empregando ratos) apontaram resultados muito positivos com relação a utilização de cimentos de DCPA como possível candidato a substituição de enxertos ósseos autólogos. Nessa pesquisa foram avaliados cimentos de quitosana/gelatina com vários tipos de fosfatos de cálcio (β -TCP, MCPM, Hap e DCPA) e dentre as fases testadas o cimento contendo DCPA apresentou a melhor resposta com relação a regeneração óssea. Uma vez que este levou as melhores propriedades morfológicas e biomecânicas nas regiões com lesões ósseas restauradas. Esse promissor resultado, permitiu os autores concluir que o *scaffold* contendo DCPA pode acelerar o processo de regeneração óssea e é uma alternativa viável a utilização de enxertos ósseos autólogos devido sua boa biocompatibilidade, biodegradabilidade, potencial regenerativo e segurança (ORYAN; ALIDADI; BIGHAM-SADEGH, 2017).

Em outra pesquisa *in vivo* (empregando coelhos) realizada por Torres e colaboradores comparou-se as capacidades de regeneração óssea de DCPA e enxerto ósseo autólogo. Eles encontraram que grânulos de DCPA após serem implantados em defeitos ósseos na região da calvária (osso da parte superior do crânio) levou a completa regeneração da lesão por meio da mineralização de ossos e incorporação de DCPA na região. Vale ressaltar que na pesquisa em questão, não foi encontrado diferenças significativas do ponto de vista estatístico entre os resultados apresentados por DCPA e pelo enxerto ósseo autólogo. Desta forma, eles concluíram que no estudo realizado ambos os materiais apresentaram a mesma eficiência (TORRES et al., 2015).

2.8 Materiais compósitos do híbrido PDMSUr e fosfato de cálcio

Com base no discutido nas seções anteriores a respeito das características da PDMSUr e dos fosfatos de cálcio, propõem-se a obtenção de um material compósito contendo ambos os componentes. Tendo em vista que a aplicação da fase fosfato de cálcio, que por ser mais hidrofílico e biorreabsorvível do que a PDMSUr, pode auxiliar na interação do material com fluidos e superfícies hidrofílicas. Em paralelo, espera-se que parte do fosfato de cálcio disperso na PHU seja dissolvida em contato com o fluido biológico liberando íons fosfato e cálcio melhorando a biocompatibilidade e diminuindo a rigidez do compósito. Além disso, o processo de síntese da matriz PDMSUr permite a obtenção de cadeias de PHU estáveis à hidrólise devido à formação de ligações de hidrogênio intramolecular entre grupos OH e carbonila da ligação uretana. Com isso, espera-se alcançar um material menos susceptível à degradação hidrolítica, com propriedades biocompatíveis como a osseointegração, melhoramento das propriedades térmicas e mecânicas

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

O objetivo deste trabalho foi desenvolver metodologias de síntese de materiais compósitos baseados no material híbrido hidroxiuretano de polidimetilsiloxano, denominado PDMSUr, com fosfato de cálcio, visando o seu potencial uso na reconstrução e reparação óssea e agente de fixação/adesão de implantes aplicados na Odontologia e ou Ortopedia. A Figura 13 apresenta uma representação esquemática desta proposta.

Figura 13 – Representação esquemática da obtenção de compósitos PDMSUr/fosfato de cálcio visando obter materiais com potencial para serem empregados na área biomédica.

Fonte: Autoria própria.

3.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver uma formulação de PDMSUr adequada para gerar um filme autossustentado e caracterizá-la quanto a sua composição, estrutura, estabilidade hidrolítica, grau de reticulação, comportamento térmico e citotoxicidade.
- Desenvolver uma metodologia para obtenção de compósitos PDMSUr/fosfato de cálcio por simples mistura dos dois componentes previamente sintetizados e caracterizar o material obtido.
- Desenvolver uma metodologia de formação de compósito PDMSUr/fosfato de cálcio com o último sendo gerado in situ (Método da Síntese Reativa e Método da Imersão Alternada). Caracterizar os compósitos e correlacionar a metodologia de síntese com a fase de fosfato de cálcio obtida.
- Obter filmes finos da PDMSUr e do Compósito via *spin coating* e caracterizá-los em relação seus parâmetros de rugosidade de superfície e morfologia por perfilometria ótica.
- Realizar ensaios preliminares de atividade antimicrobiana das membranas de PDMSUr e do Compósito PDMSUr/fosfato de cálcio.

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais

4.1.1 Reagentes para síntese do bis-ciclorcarbonato polidimetilsiloxano (CCPDMS)

1. Poli(dimetilsiloxano) terminado com bis-diglicidil éter (EPDMS, 800 g mol⁻¹, CAS: 130167-23-6, Sigma Aldrich);
2. Brometo de tetraetilamônio (TEBA, 98%, 210,16 g mol⁻¹, CAS: 71-91-0, Sigma Aldrich);
3. 2-Etóxietanol (EE, 99%, 90,12 g mol⁻¹, CAS: 110-80-5, Merck);
4. Dióxido de carbono, (99,99%, 44,01 g mol⁻¹, CAS: 124-38-9, Linde gás);
5. Acetato de etila (99.8%, 88,11 g mol⁻¹, CAS: 141-78-6, Synth)
6. Água ultra pura

4.1.2 Reagentes para síntese da hidroxiuretana baseada em PDMS (PDMSUr)

1. CCPDMS sintetizado
2. 3-trietoxisililpropilamina (APTES, 99%, CAS: 919-30-2, Sigma Aldrich);
3. 5-amino-1,3,3-trimetilciclohexano metilamina (IPDA, >99%, 170,3 g mol⁻¹, CAS: 2855-13-2, Sigma Aldrich);
4. Etanol ($\geq 99,8\%$, 46.069 g mol⁻¹, CAS: 64-17-5, Honeywell);
5. Ácido fosfórico (85%, 98 g mol⁻¹, CAS:7664-38-2, Synth).

4.1.3 Reagentes para síntese das biocerâmicas

1. Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB, 364,46 g/mol, 96% CAS: 57-09-0, Fluka);
2. Fosfato de dissódico anidro (141,96 g·mol⁻¹, CAS: 7558-79-4, Fluka);
3. Cloreto de cálcio diidratado (147.01 g mol⁻¹, CAS: 10035-04-8, Synth);
4. Cloreto de cálcio anidro ($\geq 97\%$, 110,98 g mol⁻¹, CAS: 10043-52-4, Sigma Aldrich);
5. Hidróxido de Sódio (40,00 g mol⁻¹ CAS: 1310-73-2, Synth);
6. Etanol ($\geq 99,8\%$, 46.069 g mol⁻¹, CAS: 64-17-5, Honeywell);
7. Água ultra pura;
8. Ácido fosfórico (85%, 98 g mol⁻¹, CAS:7664-38-2, Synth);
9. Ácido fosfórico cristalizado (>99%, 97,994 g mol⁻¹, CAS:7664-38-2, Sigma Aldrich).

4.1.4 Reagentes para obtenção dos compósitos

1. PDMSUr sintetizado;
2. Hap sintetizado;
3. Hidróxido de Cálcio (74,093 g mol⁻¹, CAS: 1305-62-0, Merck);
4. Hidróxido de Potássio (56,1056 g mol⁻¹ CAS: 1310-58-3, Merck);

5. Ácido fosfórico (85%, 98 g mol^{-1} , CAS:7664-38-2, Synth);
6. Cloreto de cálcio diidratado ($147.01 \text{ g mol}^{-1}$, CAS: 10035-04-8, Synth);
7. Etanol ($\geq 99,8\%$, $46.069 \text{ g mol}^{-1}$, CAS: 64-17-5, Honeywell).

4.2 Síntese do bis-ciclorcarbonato polidimetilsiloxano (CCPDMS)

A síntese do CCPDMS foi adaptada do método desenvolvido em estudos prévios no GQMatHI (LOPES, 2004; AGUIAR, 2015; HOLANDA, 2018). Primeiramente, 20 g de EPDMS e 0,3000 g de catalisador TEBA foram dissolvidos em 30 mL de 2-etoxietanol e então transferidos para o reator do tipo PARR autoclave, Figura 14. Após 10 minutos de purga de CO₂ à temperatura de 150° C e velocidade de agitação em 200 rpm a pressão foi fixada em de 1,10 MPa de CO₂ a contagem do tempo de reação foi iniciada. O tempo total de reação foi de oito horas. Após finalizada a síntese do CCPDMS o 2-etóxi etanol foi eliminado por evaporação a 60°C numa chapa com aquecimento controlado, finalizado essa etapa o ciclocarbonato obtido foi submetido a um processo de extração líquido-líquido empregando acetado de etila e água na proporção de 2:1 por 5 vezes para eliminação do catalisador (TEBA).

Figura 14 - Reator do tipo PARR empregado na síntese do CCPDMS: a) Reator montado para uso, com a manta aquecedora (1) abaixada. (2) mangueira de entrada de gás com sua respectiva válvula. (3) sensor para leitura da pressão. (4) sensor termopar para leitura e controle da temperatura do meio reacional. b) Copo do reator desmontado. (5) cinta e braçadeira metálicas desmontadas. c) Tampa do reator vista de baixo. (6) pás inclinadas (45°) para agitação. (7) tubo metálico para introdução do gás

Fonte: Leite (LEITE, 2015).

4.3 Síntese da Hidroxiuretana derivada de PDMS (PDMSUr)

A síntese do PDMSUr foi obtida de acordo com a metodologia adaptada das propostas de Aguiar e Holanda (AGUIAR, 2015; HOLANDA, 2018). Neste procedimento uma dada proporção de CCPDMS e isoforesodiamina (IPDA) foi submetida simultaneamente ao aquecimento à 70° C e agitação por 20 minutos, terminada essa primeira etapa foi adicionado 3-trietoxisililpropilamina (APTES) e o sistema foi deixado reagir sob agitação à 70° C por mais

20 minutos. As proporções de aminas utilizadas para obtenção da PDMSUr estão discriminadas na tabela 3.

Tabela 3 – Proporções molares de aminas utilizadas na síntese da PDMSUr.

Identificação	CCPDMS	IPDA	APTES
PDMSUr1	1 mmol	1 mmol	-----
PDMSUr2	1 mmol	0,75 mmol	0,5 mmol
PDMSUr3	1 mmol	0,5 mmol	1 mmol
PDMSUr4	1 mmol	0,25 mmol	1,5 mmol
PDMSUr5	1 mmol	-----	2 mmol

Fonte: Autoria própria

Para ajudar no processo de hidrólise e condensação dos grupos silanóis do APTES, nas formulações na qual ele estava presente, foi adicionado 1% de ácido fosfórico em relação a massa total da PDMSUr. Uma vez que a PDMSUr antes do processo de reticulação é um líquido de elevada viscosidade, foi adicionado etanol (3 mL) ao mesmo para facilitar a transferência delas para os moldes de poli(tetrafluoretileno) (PTFE). As PDMSUr foram deixadas curar lentamente para evitar a formação de bolhas nas membranas. Deste modo, o processo de cura foi realizado da seguinte forma: 24 horas a temperatura ambiente; 24 horas a 40° C e 24 horas a 60°C.

Além disso, visando-se caracterizar estruturalmente a matriz de PDMSUr por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) no estado sólido, uma membrana de PDMSUr2 foi preparada de maneira idêntica as demais, mas, sem utilização de ácido fosfórico como catalizador. Uma vez que o ácido fosfórico presente na membrana poderia atacar a o rotor de zircônia do aparelho de RMN. A membrana de PDMSUr2 obtida sem o emprego de catalisador foi denominada PDMSUr-NCat. Esta membrana também foi utilizada no estudo para entender a influência da presença H_3PO_4 nas propriedades antimicrobianas do material.

4.4 Obtenção dos filmes finos por *Spin coating*

Para obtenção dos filmes finos foi empregada a técnica de *spin coating*, primeiramente, uma solução etanólica de PDMSUr com concentração de 240 g L⁻¹ foi preparada. Então, 300 µL foram depositadas sobre lâminas de vidro de 2,5 cm². A velocidade de rotação durante o procedimento foi de 1000 rpm e o tempo de duração da rotação foi ajustado para cinco minutos. Finalizada a etapa anterior, o material foi deixado secar ao ar em temperatura ambiente por uma noite e depois deixado na estufa a 60°C por 24 horas.

4.5 Síntese das biocerâmicas

4.5.1 Síntese da hidroxiapatita (Hap)

A síntese da Hap, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, foi realizada seguindo o procedimento adaptado de Mujahid e colaboradores (MUJAHID; SARFRAZ; AMIN, 2015). Primeiramente preparou-se 50 mL de uma solução de Na_2HPO_4 com concentração $0,6 \text{ mol L}^{-1}$, a essa solução foi adicionado o volume de 50 mL de uma solução $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) sob agitação. Em seguida, o pH desse sistema foi acertado para 13 adicionando-se pequenas porções de NaOH sólido e acompanhando a variação do pH em um pHmetro, e então, ele foi deixado descansar por duas horas. Posteriormente, 30 mL de uma solução contendo o número equivalente de mols de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ foi adicionado lentamente ao sistema que estava descansado para alcançar uma razão Ca/P de 1,67. Finalizada essa etapa, o sistema foi posto em refluxo à 120°C por 24 horas. O material formado depois desse período foi centrifugado a 3500 rpm por 20 minutos numa centrífuga Hermle modelo Z 400 e deixado secar 24 horas à 100°C . Por fim, após a secagem o material foi calcinado a 550°C por 6 horas.

4.5.2 Síntese de Fosfato de Dicálcio Anidro (DCPA)

Metodologia de síntese do DCPA

O procedimento de síntese do DCPA, CaHPO_4 , foi realizado da seguinte forma: 100 mL de uma solução etanólica de H_3PO_4 (preparada utilizando H_3PO_4 85%) em concentração $1,0$ ou $0,6 \text{ mol L}^{-1}$ sob agitação vigorosa foi adicionada lentamente à 100 mL de uma solução etanólica de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em concentração de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Esse sistema foi deixado sobre agitação até passar de uma solução incolor para uma suspensão branca (5 minutos). A suspensão formada foi centrifugada a 3500 rpm e o precipitado foi lavado 5 vezes com etanol absoluto e depois uma fração do material foi seco a temperatura ambiente por 72 horas e outra à 60°C numa estufa por uma noite.

Ensaio Para Analisar o Efeito da Presença de Água Durante a Etapa de Precipitação do Gel

Primeiramente soluções etanólicas de CaCl_2 anidro e H_3PO_4 cristalizado (99%) foram preparadas no interior de uma *Glovebox* MBRAUM sob atmosfera de nitrogênio, ambas em concentração de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Os reagentes (CaCl_2 anidro e H_3PO_4 99%) e solvente etanol (99,8%, com teor de água inferior 0,2%) foram utilizados sem purificação prévia. Após essa etapa, a massa de 20 mL das soluções precursoras (10 mL de H_3PO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ + 10 mL de CaCl_2) foram aferidas numa balança de precisão. Em seguida com base no valor encontrado da massa total das soluções precursoras, diferentes volumes de água foram adicionados em

recipientes reacionais antes da adição das soluções precursoras. Assim, foi possível alcançar diferentes proporções em massa de água (0; 3; 5; 10; 20; 30; 40; 50; e 60%) no sistema em relação a massa total das soluções etanólicas. Os sistemas foram deixados sob agitação por uma noite. Uma vez finalizado a etapa anterior, as amostras foram centrifugadas, lavadas com etanol 5 vezes e então secas à 60°C.

Ensaio Para Analisar o Efeito da Influência da Lavagem no Produto da Precipitação das Soluções Precursoras de Cálcio e Fosfato

Primeiramente 100 ml de H_3PO_4 – 1,0 mol L^{-1} (preparada utilizando H_3PO_4 85%) foram adicionados à 100 ml de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - 1,0 Mol L^{-1} sobre agitação constante até observar-se a precipitação de um gel branco. Após essa etapa o sistema contendo o gel branco foi centrifugado e o sobrenadante descartado. Finalizado este procedimento, uma fração do gel foi seco ao ar em temperatura ambiente (24°C) e outra a 70°C por 72 horas.

4.6 Obtenção dos compósitos

4.6.1 Obtenção do compósito PDMSUr/ fosfato de cálcio pelo Método da Mistura Física (MMF)

O método escolhido para obtenção dos compósitos MMF foi o solvente casting, neste uma dada massa de PDMSUr (ainda não curada) foi dissolvida em 1 mL de etanol, obtendo-se uma solução de viscosidade elevada. Após essa etapa, em recipientes distintos contendo a referida solução, uma proporção de 5, 10 e 20% de Hap em relação a massa do polímero e foi adicionado ao sistema e agitado vigorosamente. Posteriormente esta suspensão foi sonicada por 2 horas de maneira a se obter uma boa dispersão das partículas suspensas. A suspensão foi depositada em um suporte de PTFE e deixado em estufa a 60° C até secagem do solvente (etanol) e cura da matriz (hidrólise e condensação dos grupos APTES). A Figura 15, apresenta uma representação esquemática do processo de obtenção de Comp MMF.

Figura 15 – Representação esquemática do Método da Mistura Física (MMF).

Fonte: Autoria própria.

4.6.2 Obtenção do compósito PDMSUr/Fosfato de Cálcio pelo Método da Síntese Reativa (MSR)

Para a obtenção dos compósitos PDMSUr/fosfato de cálcio pelo MSR, primeiramente, preparou-se uma suspensão de 1 ml de etanol contendo a massa de 0,1106 g de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Em seguida, a massa de 0,720 g de PDMSUr foi dissolvida nesta suspensão. Então, 61,3 μL de H_3PO_4 85% foi dissolvido em 200 μL de etanol e adicionados aos frascos contendo o polímero dissolvido em suspensão de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Esse procedimento foi realizado no preparo do compósito MSR 01 e 02 que após essas etapas foram deixados sob agitação a temperatura ambiente e à 73°C por uma noite respectivamente. Finalizada esta etapa, MSR 01 e 02 foram secos em estufa à 60° C por 10 dias. A Figura 16 apresenta uma representação esquemática do processo de obtenção de compósitos via MSR.

Figura 16 – Representação esquemática do Método da Síntese Reativa.

Fonte: Autória própria.

4.6.3 Obtenção compósito PDMSUr/fosfato de cálcio pelo Método da Imersão Alternada (MIA)

Para obtenção do compósito pelo MIA, primeiramente preparou-se soluções etanólicas precursoras de íons cálcio e fosfato. As soluções de íons cálcio foram preparadas com concentração de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Por sua vez, as soluções precursoras de íons fosfato foram preparadas em duas concentrações, $0,6$ e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de H_3PO_4 . Os compósitos obtidos empregando as soluções de concentração $0,6 \text{ mol L}^{-1}$ de H_3PO_4 foram denominados Comp MIA 01 e os de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ Comp MIA 02, respectivamente.

O ensaio foi procedido da seguinte maneira, uma membrana de PDMSUr com em torno de 1 cm^2 de área ou uma lâmina de vidro com $2,5 \text{ cm}^2$ a qual teve uma de suas superfícies recobertas com filme fino de PDMSUr, foi mergulhada por um período de tempo em 30 mL da solução precursora de íons Ca^{2+} . Em seguida, a membrana de PDMSUr ou a lâmina recoberta com PDMSUr foi lavada com etanol e então mergulhada em 30 mL da solução precursora de íons PO_4^{3-} , completando assim um ciclo de imersões, as soluções precursoras utilizadas não foram trocadas entre cada ciclo. Diferentes tempos de imersão e diferentes números de ciclos foram testados. Uma vez finalizado o ensaio de imersão os compósitos foram deixados secar

em estufa à 60°C por uma noite. A Figura 17 apresenta uma representação esquemática do processo de obtenção de Comp MIA.

Figura 17 – Representação esquemática do método da imersão alternada.

Fonte: Autoria própria.

O nome das amostras foi construído como exemplificado na Figura 18 a seguir:

Figura 18 – Construção do nome das amostras de Comp MIA.

Fonte: Autoria própria.

4.7 Ensaio de imersão de Comp MIA em solução etanólica de KOH

Conforme metodologia empregada por Mishima, Silva e seus colaboradores, mas no presente estudo adaptado para o uso de solução etanólica, foi testado se a imersão em solução etanólica de KOH poderia induzir a formação de Hap em Comp MIA (SILVA et al., 2001; MISHIMA et al., 2011).

Para tal, duas soluções de KOH foram preparadas, uma delas com concentração de 0,01 mol L⁻¹ e outra com 1,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹. Posteriormente, uma membrana de Comp MIA 01 – 2 x C de 20 min + 2h CaCl₂·2H₂O – 1,0 mol L⁻¹ foi imersa por duas horas numa solução de KOH 0,01 mol L⁻¹, finalizada esse tempo a membrana foi partida ao meio, metade da membrana foi lavada com etanol e seca em estufa e recebeu o nome de “Comp MIA 01 – 2 x C de 20 min +

KOH i” a outra parte permaneceu na solução até completar 72 horas e foi denominada “Comp MIA 01 – 2 x C de 20 min + KOH ii”. Uma outra membrana de Comp MIA 01 – 2 x C de 20 min foi imersa por 72 horas em 30 mL de uma solução de KOH $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Após este período, a membrana foi lavada com etanol e seca em estufa a 60°C por uma noite, esta foi denominada “Comp MIA 01 – 2 x C de 20 min + KOH iii”.

4.8 Métodos de caracterização

4.8.1 Espectroscopia de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva (EDXRF)

As amostras de CCPDMS foram analisadas em um espectrômetro miniPal 4 (Panalytical) pertencente a Central de Análises Químicas e Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo (CAQI – IQSC – USP), aplicando 9 W a um tubo de ródio empregando um tempo de aquisição de 15 minutos em atmosfera de He.

4.8.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As análises de FTIR foram realizadas na CAQI – IQSC – USP. As amostras CCPDMS e DCPA foram analisadas num espectrômetro Bruker modelo tensor 27 no modo ATR na região de 4000 a 650 cm^{-1} . As amostras PDMSUr foram analisadas num espectrômetro Shimadzu modelo IRAffinity 1 no modo ATR para filmes na região de 4000 cm^{-1} a 650 cm^{-1} . As amostras de Hap foram analisadas em pastilhas de KBr na região de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} .

4.8.3 Espectroscopia Raman

As amostras de PDMSUr, Hap, DCPA, Comp. MMF, Comp MSR e Comp. MIA foram analisadas em um multi-microespectrômetro CRAIC modelo PV 20/30 pertencente à CAQI – IQSC - USP, utilizando o modo microRaman e empregando um suporte de alumínio para suportar as amostras.

4.8.4 Difração de Raios -X (DRX)

As análises foram realizadas num difratômetro de raios X Bruker, modelo D8 Advance pertencente à CAQI – IQSC - USP. Estas foram realizadas com objetivo de caracterizar as fases cristalinas de fosfato de cálcio sintetizadas isoladamente (DCPA e Hap) bem como as obtidas no Comp MMF, Comp MSR e Comp MIA. As condições de aquisição foram: tempo de aquisição de 2 segundos, passo de medida $0,01^\circ$, fonte radiação empregada Cu K α ($\lambda = 1,54184 \text{ nm}$) e filtro de níquel.

A equação de Scherrer (equação 1) foi empregada para calcular o tamanho do cristalito da Hap sintetizada:

$$D = \frac{K\lambda}{\cos\theta} \quad \text{equação 1}$$

Na qual D representa o tamanho do cristalito, K é uma constante de proporcionalidade, β é o alargamento da linha de difração medido a meia altura e θ é o ângulo de Bragg do pico (HE et al., 2018; MIRANDA; SASAKI, 2018).

4.8.5 Titulação Karl Fischer

As amostras de CCPDMS foram tituladas em um titulador automático do tipo 870 KF Titrino Plus acoplado a um agitador Ti Stand alocado no GQMatHI – IQSC – USP.

4.8.6 Tensiometria (Molhabilidade)

A molhabilidade das superfícies foi obtida a partir de medidas dos ângulos de contato estáticos das superfícies da PDMSUr e Comp MIA foram medidos em um goniômetro OCA15 Plus (Data Physics Instruments, Germany) pertencente à CAQI – IQSC - USP. O volume das gotas foi mantido constante em 10 μ l. Os valores dos ângulos de contato foram averiguados em diferentes exemplares de amostras (triplicata) e em diferentes regiões de uma mesma amostra (centro e bordas). As imagens foram obtidas com uma câmera CCD e analisadas com o software SCAN 20 Data Physics. Todas as medidas foram realizadas em sala com umidade e temperatura controlada isenta de correntes de ar no Bloco Q17 do IQSC.

4.8.7 Ressonância magnética nuclear no estado sólido

Os espectros de RMN de alta resolução em estado sólido foram obtidos num espectrômetro Bruker AVANCE III 400 MHz pertencente à Embrapa Instrumentação em São Carlos. As amostras de PDMSUR e Comp MIA foram resfriadas com nitrogênio líquido e trituradas num almofariz com auxílio de um pestilo antes de serem analisadas. Por sua vez, as amostras de biocerâmicas (Hap e DCPA) já se apresentavam na forma pó e por isso não foi necessário preparos adicionais antes da análise. As amostras foram empacotadas em rotores de zircônia de 4 mm de diâmetro. Os experimentos foram realizados na condição de rotação em ângulo mágico (MAS) com frequência de 10 KHz.

As amostras foram analisadas no modo de desacoplamento de alta potência (HPDec) e polarização cruzada (CP) empregando rotação em torno do ângulo mágico (MAS). O experimento HPDec-MAS excita todos os núcleos do átomo em análise de maneira não-seletiva, enquanto o experimento CP-MAS consiste na transferência de polarização dos núcleos ^1H para ^{31}P ou ^{13}C , assim, os núcleos que estão numa vizinhança com maior número de ^1H apresentaram sinal mais pronunciado.

Os deslocamentos químicos de ^{29}Si e ^{13}C foram referenciados com relação ao Tetrametilsilano (TMS). Já os deslocamentos de ^{31}P foram referenciados em relação ao H_3PO_4 . O número de scans para CP – MAS foi de 2048 e para HPDec – MAS foi de 1024.

4.8.8 Ensaio de inchamento e determinação do grau de reticulação

O ensaio de inchamento e determinação do grau de reticulação foi baseado nas normas ASTM D471 (ASTM INTERNATIONAL, 2015) e D543 (ASTM INTERNATIONAL, 2001a).

Para a determinar o grau de hidratação da PDMSUr, sua estabilidade hidrolítica e grau de reticulação amostras foram imersas em água e etanol por um dado período de tempo (KIM; KIM, 2019). Primeiramente, amostras previamente pesadas com 1 cm² foram imersas em 45 mL de etanol (ensaio de inchamento em etanol e determinação do grau de reticulação) ou de água (ensaio de grau de inchamento em água e estabilidade hidrolítica) por um período de 72 horas, sendo que cada um dos ensaios foi conduzido em triplicata.

O grau de hidratação foi determinado obtendo-se o valor do grau de inchamento em água segundo a fórmula abaixo:

$$\text{Grau de inchamento (\%)} = \frac{m_{PDMSUr_i} - m_{PDMSUr_f}}{m_{PDMSUr_i}} \times 100 \quad \text{equação 2}$$

No qual m_{PDMSUr_i} representa a massa inicial da PDMSUr antes da imersão em água e m_{PDMSUr_f} representa a massa da PDMSUr após 72 horas em água.

Por sua vez o grau de reticulação foi determinado segundo a equação 3 a seguir:

$$\text{Grau de reticulação (\%)} = \frac{m_{PDMSUr_f}}{m_{PDMSUr_i}} \times 100 \quad \text{equação 3}$$

Na qual m_{PDMSUr_i} representa a massa da PDMSUr antes de ser imersa em etanol e m_{PDMSUr_f} representa a massa de PDMSUr depois de ser imersa em etanol por um período de 72 horas e seca em estufa por 24 horas a 60°C.

4.8.9 Porosidade

Uma análise porosimétrica foi realizada nas membranas de PDMSUr, compósitos MIA, MMF e nas biocerâmicas (Hap e DCPA). Estes experimentos foram conduzidos no Laboratório de Sólidos e Superfícies do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (LSS – IQ – UFRGS). Para realização do ensaio nas membranas primeiramente elas foram congeladas com nitrogênio líquido e depois trituradas em um almofariz com ajuda de um pestilo. Por sua vez, as amostras de biocerâmicas já se apresentavam na forma pó, deste modo, não foi necessário realizar essa operação para elas.

As isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio foram obtidas na temperatura de ebulição do nitrogênio, no Equipamento Micromeritics Tristar II Kr 3020. As amostras foram previamente aquecidas a 120° C, sob vácuo, por 12h. As áreas específicas foram estimadas usando-se o método BET (Brunauer, Emmett and Teller). O volume de poros e a distribuição de tamanho dos mesoporos foram obtidos usando-se o método BJH (Barret, Joyner and

Halenda) (HAUL, 1982). A distribuição de tamanho de microporos foi obtida pelo método DFT (Density Functional Theory) (WEBB; ORR, 1997).

4.8.10 Ensaio de Análise Elementar

Para determinar o conteúdo total de carbono presente na Hap e consequentemente a porcentagem de íons carbonato na sua estrutura, realizou-se uma análise elementar do tipo CHNSO na mesma. Para tal, as análises foram realizadas num equipamento ThermoScientific, modelo FlashSmart (localizado na CAQI – IQSC - USP) em triplicata.

4.8.11 Ensaio de Perfilometria Ótica

A análise de perfilometria para determinar o grau de rugosidade e morfologia do filme fino de PDMSUr e Comp MIA depositado em lâmina de vidro por spin coating foi realizado em um perfilometro Wyko nt1100. A análise foi realizada no Departamento de Engenharia Mecânica da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (SEM – EESC – USP). O modo de análise empregado foi o de Interferometria de mudança de fase (PSI) e as amostras analisadas eram constituídas de filmes finos de PDMSUr e Comp MIA. Cada filme fino foi analisado em 10 áreas (736 μm x 480 μm) de sua superfície e as estatísticas presentes nas tabelas são resultado da média aritmética dos valores obtidos.

4.8.12 Análise Termogravimétrica (TG)

A análise do comportamento térmico foi realizada em um aparelho SDT Q600 da TA instruments no Laboratório de Análise Térmica, Eletroanalítica e Química de Soluções do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo (LATEQS – IQSC – USP), os parâmetros empregados foram atmosfera de ar sintético, fluxo de gás 50mL/min e taxa de aquecimento de 10°C/minuto até a temperatura de 1200° C. As técnicas térmicas utilizadas foram a análise termogravimétrica (TG) e termogravimetria derivada (DTG), esta corresponde a derivada primeira da TG. Os experimentos foram realizados para as amostras de CCPDMS, PDMSUr, Hap, DCPA e Comp MIA.

4.8.13 Determinação da distribuição de tamanho de partículas (DTP).

Uma análise foi conduzida para determinação da distribuição de tamanho de partículas para biocerâmicas sintetizadas (Hap e DCPA). Esta foi realizada num equipamento Mastersizer Microplus da Malvern, localizado no Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos por meio da técnica de difração de laser.

4.8.14 Microscopia Eletrônica de Varredura

As morfologias das amostras de Hap, DCPA, membranas de PDMSUr e Comp MIA foram analisados por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A caracterização foi

realizada em um microscópio FEI Inspect S50 empregando detector de elétrons secundários e/ou retroespalhados segundo a necessidade na análise, as tensões de operação utilizadas foram de 15 e 25 kV. As análises foram realizadas no Laboratório de Caracterização Estrutural do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos (LCE – DEMA – UFSCar) pela Professora Lidiane Cristina Costa. As amostras das membranas de PDMSUr e Comp MIA foram cortadas com uma lâmina de borda única (aço carbono) à temperatura ambiente e depois revestidas com ouro antes da análise por MEV.

4.8.15 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Uma amostra de Hap foi analisada por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). A análise de MET foi realizada em um equipamento JEOL modelo JEM2100 LaB₆ operando a uma voltagem de 200kV pertencente à CAQI – IQSC – USP. As amostras foram preparadas por imersão de *minigrids* de cobre revestido com carbono em uma suspensão diluída das partículas de Hap.

4.9 Ensaio preliminar de liberação de íons Cálcio e Fosfato

Uma amostra com massa de aproximadamente 130 mg do compósitos Comp MIA 1 x Ciclo de 80 min foi imersas em 30 mL de solução de NaCl – 0,133 mol L⁻¹ conforme metodologia comumente empregada em estudos de liberação de íons cálcio e fosfato a partir de biomateriais (XU et al., 2011; CHEN et al., 2014; ZHANG et al., 2015). Após 24 horas de imersão na solução salina a membrana foi removida e o solução foi centrifugada a 5000 rpm por 15 minutos. Então, uma fração superficial dessa solução foi coletada e armazenada em geladeira num microtubo de 1,5 mL até o momento da análise.

O teor de íons Cálcio e fosfato foi determinado por meio de EDXRF, o equipamento empregado foi o espectrofotômetro modelo Ray Ny EDX-720 da Shimadzo pertencente ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA – USP). O modo de análise utilizado para determinar a concentração dos elementos cálcio e fósforo foi o semi-quantitativo. O método de análise utilizado empregou pré-concentração da amostra por secagem de uma gota do líquido sobre um filme de Mylar™ numa estufa antes da análise conforme metodologia empregada por Almeida e colaboradores (ALMEIDA et al., 2011).

4.10 Ensaio antimicrobiano

4.10.1 Ensaio de atividade antimicrobiana das membranas

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados no Laboratório de Bioquímica e Genética Aplicada do Departamento de Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos (LBGA – DGE – UFSCar) pela Dra. Marina Campos Rocha e pelo Professor Dr. Iran

Malavazi. Primeiramente todas as membranas empregadas no estudo foram esterilizadas com luz ultravioleta. Elas possuíam diâmetro de 1,0 cm e consistiam de PDMSUr, PDMSUr-NCat, Comp MIA 5, 20 e 80 min. O método escolhido para avaliar a capacidade antimicrobiana foi adaptado das normas ASTM D5590 – 17 (ASTM INTERNATIONAL, 2001b) e ASTM E2149 – 13a (ASTM INTERNATIONAL, 2013).

No protocolo empregado no presente estudo, a atividade antimicrobiana das membranas sobre os diferentes microrganismos foi avaliada por densidade óptica a 600 nm (OD_{600nm}) usando um espectrofotômetro Biochrom Libra S50. Inicialmente, frascos contendo 50 mL de caldo Sabouraud (para fungos) ou Mueller Hinton (para bactérias) foram inoculados com 200 µL de uma suspensão fresca de cada microrganismo com concentração de 4×10^9 UFC mL⁻¹. Em seguida as membranas dos materiais foram imersas nos meios de cultura e incubadas por período de 24 horas. As experiências foram incubadas a 35° C para bactérias e fungos filamentosos e a 37° C para leveduras em um agitador orbital (200 rpm). Para leituras de OD₆₀₀, alíquotas de suspensões foram coletadas com 24 horas e antecedência. A turbidez gerada pelo caldo foi considerada através de leituras em branco. Os testes foram realizados em triplicata e os valores médios (%) são relatados.

A atividade antimicrobiana das membranas foi testada em patógenos clinicamente relevantes: Bactéria gram-negativa *Escherichia coli* ATCC 25922, bactéria gram positiva *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, bactéria gram positiva e multiresistente a diversos antibióticos *Enterococcus faecium* VRE16, fungo filamentoso *Aspergillus fumigatus* akuBKU80, e por fim as leveduras *Cryptococcus neoformans* ATCC 90112, *Cryptococcus gattii* ATCC 32269, *Candida albicans* ATCC 64548, *Candida glabrata* ATCC 90030.

4.10.2 Concentrações inibitórias e biocidas mínimas de precursores da PDMSUr

Ensaios para determinação das concentrações inibitórias e biocidas mínimas dos materiais foram realizados no LBGA – DGE – UFSCar. A concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos precursores utilizados na obtenção da PDMSUr foi determinada pelo método de microdiluição em caldo recomendado pelo NCCLS, usando as diretrizes CLSI M38-A2 para fungos filamentosos (CLSI, 2008), M27-A2 para leveduras (REX et al., 2008) e M7-A10 para bactérias (CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2015). As experiências foram realizadas em placas de 96 poços. Cada poço foi preenchido com 195 µL de diluições em série de caldo contendo o composto precursor testado e inoculado com 5 µL de cultura fresca com concentração de 1×10^5 conídios mL⁻¹ de cada organismo. As placas foram incubadas por 48 horas a 37° C para bactérias e fungos filamentosos ou 48 horas a 30° C para

leveduras. O primeiro poço onde não houve crescimento microbiano visível foi definido como CIM.

Após avaliação da MIC, 100 µL de uma diluição em série do meio de cultura dos poços nos quais não foi observado crescimento microbiano visível foram incubados por 24 horas a 37° C para bactérias ou fungos filamentosos e 48 horas a 30 ° C para leveduras, como descrito acima para a membrana PDMSUr. A partir dessas análises, a concentração biocida mínima (CBM) foi assumida como a menor concentração do composto relevante que mata 100% da população inicial de microrganismos. As experiências com CIM e CBM foram avaliadas em triplicatas.

4.11 Ensaio de citotoxicidade do PDMSUr

O ensaio de citotoxicidade foi realizado no Instituto Fraunhofer de Materiais Avançados (IFAM) pela Professora Maria do Carmo Jordão Mainardi e a doutoranda Renata Pereira sob orientação do Professor Dr Klaus Rischka, na cidade de Bremen na Alemanha. O experimento foi realizado de acordo com a DIN-EN-ISO 10993-5. Antes do início do ensaio as amostras PDMSUr foram esterilizadas com isopropanol 70%, em seguida incubadas em 1 mL de meio de cultura RPMI por 24 h a 37 ° C e atmosfera de CO₂ a 5%. Em paralelo, 100 µL de suspensão contendo 1×10^4 células L929 foram pipetadas e adicionadas a placa de 96 poços, a qual permaneceu incubada por 24 h a 37°C e atmosfera de CO₂ 5%.

Após a 24 horas do início do experimento pipetou-se uma fração do meio de cultura em contato com biomaterial e esta foi transferida sem diluições para placa de 96 poços onde as células L929 estavam sendo cultivadas. Uma vez terminada esta etapa, a placa de 96 poços foi incubada por 24 horas a 37° C em atmosfera de CO₂ 5%.

Imediatamente após o fim do tempo determinado na etapa anterior, a solução presente no meio de cultura foi substituída pelo reagente WST-1 e o sistema foi deixado em incubação por duas horas. Em seguida, as soluções WST-1 foram retiradas e inseridas em uma nova placa de 96 poços e a absorbância foi medida a 450 nm em um leitor de microplacas TECAN Infinite Nano (Tecan Trade AG, Suíça) e analisada pelo software Magellan Data Analysis (Tecan Trade AG, Suíça).

O controle positivo (PC) consistiu em células L929 suspensas em solução a 10% de hidroxietilmetacrilato (HEMA) e o controle negativo (NC) consistiu em suspensão destas células em meio RPMI. O experimento foi realizado em triplicatas.

4.12 Fluxograma de obtenção e caracterização dos materiais

A Figura 19 apresenta um fluxograma simplificado de obtenção do híbrido PDMSUr e dos compósitos a esquerda. Por sua vez, na mesma, a direita, tem-se um fluxograma dos ensaios de atividade antimicrobiana, citotoxicidade e formação de filmes finos.

Figura 19 – Fluxograma simplificado de obtenção e caracterização dos materiais.

Fonte: Autoria própria.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Hidroxiuretanais Baseada em PDMS (PDMSUr)

5.1.1 Síntese e caracterização do CCPDMS

De acordo com a literatura numa reação de obtenção de ciclocarbonatos a partir da cicloadição de CO₂ ao epóxido catalisada somente por sais de halogênios (brometo de tetraetilamônio, TEBA, no presente estudo), ocorre segundo o mecanismo proposto a seguir na Figura 20 (KIHARA; HARA; ENDO, 1993; TAEKKI; KYUNG; YEOUL, 2006; SUN; ZHANG, 2007; NORTH; PASQUALE, 2009; REN et al., 2011; WANG et al., 2012; MA et al., 2012; CASTRO-GÓMEZ et al., 2013; KATHALEWAR et al., 2013; AGUIAR et al., 2014; FOLTRAN; MEREAU; TASSAING, 2014; LEITE, 2015). Uma vez que o cátion de tetraetilamônio não interfere diretamente no mecanismo da reação, na Figura 20 esse foi omitido para simplificar a imagem. Porém, ele sempre está presente para balancear a carga das espécies aniônicas durante todas as etapas do processo.

Figura 20 – Mecanismo de reação para adição de CO₂ ao EPDMS catalisada por brometo de tetraetilamônio, os cátions tetraetilamônio foram omitidos ao longo da representação esquemática da reação de formação de ciclocarbonatos.

Fonte: Autoria própria.

Análise Espectroscopia de fluorescência de Raios – X por Energia Dispersiva (EDXRF)

Com o objetivo de verificar se o processo de purificação do CCPDMS via extração líquido-líquido para remoção do catalisador foi eficiente, uma análise de EDXRF foi realizada na amostra dita purificada. Essa apontou teor de íons brometo presentes após as cinco extrações foi inferior ao limite de detecção do aparelho ($< 0,1\%$, Tabela 4). Deste modo, apontando que a metodologia de purificação com acetato de etila e água foi eficiente em remover o catalisador TEBA.

Tabela 4 - Teor de elementos encontrados por EDXRF no CCPDMS após as cinco lavagens com acetato de etila e água.

Elementos	% m/m	Óxidos	% m/m
Si	33,143	SiO ₂	62,166
Br	0,056	-----	-----

Determinação do Teor de Água por Titulação Karl Fischer

Uma das preocupações com relação à metodologia de purificação é o uso de água que uma vez misturada ao CCPDMS poderia afetar significativamente o rendimento da reação de aminólise. O teor de água determinado nas amostras de CCPDMS após purificação e secagem usando adição de Na₂SO₄ e posterior evaporação na placa de aquecimento por Karl Fischer foi inferior ao limite de detecção do titulador Karl Fischer utilizado (limite inferior de detecção igual a 0,1 %) para o volume de CCPDMS analisado (1 mL). Ficou demonstrado, portanto, que a metodologia de purificação e secagem aplicada foi bem sucedida.

Análise de Espectroscopia na Região do Infravermelho

Para confirmar se o produto proposto no mecanismo da Figura 20 foi sintetizado o espectro vibracional usando um espectrofotômetro de absorção na região do infravermelho foi obtido (mostrado na Figura 21) para amostra purificada de CCPDMS (linha preta) e do precursor EPDMS (linha vermelha).

Figura 21 – Espectro de absorção na região do infravermelho médio do CCPDMS (linha preta) e do EPDMS (linha vermelha).

Fonte: Autoria própria.

O espectro de FTIR do CCPDMS na Figura 21 apresenta uma banda na região de 1800 cm^{-1} que é característico de carbonilas de ciclocarbonato (AGUIAR et al., 2014; CARRILLO BEBER et al., 2015). Por outro lado, essa banda não está presente no espectro do EPDMS. Assim, a presença da banda na região de 1800 cm^{-1} em conjunto com o desaparecimento da banda de oxirano em torno de 910 cm^{-1} confirma a obtenção do anel de ciclocarbonato na síntese realizada. Em função da pequena força de oscilador do grupo oxirano infelizmente não é possível ter certeza da completa conversão (ŠAPIČ et al., 2014; LEITE, 2015). Entretanto, análises por RMN em estudos prévios realizados no GQMathI apontaram conversão de 94% dos grupos epóxidos em ciclocarbonatos quando o presente protocolo de síntese é empregado (AGUIAR et al., 2014; AGUIAR, 2015). Na Figura 21 ainda vemos em ambos os espectros, um par de bandas na região de 1020 cm^{-1} e 1110 cm^{-1} correspondente ao estiramento assimétrico tipo I e II das ligações siloxano (representados na Figura 22) (BARTHEL; NIKITINA, 2004; CHAZALVIEL; RODRIGUES-FILHO, 2012).

Figura 22 – Representação esquemática dos dois tipos de estiramentos assimétricos dos grupos Si-O-Si presentes na fração PDMS do CCPDMS e EPDMS.

Fonte: Autoria própria.

Além disso, as bandas intensas na região de 1260 e 800 cm^{-1} são referentes as deformações angulares no plano e fora do plano das ligações Si-CH₃ (AGUIAR et al., 2014; AGUIAR, 2015). Por sua vez, com relação aos estiramentos simétricos da ligação siloxano, em razão do grande ângulo das ligações Si-O-Si, estes possuem uma baixa absorção de radiação na região de infravermelho, sendo por isso frequentemente ignorados na literatura. Eles ocorrem na região abaixo de 900 cm^{-1} , mesma região das deformações angulares de Si-CH₃ (BARTHEL; NIKITINA, 2004; CHAZALVIEL; RODRIGUES-FILHO, 2012).

Estudo do Comportamento Térmico por Termogravimetria

A estabilidade térmica do CCPDMS foi avaliada por análise termogravimétrica em atmosfera de ar sintético, Figura 23. A curva em vermelho apresenta a perda de massa em função da temperatura (TG) e a curva em azul apresenta a derivada da perda de massa em função da temperatura (DTG). Na curva azul podemos visualizar um evento térmico que se inicia com T_{onset} de 183 °C passa por um máximo em 358 °C e por fim finaliza com T_{offset} 504 °C , revelando que o material possui uma boa estabilidade térmica.

Figura 23 – Análise Termogravimétrica do CCPDMS em atmosfera de ar sintético. A curva em vermelho apresenta a TG e a em azul a DTG.

Fonte: Autoria própria.

A degradação térmica que ocorre na região que se inicia por volta de 180 e vai até em torno de 230° C pode ser atribuída às frações orgânicas do CCPDMS, isto é, e a cadeia carbônica que o liga o grupo ciclocarbonato à fração PDMS (MADHAVAN; REDDY, 2006). Uma das principais características do grupo ciclocarbonato é sua boa estabilidade térmica, de fato, estudos indicam que sua degradação ocorre em temperaturas em torno de 300° C (FERNANDES; BRY; DE PERSIS, 2019) Logo, ela ocorre na mesma região da decomposição térmica da fração PDMS.

A degradação térmica em atmosfera de ar da fração PDMS pode ser compreendida em duas etapas, uma que se inicia por volta de 290 e outra que toma parte a partir de 400°C. Os principais produtos destes eventos são a formação de água, CO₂, oligômeros voláteis de silício e a sílica. Por outro lado, em atmosfera de nitrogênio a degradação térmica do PDMS produz apenas oligômeros voláteis e os processos de degradação iniciam-se apenas em temperaturas em torno de 400°C. Esta diferença ocorre porque o oxigênio catalisa a reação de despolimerização do PDMS para formação de oligômeros, conforme representado no esquema na Figura 24 (CAMINO; LOMAKIN; LAZZARI, 2001; TASIC et al., 2017).

Figura 24 – Representação esquemática do processo de formação de oligômeros voláteis produtos da degradação térmica da fração PDMS

Fonte: Autoria própria.

Contudo, embora a reação de degradação iniciar-se por volta de 290° C em ar sintético, a taxa de perda de massa nesse sistema é mais lenta do que quando comparado a taxa de perda em atmosfera inerte. Esse fato é explicado devido a oxidação térmica do PDMS conduzir ao aumento do grau de reticulação do polímero aumentando sua estabilidade térmica. A Figura 25 apresenta uma representação esquemática dessa ideia (CAMINO; LOMAKIN; LAZZARI, 2001; TASIC et al., 2017).

Figura 25 – Representação do processo de oxidação térmica da fração PDMS.

Fonte: Autoria própria.

Assim o oxigênio catalisa a reação de formação de oligômeros voláteis, mas também é responsável pelo processo de reticulação oxidativa que estabiliza o material, tendo este último como estágio final a formação de sílica. Deste modo, degradação em ar é conduzida via uma competição entre essas duas possíveis rotas.

Uma posterior decomposição para oligômeros cíclicos inicia depois de 400°, levando à formação de um pó fino, a análise de FTIR deste material após a temperatura de 500°C o caracterizou como sílica (CAMINO; LOMAKIN; LAZZARI, 2001; TASIC et al., 2017).

O teor de resíduo observado na análise termogravimétrica do CCPDMS foi de aproximadamente apenas 0,5 %. Uma possível explicação para esse fato provém de as moléculas de PDMS com baixo peso molecular tendem a sofrer reação de despolimerização formando componentes voláteis, mais rápido do que a reação de reticulação induzida pelo oxigênio que tende a formar resíduo sólido (KUČERA et al., 1961; RUČIGAJ; KRAJNC; SEBENIK, 2017). Aguiar e colaboradores encontraram valor da massa molar do CCPDMS em torno de 1182g mol⁻¹ empregando a técnica de espectrometria de massa MALD-TOF, essa massa é compatível com um oligômero que contém apenas doze monômeros de dimetilsiloxano (AGUIAR et al., 2014). De fato, observa-se no termograma presente na Figura 23 que a maior parte dos eventos térmicos ocorre na região antes de 400°C, temperatura na qual a oxidação térmica que leva à reticulação do polímero e tem como produto final SiO₂ começa a ocorrer.

5.1.2 Síntese e Caracterização da PDMSUr

Uma representação esquemática do processo para obtenção do híbrido PDMSUr é mostrada na Figura 26. Dentro da região quadriculada nesta figura tem-se a estrutura do PDMSUr, na qual a região em azul representa o grupo extensor de cadeia utilizado (IPDA), os retângulos vermelhos com bordas arredondadas apontam onde estão localizados os grupos uretano responsáveis por ligar os segmentos de PDMS e também a fração ormosil. Por fim, em verde tem-se a região ormosil do filme que é resultante do processo de hidrólise e condensação dos grupos APTES.

Figura 26 – Representação esquemática do processo de obtenção da poli(hidroxiuretana) de PDMS, PDMSUr. As linhas onduladas representam as cadeias de PDMS.

Fonte: Autoria própria.

Seleção da melhor formulação de PDMSUr para obtenção dos compósitos apoiada pela Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho Médio

A Figura 27 apresenta os espectros de absorção na região do infravermelho médio obtidos nas sínteses das PDMSUr's 1 a 5 (As proporções molares de aminas utilizadas em cada formulação estão discriminadas na tabela 3 presente na seção 4.3 da metodologia).

Figura 27 – Espectros FTIR das formulações de PDMSUr 1 a 5.

Fonte: Autoria própria.

Na região entre 3200 e 3500 cm^{-1} é possível observar bandas pertencentes ao estiramento simétrico e assimétrico de grupos N-H das ligações uretânicas e OH (AGUIAR et al., 2016b). As bandas nas regiões de 2968 a 2865 cm^{-1} são pertencentes aos estiramentos simétricos e assimétricos dos $-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}_2-$ (SOCRATES, 2004).

É possível inferir que todo o ciclocarbonato foi consumido durante o processo de formação das PDMSUr's 1 a 5 devido ao completo desaparecimento da banda de carbonila característica de ciclocarbonato (1800 cm^{-1}) e o aparecimento da banda de carbonila característica de ligação uretânica (1700 a 1730 cm^{-1}). Além disso, a banda na região de 1537 cm^{-1} é característica de grupo N-H ligado a carbonila o que também é um indicio para confirmar a formação da ligação uretânica (SOCRATES, 2004; AGUIAR, 2015; AGUIAR et al., 2016b).

Assim como no precursor CCPDMS as bandas entre 1020 e 1100 cm^{-1} correspondem aos estiramentos assimétricos (tipo I e II) das ligações siloxano Si-O-Si (BARTHEL; NIKITINA, 2004; CHAZALVIEL; RODRIGUES-FILHO, 2012). Absorções em 1260 cm^{-1} e 800 cm^{-1} são oriundas do segmento PDMS e representam as deformações no plano das ligações (C-H) do Si- CH_3 (SOCRATES, 2004; AGUIAR, 2015; AGUIAR et al., 2016b).

A Figura 28 apresenta a imagem dos materiais resultantes das 5 formulações de PDMSUr testadas. Nesta imagem, as porcentagens em cima e abaixo das setas indicam o teor de grupos das aminas (APTES e IPDA) em relação a quantidade total de grupos

ciclocarbonatos. Assim no sentido da seta verde tem-se o aumento do teor de APTES em relação a quantidade total de grupos ciclo carbonatos. Em contrapartida, na direção da seta vermelha tem-se o aumento do teor de grupos de IPDA.

Figura 28 – Imagem dos materiais resultantes das 5 formulações de PDMSUr testadas, as porcentagens em cima das setas indicam o teor de grupos amina (APTES e IPDA) em relação a quantidade total de grupos ciclocarbonatos.

Fonte: Autoria própria.

Conforme pode-se observar na Figura 28 a PDMSUr 1 que possui apenas IPDA como fonte de aminas apresenta-se como um líquido muito viscoso e pegajoso, portanto, não forma uma membrana sólida ou um filme autossustentado. Por sua vez, a PDMSUr 2 possui uma proporção de 75% de grupos amina de IPDA e 25% de grupos aminas de APTES em relação ao número total de grupamentos ciclocarbonato. Essa por sua vez, formou o filme autossuportado mais resistente, flexível e fácil de desmoldar dentre todas as formulações testadas, portanto, foi escolhida para elaboração do compósito e para os demais testes realizados no presente estudo, passando a ser denominada apenas de “PDMSUr”.

A PDMSUr 3 que possui 50% dos sítios de ciclocarbonato ligados a aminas do IPDA e os outros 50% ligados as aminas do APTES, formou um filme autossuportado que pode ser facilmente desmoldado, tal como a PDMSUr 2. Contudo, ele se mostrou friável, uma vez que, o mesmo se quebrou facilmente em duas partes sob uma leve flexão (na Figura 28 no quadrado laranja referente a PDMSUr 3, é possível observar na região “A” o filme logo após a desmoldagem e na região “B” o mesmo filme após uma leve flexão). Por fim, as PDMSUr 4 (25% IPDA e 75% APTES) e 5 (100% APTES) se apresentaram como autossuportados frágeis (muito pouco resistentes a flexão se quebrando durante o processo de desmoldagem), sendo o filme de da PDMSUr 5 o mais friável.

De maneira geral, pode ser observado que na ausência de APTES não há formação de um material sólido. Além disso, na medida que o teor de IPDA diminui e o de APTES aumenta, o material vai perdendo flexibilidade em função da capacidade reticulante do APTES que gera estruturas ormosil no material aumentando assim seu módulo elástico e o tornando friável.

Espectroscopia Raman

A Figura 29 apresenta o espectro Raman da PDMSUr.

Figura 29 – Espectro Raman PDMSUr.

Fonte: Autoria própria

O pico na região de 492 cm^{-1} corresponde ao estiramento simétrico da ligação Si-O-Si, já aquele na região de 710 cm^{-1} corresponde ao estiramento simétrico da ligação Si-C e o pequeno ombro na região de 686 cm^{-1} corresponde a rotação simétrica da metila no grupo funcional Si-CH₃. O pico na região 790 cm^{-1} é referente a rotação assimétrica de CH₃ e estiramento assimétrico da ligação Si-C. Por sua vez, o pico por volta de 860 cm^{-1} corresponde a rotação simétrica de CH₃ e o pico na região 1415 cm^{-1} correspondem a deformação angular simétrica do mesmo (CAI et al., 2010).

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear no Estado Sólido

Para obter mais informações sobre a estrutura da matriz de PDMSUr obtiveram-se espectros de RMN de no estado sólido. A Figura 30 apresenta uma proposta estrutural da PDMSUr, nela os átomos de Si nos diferentes ambientes químicos são representados pelas letras maiúsculas em vermelho. Por sua vez, os átomos de C nos diferentes ambientes químicos são representados pelas letras minúsculas em roxo.

Figura 30 – Estrutura proposta para a PDMSUr.

Fonte: Autoria própria.

Na Figura 31 pode se observar os os picos de RMN de ^{29}Si no modo de desacoplamento de alta potência com rotação em torno do ângulo mágico (HPDec – MAS).

Figura 31 – Espectro de RMN HPDec – MAS para membrana de PDMSUr-NCat (PDMSUr obtida em o emprego de catalisador) para átomos de ^{29}Si .

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a região na qual o pico foi identificado classificou-se os átomos de silício segundo a nomenclatura N, M, D, T e Q. Neste sistema “N” representa os átomos de silício que não estão ligados a quaisquer átomos de oxigênio. Por sua vez, “M, D, T e Q” representam os átomos de silício ligados a um, dois, três e quatros átomos de oxigênio respectivamente, Figura 32 (BESHAH et al., 1986).

Figura 32 – Representação da classificação dos átomos de silício segundo o número de ligações com átomos de oxigênio na estrutura da molécula de PDMSUr.

Fonte: Autoria própria.

Os átomos de silício M e D são originários da fração PDMS e seus deslocamentos ocorrem na região de 8,4 e -21,8 ppm respectivamente (AGUIAR et al., 2016b; GUERRA-CONTRERAS et al., 2017). Já os átomos T são oriundos do agente finalizador de cadeia com capacidade reticulante APTES e seu deslocamento químico ocorre na região de -67 ppm. Ademais, os picos de silanol (R-Si(OSi)(OH)₂) não foram detectados em suas regiões características (-50 e -55 ppm) apontando assim que o processo de hidrólise e condensação dos grupos APTES foi completo (AGUIAR et al., 2016b; PROTSAK et al., 2019).

O espectro de Polarização Cruzada {¹H-¹³C} de RMN com Rotação em ângulo Mágico (CP – MAS) da PDMSUr-NCat é mostrado na Figura 33.

Figura 33 – Espectro de RMN CP – MAS para PDMSUr-NCat (PDMSUr obtida sem a utilização do catalizador) para átomos de ^{13}C .

Fonte: Autoria própria.

Os resultados obtidos nas análises de RMN para a amostra de PDMSUr tanto com relação ao ^{13}C como ^{29}Si , estão em conformidade com aqueles encontrados em estudos prévios do GQMatHI nos trabalhos de Aguiar, Fermino e Holanda (AGUIAR, 2015; FERMINO, 2018; HOLANDA, 2018).

Na figura 33 a presença do pico característico do deslocamento químico do carbono de carbonila de ciclocarbonato em 155 ppm (YADAV et al., 2019) não foi observada. Além disso, em 158 ppm tem-se o pico "i" que é referente ao carbono da ligação uretânica (AGUIAR et al., 2016b; YADAV et al., 2019). A inexistência do pico característico de ciclocarbonatos junto ao aparecimento do pico de carbono de ligação uretânica apontam para uma total conversão dos ciclocarbonatos na reação de aminólise de obtenção da PDMSUr, confirmando assim os dados obtidos por FTIR. Os picos "e, f, g, h" que ocorrem na região de 62 a 75 ppm são relativos aos carbonos de: ligação éter, "e" e "f"; ligados a hidroxila, "g"; carbonos ligados ao oxigênio do grupo uretano "h" (AGUIAR et al., 2016b; TRYZNOWSKI et al., 2017; YADAV et al., 2019).

Já os picos na região de 25 a 40 ppm são referentes aos carbonos alifáticos do grupo extensor de cadeia IPDA (KÁRPÁTI et al., 2019; SCHÄFER; BUNTKOWSKY; GUTMANN, 2020). Por sua vez, os deslocamentos químicos na região de 24,1 e 14,9 ppm são oriundos dos carbonos "c" e "d". Por fim, o pico intenso na região de 0 a 1,6 ppm é referente aos deslocamentos químicos dos carbonos "a" e "b" (ZHU et al., 1994; AGUIAR et al., 2016b; YADAV et al., 2019).

Ensaio de Inchamento e Determinação do Grau de Reticulação

O resultado dos ensaios de inchamento e determinação do grau de reticulação estão dispostos na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados dos Ensaio de grau de inchamento em água e etanol e determinação do grau de reticulação.

solvente	Massa inicial	Massa depois de 72 h de imersão	Massa após secagem	Grau de inchamento (%)	Grau de Reticulação (%)
água	0,1238	0,1288	0,1238	4,04	-----
etanol	0,3355	0,7481	0,2066	262	61,58

Fonte: Autoria própria.

O grau de hidratação da PDMSUr é o valor do grau de inchamento em água, ele nos fornece informações a respeito da estabilidade hidrolítica do material. Nessa análise, o valor obtido foi de apenas 4%, isso nos indica que o material possui uma baixa capacidade de absorver água, valor condizente com uma matriz que é majoritariamente constituída pela fração hidrofóbica PDMS (LEE; PARK; WHITESIDES, 2003). Além disso, a massa da PDMSUr após a secagem foi igual a massa antes do processo de imersão, deste modo, o resultado aponta que o material não sofreu significativa hidrólise dentro da sensibilidade deste procedimento.

O método mais empregado para determinação da fração de gel em polímeros envolve a dissolução do polímero em solvente adequado seguido da separação da fração da suspensão, “sol”, ou solução contendo a parte solúvel da massa insolúvel ou interconectada em rede contendo o líquido aprisionado, “gel”. Uma separação quantitativa dessas duas fases permite a determinação tanto do teor de gel quanto da parte solúvel do polímero, e isso é alcançado por meio da remoção do solvente de cada uma das fases separadas (ROGOZINSKI; KRAMER, 1972).

A fração de gel é uma medida indireta da densidade de reticulação do material uma vez que ele corresponde a fração em rede do sistema polimérico (KIM; KIM, 2019). O ensaio de imersão em etanol apontou uma capacidade de inchamento em etanol de 262% do PDMSUr. Por sua vez, o conteúdo de gel e consequentemente grau de reticulação de foi 61,58%. Esse dado junto com o espectro de RMN de ^{29}Si indica que a maioria dos grupos T está envolvida em uma rede organossilicato dando origem a uma rede interpenetrante (IPN) orgânico-inorgânico, enquanto outra fração significativa (39%) que não faz parte desta rede provavelmente constitui-se em oligômeros de PDMS terminados com IPDA, Figura 34.

Figura 34 – Representação da possível estrutura da fração não reticulada da PDMSUr.

Fonte: Autoria própria.

Medidas de Molhabilidade por meio de Ângulo de Contato Estático com Água e Ensaio de Fisissorção e Dessorção de N₂

A Figura 35 apresenta o ângulo de contato entre uma gota de água e a PDMSUr, o ângulo de contato inicial foi de aproximadamente 90°, apontando assim que no início do experimento a superfície da PDMSUr está no limiar entre o caráter hidrofóbico e o hidrofílico. Esse valor obtido está em conformidade com outros dados da literatura, por exemplo, Pergarl e colaboradores e estudaram molhabilidade através do ângulo de contato estático com água em matrizes de poliuretanas baseadas em PDMS e poliésteres hiper-ramificados, eles encontraram valores de ângulo de contato variando entre 86,2 e 89,5° (PERGAL et al., 2013). Em outra pesquisa, Yen e colaboradores pesquisando blendas de poliuretanas baseadas em PDMS com poliuretanas baseadas em vários outros segmentos flexíveis, obtiveram valores de ângulo de contato variando entre 88 e 104° (YEN; TSAI; HONG, 2006).

Figura 35 – Imagens de gotas de água sobre PDMSUr imediatamente após sua deposição sobre a superfície (esquerda, “A”) e 300s após sua deposição (direita. “B”).

Fonte: Autoria própria.

Além disso, o valor do ângulo de contato inicial do PDMSUr é próximo daqueles obtidos para o PDMS puro ($95 - 110^\circ$) (CHAUDHURY, 1993; LAWTON et al., 2005), isso nos indica que possivelmente a superfície exposta do PDMSUr seco e em contato com ar é muito similar em termos de energia de superfície àquela do PDMS puro (PERGAL et al., 2013). Isso implica que a superfície do PDMSUr exposta é representada basicamente pela fração PDMS.

De fato, muitos trabalhos na literatura apontam que os grupamentos de PDMS (apolar) tendem a se manter expostos a superfície em contato com ar (apolar), enquanto os grupos funcionais hidroxietanos (polar) tendem a permanecer voltados para o interior do material. Uma vez que a gota de água é depositada na superfície do PDMSUr o polímero tende reorganizar sua conformação de maneira a deixar os grupos hidrofílicos expostos na superfície (TEZUKA et al., 1986; VARENNES; SCHREIBER, 2001; GUILLAME; KHALIL; MISRA, 2017b). Esse comportamento fornece uma explicação para variação do ângulo de contato $51,9^\circ$ observado ao fim de 300s, Figura 35, região “B”.

Outra possibilidade que pode ocorrer em paralelo a primeira é a dissolução na gota de água de eventuais componentes (moléculas do catalisador H_3PO_4 , moléculas residuais de etanol ou ainda moléculas de oligômeros de PDMSUr não reticulados) da superfície da membrana que não estão quimicamente presos (WANG; NAIR; WYNNE, 2017). Este fenômeno pode alterar tensão superficial do líquido, conseqüentemente, alterando o valor do ângulo de contato. Ademais, haveria ainda a possibilidade de o material possuir poros e absorver água (MISHRA et al., 2016). Entretanto, esta última hipótese foi descartada pelos resultados dos ensaios de inchamento em água e análise de porosidade discutida a seguir.

Para determinar se a PDMSUr foi obtida na forma de um material poroso um ensaio de análise textural foi realizado. Análise apontou que o material possui área superficial estimada por BET de $0,38 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ e volume de poros estimado por BJH de $1,3 \times 10^{-4} \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$. Ambos os valores são muito baixos, de forma que não foi possível construir uma isoterma de adsorção e dessorção de N_2 a partir de seus valores. Deste modo, a PDMSUr pode ser classificada como um material não poroso.

Estudo das Propriedades Térmicas por Termogravimetria

A análise termogravimétrica da PDMSUr foi realizada para caracterizar a sua estabilidade térmica, bem como entender os processos de oxidação térmica que podem estar envolvidos na sua degradação. A Figura 36 apresenta o termograma do PDMSUr onde em vermelho tem se a curva da TG e em Azul tem a Curva da DTG.

Figura 36 - Termograma para amostra de PDMSUr, a curva vermelha apresenta TG e a azul a DTG.

Fonte: Autoria própria.

Na Figura 36 antes da região em torno de 170°C, na qual inicia-se a mudança de inclinação da DTG que leva a um ponto de máximo local de na região de 262° C, não foi observado perda significativa de massa. Essa mínima perda verificada pode ser atribuída possivelmente a eliminação de moléculas de água e etanol resultantes do processo hidrólise e condensação dos grupos APTS durante o processo de cura da membrana. Além disso, ficou caracterizado que o material é degradado numa faixa que vai de próximo a 170 até aproximadamente 670°C, apresentando dentro desta faixa 4 picos de máximo mais proeminentes (262, 308, 341 e 586°C) e um ombro (região em torno de 400°C) que indica presença de um pico parcialmente sobreposto. Após essa região obtém-se um resíduo de 4,3%.

De maneira análoga ao processo de decomposição do CCPDMS em atmosfera de ar, acredita-se que os eventos térmicos envolvidos na degradação térmica da fração PDMS da PDMSUr ocorram na mesma região proposta na seção 5.1 para o CCPDMS (exemplificados nas Figuras 22 e 23). Além disso, de acordo com Madhavan e Reddy a decomposição na região de 175°C a 230° está associada a está associada a uretana e as frações orgânicas que são termicamente menos estável do que a fração PDMS (MADHAVAN; REDDY, 2006).

Por fim, o teor de resíduo superior a aquele encontrado na análise termogravimétrica do CCPDMS provavelmente ocorre devido a presença da fração ormosil, no qual os átomos de silício podem formar uma rede de organossilicato que possui uma maior propensão a degradar-se formando sílica.

Análise de Perfilometria Ótica dos Filmes Finos de PDMSUr

O ensaio de perfilometria foi realizado para estudar o comportamento do material quando empregado para obter um filme fino sobre lâminas de vidro. Através do ensaio realizado foi possível obter informações a respeito da morfologia e topografia da superfície bem como da espessura do filme. A Figura 37 apresenta uma imagem 3D de quatro regiões (A, B, C e D) do filme de PDMSUr depositado sobre uma lâmina de vidro através do método de spin coating. Por sua vez, a Figura 38 apresenta uma representação 2D dessas mesmas regiões.

De maneira geral, de acordo com as imagens e os parâmetros de rugosidade de superfície nelas presentes (rugosidade média, R_a ; e rugosidade total, R_t , definido como a diferença de altura entre o vale mais profundo e o pico mais alto) é possível afirmar que o filme de PDMSUr obtido apresenta boa uniformidade e baixo grau de rugosidade.

Figura 37 – Imagem 3D gerada pelo software de análises de dados do perfilômetro óptico para 4 regiões (A, B, C e D) do filme da PDMSUr, o modo de análise foi de interferometria de mudança de fase (PSI), a área de cada região do filme analisada foi de $462 \mu\text{m} \times 608 \mu\text{m}$.

Fonte: Autoria própria.

Figura 38 – Imagem 2D gerada pelo software de análises de dados do perfilômetro óptico para 4 regiões (A, B, C e D) do filme da PDMSUr, o modo de análise foi o de interferometria de mudança de fase (PSI), a área de cada região do filme analisada foi de 462 μm x 608 μm .

Fonte: Autoria própria.

A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos para os parâmetros de rugosidade através do ensaio de perfilometria. O primeiro parâmetro é a Rugosidade média (R_a), também conhecido como centro de linha média, este é o parâmetro de rugosidade mais largamente empregado no mundo para controle de qualidade. Ele é definido como a média de valores absolutos das ordenadas de afastamento dos pontos do perfil de rugosidade em relação a uma linha média em um dado comprimento (l) da amostra (Figura 39) (GADELMAWLA et al., 2002; HE; ZONG; ZHANG, 2018).

Tabela 6 – Parâmetros de Rugosidade para as superfícies de filme fino de PDMSUr.

Código das Amostras	Rugosidade Média (R_a)	Rugosidade Quadrática (R_q)	Coefficiente de Assimetria (S_{sk})	Curtose (S_{ku})
Lâmina de vidro	0,765 nm	0,965 nm	0,0183	2,705
PDMSUr	6,81 nm	8,57 nm	0,260	3,381

Fonte: Autoria própria

Figura 39 – Rugosidade média de uma superfície.

Fonte: Adaptado de Gadelmawla e colaboradores, reproduzido com permissão de Elsevier (GADELMAWLA et al., 2002).

A definição matemática é dada pela equação 4:

$$R_a = \frac{1}{l} \int_0^l |y(x)| dx \quad \text{equação 4}$$

Na qual l representa um dado comprimento do perfil e y representa a altura em relação a linha média.

Já o termo Rugosidade média quadrática (R_q), representa o desvio padrão da distribuição de alturas na superfície, desta forma, ele é um parametro importante para descrever a rugosidade da superfície por métodos estatísticos. Vale ressaltar que, diferente de R_a , R_q é mais sensível a grandes desvios de amplitude em relação a linha média. A definição matemática de R_q está descrita na equação 5 (GADELMAWLA et al., 2002; NWAOGU; TIEDJE;

HANSEN, 2013; HE; ZONG; ZHANG, 2018):

$$R_q = \sqrt{\frac{1}{l} \int_0^l \{y(x)\}^2 dx} \quad \text{equação 5}$$

Outro parametro de rugosidade apresentado na Tabela 6 foi o coeficiente de simetria (S_{sk}) ou ainda em inglês *Skewness*. Ele é usado para medir a simetria do perfil em relação a uma linha média, sendo um parametro sensível a ocasionais vales profundos ou picos elevados. Uma distribuição simétrica de alturas, isto é, com uma mesma proporção de picos e vales tem valor de coeficiente de simetria igual a zero. Por outro lado, se distribuição tem mais vales rasos e picos proeminentes, possua um valor positivo de coeficiente de simetria. Inversamente, perfis com vales profundos e poucos picos possuem valor negativo de coeficiente de simetria. Os valores obtidos indicam que o PMSUr preparado desta forma apresenta boa simetria no que diz respeito aos vales e picos. A Figura 40 traz uma representação de como pode ser entendido o efeito do coeficiente de simetria na distribuição de picos e vales de um perfil (GADELMAWLA et al., 2002; NWAOGU; TIEDJE; HANSEN, 2013; HE; ZONG; ZHANG, 2018).

Figura 40 – Representação da relação entre coeficiente de assimetria, perfil de rugosidade em superfícies e sua distribuição.

Fonte: adaptado de Gadelmawla e colaboradores, reproduzido com permissão de Elsevier (GADELMAWLA et al., 2002).

A definição matemática do coeficiente de simetria é dada pela equação 6 a seguir:

$$S_{sk} = \frac{1}{R_q^3} \int_{-\infty}^{\infty} y^3 p(y) dy \quad \text{equação 6}$$

Na qual R_q representa a rugosidade média quadrática e y representa a altura em relação a linha média. Este parametro de rugosidade é importante pois permite distinguir entre superfícies com mesmo valor de R_a ou R_q mas com diferentes formatos.

O último termo presente na tabela é a Curtose (S_{ku}), esse parametro nos informa a

respeito do grau de agudez presente na distribuição de picos e vales de um perfil. Deste modo, se o valor de S_{ku} é menor do que três a distribuição é dita platicúrtica e assim é esperado picos e vales largos. Contrariamente, se o valor de S_{ku} é maior do que três a distribuição é dita leptocúrtica e, assim, é esperado uma maior presença de vales estreitos e picos agudos numa superfície. A Figura 41 apresenta a representação de como pode ser interpretado o efeito de S_{ku} no perfil. O PDMSUr estudado é do segundo tipo, portanto tem picos agudos e vales mais estreitos.

Figura 41 – Representação da relação entre curtose, perfil de rugosidade em superfícies e sua distribuição.

Fonte: adaptado de Gadelmawla e colaboradores, reproduzido com permissão de Elsevier (GADELMAWLA et al., 2002).

A definição matemática da Curtose é dada na equação 7:

$$S_{ku} = \frac{1}{R_q^4} \int_{-\infty}^{\infty} y^4 p(y) dy \quad \text{equação 7}$$

Na qual R_q , assim como no coeficiente de simetria, representa a rugosidade média quadrática e y representa a altura em relação a uma linha média. A Curtose assim como os demais parâmetros presentes na Tabela 6 é um importante parametro para caracterizar uma superfície, permitindo a diferenciação entre superfícies com mesmo valor de R_a mas como formas diferentes (GADELMAWLA et al., 2002; NWAOGU; TIEDJE; HANSEN, 2013; HE; ZONG; ZHANG, 2018).

A Tabela 6 mostra que a rugosidade do filme assim como a rugosidade da superfície da lâmina de vidro na qual o mesmo foi depositado é de ordem nanométrica. Ambos os materiais possuem em sua superfície um perfil dominado por uma maior proporção de picos do que vales ($S_{sk} > 0$). Contudo, na lâmina de vidro o formato dos picos é achatado ($S_{ku} < 3$) e no filme de PDMSUr o formato dos picos é pontiagudo ($S_{ku} > 3$).

A medida da espessura do filme fino foi realizada com base na diferença de altura da região coberta pelo filme na lâmina de vidro e a região descoberta, sendo esta diferença aferida

por perfilometria. O resultado desta análise apontou que a espessura do mesmo foi de cerca 1,76 μm . Com base nos parâmetros de rugosidade presentes na tabela 6 e na espessura do filme (da ordem de mil vezes maior que os parâmetros de rugosidades da lâmina de vidro) pode-se inferir que a morfologia do filme de PDMSUr não é apenas uma reprodução da morfologia do substrato.

De fato, a morfologia dos filmes obtidos por spin coating sempre são uma complexa combinação de vários parâmetros de processamento dentre os principais podemos mencionar: velocidade angular; tipo de solvente (volatilidade); do polímero (massa molar); da concentração do polímero no solvente (viscosidade); do sistema de interações intermoleculares substrato – polímero, polímero – polímero e polímero – solvente entre outros. Uma aprofundada discussão a respeito dos princípios envolvidos no direcionamento da morfologia dos filmes obtidos por *spin coating* foge do objetivo da presente análise, mas uma detalhada revisão pode ser encontrada nos trabalhos publicados por Farikov (FAKIROV, 2016) e Norrman e colaboradores (NORRMAN; GHANBARI-SIAHKALI; LARSEN, 2005).

Análise de Microscopia Eletrônica de Varredura

A apresenta o resultado da análise de MEV para as superfícies das membranas de PDMSUr (região “A” da Figura 42) e PDMSUr-NCat (região “B” da Figura 42). De acordo com a imagem, não se verifica diferenças morfológicas na superfície dos materiais dentro da escala analisada. Além disso, não se observa grande protuberâncias ou presença de poros nas superfícies. Esses resultados estão em concordância com os dados obtidos na análise de porosidade por BET que apontou que o filme autossuportado de PDMSUR não é poroso.

Figura 42 – Imagem MEV obtida com detector de elétrons retroespalhados da membrana de PDMSUr região A (membrana produzida empregando 1% de H_3PO_4 como catalizador) e da membrana de PDMSUr-NCat região B (membrana produzida sem a utilização de quaisquer catalisador).

Fonte: Autoria própria.

Cristalinidade por difração de Raios-X

A cristalinidade do PDMSUr foi estudada por difração de raios-X, método do pó. Na Figura 43 é possível observar o difratograma experimental em preto e o ajustado em vermelho,

bem como seus componentes aproximados por funções pseudo-Voigt e a linha base (linhas azuis tracejadas) obtidos pelo método do ajuste de mínimos quadrados usando um algoritmo de Levenberg-Marquardt. A qualidade do ajuste pode ser inferida pelo gráfico de resíduo mostrado logo abaixo do difratograma. O ajuste de curvas do difratograma experimental do PDMSUr forneceu um componente pseudo-Voigt em $12,5^\circ$ (largura-a-meia-altura de 3,7) e outro mais largo centrado em 21° (largura-a-meia-altura de 14,1). Os dois componentes podem ser o resultado da convolução dos picos de difração de domínios paracristalinos de PDMS (ZHAO et al., 2018) sobrepostos a um halo amorfo. Em tempo, a atribuição da presença de um halo amorfo se fundamenta na existência de um halo amorfo em ureasils em torno de 21° , as ureasils são híbridos similares às uretanais, (CRUZ et al., 2017).

Figura 43 – Difratograma experimental do híbrido PDMSUr curado (linha preta cheia), difratograma calculado (linha cheia vermelha), componentes individuais pseud-Voigt e linha obtidas por ajuste de curva (linhas azuis tracejadas). Na imagem inferior é mostrado o resíduo obtido pela diferença entre o espectro calculado e o experimental.

Fonte: Autoria própria.

5.2 Biocerâmicas

No presente estudo duas fases de fosfato de cálcio foram sintetizadas e caracterizadas, sendo elas Hap e DCPA. A primeira foi sintetizada para ser empregada no compósito obtido pelo método da mistura física. Ela foi escolhida por ser a fase de fosfato de cálcio mais amplamente empregada e estudada em biomateriais empregados na odontologia e ortopedia. Por sua vez, a síntese do DCPA ocorreu no contexto de entender melhor como a matriz polimérica poderia interferir no direcionamento da fase de fosfato de cálcio formada. Deste modo, ensaios de precipitação empregando as soluções precursoras que foram utilizados no método MIA foram conduzidos resultando na sua síntese.

5.2.1 Caracterização da Hidroxiapatita (Hap)

Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho Médio e Análise Elementar (CHNSO)

A Figura 44 apresenta o espectro de FTIR da amostra de Hap sintetizada.

Figura 44 – Espectro de FTIR da Hap sintetizada.

Fonte: Autoria própria.

As bandas centradas 3573 e 633 cm^{-1} são característicos dos estiramentos e deformação do grupo OH^- . As bandas largas na região de 3444 e 1640 cm^{-1} podem ser atribuídas às moléculas de água adsorvidas na estrutura (KARAMPAS; KONTOYANNIS, 2013; FLEET, 2014). A presença de bandas na região de 1453, 1414 e 870 cm^{-1} podem ser atribuídas aos íons CO_3^{2-} na estrutura e isso indica que hap sintetizada é carbonatada. Por fim, as bandas nas regiões de 1094, 1042, 964 e 473 cm^{-1} são características dos grupos fosfatos presentes na estrutura da Hap (REHMAN; BONFIELD, 1997; KARAMPAS; KONTOYANNIS, 2013).

Uma vez que análise por FTIR apontou a presença de grupos carbonatos na estrutura da Hap, uma análise elementar por CHNS foi realizada para determinar a quantidade de grupos carbonatos presentes na estrutura. O resultado da análise está disposto na tabela 7.

Tabela 7 – Resultado da Análise Elementar (CHNS) para a Hap sintetizada.

Elemento	Média	Desvio padrão
Nitrogênio	0	0
Carbono	0,174	0,004
Hidrogênio	0,311	0,026
Enxofre	0	0

Fonte: Autoria própria.

Com base no valor para teor de átomos de C na amostra a porcentagem de grupos carbonato foi determinado de acordo com a metodologia proposta por Diez-Escudero e colaboradores, segundo a equação 8 a seguir (DIEZ-ESCUDEIRO et al., 2017):

$$\text{Porcentagem de Carbonato} = \frac{MM_{CO_3^{2-}}}{MM_C} \times \%_C \quad \text{equação 8}$$

Na qual $MM_{CO_3^{2-}}$ representa a massa molar do íon carbonato, MM_C por sua vez representa a massa molar do átomo de carbono. Por fim, $\%_C$ representa a porcentagem de carbono encontrado pela análise elementar que é dado na Tabela 7. De acordo com essa equação o teor de íons carbonato na Hap sintetizada é de 0,87 %.

Espectroscopia Raman

Na Figura 45 é mostrado o espectro Raman da Hap sintetizada, com os picos atribuídos aos grupos PO_4^{3-} presentes na estrutura da Hap. Os modos vibracionais responsáveis pelos diferentes picos destacados pelos retângulos pontilhados em azul são mostrados ao lado ou acima do respectivo pico. A figura 46 apresenta uma representação esquemática dos diferentes modos vibracionais do fosfato responsáveis pelos picos presentes no espectro Raman da Figura 45.

Figura 45 – Espectro Raman da Hap sintetizada.

Fonte: Autoria própria.

Figura 46 – Modos vibracionais do grupo fosfato na estrutura da Hap (v_1 , v_2 , v_3 e v_4). As bolas verdes representam os átomos de oxigênio e as bolas vermelhas no centro, por sua vez, representam os átomos de fósforo.

Fonte: Adaptado de Pezzotti e colaboradores, reproduzido com permissão de Springer Nature (PEZZOTTI et al., 2015).

No espectro Raman da Figura 45, os picos na região de 1047 e 1080 cm^{-1} são referentes ao estiramento assimétrico da ligação P-O, v_3 , nessa região também encontra-se um terceiro pico centrado em 1028 cm^{-1} , mas, devido sua baixa intensidade e sobreposição com o pico em 1047 é difícil de ser visualizado. O pico mais intenso do espectro Raman da Hap é centrado em 962 cm^{-1} , ele corresponde ao estiramento totalmente simétrico da ligação P-O, v_1 . Os picos em 609 e 590 cm^{-1} podem ser atribuídos a deformação triplamente degenerada da ligação O-P-O, v_4 , referente a este modo de vibração, há ainda um pico na região 580 cm^{-1} (KARAMPAS; KONTOYANNIS, 2013; PEZZOTTI et al., 2015). Entretanto, assim como no caso para anterior (picos característicos do modo vibracional v_3), esse não é facilmente visualizado devido ocorrer parcialmente sobreposto ao pico centrado em 590 cm^{-1} e possuir baixa intensidade. Os picos centrados em 430 e 447 cm^{-1} referem-se ao modo de deformação duplamente degenerado da ligação O-P-O, v_2 (KARAMPAS; KONTOYANNIS, 2013; PEZZOTTI et al., 2015).

Difração de Raios – X pelo Método de Pó

A Figura 47 apresenta um comparativo entre o difratograma da Hap sintetizada em preto com o difratograma da base de dados de estruturas para cristais inorgânicos (ICSD) em vermelho.

Figura 47 – Difratogramas da Hap sintetizada e da Hap padrão ICSD.

Fonte: Autoria própria.

A Figura 47 aponta que o material obtido foi a Hap uma vez que todos os picos principais presentes no difratograma da Hap padrão ICSD 7217892 estão presentes no difratograma da amostra de Hap sintetizada. Além disso, a presença de picos alargados no difratograma da Hap obtida indica que os cristalitos são de ordem de tamanho nanométrico (FLEET, 2014). De fato, o tamanho do cristalito calculado pela equação de Scherrer para a Hap foi de 31,74 nm. Entretanto, vale ressaltar que este valor é apenas uma estimativa, tendo em vista que a equação de Scherrer (equação 1, presente na seção 4.8.4 da metodologia) não considera possíveis distorções de rede no cristal e a constante usada pressupõe um cristal com hábito esférico.

Estudo das Propriedades Térmicas por Termogravimetria

É amplamente conhecido na literatura que as modificações estruturais sofridas pela Hap durante seu aquecimento dependem de muitos fatores, dentre eles podemos mencionar: método e condições de síntese; quantidade e tipos de impurezas presentes; atmosfera de aquecimento; quantidade de amostra; tamanho da partícula e taxa de aquecimento da amostra. Desta forma, os perfis observados nas curvas de TG para diferentes amostras de Hap podem apresentar algumas diferenças (LIAO et al., 1999). Entretanto, os eventos térmicos que ocorrem nas diferentes temperaturas já são bem conhecidos e estudados.

A Figura 48 apresenta o resultado da análise termogravimétrica para amostra de Hap, a curva em vermelho corresponde a TG e a curva em azul corresponde a DTG.

Figura 48 – Análise termogravimétrica da Hap em atmosfera de ar sintético.

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a TG e DTG observadas na Figura 48, a amostra de Hap apresentou dois principais eventos térmicos. O primeiro deles inicia na região por volta de 25° C passa por uma máximo local em torno de 34°C e depois continua perdendo massa em uma taxa bem mais lenta até uma mudança abrupta de comportamento iniciada na região de 300°C. Este comportamento é explicado considerando os dois tipos de regiões ocupadas pelas moléculas de água na estrutura da Hap. Nessa as moléculas de água podem estar adsorvidas ou estar presa água dentro da rede cristalina. A água adsorvida é liberada com aquecimento entre a faixa de 25 a 200° C e sua perda não provoca qualquer mudança nos parâmetros de rede da Hap (LIAO et al., 1999; TÕNSUAADU et al., 2012). Assim este primeiro evento térmico pode ser atribuído a perda de água de hidratação adsorvidas na superfície das partículas.

Por sua vez, o segundo evento iniciou-se em torno de 300° passando por um máximo em 411° e finalizando por volta de 440°C. Este último foi o mais intenso observado na curva de TG e DTG. Ele pode ser interpretado como uma combinação de vários eventos térmicos que ocorrem numa mesma região. Dentre eles pode-se mencionar:

- A água presa na rede é perdida em temperaturas entre 200 a 400°C, o que causa contração dos parâmetros de rede durante o aquecimento (LIAO et al., 1999);
- Os hidrogenofosfatos presentes na estrutura da Hap podem sofrer reações de condensação em temperatura na região de 250 a 400°C levando a formação de $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$, (RAYNAUD et al., 2002; TÕNSUAADU et al., 2012), como descrito na reação a seguir:

- Além disso, na região de 300 a 600°C ocorre a reação entre hidrogenofosfato e os íons carbonatos com evolução de gás CO₂ e água (PARK et al., 2002; TÔNSUAADU et al., 2012), de acordo com a reação abaixo:

Microscopia Eletrônica de Varredura e Microscopia Eletrônica de Transmissão

No intuito de caracterizar o tamanho e a morfologia das partículas de Hap sintetizadas as mesmas foram analisadas por Microscopia de Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM). A Figura 49 apresenta a imagem das partículas obtidas por MEV utilizando detector de elétrons secundários. Nela pode-se observar que o foram obtidas partículas com uma dispersão de tamanho bastante heterogênea indo da região submicrométrica até a micrométrica. Além disso, as partículas não possuem uma morfologia uniforme, apresentando-se em variados formatos.

Figura 49 – Imagem MEV obtida com detector de elétrons secundários da amostra de Hap sintetizada.

Fonte: Autoria própria.

A Figura 50 apresenta o espectro de emissão de raios – x com detecção em modo dispersivo de energia (EDS) da amostra de Hap; A análise de (EDS) apontou que a razão Ca/P é da ordem de $1,64 \pm 0,10$; deste modo, contendo uma distribuição de grãos que vai desde de região classificada como Hap deficiente de cálcio, passa pela região estequiométrica (valor ideal Ca/P 1,67) e chega à rica,. Os desvios em relação a razão ideal afetam as propriedades mecânicas, termais e a solubilidade da Hap. Nesse contexto, a Hap estequiométrica é a que exhibe as melhores propriedades e maior estabilidade (RAYNAUD et al., 2002; RAMESH et al., 2007; TAN et al., 2015). Apesar disso, frequentemente, a menor estabilidade da Hap deficiente de cálcio é explorada em estudos visando o desenvolvimento de novos biomateriais biomiméticos, uma vez que sua menor estabilidade a torna mais bioativa do que a Hap estequiométrica. Além disso, a constituição da Hap deficiente é mais próxima da constituição mineral da matriz óssea natural (JOKIĆ et al., 2011; BLEEK; TAUBERT, 2013; DOROZHKIN, 2015; KIM et al., 2018).

Figura 50 – Espectro de emissão de raios – x com modo de detecção dispersivo em energia (EDS) da Hap sintetizada.

Fomte: Autoria própria.

A Figura 51 apresenta a Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) para amostra de Hap, assim como nas imagens de MEV é possível observar a heterogeneidade morfológica e também a larga dispersão de tamanho de partículas encontradas. De acordo com os resultados obtidos por Mujahad e colaboradores (MUJAHID; SARFRAZ; AMIN, 2015) no trabalho do

qual a presente metodologia de síntese de Hap foi adaptada, era esperado a formação de nanobastonetess de Hap com diâmetro em torno de 50 nm e comprimento variando entre 200 e 300 nm. Entretanto, as imagens de MEV e TEM das amostras de Hap sintetizadas no presente trabalho apontam para resultados distintos daqueles obtidos por eles.

Na Figura 51 não é possível discernir se na região magnificada têm-se partículas de bastonetes empilhados (*clusters*) ou ainda se o formato de bastonete é referente a uma das possíveis morfologias dos grãos que constituem a partícula. Outrossim, é possível detectar a presença de algumas partículas de ordem de tamanho próximas a 50 nm (região “C”), confirmando novamente a larga distribuição partículas do material, uma vez que na figura 49, na região “D” é possível observar a presença de partículas de ordem de tamanho superior a 200 μm .

Figura 51 – Imagem de Microscopia Eletrônica de Transmissão em campo claro da Hap sintetizada.

Fonte: Autoria própria.

Difração de Laser

Uma vez que não foi possível determinar o tamanho médio das partículas de Hap sintetizadas por meio das técnicas de MEV e TEM, em razão da larga distribuição de tamanhos que a mesma a apresentou, realizou-se uma análise por difração de laser para determinar a distribuição de tamanho de partículas (DTP). Os resultados estão apresentados na Figura 52.

Figura 52 – Histograma de distribuição de tamanho de partículas (DTP) obtido por Difração de Laser para amostra de Hap sintetizada, entre parênteses na região superior da figura é apresentado o diâmetro médio de partícula para cada medida (D_{med}).

Fonte: Autoria própria.

O resultado obtido na análise de DTP reflete as observações já relatadas sobre as imagens de MEV e TEM, com relação a dispersão de tamanhos das partículas de Hap. Além disso, a DTP aponta que as partículas basicamente possuem uma distribuição trimodal, com uma frequência de tamanhos se concentrando principalmente na região de 3; 30 e 100 μm , o diâmetro médio medido da partícula foi de cerca de 75 μm . Ademais, é possível observar que a frequência de partículas com tamanhos inferiores a 0,7 μm e superiores a 700 μm tende a zero.

Análise de Porosidade

Uma análise textural foi realizada para caracterizar a porosidade da Hap, Figura 53. O resultado aponta que ela tem uma área superficial estimada por BET de $55 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$. Além disso, sua isoterma de Fisissorção de N_2 pode ser classificada como tipo IV de acordo com sistema de classificação da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (HAUL, 1982). Deste modo, revelando um material com perfil mesoporoso.

Figura 53 - - Isotermas de adsorção e dessorção de N_2 para Hap sintetizada.

Fonte: Autoria própria.

5.2.2 Caracterização do DCPA.

Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

Na Figura 54 é mostrado o espectro FTIR da fase de fosfato de cálcio sintetizada.

Figura 54 – Espectro FTIR do DCPA sintetizado.

Fonte: Autoria própria.

O espectro mostra as bandas características da fase fosfato de dicálcio anidro conforme atribuição a seguir. A banda na região de 888 cm^{-1} é característica do modo de estiramento ν_3''' da ligação P-O(H) (XU; BUTLER; GILSON, 1999), a banda na região de 992 cm^{-1} refere-se ao modo simétrico da vibração ν_1 de PO, na região de 1065 e 1130 cm^{-1} tem-se a banda referente ao modo de vibração antissimétrico ν_3''' . Em 1348 e 1404 cm^{-1} estão presentes as bandas características da deformação de P-OH (CASCIANI; CONDRATE, 1980; XU; BUTLER; GILSON, 1999; FROST et al., 2013; KARAMPAS; KONTOYANNIS, 2013; CAMA et al., 2014; REY et al., 2014; SUCHANEK et al., 2018; FILIPPOV; KABA; FILIPPOVA, 2019).

Espectroscopia Raman

A Figura 55 por sua vez apresenta o espectro Raman para do DCPA sintetizado.

Figura 55 – Espectro Raman do DCPA sintetizado.

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a literatura as bandas observadas no espectro Raman da Figura 55, confirmam a síntese do DCPA. As bandas em 226 e 274 cm^{-1} são atribuídas as vibrações de rede dos cristais de DCPA (FROST et al., 2013; SUCHANEK et al., 2018). As bandas em 394, 418 são classificados como modo vibracional ν_2 de deformação da ligação PO. As bandas em 591, 574 e 564 cm^{-1} são atribuídas ao modo de deformação ν_4 da ligação PO. As bandas observadas em 901 e 988 cm^{-1} correspondem ao modo vibracional de estiramento ν_3''' da ligação P-O(H) e modo vibracional de estiramento ν_1 da ligação PO respectivamente. As bandas em 1096 e 1133 cm^{-1} são atribuídas aos modos vibracionais ν_3 de estiramento antissimétrico da ligação PO (CASCIANI; CONDRATE, 1980; XU; BUTLER; GILSON, 1999; FROST et al., 2013; KARAMPAS; KONTOYANNIS, 2013; REY et al., 2014).

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear no Estado Sólido

A Figura 56 apresenta o espectro RMN HPDec – MAS para ^{31}P da amostra de DCPA sintetizada e uma amostra de DCPA adquirida junto à empresa Sigma Aldrich.

Figura 56 – Espectros de RMN HPDec MAS da amostra de DCPA sintetizado e do padrão Sigma Aldrich.

Fonte: Autoria própria.

O DCPA apresenta dois sítios de P não equivalentes, P1 e P2, estes sítios diferem em relação as distâncias aos três átomos de H (H_1 , H_2 e H_3) (YU et al., 2019a; GUO et al., 2020a). Esta condição é refletida nos deslocamentos químicos observados para o espectro de RMN para ^{31}P obtidas para a amostra de DCPA sintetizada. Ela apresenta dois picos largos na região de -0,4 e -1,6 ppm (BELTON; HARRIS; WILKES, 1988; GUO et al., 2020a). Ambos os sinais observados são relativamente largos devido a presença de um certo grau de desordem estrutural. Este alargamento é mais pronunciado com relação ao pico na região de -0,4 ppm que é referente a P2. Isto ocorre porque esse pico é formado pela contribuição de dois sítios (P2_A e P2_B), a sobreposição destes picos dá origem a um único pico maior. Os sítios P2_A e P2_B são distinguidos pelas diferentes distâncias que apresentam entre os prótons vizinhos H_1 e H_3 , Figura 57 (CATTI; FERRARIS; FILHOL, 1977; SCHAUMBURG; SHABANOVA; EICHNER, 1995; YU et al., 2019b).

Figura 57 – Diferentes sítios de P presentes na estrutura do DCPA, as linhas pontilhadas representam as distâncias entre os átomos de P e os prótons. As linhas tracejadas representam as ligações de hidrogênio.

Fonte: Adaptado de Yu e colaboradores (YU et al., 2019b).

Difração de Raios – X

A análise de DRX apontou que todos os principais picos presentes na fase cristalina DCPA padrão ICSD estão presentes e são facilmente observados no difratograma de DCPA sintetizado (Figura 58). Deste modo, confirmando assim novamente a obtenção desta fase cristalina.

Figura 58 – - Difratograma do DCPA sintetizado e do DCPA base de dados ICSD.

Fonte: Autoria própria.

Efeito da Quantidade de Água Durante a Etapa de Precipitação do Gel

Uma vez confirmada a síntese de DCPA empregando a rota de síntese nesta seção discutida, um ensaio de adição de água ao meio reacional foi conduzido para observar se a presença de diferentes teores de água no sistema durante a etapa de precipitação poderia induzir a formação de DCPD ou alguma outra fase. Para tanto, diferentes proporções em massa de água em relação a massa total das soluções precursoras de cloreto de cálcio e ácido fosfórico foram adicionadas ao sistema. Neste ensaio o cloreto de cálcio anidro e o ácido fosfórico cristalizado usados para preparar as soluções eram livres de água segundo a fabricante, já o etanol utilizado, por sua vez, possui teor de água inferior a 0,2 % de acordo com fabricante. A Figura 59 apresenta os difratogramas dos produtos obtidos empregando diferentes quantidades de água no sistema reacional (0 a 40%).

Figura 59 – (A) Difratogramas de amostras sintetizadas usando diferente percentagem de água adicionada na solução de síntese e (B) difratogramas das amostras sintetizadas com 0% de água (curva em preto) e 40% de água (curva em roxo), assim como, a diferença entre a amostra 40% e 0% (curva em verde).

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a Figura 59, os diferentes teores de água no sistema não afetaram a seletividade da rota sintética com relação à fase formada até o limite de 40% (m/m) na mistura hidroalcóolica. De fato, com base nos difratogramas obtidos na Figura 59 região “A” e “B” em todas as formulações foi obtido unicamente o DCPA. Outras proporções com porcentagens superiores de água em relação a massa das soluções precursoras foram testadas, contudo, dentro do período no qual se realizou os experimentos (72 horas), nenhuma precipitação foi observada para estes ensaios.

Efeito da Variação da concentração da solução precursora de H₃PO₄ sobre o tipo de fase precipitada

Um outro ensaio com vistas a verificar se diferentes proporções de precursores durante a etapa de precipitação poderiam levar a formação de fases de fosfato de cálcio diferentes foi conduzido. Para isto, foram empregadas soluções precursoras de cálcio com $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e soluções precursoras de fosfato com $0,6$ e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. A Figura 60 apresenta um comparativo entre os difratogramas dos produtos obtidos segundo essas condições.

Figura 60 – Difratogramas de DCPA obtidos empregando razões Ca/P 1:1 (linha preta); 1:0,6 (linha vermelha) e DCPA padrão ICSD (linha azul).

Fonte: Autoria própria.

A partir da Figura 60 pode-se afirmar que não há diferenças com relações as fases formadas quando se empregam soluções precursoras de fosfato com concentrações $0,6$ ou $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de H_3PO_4 .

Efeito da Influência da Lavagem no Produto da Precipitação das Soluções Precursoras de Cálcio e Fosfato

Por fim, um ensaio foi conduzido para verificar o efeito da lavagem e da temperatura sobre a seletividade deste protocolo de síntese via precipitação por mistura das soluções precursoras de cálcio e fosfato. A Figura 61 apresenta um comparativo entre o difratograma do produto da precipitação sem passar pelo processo de lavagem e seco a temperatura ambiente e o de DCPA e $\text{CaClH}_2\text{PO}_4$ mono e diidratado.

Figura 61 – - Difratomogramas do produto obtido sem o processo de lavagem e seco a temperatura ambiente (linha vermelha) com os de DCPA base de dados ICSD (linha azul) e $\text{CaClH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ base de dados ICCD (linha verde) e $\text{CaClH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ base de dados ICCD (linha preta).

Fonte: Autoria própria.

A Figura 61 aponta que dentro destas condições a proporção de fase DCPA formada é bastante reduzida e que as fases majoritárias formadas são as fases mono (difratograma verde) e diidratada (difratograma preto) de clorofosfato de monocalcío. Esses sais de clorofosfato de cálcio são altamente solúveis em meio aquoso e são amplamente empregados como fertilizantes no solo, não sendo encontrados estudos sobre a sua utilização voltada para área biomédica.

Por outro lado, a Figura 62 apresenta um comparativo entre o produto da precipitação sem passar pelo processo de lavagem, mas com secagem a 70°C e o de DCPA e as fases mono e diidratada clorofosfato de monocalcío.

Figura 62 - Difratomogramas do precipitado obtido sem o processo de lavagem e seco a 70°C (linha vermelha) com os de DCPA base de dados ICSD (linha azul) e $\text{CaClH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ base de dados ICCD (linha verde) e $\text{CaClH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ base de dados ICCD (linha preta).

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a Figura 62, o emprego de tratamento térmico brando favorece a formação de DCPA, visto que os picos referentes a esta fase são bem mais intensos quando comparados com aqueles obtidos no precipitado que não passou pelo processo de tratamento térmico na secagem.

A Figura 63 apresenta o difratograma do DCPA obtido com secagem à temperatura ambiente e nele podemos observar que se o processo de lavagem é efetuado não há necessidade de empregar tratamento térmico para obtenção de DCPA.

Figura 63 – Difratogramas de DCPA padrão ICSD (linha vermelha) e de DCPA obtido com secagem a temperatura ambiente (linha preta).

Fonte: Autoria própria

Um refinamento Rietveld foi conduzido com o intuito de verificar a presença de possíveis outras fases no material. O resultado do refinamento é apresentado na Figura 64.

Figura 64 – Refinamento Rietveld DCPA sintetizado, difratograma DCPA sintetizado (em preto), difratograma DCPA calculado (vermelho) e resíduo (azul).

Fonte: Autoria própria.

De acordo com resultado do refinamento foi encontrado 100% de fase DCPA, o volume da cela unitária foi de 309,86 e o tamanho do cristalito calculado de 120 nm.

Estudo das Propriedades Térmicas por Termogravimetria

O resultado do estudo da degradação térmica do DCPA conduzido em atmosfera de ar sintético se encontra nas curvas de TG e DTG da Figura 65 a seguir:

Figura 65 – Análise termogravimétrica do DCPA sintetizada, a curva em vermelho corresponde a TG e a em azul a DTG.

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a Figura 65, a degradação térmica do DCPA sintetizado apresentou dois eventos térmicos. O primeiro deles inicia-se por volta de 22°C e estabiliza-se por volta de 77°C havendo perda de 2% da massa do material nessa região. A partir de 77 até a 337°C o material perde muito pouca massa com elevação de temperatura. A redução de massa de DCPA nesse primeiro estágio térmico é associado a perda de moléculas residuais de solvente (etanol) que ficaram adsorvidas na superfície da partícula e ou presas no interior da mesma.

O segundo estágio térmico inicia-se na região de 337° passa por um máximo em 410° e finaliza em torno de 446°C temperatura a partir da qual não se observa mais alterações da massa de DCPA. De acordo com a literatura esse último evento ocorre devido à decomposição térmica do CaHPO_4 levando a formação de $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (ALSHAAER et al., 2011; TÕNSUAADU et al., 2012; PHAM MINH et al., 2014; HIGUITA et al., 2016; MULONGO-MASAMBA et al., 2017), conforme a reação a seguir:

Microscopia Eletrônica de Varredura e Difração de Laser

A análise por MEV empregando detector de elétrons secundários do DCPA apontou que assim como a Hap, o primeiro também possui uma morfologia bastante heterogênea e com uma grande dispersão de tamanho de partículas (Figura 66).

Figura 66 - - Imagens MEV da amostra de DCPA obtidas com detector de elétrons secundários.

Fonte: Autoria própria.

Deste modo, para conhecer a faixa de extensão da distribuição de tamanho de partículas foi realizada uma análise de DTP por difração de laser (Figura 67).

Figura 67 - Histograma de distribuição de tamanho de partículas (DTP) obtido por Difração de Laser da amostra de DCPA sintetizada, entre parênteses na região superior da figura é apresentado o diâmetro médio de partícula para cada medida (D_{med}).

Fonte: Autoria própria.

De acordo com resultado da DTP observado na Figura 67, diferentemente da distribuição de tamanhos presentes na Hap, a do DCPA é mais estreita e possui um diâmetro médio da partícula medido menor (em torno de 15 μm contra os 75 μm da Hap). Na figura 67 ainda pode ser observado que as partículas da amostra de DCPA obedecem basicamente a uma distribuição trimodal com uma maior frequência de partículas centradas em torno da região de 0,4; 3 e 30 μm de diâmetro. Além disso, é possível observar que frequência de partículas com diâmetro inferior 0,2 μm e superior a 200 μm se próxima de zero,

Análise de Porosidade (textural)

A Figura 68 apresenta a isoterma de adsorção e dessorção de N_2 da amostra de DCPA. assim como a Hap, a isoterma de Fisissorção obtida pode ser classificada como tipo IV de acordo com sistema de classificação da IUPAC. Além disso, os valores de área superficial e volume total de poros obtidos apontam que a porosidade do DCPA sintetizado é de baixíssima porosidade (Figura 68).

Figura 68 - - Isotermas de adsorção e dessorção de N₂ da amostra de DCPA sintetizado.

Fonte: Autoria própria.

Considerações Sobre a Metodologia de Síntese de DCPA

Apesar de ser uma metodologia muito simples a obtenção do DCPA puro a partir de sua precipitação com soluções etanólicas concentradas de CaCl₂ e H₃PO₄ como no procedimento aqui discutido, não foi encontrado descrito na literatura.

O método aqui apresentado possui a vantagem de ser rápido (apenas 5 minutos de reação), ser conduzido à temperatura ambiente, sem a necessidade de posterior tratamento térmico e de acordo com análise por Rietveld leva a produtos com excelente grau de pureza (100%), portanto, é uma síntese seletiva. Por outro lado, da maneira como está, ele possui a desvantagem de levar a partículas com uma grande dispersão de tamanhos. Logo, se faz necessário estudos complementares para melhorar o controle sobre a heterogeneidade de tamanhos de partícula mantendo a simplicidade e rapidez da metodologia. Contudo, ainda assim, ele pode ser uma metodologia útil para a rápida e fácil obtenção de DCPA no laboratório, visando seu uso como material de partida empregado em outras sínteses ou mesmo em aplicações nas quais não se faz necessário o controle rígido do tamanho de partículas presentes.

..

5.3 Compósito mistura física (MMF)

O Método da mistura física (MMF) é a mais tradicional abordagem para obtenção de compósitos polímero-cerâmicos, ela envolve a síntese das partículas e sua posterior dispersão na matriz polimérica que pode se apresentar na forma de um pré-polímero líquido, polímero dissolvido em um solvente ou ainda uma matriz polimérica fundida (FERREIRA; DEMÉTRIO; SANTOS, 2017).

As Figuras 69 e 70 apresentam um comparativo entre o espectro Raman do PDMSUr e Comp MMF Hap. Na Figura 69, no espectro de Comp MMF 5%. linha vermelha, é possível observar na região de 962 cm^{-1} um pico que não aparece no espectro da matriz polimérica isolada, linha preta. Este pico pode ser atribuído à presença da Hap, uma vez que ele representa o pico mais intenso desta fase, como mostrado no espectro Raman da Hap presente na Figura 45 da seção 5.2.1. Esta atribuição ganha ainda mais força quando observamos a maior intensidade desta banda no espectro do Comp. MMF 20% Hap na Figura 70, ou seja, a intensidade da banda aumenta com o aumento da concentração de Hap no compósito. Além disso, outros picos menos intensos característicos da Hap aparecem na região de 430, 590 e 1047 cm^{-1} .

Figura 69 – Espectro Raman da PDMSUr (linha preta) e de Comp. MMF 5% Hap (linha vermelha).

Fonte: Autoria própria.

Figura 70 – Espectro Raman da PDMSUr (linha preta) e de Comp. MMF 20% Hap (linha vermelha).

Fonte: Autoria própria.

A seguir tem-se na Figura 71 os difratogramas da Hap e de Comp MMF 10% Hap, na imagem podemos ver que os principais picos da fase Hap estão presentes no difratograma do compósito sobrepostos a um halo amorfo do PDMSur entre 10 e 25° (2 θ).

Figura 71 – Difratogramas da Hap sintetizada (linha preta) e do Comp MMF 10% Hap (linha vermelha).

Fonte: Autoria própria.

Os espectros Raman e os difratogramas confirmam o que é amplamente conhecido na literatura a respeito da estabilidade dos fosfatos de cálcio em meio a uma matriz que constituída de PDMS (no presente estudo PDMSUr), os materiais não reagem entre si formando novos materiais, nem tem sua cristalinidade afetada confirmando assim a obtenção do compósito. Desta forma, pode-se dizer que MMF é uma metodologia apropriada para obtenção dos compósitos PDMSUr/fosfato de cálcio, quando a matriz de PDMSUr ainda não está curada (reticulada).

A tabela 8 apresenta um comparativo entre o resultado da análise de porosimetria realizado para PDMSUr e para Comp MMF 5% Hap.

Tabela 8 – Análise de porosidade para amostras de PDMSUr e Comp MMF 5% Hap.

Código da amostra	Área Superficial BET (m ² g ⁻¹)	Volume de Poros BJH (cm ³ g ⁻¹)
PDMSUr	0.39 ± 0.08	0.00013 ± 0.00005
Comp MMF 5% Hap	0.49 ± 0.08	0.0002 ± 0.0001

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a tabela assim como a matriz polimérica, o compósito obtido via MMF apresenta-se não poroso não havendo um aumento de área superficial.

5.4 Compósito método da Síntese Reativa Comp (MSR)

O método da síntese reativa (MSR) tem sido largamente empregado na literatura para obtenção de nanocompósitos poliméricos de fosfato de cálcio. Ele consiste na adição dos precursores de cálcio e fosfato à matriz polimérica. Usualmente a matriz está na forma líquida ou dissolvida em um solvente. Neste protocolo a formação do fosfato de cálcio ocorre *in situ* (FERREIRA; DEMÉTRIO; SANTOS, 2017; DEMÉTRIO et al., 2018). No presente estudo a metodologia de MSR foi testada como possível rota para obtenção de nanocompósitos de fosfato de cálcio e PDMSUr e o resultado é exposto a seguir nas caracterizações por DRX e espectroscopia Raman.

A Figura 72 apresenta os difratogramas de PDMSUr, Comp MSR 01, Ca(OH)_2 e DCPA. As linhas tracejadas pretas marcam a posição do pico e halo característico da PDMSUr (linha preta) discutidos na seção 5.1.2. As linhas tracejadas azuis marcam a posição dos picos do Ca(OH)_2 , enquanto as linhas tracejadas verdes marcam os picos do DCPA.

Figura 72 – Difratogramas de Comp MSR 01 (linha vermelha), Ca(OH)_2 (linha azul) e DCPA (linha verde) do banco de dados ICSD

Fonte: Autoria própria.

A Figura 73 apresenta os espectros Raman de Comp MSR 01, linha vermelha, e da PDMSUr, linha preta.

Figura 73 – Espectros Raman de Comp MSR 01 (linha vermelha) e PDMSUr (linha preta).

Fonte: Autoria própria.

Na figura 73 além dos picos da PDMSUr é observado um pico que possivelmente pode ser atribuído ao Ca(OH)_2 na região de 1088 cm^{-1} (SCHOTSMANS et al., 2014). Ao mesmo tempo, não se vê picos proeminentes de qualquer fase de fosfato de cálcio. Consequentemente, em função dos resultados tanto da análise por DRX como espectroscopia Raman, pode-se inferir que parte dos precursores de cálcio e fosfato empregados não reagiram e que formação de fosfato de cálcio em Comp MSR 01 foi baixa. Uma vez que a intensidade dos picos característicos da fase fosfato de cálcio é baixa no difratograma e também ausente no espectro Raman.

Na Figura 74 são mostrados os difratogramas de Comp MSR 02 (linha vermelha), Ca(OH)_2 (linha azul) e DCPA (linha verde). Nela é possível observar que a intensidade dos picos da fase DCPA são mais intensos do que no difratograma de Comp MSR 01. Contudo, ainda é possível observar a presença do pico característico de hidróxido de cálcio indicando que assim como em MSR 01 parte dos precursores empregados para síntese de fosfato de cálcio não reagiram.

Figura 74 – Difrátogramas de Comp MSR 02 (linha vermelha), DCPA base de dados ICSD (linha verde) e Ca(OH)_2 base de dados ICSD (linha azul).

Fonte: Autoria própria.

A Figura 75 apresenta os espectros Raman do Comp MSR 02 e da PDMSUr.

Figura 75 – Espectros Raman de Comp MSR 02 (linha vermelha) e PDMSUr (linha preta).

Fonte: Autoria própria.

Os resultados obtidos por meio da análise de espectroscopia Raman, Figura 75, confirmam os obtidos pela análise de DRX (Figura 74), ambos apontam a presença das fases DCPA (CaHPO_4) e hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) no compósito. Esses resultados mostram um efeito positivo do aumento da temperatura de reação na proporção de formação de fosfato de cálcio dentro do híbrido PDMSUr. Em ambos os casos (Comp MSR 01 e 02), a fase de fosfato de cálcio formada que foi identificada foi o DCPA.

Ferreira, Demétrio e colaboradores estudaram a formação de fosfato de cálcio via MSR em uma matriz de PDMS, usando como precursores Ca(OH)_2 e H_3PO_4 . Eles relataram a formação de DCPA após a mistura dos precursores na matriz polimérica seguida de aquecimento a 185°C por 35 minutos. Contudo, mesmo após empregar esse aquecimento foi

detectado a presença de cerca de 5% de Ca(OH)_2 não reagido no compósito. Os autores explicaram essa situação considerando que o Ca(OH)_2 possui baixa solubilidade no PDMS levando a uma reduzida disponibilidade de íons livres para reagir. Outro ponto importante é que a elevada viscosidade dificultou a difusão das partículas de Ca(OH)_2 no meio reacional. Por fim, há a contribuição da formação de agregados de partículas que contribuem para redução da área superficial de Ca(OH)_2 disponível para reagir (FERREIRA; DEMÉTRIO; SANTOS, 2017; DEMÉTRIO et al., 2018).

Assim como na pesquisa mencionada o parágrafo anterior, acredita-se que estes fatores podem estar envolvidos na baixa reatividade observada para o Ca(OH)_2 . Uma vez que o hidróxido de cálcio não é solúvel em meio etanólico e provavelmente deve exibir uma solubilidade similar a em PDMS na PDMSUr. Além disso, a presença da PDMSUr eleva bastante a viscosidade do meio reacional dificultando a mobilidade das partículas, por fim, a formação de agregados de partículas de Ca(OH)_2 também pode ocorrer.

De maneira geral, foi observado que apesar do aumento brando de temperatura aumentar a formação de fosfato de cálcio em MSR 02 em relação ao 01, a quantidade de fosfato de cálcio observada por meio da intensidade dos picos presentes nos difratogramas e nos espectros Raman é baixa. Além disso, o compósito obtido via MSR não cura, mesmo tendo as mesmas proporções de aminas (IPDA e APTES) empregadas na matriz de Comp MIA, Comp MMF e PDMSUr, apontando desta forma para uma possível degradação da matriz polimérica. Deste modo, buscou-se uma alternativa para obter-se um compósito fosfato de cálcio/PDMSUr com nanopartículas geradas in situ.

5.5 Compósito método da imersão alternada (MIA)

O método da imersão alternada (MIA) no contexto da síntese das biocerâmicas de fosfato de cálcio, tal como foi desenvolvido no final da década de 90 por Taguchi e colaboradores, é um processo que leva a formação de nanopartículas de Hap no interior de uma matriz tridimensional de hidrogel, permitindo assim a obtenção de um nanocompósito. De acordo com os autores, o processo foi baseado na muito difundida rota aquosa de síntese da Hap. Ele consiste na imersão da matriz polimérica numa solução aquosa tamponada (pH 7,4) precursora de cálcio por um período de tempo, seguido de sua lavagem com água e depois imersão em uma solução aquosa contendo um sal de fosfato dissolvido, seguido novamente de sua lavagem completando assim um ciclo (TAGUCHI; KISHIDA; AKASHI, 1998, 1999; TAGUCHI; KISHIDA; MITSURU AKASHI, 1999).

Desde seu desenvolvimento essa metodologia vem sendo largamente empregada em muitos trabalhos encontradas na literatura, nos quais diferentes tipos de materiais hidrofílicos vêm sendo estudados. Dentro deste contexto, foi utilizado como referência a pesquisa desenvolvida pelo grupo de Bioquímica e Biomateriais do IQSC-USP no trabalho de Santos sob orientação da professora Ana Maria de Guzzi Plepis. Neste trabalho foi estudado a mineralização de hidroxiapatita em hidrogéis de quitosa/gelatina pelo MIA. Assim, como ponto de partida, a primeira abordagem foi tentar empregar a mesma metodologia utilizada neste trabalho para mineralizar fosfato de cálcio na matriz de PDMSUr (SANTOS, 2014).

Entretanto, devido ao caráter hidrofóbico da PDMSUr as soluções aquosas precursoras de cálcio e fosfato não conseguiram molhar a superfície da membrana e tão pouco penetrar na mesma e carrear os íons para seu interior para que o processo mineralização pudesse ocorrer. De fato, como visto na seção 5.1, as análises de ângulo de contato e ensaio de absorção de água apontaram um caráter mais hidrofóbico do que hidrofílico para esta, assim, justificando o comportamento observado.

Tendo em mente que não seria possível trabalhar com soluções aquosas para mineralizar fosfato de cálcio na matriz de PDMSUr, buscou-se empregar solventes orgânicos como fase para conduzir os precursores de cálcio e fosfato para dentro da matriz de PDMSUr. Cabe aqui ressaltar que não foram encontrados relatos na literatura a respeito da utilização do MIA para obtenção de fosfato de cálcio no interior de uma matriz polimérica empregando uma fase não aquosa.

O primeiro desafio foi tentar encontrar um solvente que solubilizasse um sal de cálcio e um composto com o grupo fosfato. Para tal, foram testados os seguintes solventes:

dimetilsulfóxido, dimetilformamida, dimetilacetamida, diclorometano, etanol, metanol e THF. Dentre estes apenas o THF não dissolveu os sais de cloreto e nitrato de cálcio. Por outro lado, nenhum dos solventes foi capaz de dissolver os sais de fosfato de amônio, sódio ou potássio testados. Assim, a alternativa encontrada foi empregar soluções etanólicas de H_3PO_4 e $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, pois, ambos possuem boa solubilidade em meio etanólico, 25,8 e 548 g em 100 g de etanol à 20° C, respectivamente (LIDE, 2005). Além disso, o etanol é facilmente absorvido pela PDMSUr conforme observado no ensaio de inchamento em etanol (seção 5.1). Por fim, alguns outros aspectos importantes foram considerados nesta escolha: o etanol é de baixa toxicidade; facilmente acessível e não requer maiores cuidados para ser manuseado.

Assim como nos trabalhos de Taguchi e colaboradores e também na pesquisa de Santos, inicialmente escolheu-se trabalhar com soluções de concentrações 1,0 mol L⁻¹ de cloreto de cálcio e 0,6 mol L⁻¹ de ácido fosfórico, ou seja, a mesma razão cálcio/fosforo encontrado na Hap (TAGUCHI; KISHIDA; AKASHI, 1998, 1999; TAGUCHI; KISHIDA; MITSURU AKASHI, 1999; SANTOS, 2014). Como a mistura das soluções precursoras etanólicas levou a precipitação de DCPA (seção 5.2.2) considerou-se que esta fase poderia também estar presente como um dos possíveis produtos resultantes de MIA na membrana de PDMSUr. Com base nesse contexto e baseando-se nos estudos de Ishikawa e Eanes que estudaram a hidrólise de CaHPO_4 produzindo Hap (ISHIKAWA; EANES, 1993; ISHIKAWA, 1994), uma hipótese de hidrólise do DCPA em meio etanólico foi testada.

Em sua pesquisa Ishikawa e Eanes observaram que em meio aquoso em pH próximo do neutro (6,5 a 8,5) e à 37° C parte do DCPA tende a se converter naturalmente em Hap. Entretanto, na presença de CaCl_2 (variou-se a concentração entre 25 a 100mmol L⁻¹) a velocidade de conversão é aumentada. Além disso, de acordo com os dados de DRX ao longo de 60 horas de experimentos, a proporção de Hap formada na presença de CaCl_2 alcança 100 % de conversão em relação a massa inicial de DCPA contra cerca de 60% quando o sal de cálcio está ausente. A reação que descreve a hidrólise do DCPA na presença do cloreto de cálcio é descrita a seguir:

Deste modo, uma tentativa de converter parte do DCPA possivelmente presente em Hap foi pensada considerando a hipótese de que assim como em meio aquoso, no meio etanólico a presença de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ poderia induzir alguma hidrólise de DCPA. Dentro desta perspectiva, a reação de hidrólise seria alcançada empregando um número maior de ciclos de solução de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, isto é, após a finalização do último ciclo, uma imersão adicional na solução de

íons cálcio foi realizada para que a DCPA pudesse ser hidrolisado conforme o mecanismo da reação anterior.

5.5.1 Caracterização por espectroscopia Raman e Difração de raios – X

A Figura 76 apresenta os espectros Raman para DCPA, Comp MIA e PDMSUr.

Figura 76 – Espectro Raman das amostras de PDMSUr (preto), Comp MIA (vermelho) e DCPA sintetizado (azul).

Fonte: Autoria própria.

Na Figura 76 no espectro em vermelho é possível ver na região de 400, 600 e de 900 a 1090 cm^{-1} os principais picos característicos da fase DCPA conforme caracterizados anteriormente na Figura 55 que apresenta o espectro Raman do mesmo (seção 5.2.2). Além disso, na região em torno de 500, 700, 800, 1200 e de 1400 a 1500 cm^{-1} estão presentes os principais picos da matriz de PDMSUr de acordo com a caracterização na Figura 29 que mostra o espectro Raman desta (seção 5.1.2).

No intuito de caracterizar melhor a fase de fosfato de cálcio formado no compósito MIA, o mesmo foi submetido a uma análise por DRX. Nessa análise ao fazer-se o comparativo entre o difratograma do DCPA da base de dados ICSD, membrana de PDMSUr e Comp MIA (Figura 77), observa-se que os principais picos da fase DCPA estão presentes. Vale ressaltar que não foi possível observar picos característicos de outros compostos cristalinos.

Figura 77 - Difratogramas da DCPA padrão ICSD (linha azul), Comp MIA (linha vermelha) e PDMSUr (linha preta).

Fonte: Autoria própria.

O difratograma tanto da PDMSUr como do Comp MIA, Figura 77, mostra na região em torno de 10° um pico largo e um halo amorfo em torno de 25° , atribuídos à matriz polimérica PDMSUr, seção 5.1. A partir de 25° os principais picos característicos da fase DCPA, CaHPO_4 , no difratograma do compósito são evidentes em 26,4, 28,4, 30, 32,4, 32,8, 35,7, 47,4, 49,7, 53,0.

Fica evidente, portanto, que não foi possível obter a Hap com uma imersão adicional em solução de CaCl_2 e que foi obtido exclusivamente o DCPA. Outrossim, com a eliminação da etapa extra de imersão em solução etanólica de íons cálcio, híbrido Comp MIA 01 – 3 x C 20 min, observa-se o aparecimento de novos picos no difratograma, caracterizando a presença de mais uma fase além de DCPA, Figura 78. Comparando-se com o difratograma das fases de fosfato de cálcio no banco de dados ICSD observa-se que a fase que mais se aproxima é a MCPM, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, como pode ser observado na Figura 78.

Figura 78 – Difratogramas de Comp MIA 01 - 3 x Ciclos de 20 minutos (linha azul) e 3 Ciclos de 20 minutos + 20 min Ca (linha preta), DCPA (linha vermelha) e MCPM (linha verde).

Fonte: Autoria própria.

O resultado da análise por DRX (Figura 78) indica que quando um mesmo número de ciclos é empregado no MIA, ainda que a concentração do ácido fosfórico ($0,6 \text{ mol L}^{-1}$) na solução precursora de fosfato seja menor do que a de cloreto de cálcio ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$), a primeira consegue manter mais espécies de fosfato (HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- e PO_4^{3-}) no interior da membrana a cada ciclo do que a do que a solução precursora de cálcio consegue manter íons cálcio. Deste modo, ocorre um acúmulo de precursor de fosfato na matriz em relação ao teor de cálcio, esta condição permite a formação da fase MCPM (razão Ca/P de 0,5), além de DCPA (razão Ca/P de 1,0).

A fase MCPM tem ganhando destaque com relação ao seu emprego em formulações de cimentos e selantes de fosfato de cálcio na odontologia, isto, em grande parte é devido a sua solubilidade. De fato, MCPM é a fase de fosfato de cálcio (junto MCPA) mais solúvel em meio aquoso, logo, pode atuar como uma fonte ácida de fosfato em formulações de cimento nas quais trabalha-se em sistemas aquosos (MIRTCHI; LEMAITRE; TERAQ, 1989; HUAN; CHANG, 2009; HUANG, 2015; HUANG; CAO, 2016; DOROZHKIN, 2017). Por outro lado, devido sua elevada solubilidade e acidez ela não é encontrada em calcificações biológicas, e de fato, estudos apontam que esta fase não é biocompatível com ossos. Todavia, apesar do crescente interesse na sua utilização em aplicações biomédicas, ainda são bastante limitados os estudos que a utilizam (SÁNCHEZ-ENRÍQUEZ; REYES-GASGA, 2013; HUANG, 2015; DOROZHKIN, 2017).

Num outro conjunto de experimentos verificou-se o impacto do uso de soluções de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} com concentração $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, portanto, mesmo número de moles de cálcio e fosfato sobre formação de fosfato de cálcio. O híbrido obtido foi denominado Comp MIA 02 – 1 x C 20 min. Assim como no caso anterior (Figura 78, Comp MIA 01 – 3 x C 20 min), é possível observar no difratograma de Comp MIA 02 – 1 x C 20 min a presença dos picos característicos da DCPA e também de MCPM (Figura 79).

Figura 79 – Difratoograma de Comp MIA 02 - 1 x Ciclo de 20 min (linha vermelha), DCPA (linha azul) e MCPM (linha preta) (ambos obtidos na base de dados ICSD).

Fonte: Autoria própria.

Seguindo no estudo do impacto dos parâmetros de formulação e processamento, um ensaio de imersão de Comp MIA em solução etanólica de KOH foi realizado. Neste ensaio pretendia-se observar se a solução rica em OH^- poderia induzir a formação de outras fases de fosfato de cálcio com caráter mais básico. Dentro deste contexto, membranas de Comp MIA 01 – 2 x Ciclos de 20 min + 2h $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ foram imersas em soluções com $1,0 \times 10^{-2}$ e $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de KOH por diferentes tempos. O resultado deste ensaio é apresentado na Figura 80.

Figura 80 – Difratomogramas de Comp MIA que passaram pelo ensaio de imersão em KOH, do DCPA e do MCPM.

Fonte: Autoria própria.

Na Figura 80 vê-se no difratograma do Comp MIA 01 – 2 x C 20 min + KOH i (Comp MIA após duas horas de imersão em solução $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ de KOH) que em relação ao difratograma do Comp MIA há uma redução dos picos característicos da fase DCPA e o aparecimento dos picos de MCPM. De acordo com Silva e colabores em meio alcalino aquoso é esperado que o DCPA se dissolva e recristalize na forma de uma apatita, pois esta é mais estável no pH em questão (SILVA et al., 2001). Contudo, os resultados apontam que no meio alcalino etanólico ocorre a dissolução de DCPA, mas não sua recristalização na forma de uma apatita no interior da membrana.

O difratograma de Comp MIA 01 – 2 x Ciclos de 20 min KOH i sugere que depois do processo de dissolução de uma parte de DCPA no interior da membrana, o teor de cálcio dissolvido que permaneceu dentro da PDMSUr era inferior a proporção necessária para a recristalização de DCPA. Assim, uma vez que a razão Ca/P da fração dissolvida se tornou menor que 1,0 houve o favorecimento da formação da fase MCPM. Por sua vez, em Comp MIA 01 – 2 x Ciclos de 20 min. KOH iii (Comp MIA após 72h de imersão em solução $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de KOH) pode-se observar uma pronunciada diminuição dos picos provenientes da DCPA e nenhum pico de MCPM. Isto, nos sugere que neste caso os precursores de cálcio e fosfato que constituíam a parte do DCPA dissolvido difundiram-se para solução, reduzindo assim a carga do híbrido.

Por fim, o difratograma de Comp MIA 01 – 2 x Ciclos de 20 min KOH ii não é apresentado porque dentro das condições no qual seu ensaio foi conduzido (72 horas de imersão em solução $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de KOH) a membrana foi completamente dissolvida, possivelmente em mecanismo em conformidade com o proposto por Örn, Figura 81 (ÖRN, 2019).

Figura 81 – Representação esquemática do processo de hidrólise alcalina da fração PDMS.

Fonte: Autoria própria.

5.5.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear no Estado Sólido

Visando obter um conhecimento mais aprofundado a respeito da estrutura de Comp MIA e complementar àqueles obtidos por Espectroscopia Raman e DRX foram realizados experimentos de RMN de ^{13}C e ^{31}P para amostra de Comp MIA 02 – 1 x C 20 min. Os métodos de aquisição de dados empregados foram CP-MAS e HPDec-MAS.

A metodologia HPDec excita todos núcleos dos átomos (^{13}C ou ^{31}P) igualmente, deste modo a área dos picos em HPDec é diretamente proporcional à concentração daquele tipo de núcleo na amostra. Por outro lado, no espectro CP – MAS a área do pico é função da população ^1H na vizinhança dos átomos e da intensidade de interação dipolar dos primeiros com os últimos. Nesse interim, átomos com maior população de prótons e/ou com maior intensidade de interação dipolar em sua vizinhança vão apresentar picos mais intensos e vice-versa. O resultado dessa característica do CP – MAS é que diferentemente dos picos observados em HPDec, a intensidade dos picos presentes CP – MAS não reflete a proporção de átomos presentes, isto é, suas áreas não podem ser usadas para quantificação. Contudo, a CP – MAS fornece informações interessantes a respeito do ambiente químico (vizinhanças) no qual o núcleo do átomo se encontra (MCDOWELL et al., 2002).

A Figura 82 a seguir apresenta um comparativo entre o espectro de RMN HPDec e CP – MAS de ^{13}C do Comp MIA e CP – MAS ^{13}C do PDMSUr. Nesta figura pode-se verificar que os mesmos picos que caracterizam híbrido PDMSUr estão presentes no compósito, nesse contexto, especial atenção foi dada ao pico que caracteriza o deslocamento químico do carbono da ligação uretânica, responsável pela polimerização que leva a formação da parte orgânica do híbrido PDMSUr. Ele está presente na região de 158 ppm tanto no espectro de Comp MIA como no do PDMSUr.

Figura 82 – Espectros de RMN CP-MAS de ^{13}C do Comp MIA 02 – 1 x C 20 min e do PDMSUr.

Fonte: Autoria própria.

Além disso, na região de 88 ppm é possível observar a presença de um pico no espectro CP-MAS do ^{13}C de Comp MIA que não está presente no espectro HPDec-MAS desse e também é ausente no espectro CP-MAS do híbrido PDMSUr. Deslocamentos químicos de ^{13}C nessa região (50 – 90 ppm) são relacionados a carbonos de cadeias alifáticas em ligações do tipo C-O (GIL; NETO, 1999; KIM et al., 2011; JOHNSON et al., 2013; ZHANG, 2013; FREITAS et al., 2016; WANG et al., 2016; WEI; TANG, 2018; YANG et al., 2018; RICHTER et al., 2019; TERRETT et al., 2019).

A ausência deste deslocamento químico no espectro CP-MAS da PDMSUr sugere que ele está relacionado aos parâmetros de processamento para obtenção do compósito ou ainda a utilização do ácido fosfórico para catalisar o processo de hidrólise e condensação dos grupos APTES durante a cura do PDMSUr que foi usado para obtenção do de Comp MIA. Por outro lado, sua ausência no espectro HPDec e sua baixa intensidade no espectro CP-MAS de Comp MIA nos indica que a concentração deste carbono é muito baixa na amostra de Comp MIA.

Todavia, análises adicionais por RMN são necessárias para melhor identificar a origem desta alteração. Apesar disso, de maneira geral, este resultado indica que a matriz de PDMSUr não sofreu significativas alterações durante processo de obtenção MIA. Ademais, no espectro de HPDec de Comp MIA ainda é possível ver na região de 42 – 49 ppm os deslocamentos característicos dos carbonos alifáticos terciários que estão ligados aos carbonos “f”, “g” e “h” na Figura 30, possível estrutura do PDMSUr (seção 5.1.2) (YADAV et al., 2019).

A Figura 83 apresenta um comparativo entre o espectro de RMN de ^{31}P usando o experimento HPDec – MAS e o CP – MAS da amostra do Comp MIA 02 – 1 x C 20 min.

Figura 83 – Espectros de RMN de ^{31}P do Comp MIA 02 – 1 x C 20 min obtidos usando CP – MAS (linha azul) e HPDec – MAS (linha verde).

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a Figura 83, no espectro obtido empregando metodologia HPDec, a principal fase de fosfato de cálcio formada, de fato, é o DCPA. Tal afirmação pode ser confirmada verificando-se os picos intensos na região -0,3 e -1,6 ppm. Esses deslocamentos são atribuídos aos átomos fósforo P_1 e P_2 da fase DCPA, como detalhado na seção 5.2.2. Contudo, na região de -4,5 e -6,4 ppm é possível identificar picos em deslocamentos químicos que não são referentes a fase DCPA. Esses picos são mais intensos no espectro em azul que é referente a metodologia de aquisição CP – MAS. O que nos informa que esses núcleos estão rodeados por vizinhança rica em ^1H ou onde há maior intensidade de interação dipolar ^1H - ^{31}P .

No intuito de se obter um melhor entendimento sobre a origem desses picos comparou-se o espectro de RMN CP – MAS ^{31}P de Comp MIA 02 – 1 x C 20 min com o do DCPA sintetizado (biocerâmica caracterizada na seção 5.2.2). Para tal, foi feito um grande aumento no

eixo y dos espectros de RMN na região desses picos (-4,5 e -6,4 ppm). A Figura 84 apresenta o comparativo do espectro de RMN de ^{31}P de Comp MIA 02 – 1 x C 20 min e DCPA sintetizado.

Figura 84 – Espectros de RMN CP - MAS para ^{31}P de DCPA (linha vermelha) sintetizado e Comp MIA 02 - 1 x C 20 min (linha verde).

Fonte: Autoria própria.

Nos espectros de RMN na Figura 84, observa-se que o DCPA sintetizado também apresenta os picos na região de -4,5 e -6,4 ppm. Isto, permite-nos inferir que possivelmente os picos não são resultado da degradação da matriz polimérica e formação de um composto secundário resultante da reação dos subprodutos de degradação com algum precursor de fosfato presente. Por outro lado, fica evidente que a matriz de PDMSUr favorece mais a formação dessas fases do que no processo de síntese de DCPA quando a precipitação ocorre nas soluções precursoras isoladas.

De acordo com a literatura o pico na região de -4,5 ppm é resultante da fase MCPM (GUO et al., 2020a). Esse pico apresentou uma baixa intensidade quando comparado com aquela apresentada pelos picos de MCPM na análise por DRX de Comp MIA 02, uma possível explicação provem do fato de que o MCPM tende a se converter em DCPA (SCHRÖDTER et al., 2008), conforme a reação a seguir:

Com relação ao pico em -6,4 uma busca na literatura foi realizada, contudo, não foi encontrado fases de fosfato de cálcio que possuam deslocamento químico nessa região. A tabela 9 a seguir apresenta os deslocamentos químicos das principais fases de fosfato de cálcio.

Tabela 9 – Principais fases de fosfato de cálcio e seus respectivos deslocamentos químicos em RMN sólido para ^{31}P .

Fase de fosfato de cálcio	Razão C/P	Deslocamento químico ^{31}P (ppm)	Referência
MCPM	0,5	0,1 -4,4	(GUO et al., 2020a)
DCPD	1,0	1,4	(YU et al., 2019a)
DCPA	1,0	-1,6 -0,3	(YU et al., 2019b)
OCP	1,33	-0,2 2,2 3,3	(MIQUEL et al., 1990)
β – TCP	1,5	0,13 1,5 2,8 4,4 5,5	(YU et al., 2019a)
Hap	1,5 - 1,67	2,7	(GUO et al., 2020a)
TTCP ^a	2,0	5,1 3,5 2,9 4,2	(POURPOINT et al., 2008)

a = diferente dos outros valores presentes na tabela os deslocamentos químicos de TTCP não são dados experimentais, mas sim valores teóricos obtidos por simulação computacional.

Fonte: Autoria própria.

Como pode ser observado na tabela 9, nenhuma das fases nela reportada apresenta deslocamento químico na região de -6,4 ppm. Tendo em vista encontrar o composto responsável por este pico uma profunda busca na literatura foi conduzida. Nessa busca apenas um trabalho encontrado buscou caracterizar a origem deste deslocamento. No referido estudo Yu e colaboradores realizaram uma pesquisa sobre cimentos odontológicos de DCPA e pirofosfato cálcio, na qual relataram encontrar deslocamentos químicos na região -6,4 e -10,2 ppm (YU et al., 2019a).

Naquele estudo estes picos foram atribuídos a modificações estruturais na fase $\text{NaH}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ainda não reportadas na literatura. Entretanto, as observações realizadas naquele trabalho não podem ser extrapoladas para o presente estudo, visto que não foi utilizado precursores contendo sódio no presente trabalho. Além disso, apenas o deslocamento na região -6,4 ppm foi observado, não havendo a presença da banda de intensidade aproximadamente igual na região -10,2 ppm reportada por Yu e colaboradores. Deste modo, estudos adicionais são necessários para identificar a origem desse deslocamento no presente trabalho. Contudo, a análises de RMN HPDec ^{31}P e DRX apontou que esta fase formada é minoritária. Pois, além da baixa intensidade apresentada no espectro de RMN ela sequer teve sua presença identificada no difratograma para Comp MIA.

5.5.3 Considerações a Respeito da Fase de Fosfato de Cálcio Formada em MIA

Considerando o conjunto de ensaios realizados para caracterização de Comp MIA com relação a fase de fosfato de cálcio formado, foi possível verificar algumas tendências a respeito de como a modificação dos parâmetros analisados afetaram a formação destes compostos.

Nos ensaios realizados no contexto de MIA variou-se o número de ciclos e a concentração das soluções precursoras de fosfato. Ademais, um ensaio empregando soluções alcalinas em meio etanólico também foi conduzido. Os resultados desses ensaios indicam que ao reagir-se CaCl_2 e H_3PO_4 no interior da membrana de PDMSUr, duas fases de fosfato de cálcio podem ser observadas (MCPM, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ e DCPA, CaHPO_4). A presença dessas fases possivelmente é uma função da razão Ca/P no interior da membrana. Logo, se a razão Ca/P se torna menor tende-se a verificar o aparecimento da fase MCPM. Por outro lado, quando se aumenta o teor de cálcio observa-se o completo desaparecimento dos picos característicos da fase MCPM e apenas os da DCPA continuam presentes.

Muitas pesquisas interessantes com dados sustentados por ensaios *in vivo* e ou *in vitro* apontando a relevância da fase DCPA como biomaterial com aplicações médicas podem ser encontradas na literatura (TAMIMI et al., 2008, 2010; CAMA et al., 2013; AMER et al., 2014; BOROJENI et al., 2014; IDOWU et al., 2014; KRUPPKE et al., 2016; RUAN et al., 2016; SCHAMEL et al., 2017; MESGAR; MOHAMMADI; RASOULI-DISFANI, 2017; ORYAN; ALIDADI; BIGHAM-SADEGH, 2017; MEDVECKY et al., 2018; NAVARRO DA ROCHA et al., 2019).

De acordo com os resultados destes estudos é inquestionável o potencial da fase DCPA como material candidato a biocerâmica empregada na regeneração óssea. Nesse interim, devido essa característica ela tem ganhando crescente interesse na área de desenvolvimento de

biomateriais. Todavia, os métodos disponíveis para obtenção de compósitos poliméricos com DCPA na literatura geralmente empregam o MMF ou MSR. Entretanto, para que essas abordagens possam ser utilizadas é necessário que o polímero usado esteja na fase líquida ou ainda dissolvido em um solvente adequado.

O MIA apresentado no presente estudo consiste em uma alternativa simples, que faz uso baixa temperatura, facilmente escalável, que pode ser empregando quando trabalha-se com matrizes poliméricas que não podem ser dissolvidas ou fundidas depois do processo de cura (matrizes reticuladas). Além disso, apresenta a vantagem de poder ser empregada tanto em filmes autossuportados como naqueles depositados sobre superfícies de implantes ou outra de interesse.

5.5.4 Estudo das Propriedades Térmicas por Termogravimetria

No intuito de melhor entender as propriedades dos compósitos obtidos via o MIA, um estudo da estabilidade térmica do Comp MIA foi realizado em atmosfera de ar sintético por meio de análise termogravimétrica. A Figura 85 apresenta um comparativo entre as curvas termogravimétricas das amostras de PDMSUr, DCPA e Comp MIA. Nela podemos ver que o comportamento térmico da fase DCPA se difere marcadamente da PDMSUr e também do Comp. MIA. Pois, DCPA apresenta uma perda de massa bem menor do que os dois últimos e inicia sua degradação em temperaturas mais elevadas como já esperado de um composto inorgânico cristalino de grande estabilidade termodinâmica.

Figura 85 – Curvas termogravimétricas das amostras de PDMSUr (linha preta), DCPA sintetizado (linha vermelha) e Comp MIA 02 – 1 x C de 20 min (linha azul).

Fonte: Autoria própria.

Ademais na Figura 85, pode-se observar que a degradação térmica do compósito se inicia em uma temperatura um pouco menor do que a PDMSUr, de maneira que a estabilidade térmica do Comp MIA é ligeiramente menor do que da matriz polimérica isolada, contrariando assim expectativa a respeito da carga inorgânica melhorar as propriedades térmicas do

compósito. Entretanto, segundo Chrissafis e Bikiaris nem sempre isso é uma verdade, apesar de ser uma ocorrência mais comumente observada (BIKIARIS, 2011; CHRISSAFIS; BIKIARIS, 2011).

Para entender como a estabilidade térmica de um nanocompósito pode ser menor em relação a da matriz polimérica isolada é preciso considerar vários fatores. O mecanismo de estabilização termal de nanocompósitos poliméricos estão relacionados à estrutura do nanocompósito as características morfológicas do polímero e as interações interfaciais dos componentes. Assim, a presença de uma carga que não é inerte, isto é, que pode reagir na presença de temperatura com a matriz polimérica, pode alterar significativamente o mecanismo de decomposição. De maneira que, o início da degradação térmica pode ser deslocado para regiões de menor temperatura se algum dos componentes presentes catalisar alguma via de decomposição térmica do material (PIELICHOWSKI; LESZCZYNSKA; NJUGUNA, 2010; CHRISSAFIS; BIKIARIS, 2011).

Desta forma, uma possível explicação para menor estabilidade térmica de Comp MIA quando comparado a PDMSUr é que algum componente presente no mesmo catalisa o início da degradação térmica deslocando o mesmo para uma região de temperatura mais baixa. Apesar disso, vale ressaltar que a diferença de estabilidade térmica entre a PDMSUr e Comp MIA é baixa e que ambos os materiais possuem faixa de estabilidade térmicas adequadas para serem empregados como biomateriais.

Além disso, outra informação que pode ser adquirida a partir da Figura 85 é que quantidade de resíduo ao fim de todo processo é maior no compósito do que na PDMSUr. Isto ocorre porque no primeiro, o resíduo é constituído além da sílica (oriunda da degradação da matriz polimérica), também dos resíduos da degradação do fosfato de cálcio que foi formado no processo de mineralização. A Tabela 10 contém os dados do teor de resíduos e fosfato de cálcio para as amostras de Comp MIA e PDMSUr. O teor de fosfato de cálcio foi estimado fazendo-se a diferença entre o teor de resíduo na amostra de PDMSUr e o teor de resíduo nas amostras de Comp MIA. De acordo com a tabela, a quantidade de fosfato de cálcio gerado num ciclo de 20 ou em 2 ciclos de 10 minutos é bem próxima.

Tabela 10 - Teor de resíduos e teor de fosfato de cálcio nas amostras de Comp MIA.

Código das Amostras	Teor de Resíduos (%)	Teor de Fosfato de Cálcio (%)
PDMSUr	4,3	----
Comp MIA 1 ciclo de 20 min.	12,7	8,4
Comp MIA 2 ciclo de 10 min.	13,8	9,5

Fonte: Autoria própria.

A Figura 86 apresenta a DTG (linha azul) de Comp MIA, nela é possível identificar que a degradação térmica se inicia próximo de 150 e vai até 500°C, dentro dessa faixa de temperatura observa-se quatro picos mais proeminentes na região de 284, 307, 318 e 342° C e um possível quinto pico parcialmente encoberto na região em torno de 260° evidenciado pela presença de um ombro antes do pico em 284° C.

Figura 86 – Termogramas da amostra de Comp MIA 02 – 1 x C 20 min, TG (linha vermelha) e DTG (linha azul).

Fonte: Autoria própria.

5.5.5 Ângulo de contato

Com o intuito de verificar como a presença de fosfato de cálcio afetaria a hidrofbicidade da membrana de Comp MIA uma análise de molhabilidade foi conduzida. A Figura 87 apresenta o resultado do ensaio de ângulo de contato para amostra de Comp MIA 01 – 2 x Ciclos de 20 min + 2h $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 1,0 mol L^{-1} .

Figura 87 – Imagem de Gota d'água usada para medida de ângulo de contato estático do Comp MIA 01 – 2 x Ciclos de 20 min + 2h $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 1,0 mol L^{-1} imediatamente após a deposição da gota sobre a superfície.

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a resultado desta análise, o ângulo de contato inicial do híbrido Comp MIA ($91,2 \pm 3,2^\circ$), não difere significativamente do ângulo de contato inicial da PDMSUr ($90,6^\circ$, discutido na seção 5.1.2). Um resultado similar foi encontrado no trabalho de Aguiar (AGUIAR, 2015), nesse foi observado que empregar 1 ou 35 % de ácido fosfotúngstico em

relação a massa do híbrido PDMSUr não afetou a molhabilidade (ângulo de contato em torno 104°) ou a energia superficial dos materiais. Este fenômeno foi explicado considerando-se que as superfícies dos compósitos eram dominadas pelo híbrido PDMSUr e as nanopartículas do WPA ocupavam posições no interior do filme, no presente trabalho propõe-se que uma situação análoga ocorra.

Uma hipótese para explicar esta observação advém de que entre cada ciclo de imersão e após última imersão no protocolo MIA, o material foi lavado com etanol. Esse procedimento pode ter garantido a formação de uma fina camada de PDMSUr exposta na superfície do material na qual o teor de fosfato de cálcio e/ou seus precursores são tão baixos que a molhabilidade do compósito na superfície é muito parecida com o do PDMSUr puro.

5.5.6 Microscopia eletrônica de varredura

Para caracterizar a distribuição de fosfato de cálcio nas amostras de Comp MIA foram obtidas imagens por MEV da seção transversal dos híbridos (obtidos com diferentes tempos de imersão) empregando detector de elétrons retroespalhados, essas são mostradas na Figura 88.

Figura 88 – Imagens obtidas por MEV com detector de elétrons retroespalhados da seção transversal das membranas de Comp MIA com diferentes tempos de imersão nas soluções precursoras de CaCl_2 e H_3PO_4 .

Fonte: Autoria própria.

Observa-se nas diferentes imagens da Figura 88 o aumento de uma região de maior brilho, portanto, constituída pela fase inorgânica de fosfato de cálcio com o tempo de imersão. Como esperado, para um método baseado na lei de difusão de Fick e de maneira similar à tempera química usada em nosso grupo (BENÍTEZ et al., 2018) com o aumento do tempo de imersão a fase de fosfato se interioriza ocupando cada vez mais o interior do compósito. A Figura 89 apresenta a variação da espessura da região contendo fosfato de cálcio à medida que o tempo de imersão em cada ciclo aumenta. Nela fica claro que após um ciclo de 40 minutos a distribuição de fosfato de cálcio no híbrido cobre toda seção transversal da membrana.

Figura 89 – Variação da espessura da região contendo fosfato de cálcio (linha vermelha) e variação da espessura do núcleo de PDMSUr (linha preta) nas membranas de Comp MIA 02 x Contra o tempo de imersão em cada ciclo.

Fonte: Autoria própria.

A Figura 90 mostra as imagens da topografia de superfície dos Comp MIA 02 – 1 x Ciclo de 5 até 80 min obtidas por MEV usando detector de elétron secundários.

Figura 90 – - Imagens obtidas por MEV empregando detector de elétrons secundários das para as superfícies das membranas de Comp MIA 02 – 1 x Ciclo 5min (A e B), 10min (A1 e B1), 20min (A2 e B2), 40min (A3 e B3) e 80min (A4 e B4).

Fonte: Autoria própria.

Nas imagens presentes na Figura 90 pode-se observar que a morfologia na superfície das membranas varia de uma região para outra. Existem muitas irregularidades na superfície das mesmas que podem ser originadas de:

- Irregularidades na superfície do molde de PTFE utilizado para fazer a cura da membrana de PDMSUr usada para obter o compósito;
- Processo de perda de massa da fração não reticulada da PDMSUr para a soluções etanólicas precursoras de íons cálcio ou fosfato;
- Processo lavagem da membrana antes de trocar de solução no processo de obtenção do compósito no protocolo MIA (durante o processo de lavagem é necessário manusear a membrana que por estar inchada de solvente se torna mais frágil).

As regiões de coloração branca na superfície apontam pontos com provável maior aglomeração de fosfato de cálcio.

5.5.7 Análise de Porosidade

Na Tabela 11 são mostrados os parâmetros de análise textural obtidos via fisissorção de N₂ das amostras de Comp MIA e PDMSUr.

Tabela 11 - Análise textural para as amostras de Comp MIA e PDMSUr

Código da amostra	Área Superficial BET (m ² g ⁻¹)	Volume de Poros BJH (cm ³ g ⁻¹)
PDMSUr	0.39 ± 0.08	0.00013 ± 0.00005
Comp MIA 02 - 2 ciclos de 10 min.	0.28 ± 0.08	0.00005 ± 0.00005
Comp MIA 02 - 1 ciclo de 20 min.	0.66 ± 0.08	0.0004 ± 0.0001

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a Tabela 11 pode-se constatar que assim como a PDMSUr os híbridos Comp. MIA também possuem uma baixíssima área superficial e volume de poros, podendo ser classificados como materiais não porosos.

5.5.8 Rugosidade dos Filmes Finos de Compósitos obtidos via MIA sobre Vidro

No intuito de verificar o efeito do método da imersão alternada sobre a rugosidade de filmes finos de Comp MIA depositados sobre lâminas de vidro, foram realizadas análises via perfilometria ótica dos híbridos obtidos em ciclos com diferentes tempos de imersão. A Figura 91 apresenta imagens 3D das superfícies dos filmes finos e a Tabela 12 apresenta os parâmetros de rugosidade das superfícies.

Figura 91 – Imagens 3D obtidas por perfilometria ótica da superfície do filme fino depositado via *spin coating* sobre lâmina de vidro de Comp MIA 02 – 1 x Ciclo 5 min (A), 10min(B), 20min(C), 40min(D) e 80min(E).

Fonte: Autoria própria.

A Tabela 12 apresenta os parâmetros de superfície obtidos por perfilometria.

Tabela 12 – Parâmetros de Rugosidade para as superfícies de filme fino de PDMSUr e Comp MIA.

Código das Amostras	Rugosidade Média (R_a)	Rugosidade Quadrática (R_q)	Coeficiente de Simetria (S_{sk})	Curtose (S_{ku})
PDMSUr	6,81 nm	8,57 nm	0,26	3,38
Comp MIA 5 min.	15,86 nm	20,32 nm	0,60	3,81
Comp MIA 10 min.	23,13 nm	27,85 nm	0,75	4,20
Comp MIA 20 min.	24,69 nm	31,17 nm	0,51	3,61
Comp MIA 40 min.	18,25 nm	23,34 nm	0,23	3,60
Comp MIA 80 min.	13,34 nm	17,06 nm	0,69	8,27

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a tabela 12, observa-se que com exceção do coeficiente de simetria para Comp MIA 40 min, todos os parâmetros de rugosidade analisados são maiores nos filmes finos de compósito do que no filme fino de PDMSUr. Os valores positivos do Coeficiente de simetria, bem como o valor de curtose acima de 3 nos indica que assim como o filme fino de PDMSUr os filmes de compósito apresentam predominância de picos mais proeminentes e vales rasos, sendo os picos encontrados do tipo estreitos.

O valor da curtose para Comp MIA 1 x Ciclo de 80 min foi quase o dobro das demais, indicando que este possui a distribuição de picos mais estreitos entre as amostras analisadas. Esta condição pode ser observada quando se compara os picos presentes na imagem 3D de Comp MIA 1 x Ciclo de 80 min. com os picos presentes nas demais Figuras.

A avaliação da rugosidade de uma superfície é um fator importante em muitos problemas fundamentais. Ela influi diretamente em muitas propriedades dos materiais tais como fricção, deformação por contato, condução de eletricidade e calor, adesão celular entre outros (RIEDEWALD, 2006). Dentro do contexto da influência da rugosidade de uma superfície na adesão celular, muitos estudos tem sido conduzidos para encontrar condições que minimizem adesão de bactérias em superfícies (NGUYEN; SATHE; YIM, 2016; WU et al., 2018).

Apesar disso, muitos dos trabalhos encontrados na literatura apontam resultados contraditórios com alguns trabalhos indicando que o aumento rugosidade leva ao aumento da adesão bacteriana (TRUONG et al., 2010; PREEDY et al., 2014; SHARMA et al., 2016). Por outro lado, outros estudos na literatura não encontram correlação da adesão de bactérias com a rugosidade e há até mesmo, aqueles que aponta uma relação inversa entre o aumento da

rugosidade e o aumento da adesão bacteriana (RIZZELLO et al., 2011; BAGHERIFARD et al., 2015; LIU et al., 2016; LÜDECKE et al., 2016; WU et al., 2018).

Essas discrepâncias ocorrem porque em grande parte, os trabalhos listados na literatura utilizam apenas R_a e R_q como parâmetros para avaliar a rugosidade de uma superfície e assim caracterizar sua topografia (WU et al., 2018). Entretanto, superfícies com mesmo valor de R_a e R_q podem apresentar arquitetura de superfície bem distintas, deste modo, possuem comportamentos de adesão bacterianas diferentes. Consequentemente, é evidente a necessidade de se empregar outros parâmetros além desses para caracterizar o perfil estrutural de uma superfície. Deste modo, empregar além R_a e R_q os parâmetros S_{sk} e S_{ku} , amplia a compreensão dos aspectos estruturais da topografia de uma superfície (HANSSON; HANSSON, 2011; OLIVARES-NAVARRETE et al., 2014).

De acordo com Wu e colaboradores padrões estreitos com menor espaçamento entre eles mostram uma capacidade mais pronunciada de inibir a adesão celular bacteriana. Além disso, nanopilares (picos estreitos de ordem de altura nanométrica) podem induzir a morte de alguns tipos de bactérias quando presentes numa superfície. Pois, quando a célula está numa região com esta nanotopografia, regiões da parede celular estarão apoiadas sobre nanopilares com vales separando os mesmos (WU et al., 2018). Nessa condição, quando a parede bacteriana se acomoda sobre os nanopilares cria-se na região da parede sobre o vale uma tensão que pode resultar na ruptura da mesma causando a morte da célula, Figura 92 (POGODIN et al., 2013; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, 2016; WU et al., 2018).

Figura 92 – Modelo biofísico que explica como uma superfície contendo nanopilares pode atuar rompendo a membrana celular bacteriana.

Fonte: Adaptado de Pogodin e colaboradores, reproduzido com permissão de Elsevier (POGODIN et al., 2013).

Os dados obtidos na tabela 12 e nas imagens 3D da superfície dos filmes finos nos informam que esses fornecem uma superfície de rugosidade de ordem nanométrica com uma predominância de picos estreitos (nanopilares). Estes dados nos indicam que os filmes finos dos híbridos Comp MIA obtidos através do método de *spin coating* apresentam potencial para serem estudados como materiais candidatos a revestimento com propriedades topográficas antibacterianas.

5.6 Ensaio preliminar de liberação de íons cálcio e fosfato de Comp MIA

Um ensaio preliminar semiquantitativo, foi realizado para verificar se amostra de compósito pode liberar íons cálcio e fosfato em solução salina após 24 horas de imersão. A Figura 93 apresenta o espectro de EDXRF para a gota seca da solução que ficou em contato com a membranas de Comp MIA 02 – 1 x Ciclo de 80 min.

Figura 93 – Espectro de Fluorescência de Raios-X para o ensaio preliminar de liberação de íons Cálcio e fosfato.

Fonte: Autoria própria.

De acordo com o espectro EDXRF, pode-se observar que a solução salina que esteve em contato com a membrana de Comp MIA 02 – 1 x Ciclo de 80 min. apresentou as linhas espectrais características dos elementos cálcio e fósforo (P Kα, Ca Kα e Ca Kβ). Deste modo, dentro estudo preliminar realizado Comp MIA liberou íons cálcio e fosfato para a solução. A Tabela 13 apresenta a concentração de elementos cálcio e fósforo determinados por EDXRF na solução em contato com Comp MIA, bem como as linhas espectrais características da fluorescência de raios-x destes elementos.

Tabela 13 – Teor dos elementos cálcio e fósforo determinados por EDXRF no ensaio preliminar de liberação de íons Cálcio e fosfato da membrana de Comp MIA em solução salina.

Elementos	Linha Kα (keV)	Linha Kβ (keV)	Concentração ($\mu\text{g cm}^{-2}$)
Cálcio	2,02	-----	0,960
Fósforo	3,70	3,98	0,419

Fonte: Autoria própria.

5.7 Ensaio de atividade antimicrobiana e biocompatibilidade

5.7.1 Ensaio de atividade antimicrobiana

Em um estudo prévio realizado no grupo GQMatHI por Aguiar, no qual estudou-se compósitos de PDMSUr/ácido fosfotúngstico, foi constatado que aquele material apresentava atividade antimicrobiana (bacteriostática), pois reduzia a capacidade de adesão de microrganismos na superfície daquele material. Os ensaios apontaram que esta atividade era grandemente afetada pela proporção de ácido fosfotúngstico presente no filme (AGUIAR, 2015; AGUIAR et al., 2019). Uma vez que no presente estudo foi utilizado ácido fosfórico como catalisador no processo de cura da PDMSUr, buscou-se testar se a pequena quantidade de ácido fosfórico presente poderia produzir algum efeito antimicrobiano nas membranas de PDMSUr e Comp MIA. Os resultados dos ensaios realizados são apresentados na Figura 94 e Tabela 14.

Figura 94 – Porcentagem de crescimento dos microrganismos testados nos extratos em contato com as membranas de PDMSUr e Comp MIA. As barras verticais representam o crescimento dos microrganismos nos diferentes materiais testados (cada coloração representa um material). Dentro da região tracejada em verde estão as bactérias testadas, por sua vez, na região com a linha tracejada azul estão os fungos testados. * $p < 0,005$.

Fonte: Autoria própria.

Tabela 14 - Resultados do ensaio de atividade antimicrobiana para as membranas de PDMSUr e Comp MIA, a sigla “Bcd” significa atividade biocida e “Btc”, por sua vez, bioestática.

Microrganismo	PDMSUr-NCat		PDMSUr		Comp MIA 02 – 1 Ciclo					
					5 min		20 min		80 min	
	Bcd	Btc	Bcd	Btc	Bcd	Btc	Bcd	Btc	Bcd	Btc
<i>E. coli</i>	--	--	x		x		x			x
<i>S. aureus</i>	--	--	x			x		x		x
<i>E. faecium</i>	--	--	x			x		x		x
<i>C. albicans</i>	--	--	x			x		x		x
<i>C. glabata</i>	--	--		x		x		x		x
<i>A. Fumigatus</i>	--	--		x		x		x		x
<i>C. neoformans</i>	--	--	x		x			x		x
<i>C. gatti</i>	--	--	x			x		x		x

Fonte: Autoria própria.

De acordo com resultados presentes na Tabela 14 e Figura 94 a PDMSUr-NCat, isto é, a membrana na qual não foi utilizado ácido fosfórico como catalisador no processo de cura, não apresentou qualquer atividade antimicrobiana. Em contrapartida, a PDMSUr (1% de H_3PO_4) mostrou-se biocida (Bcd) para todos os microrganismos testados com exceção dos fungos *C. glabata* e o *A. fumigatus* para os quais a mesma mostrou reposta bioestática (Btc). Por sua vez, Comp MIA também apresentou atividade antimicrobiana, mas diferente da PDMSUr com 1% de H_3PO_4 que foi majoritariamente biocida, as membranas de Comp MIA foram majoritariamente bioestáticas.

A Tabela 14 mostra que o parâmetro tempo de imersão no MIA tem correlação inversa a ação biocida da membrana. Dentro deste contexto, Comp MIA 02 – 1 x C de 5 min. apresentou-se biocida a bactéria *E. coli* e para a levedura *C. neoformans* e bioestática para os demais microrganismos testados. Já Comp MIA 02 – 1 x C 20 min apresentou efeito biocida apenas para *E. coli* enquanto o Comp MIA 02 – 1 x C 80 min foi apenas bioestático em todos os microrganismos estudados.

Os resultados sugerem que a PDMSUr com H_3PO_4 e os Comp MIA derivados desta são promissores candidatos a biomateriais com capacidade antimicrobiana de largo espectro. Uma vez que o mecanismo de ação dessas membranas foi amplo o suficiente para sustentar a inibição do crescimento ou a morte dos microrganismos testados. Além disso, isto ocorreu independentemente das características genéticas ou multirresistência a medicamentos destes.

Para obter mais informações a respeito do mecanismo de ação antimicrobiana da PDMSUr, um ensaio visando observar se a presença de algum precursor residual da membrana poderia estar gerando o efeito antimicrobiano foi realizado. Para tanto, determinou-se concentração inibitória mínima (CIM) e também da concentração biocida mínima (CBM) de

cada um dos precursores utilizados para produzir a membrana. Os resultados de CIM e CBM são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 - Concentrações inibitória mínima (CIM) e concentração biocida mínima (CBM) dos precursores da PDMSUr em μL .

Microrganismo	H ₃ PO ₄		IPDA		CCPDMS		APTES	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>E. coli</i>	250	500	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
<i>S. aureus</i>	500	1000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
<i>E. faecium</i>	200	600	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
<i>C. albicans</i>	400	750	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
<i>C. glabata</i>	400	600	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
<i>A. Fumigatus</i>	500	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
<i>C. neoformans</i>	300	600	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
<i>C. gatti</i>	400	600	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a Tabela 15 os valores de CIM e CBM para os materiais precursores da PDMSUr, apontam que apenas H₃PO₄ possui atividade antimicrobiana. Entretanto, as concentrações necessárias deste para que estas possam ser observadas é bastante superior a quantidade de ácido fosfórico que os materiais PDMSUr e Comp MIA poderiam liberar. De fato, o efeito antimicrobiano de H₃PO₄ é resultante de sua acidez, tendo essa condição em mente o pH do meio de cultura foi mensurado antes e depois da adição das membranas e não foi verificado qualquer acidificação significativa do meio. Além disso, uma análise por fluorescência de raios- X do meio de cultura após adição da membrana foi conduzida. O resultado dessa análise não apontou a presença de liberação de ácido fosfórico dentro do limite de detecção das condições empregadas (1 ppm).

Os resultados sugerem que atividade antimicrobiana da PDMSUr depende da combinação PDMSUr/H₃PO₄, não sendo fruto da simples liberação de H₃O⁺ no meio. Uma hipótese que ainda necessita ser validada experimentalmente e que ao menos em parte poderia explicar o efeito antimicrobiano das membranas foi formulada com base no trabalho Guo e colaboradores (GUO et al., 2020b). Eles reportaram a atividade antimicrobiana de largo espectro baseado em um mecanismo de ruptura da parede celular bacteriana em nanopartículas de um polímero (baseado nos monômeros tribenzilamina e hidroquinona). Este polímero possui sua cadeia principal hidrofóbica e ramificações terminadas em um sal primário de amônio (brometo de amônio) e a atividade antimicrobiana do material foi relacionada a grande afinidade dos grupos amônio a cadeia aniônica de fosfolipídios da superfície de membranas bacterianas.

De maneira análoga a presença de cadeias de PDMSUr terminadas com IPDA nos quais uma de suas aminas primárias estão protonadas (formando um sal de fosfato no caso da

PDMSUr e um sal de Cloreto e/ou fosfato no caso de Comp MIA) poderia produzir alguma atividade antimicrobiana. Contudo, para se definir com clareza o mecanismo associado a atividade antimicrobiana desses materiais mais estudos são necessários para apontar o grupamento químico responsável pela interação com os microrganismos e o possível mecanismo de ação.

5.7.2 Ensaio de citocompatibilidade

Para verificar se a formulação de PDMSUr desenvolvida no presente estudo era citocompatível, um ensaio de citotoxicidade foi realizado. Para tanto, foi empregado o teste baseado na classe de compostos denominadas sais de tetrazólio solúvel em água, também conhecidos como WST, do inglês *Water-Soluble Tetrazolium*. Este ensaio colorimétrico consiste na capacidade de enzimas hidrogenases localizadas nas mitocôndrias de células viáveis reduzir o sal WST, no caso específico o WST-1 (sal monossódico de 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-dissulfofenil)-2H-tetrazólio, que possui coloração ligeiramente avermelhada) a formazan (formazan derivado de WST-1, coloração vermelha escura), Figura 95 (CHIELLINI, 2006; ASLANTÜRK, 2018; LIU et al., 2018; STOCKERT et al., 2018).

Uma vez que o sal solúvel de formazan é formado, ele é liberado no meio de cultura levando uma mudança de coloração que é diretamente proporcional a atividade das desidrogenases mitocondriais. Deste modo, o ensaio mede atividade metabólica das células. Como esta atividade apenas ocorre em células vivas, a quantidade de formazan formado é diretamente proporcional a quantidade de células viáveis presentes no meio (CHIELLINI, 2006; ASLANTÜRK, 2018; LIU et al., 2018; STOCKERT et al., 2018).

Figura 95 – Representação esquemática do processo de transformação do WST-1 em formazan.

Fonte: Autoria própria.

O resultado do ensaio de citotoxicidade é apresentado na Figura 96, nela pode ser observar barras de colorações distintas presentes dentro de uma escala de porcentagem. A barra menor de coloração vermelha refere-se ao controle negativo, constituído pelo meio de cultura na presença de HEMA, um composto com conhecida toxicidade para as células. A barra em verde refere-se ao controle positivo que é constituído pelo o meio de cultura RPMI e as células incubadas. Por fim, a barra azul refere-se a porcentagem de células viáveis no meio de cultura que contém o extrato da PDMSUr. De acordo com a norma ISO 10993-5:2009, um material é considerado não citotóxico se a redução da viabilidade celular do meio de cultura contendo o extrato do biomaterial for inferior a 30% em relação ao controle negativo (barra verde). Logo,

podemos afirmar que o exame preliminar de citotoxicidade apontou que durante o período de tempo do ensaio a PDMSUr apresentou citocompatibilidade.

Figura 96 – Citocompatibilidade Relativa da PDMSUr depois de 24 horas.

Fonte: Autoria própria.

6 CONCLUSÃO

Os materiais desenvolvidos neste trabalho apresentam potencial para serem estudados como candidatos a biomateriais com aplicações em diversos tipos de dispositivos biomédicos.

Uma formulação de PDMSUr apropriada para obtenção de filmes autossustentados foi obtida. Esta, quando contendo 1% H_3PO_4 em relação à massa do híbrido apresentou atividade antimicrobiana de vasto espectro, sendo assim um material com potencial para ser estudado como candidato a curativos para feridas e revestimento de biomateriais. Contudo, ainda não se sabe qual composto é o agente antimicrobiano responsável pelo mecanismo de inativação dos microrganismos. Apesar disso, o ensaio preliminar de citotoxicidade aponta que este material é citocompatível.

O método de síntese de DCPA foi empregado neste trabalho tendo em vista verificar o efeito da matriz de PDMSUr no direcionamento da formação da fase de fosfato de cálcio obtida em Comp MIA. No entanto, o mesmo é simples e não foi encontrado descrito em outros trabalhos na literatura. De acordo com os resultados das análises, pode-se afirmar que apesar desse apresentar a desvantagem de levar a uma larga distribuição de tamanhos de partícula, ele pode ser uma alternativa interessante (rápida e barata) para o preparo de DCPA no laboratório para aplicações nas quais o controle do tamanho de partícula não se faz necessário.

De acordo com os ensaios de caracterização realizados o compósito empregando o MMF foi obtido nas concentrações 5, 10 e 20% de Hap em relação a matriz de PDMSUr, sendo deste modo uma rota viável para obtenção de compósitos PDMSUr/fosfato de cálcio quando a matriz polimérica ainda não está curada. Por sua vez, o MSR não se mostrou uma metodologia interessante nos moldes que foi usado no presente estudo. Pois, este método apresentou baixa formação de fosfato de cálcio em relação a quantidade de material precursor utilizado. Além disso, a PDMSUr presente nos compósitos obtido via MSR apresentou perda da capacidade de cura.

O método da imersão alternada desenvolvido nesta tese empregando meio não-aquoso para obtenção de fosfato de cálcio se mostrou uma metodologia interessante para gerar fosfato de cálcio numa matriz reticulada. Além disso, possui a vantagem de poder ser empregada tanto em filmes finos como autossustentados. A principal fase de fosfato de cálcio obtida neste protocolo foi DCPA. Ele é uma importante fase no contexto de biomateriais empregados em processos visando a regeneração óssea.

Ademais, foi verificado que o número de ciclos e a concentração das soluções precursoras interferem nas fases formadas no MIA. Os ensaios apontaram que soluções mais

concentradas de cálcio e maior número de imersão nestas do que nas de H_3PO_4 , favorecem a formação de uma única fase (DCPA). Em contrapartida, se um mesmo número de ciclos para ambas as soluções precursoras e/ou iguais concentrações de soluções são empregadas observa-se o aparecimento da fase MCPM além de DCPA.

Assim como as membranas de PDMSUr as membranas de Comp MIA também apresentaram atividade antimicrobiana. Embora, menos intensa do que atividade observada para a PDMSUr (para a maioria dos microrganismos foi biocida). De acordo com as análises de atividade antimicrobiana Comp MIA para a maioria dos microrganismos levou a um efeito bioestático.

Os filmes finos obtidos via spin coating apresentaram parâmetros de rugosidade de ordem nanométrica. Além disso a imagem gerada para a superfície do material via perfilometria ótica apontou que a morfologia da superfície era constituída por uma série de nanopilares.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados obtidos nas caracterizações e ensaios realizados com o PDMSUr e os compósitos desenvolvidos no presente estudo são promissores. Uma vez que apontam que os materiais obtidos via o processo sustentável nesta pesquisa empregado, possuem potencial para ajudar no grande desafio de evitar infecções microbianas que frequentemente levam a falha de implantes médicos e odontológicos. Além disso, o PDMSUr é um material candidato para emprego como membrana antimicrobiana em curativos, o que é de particular interesse para o tratamento de pessoas imunodeprimidas que possuem feridas crônicas. No entanto, para confirmar estas possíveis aplicações estudos adicionais são necessários. Deste modo, as próximas etapas que darão prosseguimento a esta pesquisa são listadas a seguir:

- Realizar ensaio de biocompatibilidade para os compósitos sintetizados tanto pelo método MIA como para MMF;
- Conduzir um ensaio para detectar uma possível liberação de substâncias antimicrobianas pelos materiais PDMSUr (1% H_3PO_4) e Comp MIA em meio aquoso. Caso esse aponte liberação de substâncias com atividade antimicrobiana, quantifica-las e determinar sua cinética de liberação;
- Realizar uma análise de RMN de ^{31}P para o composto CaClHPO_4 afim de averiguar se o pico na região de $-6,4$ ppm presente no espectro de Comp MIA pode ser atribuído a esta fase. Uma vez que não foi encontrado dados na literatura a respeito dos deslocamentos químicos da mesma;
- Uma vez realizado os estudos acima realizar testes de formação de filmes e adesão sobre biomateriais de interesse em odontologia;
- Realizar testes complementares de citotoxicidade e atividade antimicrobiana.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAWAL, A.; KAUR, R.; WALIA, R. S. PU foam derived from renewable sources: Perspective on properties enhancement: An overview. **European Polymer Journal**, v. 95, n. February 2017, p. 255–274, 2017.
- AGUIAR, K. M. F. R. de. **Síntese de hidroxietiluretano-poli (dimetilsiloxano) com diferentes terminações de cadeia via fixação de CO₂: síntese , caracterizações e potenciais aplicações** . 2015. Universidade de São Paulo, 2015. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75135/tde-26102015-114419/publico/KelenMenezesFloresRossiAguiarrevisada.pdf>>.
- AGUIAR, K. M. F. R. et al. Surface modification by physical treatments on biomedical grade metals to improve adhesion for bonding hybrid non-isocyanate urethanes. **RSC Adv.**, v. 6, n. 53, p. 47203–47211, 2016a. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C6RA05397A>>.
- AGUIAR, K. M. F. R. et al. Hybrid urethanesil coatings for inorganic surfaces produced by isocyanate-free and sol–gel routes: synthesis and characterization. **RSC Adv.**, v. 6, n. 23, p. 19160–19172, 2016b. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C5RA24331A>>.
- AGUIAR, K. M. F. R. et al. Urethanes PDMS-based: Functional hybrid coatings for metallic dental implants. **Applied Surface Science**, v. 484, n. October 2018, p. 1128–1140, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.04.058>>.
- AGUIAR, K. R. et al. Efficient green synthesis of bis(cyclic carbonate)poly(dimethylsiloxane) derivative using CO₂ addition: a novel precursor for synthesis of urethanes. **RSC Adv.**, v. 4, n. 46, p. 24334–24343, 2014. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C4RA03846K>>.
- AGUIAR, K. R. et al. Biomimetic PDMS-hydroxyurethane terminated with catecholic moieties for chemical grafting on transition metal oxide-based surfaces. **Applied Surface Science**, v. 427, p. 166–175, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.08.142>>.
- ALMEIDA, E. et al. Determination of Cr, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As and Pb in liquid chemical waste by energy dispersive X-ray fluorescence. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 287, n. 1, p. 351–355, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10967-010-0694-2>>.
- ALSHAAER, M. et al. Production of monetite-based Inorganic Phosphate Cement (M-IPC) using hydrothermal post curing (HTPC). **Cement and Concrete Research**, v. 41, n. 1, p. 30–37, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cemconres.2010.09.002>>.
- ALVES, Á. N. **CO₂ Como Matéria Prima: Materiais híbridos do tipo uretanosil obtidos a partir de monômeros de poli(dimetil siloxano) e bisfenol A**. 2018. 53 Universidade de São

Paulo, 2018.

AMER, W. et al. Smart designing of new hybrid materials based on brushite-alginate and monetite-alginate microspheres: Bio-inspired for sequential nucleation and growth. **Materials Science and Engineering C**, v. 35, n. 1, p. 341–346, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.11.012>>.

ARESTA, M. Carbon Dioxide Reduction and Uses as a Chemical Feedstock. In: **Activation of Small Molecules: Organometallic and Bioinorganic Perspectives**. Wiley Online Books.p. 1–41, 2006.

ARESTA, M. **Carbon Dioxide as Chemical Feedstock**. first editi ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2010.

ARTZ, J. et al. Sustainable Conversion of Carbon Dioxide: An Integrated Review of Catalysis and Life Cycle Assessment. **Chemical Reviews**, p. acs.chemrev.7b00435, 2017. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.7b00435>>.

ASLANTÜRK, Ö. S. In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. **Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World**, p. 1–18, 2018.

ASTM INTERNATIONAL. **Standard Practices for Evaluating the Resistance of Plastics to ChemicalASTM D543**, 2001a. .

ASTM INTERNATIONAL. **Standard Test Method for Determining the Resistance of Paint Films and Related Coatings to Fungal Defacement by Accelerated Four-WeekASTM D5590 - 17**, 2001b. .

ASTM INTERNATIONAL. **Standard Test Method for Determining the Antimicrobial Activity of Antimicrobial Agents Under Dynamic Contact ConditionsASTM E2149 – 13a**, 2013. .

ASTM INTERNATIONAL. **Standard Test Method for Rubber Property—Effect of LiquidsASTM D471-15**, 2015. .

BABA, A.; KASHIWAGI, H.; MATSUDA, H. Cycloaddition of oxetane and carbon dioxide catalyzed by tetraphenylstibonium iodide. **Tetrahedron Letters**, v. 26, n. 10, p. 1323–1324, 1985. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040403900948834>>.

BAGHERIFARD, S. et al. The influence of nanostructured features on bacterial adhesion and bone cell functions on severely shot peened 316L stainless steel. **Biomaterials**, v. 73, p. 185–197, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.09.019>>.

BAREIRO, O.; SANTOS, L. A. Tetraethylorthosilicate (TEOS) applied in the surface

modification of hydroxyapatite to develop polydimethylsiloxane/hydroxyapatite composites. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 115, p. 400–405, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.12.027>>.

BARTHEL, H.; NIKITINA, E. INS and IR study of intermolecular interactions at the fumed silica-polydimethylsiloxane interphase, Part 3. Silica-siloxane adsorption complexes. **Silicon Chemistry**, v. 1, n. 4, p. 261–279, 2004.

BELTON, P. S.; HARRIS, R. K.; WILKES, P. J. Solid-state phosphorus-31 NMR studies of synthetic inorganic calcium phosphates. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 49, n. 1, p. 21–27, 1988.

BENÍTEZ, G. et al. Self-sterilizing ormosils surfaces based on photo-synthesized silver nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 164, p. 144–154, 2018.

BESHAH, K. et al. Characterization of PDMS model junctions and networks by solution and solid-state silicon-29 NMR spectroscopy. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, v. 24, n. 6, p. 1207–1225, 1986.

BIKIARIS, D. Can nanoparticles really enhance thermal stability of polymers? Part II: An overview on thermal decomposition of polycondensation polymers. **Thermochimica Acta**, v. 523, n. 1–2, p. 25–45, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tca.2011.06.012>>.

BLEEK, K.; TAUBERT, A. New developments in polymer-controlled, bioinspired calcium phosphate mineralization from aqueous solution. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 5, p. 6283–6321, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2012.12.027>>.

BOROUJENI, N. M. et al. Development of monetite/phosphorylated chitosan composite bone cement. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 102, n. 2, p. 260–266, 2014.

BRAGA, R. R. Calcium phosphates as ion-releasing fillers in restorative resin-based materials. **Dental Materials**, v. 35, n. 1, p. 3–14, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.08.288>>.

BÜTTNER, H. et al. Recent Developments in the Synthesis of Cyclic Carbonates from Epoxides and CO₂. **Topics in Current Chemistry**, v. 375, n. 3, 2017.

CAI, D. et al. Raman, mid-infrared, near-infrared and ultraviolet-visible spectroscopy of PDMS silicone rubber for characterization of polymer optical waveguide materials. **Journal of Molecular Structure**, v. 976, n. 1–3, p. 274–281, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2010.03.054>>.

CAMA, G. et al. A novel method of forming micro- and macroporous monetite cements.

Journal of Materials Chemistry B, v. 1, n. 7, p. 958–969, 2013.

CAMA, G. et al. Structural changes and biological responsiveness of an injectable and mouldable monetite bone graft generated by a facile synthetic method. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 11, n. 101, p. 01–12, 6 dez. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25297314>>. Acesso em: 19 maio. 2018.

CAMINO, G.; LOMAKIN, S. M.; LAZZARI, M. Polydimethylsiloxane thermal degradation Part 1. Kinetic aspects. **Polymer**, v. 42, n. 6, p. 2395–2402, 2001. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386100006522>>.

CARRÉ, C. et al. From the Synthesis of Biobased Cyclic Carbonate to Polyhydroxyurethanes: A Promising Route towards Renewable Non-Isocyanate Polyurethanes. **ChemSusChem**, v. 12, n. 15, p. 3410–3430, 2019.

CARRILLO BEBER, V. et al. Molecular simulation on carbon dioxide fixation routes towards synthesis of precursors for innovative urethanes. **Applied Adhesion Science**, v. 3, n. 1, p. 1–11, 2015.

CASCIANI, F.; CONDRATE, R. A. The Raman spectrum of monetite, CaHPO_4 . **Journal of Solid State Chemistry**, v. 34, n. 3, p. 385–388, 1980.

CASTRO-GÓMEZ, F. et al. A DFT Study on the Mechanism of the Cycloaddition Reaction of CO_2 to Epoxides Catalyzed by $\text{Zn}(\text{Salphen})$ Complexes. **Chemistry – A European Journal**, v. 19, n. 20, p. 6289–6298, 10 maio 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/chem.201203985>>.

CATTI, M.; FERRARIS, G.; FILHOL, A. Hydrogen bonding in the crystalline state. CaHPO_4 (monetite), P1 or P1' ? A novel neutron diffraction study. **Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry**, v. 33, n. 4, p. 1223–1229, 1977.

CHAUDHURY, M. K. Surface free energies of alkylsiloxane monolayers supported on elastomeric polydimethylsiloxanes. **Journal of Adhesion Science and Technology**, v. 7, n. 6, p. 669–675, 1 jan. 1993. Disponível em: <<https://doi.org/10.1163/156856193X00907>>.

CHAZALVIEL, J.-N.; RODRIGUES-FILHO, U. P. On the νSiO infrared absorption of polysiloxane films. **Thin Solid Films**, v. 520, n. 11, p. 3918–3921, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040609012000843>>.

CHEN, C. et al. Antibacterial activity and ion release of bonding agent containing amorphous calcium phosphate nanoparticles. **Dental Materials**, v. 30, n. 8, p. 891–901, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2014.05.025>>.

CHIELLINI, F. Perspectives on: In vitro evaluation of biomedical polymers. **Journal of**

Bioactive and Compatible Polymers, v. 21, n. 3, p. 257–271, 2006.

CHRISSAFIS, K.; BIKIARIS, D. Can nanoparticles really enhance thermal stability of polymers? Part I: An overview on thermal decomposition of addition polymers. **Thermochimica Acta**, v. 523, n. 1–2, p. 1–24, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tca.2011.06.010>>.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard — Tenth Edition. CLSI document M07-A9.** Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015. .

CLSI. M38-A2 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard—Second Edition. **Clinical and Laboratory Standard Institute**, 2008.

COMERFORD, J. W. et al. Sustainable metal-based catalysts for the synthesis of cyclic carbonates containing five-membered rings. **Green Chem.**, v. 17, n. 4, p. 1966–1987, 2015. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C4GC01719F>>.

COOPER, S. L.; GUAN, J. **Advances in Polyurethane Biomaterials**. 2016.

CORNILLE, A. et al. How to explain low molar masses in PolyHydroxyUrethanes (PHUs). **European Polymer Journal**, v. 84, p. 404–420, 2016a.

CORNILLE, A. et al. Room temperature flexible isocyanate-free polyurethane foams. **European Polymer Journal**, v. 84, p. 873–888, 2016b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.05.032>>.

CORNILLE, A. et al. Promising mechanical and adhesive properties of isocyanate-free poly(hydroxyurethane). **European Polymer Journal**, v. 84, p. 404–420, 2016c. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0014305716308278/1-s2.0-S0014305716308278-main.pdf?_tid=c0905890-e3ee-11e7-8fcd-00000aab0f01&acdnat=1513600203_7d9d4c79a667f9f83208de688853fed9>. Acesso em: 18 dez. 2017.

CORNILLE, A. et al. A perspective approach to sustainable routes for non-isocyanate polyurethanes. **European Polymer Journal**, v. 87, p. 535–552, 2017a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.11.027>>.

CORNILLE, A. et al. A study of cyclic carbonate aminolysis at room temperature: effect of cyclic carbonate structures and solvents on polyhydroxyurethane synthesis. **Polym. Chem.**, v. 8, n. 3, p. 592–604, 2017b. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C6PY01854H>>.

CRUZ, R. P. et al. Photochromic dynamics of organic–inorganic hybrids supported on transparent and flexible recycled PET. **Optical Materials**, v. 66, p. 297–301, 2017.

DEMÉTRIO, K. B. et al. Polydimethylsiloxane/nano calcium phosphate composite tracheal stents: Mechanical and physiological properties. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 107, n. 3, p. 545–553, 2018.

DIBENEDETTO, A. Conditions for the Use of CO₂. **CHIMIA International Journal for Chemistry**, v. 69, n. 6, p. 353–361, 2015. Disponível em: <<http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=0009-4293&volume=69&issue=6&spage=353>>.

DIEZ-ESCUADERO, A. et al. In vitro degradation of calcium phosphates: Effect of multiscale porosity, textural properties and composition. **Acta Biomaterialia**, v. 60, p. 81–92, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2017.07.033>>.

DOROZHKIN, S. Calcium Orthophosphate-Containing Biocomposites and Hybrid Biomaterials for Biomedical Applications. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 6, n. 3, p. 708–832, 2015.

DOROZHKIN, S. V. Biphasic, Triphasic, and Multiphasic Calcium Orthophosphates. **Acta Biomaterialia**, v. 8, p. 963–977, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2011.09.003>>.

DOROZHKIN, S. V. Multiphasic calcium orthophosphate (CaPO₄) bioceramics and their biomedical applications. **Ceramics International**, v. 42, n. 6, p. 6529–6554, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.01.062>>.

DOROZHKIN, S. V. **Calcium orthophosphates (CaPO₄): Occurrence and properties Morphologie**, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.morpho.2017.03.007>>. Acesso em: 7 dez. 2017.

DOROZHKIN, S. V. Calcium-orthophosphate-based bioactive ceramics. In: **Fundamental Biomaterials: Ceramics**. Elsevier Ltd., 2018. p. 297–405.

DOROZHKIN, S. V. Acta Biomaterialia Nanosized and nanocrystalline calcium orthophosphates. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 3, p. 715–734, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2009.10.031>>.

Earth's CO₂ Home Page. Disponível em: <<https://www.co2.earth/>>. Acesso em: 24 ago. 2020.

EUROPEAN UNION. **EUROPEAN COMMISSION Directorate-General for Internal Market, Industry, Entrepreneurship and SMEs Directorate I — Space Policy, Copernicus**

and Defence Unit I.2 — Copernicus Luxembourg: Publications of the European Union, 2017. Disponível em: <http://edgar.jrc.ec.europa.eu/news_docs/Report_Copernicus_CO2_Monitoring_TaskForce_2017.pdf>. Acesso em: 22 jan. 2018.

FAKIROV, S. Nano-size polymers: Preparation, properties, applications. **Nano-Size Polymers: Preparation, Properties, Applications**, p. 1–399, 2016.

FEDDES, B. et al. Initial deposition of calcium phosphate ceramic on polyethylene and polydimethylsiloxane by rf magnetron sputtering deposition: The interface chemistry. **Biomaterials**, v. 25, n. 4, p. 633–639, 2004.

FERMINO, T. Z. **Filmes e Compostos de Hidroxiuretana-Poli(dimetilsiloxano) com terminação Dopamina para aplicações médico, odontológicas e ambientais**. 2018. 10 Universidade de São Paulo, 2018.

FERNANDES, Y.; BRY, A.; DE PERSIS, S. Thermal degradation analyses of carbonate solvents used in Li-ion batteries. **Journal of Power Sources**, v. 414, n. December 2018, p. 250–261, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2018.12.077>>.

FERREIRA, O. J. B.; DEMÉTRIO, K. B.; SANTOS, L. A. L. dos. Nanostructured hydroxyapatite/polydimethylsiloxane composites obtained by reactive synthesis. **Composites Part B: Engineering**, v. 121, p. 152–161, 2017. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S1359836816322922/1-s2.0-S1359836816322922-main.pdf?_tid=16cc9802-16c3-11e8-898e-00000aabb0f01&acdnat=1519188959_870c1b06a998e19f4092ea22941c37ab>. Acesso em: 21 fev. 2018.

FIGOVSKY, O. et al. Advances In The Field of Nonisocyanate Polyurethanes 2. Brief Description of Recent Works in the Field of NIPU. **Chemistry & Chemical Technology**, v. 7, n. 1, p. 79–87, 2013.

FILIPPOV, L. O.; KABA, O. B.; FILIPPOVA, I. V. Surface analyses of calcite particles reactivity in the presence of phosphoric acid. **Advanced Powder Technology**, v. 30, n. 10, p. 2117–2125, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.appt.2019.06.026>>.

FISCHER, S. C. L. et al. Bioinspired polydimethylsiloxane-based composites with high shear resistance against wet tissue. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 61, p. 87–95, 2016.

FLEET, M. **Carbonated hydroxyapatite: Materials, synthesis, and applications**. New York: Jenny Stanford Publishing, 2014.

FOLTRAN, S.; MEREAU, R.; TASSAING, T. Theoretical study on the chemical fixation of

carbon dioxide with propylene oxide catalyzed by ammonium and guanidinium salts. **Catal. Sci. Technol.**, v. 4, n. 6, p. 1585–1597, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C3CY00955F>>.

FREITAS, J. C. C. et al. Solid-State ^{13}C NMR Spectroscopy Applied to the Study of Carbon Blacks and Carbon Deposits Obtained by Plasma Pyrolysis of Natural Gas. **Journal of Spectroscopy**, v. 2016, p. 1–7, 2016.

FROST, R. L. et al. Vibrational spectroscopy of natural cave mineral monetite CaHPO_4 and the synthetic analog. **Spectroscopy Letters**, v. 46, n. 1, p. 54–59, 2013.

GADELMAWLA, E. S. et al. Roughness parameters. **Journal of Materials Processing Technology**, v. 123, n. 1, p. 133–145, 2002.

GIL, A. M.; NETO, C. P. Solid-State Nmr Studies Of Wood And Other Lignocellulosic Materials. In: WEBB, G. A. B. T.-A. R. ON N. M. R. S. (Ed.). **Annual Reports on NMR Spectroscopy**. Academic Press, 1999. 37p. 75–117.

GRIGNARD, B. et al. Advances in the use of CO_2 as a renewable feedstock for the synthesis of polymers. **Chemical Society Reviews**, v. 48, n. 16, p. 4466–4514, 2019.

GRUNWALD, I. et al. Mimicking biopolymers on a molecular scale : nano (bio) technology based on engineered proteins. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences of the Royal Society A**, v. 367, p. 1727–1747, 2009.

GUERRA-CONTRERAS, A. et al. Characterization and Study of Properties in a Polar Solvent of a Functionalized and Quaternized Poly(dimethylsiloxane-co-methyl-hydridosiloxane). **Silicon**, v. 9, n. 4, p. 525–533, 2017.

GUILLAME, S. M.; KHALIL, H.; MISRA, M. Tuning the properties of segmented polyhydroxyurethanes via chain extender structure. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 45, 2017a.

GUILLAME, S. M.; KHALIL, H.; MISRA, M. Green and sustainable polyurethanes for advanced applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 45, 2017b.

GUO, H. et al. Quantitative phase analyses of biomedical pyrophosphate-bearing monetite and brushite cements by solid-state NMR and powder XRD. **Ceramics International**, n. November 2019, p. 1–13, 2020a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.01.116>>.

GUO, L. et al. Organic Polymer Nanoparticles with Primary Ammonium Salt as Potent Antibacterial Nanomaterials. **ACS Applied Materials and Interfaces**, 2020b.

GUPTA, G. K. et al. Sustainable Biomaterials: Current Trends, Challenges and Applications.

Molecules, v. 21, n. 1, p. E48, 2015. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/21/1/48>>.

HABRAKEN, W. et al. Calcium phosphates in biomedical applications: materials for the future? **Materials Today**, v. 19, n. 2, p. 69–87, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mattod.2015.10.008>>.

HANSSON, K. N.; HANSSON, S. Skewness and Kurtosis: Important Parameters in the Characterization of Dental Implant Surface Roughness—A Computer Simulation. **ISRN Materials Science**, v. 2011, p. 1–6, 2011.

HAUL, R. S. J. Gregg, K. S. W. Sing: Adsorption, Surface Area and Porosity. 2. Auflage, Academic Press, London 1982. 303 Seiten, Preis: \$ 49.50. **Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie**, v. 86, n. 10, p. 957–957, 1 out. 1982. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/bbpc.19820861019>>. Acesso em: 5 mar. 2019.

HE, C. L.; ZONG, W. J.; ZHANG, J. J. Influencing factors and theoretical modeling methods of surface roughness in turning process: State-of-the-art. **International Journal of Machine Tools and Manufacture**, v. 129, p. 15–26, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijmachtools.2018.02.001>>. Acesso em: 2 mar. 2020.

HE, K. et al. Method for Determining Crystal Grain Size by X-Ray Diffraction. **Crystal Research and Technology**, v. 53, n. 2, p. 1700157, 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/crat.201700157>>.

HIGUITA, L. P. et al. Synthesis and characterization of nanocomposite based on hydroxyapatite and monetite. **Materials Letters**, v. 175, n. 76, p. 169–172, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2016.04.011>>.

HOLANDA, C. A. **Potencial antibiofilme de hidroxiuretanos incorporados com nanopartículas de prata/óxido de zinco para tratamento ortodôntico**. 2018. Universidade de São Paulo, 2018.

HONDA, M. et al. Direct Cyclic Carbonate Synthesis from CO₂ and Diol over Carboxylation/Hydration Cascade Catalyst of CeO₂ with 2-Cyanopyridine. **ACS Catalysis**, v. 4, n. 6, p. 1893–1896, 6 jun. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/cs500301d>>.

HOSSEINIAN, A. et al. Advancements in six-membered cyclic carbonate (1,3-dioxan-2-one) synthesis utilizing carbon dioxide as a C1 source. **RSC Advances**, v. 8, n. 32, p. 17976–17988, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C8RA01280F>>.

HUAN, Z.; CHANG, J. Novel bioactive composite bone cements based on the β -tricalcium phosphate-monocalcium phosphate monohydrate composite cement system. **Acta**

Biomaterialia, v. 5, n. 4, p. 1253–1264, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2008.10.006>>.

HUANG, C. **Reactions And Phase Transformations In Monocalcium Phosphate Monohydrate (MCPM) Systems**. 2015. University of Auckland, 2015.

HUANG, C.; CAO, P. Tuning Ca:P ratio by NaOH from monocalcium phosphate monohydrate (MCPM). **Materials Chemistry and Physics**, v. 181, p. 159–166, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.matchemphys.2016.06.045>>.

HUDECKI, A. et al. Chapter 7 - Biomaterials, Definition, Overview. In: ŁOS, M. J.; HUDECKI, A.; WIECHEĆ, E. (Ed.). **Stem Cells and Biomaterials for Regenerative Medicine**. Academic Press, 2019. p. 85–98.

HUGHES, M. a. et al. Does diisocyanate exposure result in neurotoxicity? **Clinical Toxicology**, v. 52, n. 4, p. 242–257, 2014.

IDOWU, B. et al. In vitro osteoinductive potential of porous monetite for bone tissue engineering. **Journal of Tissue Engineering**, v. 5, 2014.

ISHIKAWA, K. Original paper Effect the of Calcium Ions on Hydroxyapatite Dicalcium Formation Phosphate from Hydrolysis of Anhydrous Edward D . EANES1 and Kenzo ASAKA Department of Dental Engineering , School of Dentistry , Tokushima University , at the National. **Dental Materials Journal**, v. 13, n. 2, p. 182–189, 1994.

ISHIKAWA, K.; EANES, E. D. The Hydrolysis of Anhydrous Dicalcium Phosphate into Hydroxyapatite. **Journal of Dental Research**, v. 72, n. 2, p. 474–480, 8 fev. 1993. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/00220345930720020101>>. Acesso em: 11 dez. 2017.

JANIK, H.; MARZEC, M. A review: Fabrication of porous polyurethane scaffolds. **Materials Science and Engineering C**, v. 48, p. 586–591, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2014.12.037>>.

JOHNSON, R. L. et al. Spectrally edited 2D ¹³C-¹³C NMR spectra without diagonal ridge for characterizing ¹³C-enriched low-temperature carbon materials. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 234, p. 112–124, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jmr.2013.06.006>>.

JOKIĆ, B. et al. Synthesis and characterization of monetite and hydroxyapatite whiskers obtained by a hydrothermal method. **Ceramics International**, v. 37, n. 1, p. 167–173, 2011.

JOVANOVIĆ, J. et al. The influence of hydroxyapatite modification on the cross-linking of polydimethylsiloxane/HAp composites. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 39, n. 4,

p. 181–186, 2004.

KAMPHUIS, A. J.; PICCHIONI, F.; PESCARMONA, P. P. CO₂-fixation into cyclic and polymeric carbonates: principles and applications. **Green Chemistry**, v. 21, n. 3, p. 406–448, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C8GC03086C>>.

KARAMPAS, I. A.; KONTOYANNIS, C. G. Characterization of calcium phosphates mixtures. **Vibrational Spectroscopy**, v. 64, p. 126–133, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vibspec.2012.11.003>>.

KÁRPÁTI, L. et al. Synthesis and characterization of isophorondiamine based epoxy hardeners from aminolysis of PET. **Express Polymer Letters**, v. 13, n. 7, p. 618–631, 2019.

KATHALEWAR, M. S. et al. Non-isocyanate polyurethanes: from chemistry to applications. **RSC Advances**, v. 3, n. 13, p. 4110, 2013. Disponível em: <<http://pubs-rsc-org.ez67.periodicos.capes.gov.br/en/content/articlepdf/2013/ra/c2ra21938g>>. Acesso em: 18 jan. 2018.

KE, J. et al. The hybrid polyhydroxyurethane materials synthesized by a prepolymerization method from CO₂-sourced monomer and epoxy. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 16, p. 474–485, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcou.2016.11.001>>.

KICKELBICK, G. Introduction to Hybrid Materials. In: KICKELBICK, G. (Ed.). **Hybrid Materials. Synthesis, Characterization, and Applications**. 1st. ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007. 1p. 1–48.

KIHARA, N.; HARA, N.; ENDO, T. Catalytic activity of various salts in the reaction of 2,3-epoxypropyl phenyl ether and carbon dioxide under atmospheric pressure. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 58, n. 23, p. 6198–6202, 1 nov. 1993. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jo00075a011>>.

KIM, H. A.; KIM, B. K. Synthesis and properties of waterborne polyurethane/hydroxyapatite chemical hybrids. **Progress in Organic Coatings**, v. 128, n. November 2018, p. 69–74, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2018.12.009>>.

KIM, I. et al. Catalytic reactions in direct ethanol fuel cells. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, n. 10, p. 2270–2274, 2011.

KIM, M. et al. Biomimetic cellulose/calcium-deficient-hydroxyapatite composite scaffolds fabricated using an electric field for bone tissue engineering. **RSC Advances**, v. 8, n. 37, p. 20637–20647, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C8RA03657H>>.

KIM, S.; LIU, S. Smart and Biostable Polyurethanes for Long-Term Implants. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 4, n. 5, p. 1479–1490, 14 maio 2018. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.8b00301>>.

KONDRATENKO, E. V. et al. Status and perspectives of CO₂ conversion into fuels and chemicals by catalytic, photocatalytic and electrocatalytic processes. *Energy and Environmental Science*, v. 6, n. 11, p. 3112–3135, 2013. and perspectives of CO₂ conv. **Energy and Environmental Science**, v. 6, n. 11, p. 3112–3135, 2013.

KRUPPKE, B. et al. Gelatine modified monetite as a bone substitute material: An in vitro assessment of bone biocompatibility. **Acta Biomaterialia**, v. 32, p. 275–285, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2015.12.035>>.

KUČERA, M. et al. Thermal stability of polydimethylsiloxane. I. Deactivation of basic active centers. **Journal of Polymer Science**, v. 54, n. 160, p. 375–384, 1 out. 1961. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/pol.1961.1205416009>>.

LAN, D. H. et al. Recent advances in metal-free catalysts for the synthesis of cyclic carbonates from CO₂ and epoxides. **Cuihua Xuebao/Chinese Journal of Catalysis**, v. 37, n. 6, p. 826–845, 2016. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1872-2067\(15\)61085-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1872-2067(15)61085-3)>.

LANG, X. D.; HE, L. N. Green Catalytic Process for Cyclic Carbonate Synthesis from Carbon Dioxide under Mild Conditions. **Chemical Record**, p. 1337–1352, 2016.

LAWTON, R. A. et al. Air plasma treatment of submicron thick PDMS polymer films: effect of oxidation time and storage conditions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 253, n. 1, p. 213–215, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092777570400888X>>.

LEE, J. N.; PARK, C.; WHITESIDES, G. M. Solvent Compatibility of Poly(dimethylsiloxane)-Based Microfluidic Devices. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 23, p. 6544–6554, 2003.

LEITE, D. F. **Estudo teórico/experimental comparativo do catalisador brometo de 1-propil-4- azo-1-azôniobiciclo[2,2,2]octano (P-DABCO) para a ciclo-adição catalítica de CO₂ aos epóxidos para a formação de ciclocarbonatos orgânicos**. 2015. Universidade de São Paulo, 2015.

LI, W.; PAULUHN, J. Mechanisms Involved in the Inhalation Toxicity of Phosgene. In: SALEM, H.; KATZ, S. A. (Ed.). **Inhalation Toxicology**. third edit ed. Boca Raton: CRC Press, 2014. p. 459–487.

LIAO, C. J. et al. Thermal decomposition and reconstitution of hydroxyapatite in air atmosphere. **Biomaterials**, v. 20, n. 19, p. 1807–1813, 1999.

LIDE, D. R. **CRC Handbook of Chemistry and Physics: A Ready-Reference of Chemical and Physical Data**. 85th ed ed. Boca Raton: CRC Press LLC, 2005.

- LIU, L. et al. Understanding the Role of Polymer Surface Nanoscale Topography on Inhibiting Bacteria Adhesion and Growth. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 2, n. 1, p. 122–130, 2016.
- LIU, Q. et al. Using carbon dioxide as a building block in organic synthesis. **Nature Communications**, v. 6, p. 1–15, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/ncomms6933>>.
- LIU, X. et al. A comparison of in vitro cytotoxicity assays in medical device regulatory studies. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 97, n. April, p. 24–32, 2018.
- LOPES, J. H. **Obtenção de ciclocarbonato oligomérico via reação com CO₂ e seu uso na preparação de poliuretana: uma alternativa ao uso de isocianatos**. 2004. Universidade de São Paulo, 2004.
- LOW, I. M. 1 - Advances in ceramic matrix composites: an introduction. In: LOW, I. M. B. T.-A. IN C. M. C. (Ed.). **Advances in ceramic matrix composites**. Woodhead Publishing, 2014. p. 1–6.
- LÜDECKE, C. et al. Nanorough titanium surfaces reduce adhesion of Escherichia coli and Staphylococcus aureus via nano adhesion points. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 145, p. 617–625, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.05.049>>.
- MA, J. et al. The catalytic mechanism of KI and the co-catalytic mechanism of hydroxyl substances for cycloaddition of CO₂ with propylene oxide. **Green Chem.**, v. 14, n. 9, p. 2410–2420, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C2GC35711A>>.
- MADHAVAN, K.; REDDY, B. S. R. Synthesis and Characterization of Poly (dimethylsiloxane-urethane) Elastomers: Effect of Hard Segments of Polyurethane on Morphological and Mechanical Properties. **Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry**, v. 44, n. 9, p. 2980–2989, 2006.
- MAISONNEUVE, L. et al. Isocyanate-Free Routes to Polyurethanes and Poly(hydroxy Urethane)s. **Chemical Reviews**, v. 115, n. 22, p. 12407–12439, 2015.
- MARZEC, M. et al. Development of polyurethanes for bone repair. **Materials Science and Engineering C**, v. 80, n. June 2016, p. 736–747, 2017.
- MCDOWELL, R. W. et al. Analysis of Potentially Mobile Phosphorus in Arable Soils Using Solid State Nuclear Magnetic Resonance. **Journal of Environment Quality**, v. 31, n. 2, p. 450, 2002.
- MCGHEE, W. et al. Carbon Dioxide as a Phosgene Replacement: Synthesis and Mechanistic Studies of Urethanes from Amines, CO₂, and Alkyl Chlorides. **Journal of Organic**

Chemistry, v. 60, n. 9, p. 2820–2830, 1995.

MEDVECKY, L. et al. Enamel Remineralization Potential of Novel Dentifrice with Tetracalcium Phosphate/Monetite Powder Component. **Powder Metallurgy Progress**, v. 18, n. 1, p. 58–69, 2018.

MESGAR, A. S.; MOHAMMADI, Z.; RASOULI-DISFANI, F. Bioactive monetite-containing whisker-like fibers reinforced chitosan scaffolds. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 100, n. 10, p. 4719–4733, 2017.

MIQUEL, J. L. et al. Solid state NMR to study calcium phosphate ceramics. **Colloids and Surfaces**, v. 45, n. C, p. 427–433, 1990.

MIRANDA, M. A. R.; SASAKI, J. M. The limit of application of the Scherrer equation. **Acta Crystallographica Section A: Foundations and Advances**, v. 74, n. 1, p. 54–65, 2018.

MIRTCHI, A. A.; LEMAITRE, J.; TERAPO, N. Calcium phosphate cements: study of the β -tricalcium phosphate - monocalcium phosphate system. **Biomaterials**, v. 10, n. 7, p. 475–480, 1989.

MISHIMA, F. D. et al. Hydroxyapatite Scaffolds Produced by Hydrothermal Deposition of Monetite on Polyurethane Sponges Substrates. **Key Engineering Materials**, v. 493–494, p. 820–825, 2011. Disponível em: <<http://www.scientific.net/KEM.493-494.820>>.

MISHRA, H. et al. Time-Dependent Wetting Behavior of PDMS Surfaces with Bioinspired, Hierarchical Structures. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 8, n. 12, p. 8168–8174, 2016.

MISHRA, P. K. et al. Isocyanates induces DNA damage, apoptosis, oxidative stress, and inflammation in cultured human lymphocytes. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 22, n. 6, p. 429–440, 1 nov. 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jbt.20260>>.

MOULAY, S. Dopa/Catechol-Tethered Polymers: Bioadhesives and Biomimetic Adhesive Materials. **Polymer Reviews**, v. 54, n. 3, p. 436–513, 2014.

MUJAHD, M.; SARFRAZ, S.; AMIN, S. On the Formation of Hydroxyapatite Nano Crystals Prepared Using Cationic Surfactant. **Materials Research**, v. 18, n. 3, p. 468–472, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-14392015000300468&lng=en&tlng=en>.

MULONGO-MASAMBA, R. et al. Synthesis and characterization of new β -chitin/calcium phosphate (DCPA) based composite using natural resources for environmental application. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 520, p. 686–693,

2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.02.035>>.

NAKASHIMA, K.; TAKESHITA, T.; MORIMOTO, K. Review of the occupational exposure to isocyanates: Mechanisms of action. **Environmental Health and Preventive Medicine**, v. 7, n. 1, p. 1, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF02898058>>.

NAVARRO DA ROCHA, D. et al. Bioactivity of strontium-monetite coatings for biomedical applications. **Ceramics International**, v. 45, n. 6, p. 7568–7579, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.01.051>>.

NEILL, R. O. ' et al. Critical review: Injectability of calcium phosphate pastes and cements. 2017. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S1742706116306067/1-s2.0-S1742706116306067-main.pdf?_tid=ec294be4-e1b2-11e7-96d6-00000aabb0f26&acdnat=1513354604_f0e71635b28e073811de3753de80718e>. Acesso em: 15 dez. 2017.

NEW JERSEY DEPARTMENT OF HEALTH AND SENIOR SERVICES. **Hazardous substance factsheet: Phosgene**, 2004. . (Nota t?cnica).

NGUYEN, A. T.; SATHE, S. R.; YIM, E. K. F. From nano to micro: Topographical scale and its impact on cell adhesion, morphology and contact guidance. **Journal of Physics Condensed Matter**, v. 28, n. 18, 2016.

NORRMAN, K.; GHANBARI-SIAHKALI, A.; LARSEN, N. B. 6 Studies of spin-coated polymer films. **Annual Reports Section "C" (Physical Chemistry)**, v. 101, n. 0, p. 174–201, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/B408857N>>.

NORTH, M.; PASQUALE, R. Mechanism of Cyclic Carbonate Synthesis from Epoxides and CO₂. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 48, n. 16, p. 2946–2948, 2009. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/anie.200805451>>.

NORTH, M.; STYRING, P. Perspectives and visions on CO₂ capture and utilisation. **Faraday Discuss.**, v. 183, p. 489–502, 2015. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C5FD90077H>>.

NOUREDDINE RAMDANI. **Polymer and Ceramic Composite Materials: Emergent Properties and Applications**. Boca Raton: CRC Press, 2019.

NWAOGU, U. C.; TIEDJE, N. S.; HANSEN, H. N. A non-contact 3D method to characterize the surface roughness of castings. . 2013, p. 59–68.

OLIVARES-NAVARRETE, R. et al. Osteoblast Lineage Cells Can Discriminate Microscale Topographic Features on Titanium–Aluminum–Vanadium Surfaces. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 42, n. 12, p. 2551–2561, 2014.

- ÖRN, A. **Degradation studies on polydimethylsiloxane**. 2019. Åbo Akademi University, 2019.
- ORYAN, A.; ALIDADI, S.; BIGHAM-SADEGH, A. Dicalcium Phosphate Anhydrous: An Appropriate Bioceramic in Regeneration of Critical-Sized Radial Bone Defects in Rats. **Calcified Tissue International**, v. 101, n. 5, p. 530–544, 2017.
- PARIDA, P.; BEHERA, A.; CHANDRA, S. M. Classification of Biomaterials used in Medicine. **International Journal of Advances in Applied Sciences**, v. 1, n. 3, p. 125–129, 2012.
- PARK, E. et al. Characterization of hydroxyapatite: Before and after plasma spraying. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 13, n. 2, p. 211–218, 2002.
- PARK, J. H.; PARK, K. D.; BAE, Y. H. PDMS-based polyurethanes with MPEG grafts: Synthesis, characterization and platelet adhesion study. **Biomaterials**, v. 20, n. 10, p. 943–953, 1999.
- PEREIRA, F. S. et al. Study of the carbon dioxide chemical fixation-activation by guanidines. **Tetrahedron**, v. 64, p. 10097–10106, 2008.
- PERGAL, M. V. et al. Surface and thermomechanical characterization of polyurethane networks based on poly(dimethylsiloxane) and hyperbranched polyester. **Express Polymer Letters**, v. 7, n. 10, p. 806–820, 2013.
- PEZZOTTI, G. et al. Vibrational algorithms for quantitative crystallographic analyses of hydroxyapatite-based biomaterials: I, theoretical foundations. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 12, 2015.
- PHAM MINH, D. et al. Calcium phosphate based materials starting from calcium carbonate and orthophosphoric acid for the removal of lead(II) from an aqueous solution. **Chemical Engineering Journal**, v. 243, p. 280–288, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2014.01.032>>.
- PIELICHOWSKI, K.; LESZCZYNSKA, A.; NJUGUNA, J. Mechanisms of Thermal Stability Enhancement in Polymer Nanocomposites. In: MITTAL, V. (Ed.). **Optimization of Polymer Nanocomposite Properties**. Weinheim, Germany: WILEY-VCH Verlag, 2010. p. 195–210.
- PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. Biomateriais: Tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957–971, 2015.
- POGODIN, S. et al. Biophysical Model of Bacterial Cell Interactions with Nanopatterned Cicada Wing Surfaces. **Biophysical Journal**, v. 104, n. 4, p. 835–840, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006349513000039>>.

POURPOINT, F. et al. Calcium phosphates: First-principles calculations vs. solid-state NMR experiments. **Comptes Rendus Chimie**, v. 11, n. 4–5, p. 398–406, 2008.

PREEDY, E. et al. Surface roughness mediated adhesion forces between borosilicate glass and gram-positive bacteria. **Langmuir**, v. 30, n. 31, p. 9466–9476, 2014.

PROKOPOWICZ, M.; SZEWCZYK, A.; SAWICKI, W. Bioactive monolithic composites of silica/polydimethylsiloxane/calcium phosphate obtained at room temperature in sol–gel micromolding technique. **Materials Letters**, v. 184, p. 239–242, 2016.

PROTSAK, I. S. et al. A ^{29}Si , ^1H , and ^{13}C Solid-State NMR Study on the Surface Species of Various Depolymerized Organosiloxanes at Silica Surface. **Nanoscale Research Letters**, v. 14, 2019.

RAMESH, S. et al. The influence of Ca/P ratio on the properties of hydroxyapatite bioceramics. In: Proc.SPIE, January, **Anais...1** nov. 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1117/12.779890>>.

RAYNAUD, S. et al. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterisation and thermal stability of powders. **Biomaterials**, v. 23, n. 4, p. 1065–1072, 2002.

REHMAN, I.; BONFIELD, W. Characterization of hydroxyapatite and carbonated apatite by photo acoustic FTIR spectroscopy. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 8, n. 1, p. 1–4, 1997. Disponível em: <<https://doi.org/10.1023/A:1018570213546>>.

REITHOFER, M. R.; SUM, Y. N.; ZHANG, Y. Synthesis of cyclic carbonates with carbon dioxide and cesium carbonate. **Green Chemistry**, v. 15, n. 8, p. 2086–2090, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C3GC40790J>>.

REN, Y. et al. A Computational Study on the Chemical Fixation of Carbon Dioxide with Epoxide Catalyzed by LiBr Salt. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 115, n. 11, p. 2258–2267, 24 mar. 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jp104184v>>.

REX, J. H. et al. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard - third edition** Clinical and Laboratory Standards Institute Clinical And Laboratory Standards Institute, , 2008. .

REY, C. et al. Characterization of Calcium Phosphates Using Vibrational Spectroscopies. In: BESIM BEN-NISSAN (Ed.). **Advances in Calcium Phosphate Biomaterials**. 2. ed. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2014. 2p. 229–266.

RICHTER, J. B. et al. Quantitative: In situ ^{13}C NMR studies of the electro-catalytic oxidation of ethanol. **Chemical Communications**, v. 55, n. 43, p. 6042–6045, 2019.

RIEDEWALD, F. Bacterial adhesion to surfaces: The influence of surfaces roughness. **PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 60, n. 3, p. 164–171, 2006.

RIZZELLO, L. et al. Impact of nanoscale topography on genomics and proteomics of adherent bacteria. **ACS Nano**, v. 5, n. 3, p. 1865–1876, 2011.

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, J. Antimicrobial micro/ nanostructured functional polymer surfaces. In: **Nanobiomaterials in Antimicrobial Therapy: Applications of Nanobiomaterials**. Elsevier Inc., 2016. p. 153–192.

ROGOZINSKI, M.; KRAMER, M. Determination of the Gel Content of Vinyl Chloride Polymers and Copolymers. **journal of polymer Science**, v. 10, p. 3111–3112, 1972.

ROKICKI, G.; PARZUCHOWSKI, P. G.; MAZUREK, M. Non-isocyanate polyurethanes: Synthesis, properties, and applications. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 26, n. 7, p. 707–761, 2015.

RUAN, Q. et al. Assembly of Layered Monetite-Chitosan Nanocomposite and Its Transition to Organized Hydroxyapatite. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 2, n. 6, p. 1049–1058, 13 jun. 2016. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsbiomaterials.6b00164>>. Acesso em: 19 maio. 2018.

RUČIGAJ, A.; KRAJNC, M.; SEBENIK, U. Kinetic Study of Thermal Degradation of Polydimethylsiloxane: The Effect of Molecular Weight on Thermal Stability in Inert Atmosphere. **Polymer science**, v. 03, n. 02, p. 6–11, 2017.

SÁNCHEZ-ENRÍQUEZ, J.; REYES-GASGA, J. Obtaining $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, monocalcium phosphate monohydrate, via monetite from brushite by using sonication. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 3, p. 948–954, 2013.

SANGEETHA, S.; JAIN, A. R. Current bone substitutes for implant dentistry. **Drug Invention Today**, v. 10, n. 8, p. 1583–1589, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpdr.2017.08.010>>.

SANTOS, C. D. S. **Mineralização biomimética de hidrogéis quitosana-gelatina**. 2014. Universidade de São Paulo, 2014. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75135/tde-30012015-102330/pt-br.php>>.

ŠAPIČ, I. M. et al. Vibrational analysis of 3-glycidoxypolytrimethoxysilane polymer. **Macromolecular Symposia**, v. 339, n. 1, p. 122–129, 2014.

SCHÄFER, T.; BUNTKOWSKY, G.; GUTMANN, T. Solid-State Nuclear Magnetic Resonance as a Versatile Tool to Identify the Main Chemical Components of Epoxy-Based Thermosets. **ACS Omega**, v. 5, n. 10, p. 5412–5420, 2020.

SCHAMEL, M. et al. In vitro ion adsorption and cytocompatibility of dicalcium phosphate ceramics. **Biomaterials Research**, v. 21, n. 1, p. 1–8, 2017.

SCHAUMBURG, K.; SHABANOVA, E.; EICHNER, P. Solid state NMR investigations of dicalcium phosphates. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 33, n. 11, p. 893–899, 1995.

SCHOTSMANS, E. M. J. et al. Raman spectroscopy as a non-destructive screening technique for studying white substances from archaeological and forensic burial contexts. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 45, n. 11–12, p. 1301–1308, 1 nov. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jrs.4526>>.

SCHRÖDTER, K. et al. Phosphoric Acid and Phosphates. In: **Ullman's encyclopedia of industrial chemistry**. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2008. p. 679–723.

SENTHILKUMAR, C. S.; SAH, N. K.; GANESH, N. Methyl Isocyanate and Carcinogenesis: Bridgeable Gaps in Scientific Knowledge. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 13, n. 6, p. 2429–2435, 2012. Disponível em: <http://journal.waocp.org/article_26519.html>.

SHARMA, S. et al. Subnanometric Roughness Affects the Deposition and Mobile Adhesion of Escherichia coli on Silanized Glass Surfaces. **Langmuir**, v. 32, n. 21, p. 5422–5433, 2016.

SILVA, M. H. P. et al. Transformation of monetite to hydroxyapatite in bioactive coatings on titanium. **Surface and Coatings Technology**, v. 137, n. 2–3, p. 270–276, 2001.

SIMÕES, M. B. et al. Eco-friendly polydimethylsiloxane-based self-supporting film containing europium-polyoxometalate: A flexible luminescent material for white light generation. **Journal of Luminescence**, v. 201, p. 384–389, 2018. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022231317320501>>.

SOCRATES, G. **Infrared and Raman characteristic group frequencies. Tables and charts**. 3rd ed. ed. New York - USA: John Wiley & Sons, Ltd, 2004.

STOCKERT, J. C. et al. Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. **Acta Histochemica**, v. 120, n. 3, p. 159–167, 2018.

SUBRAMANIAM, A.; SETHURAMAN, S. Biomedical Applications of Nondegradable Polymers. In: **Natural and Synthetic Biomedical Polymers**. Elsevier Inc., 2014. p. 301–308.

SUCHANEK, K. et al. From monetite plate to hydroxyapatite nanofibers by monoethanolamine assisted hydrothermal approach. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–9, 2018.

SUCHÝ, T. et al. Optimizing and evaluating the biocompatibility of fiber composites with calcium phosphate additives. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, v. 161, n. 19–20, p. 493–

502, 2011.

SUCHÝ, T. et al. Biological evaluation of polydimethylsiloxane modified by calcium phosphate nanoparticles for potential application in spine surgery. **Science of Advanced Materials**, v. 5, n. 5, p. 484–493, 2013.

SUN, H.; ZHANG, D. Density Functional Theory Study on the Cycloaddition of Carbon Dioxide with Propylene Oxide Catalyzed by Alkylmethylimidazolium Chlorine Ionic Liquids. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 111, n. 32, p. 8036–8043, 1 ago. 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jp073873p>>.

ŠUPOVÁ, M.; MARTYNKOVÁ, G. S.; BARABASZOVÁ, K. Effect of Nanofillers Dispersion in Polymer Matrices: A Review. **Science of Advanced Materials**, v. 3, n. 1, p. 1–25, 2011. Disponível em: <<http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=1947-2935&volume=3&issue=1&spage=1>>.

TAEKKI, B.; KYUNG, N. E.; YEOUL, L. B. Coupling Reaction of CO₂ with Epoxides by Binary Catalytic System of Lewis Acids and Onium Salts. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 27, n. 8, p. 1171–1174, 20 ago. 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.5012/BKCS.2006.27.8.1171>>.

TAGUCHI, T.; KISHIDA, A.; AKASHI, M. Hydroxyapatite Formation on/in Poly(vinyl alcohol) Hydrogel Matrices Using a Novel Alternate Soaking Process. **Chemistry Letters**, v. 27, n. 8, p. 711–712, ago. 1998. Disponível em: <<http://www.journal.csj.jp/doi/10.1246/cl.1998.711>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

TAGUCHI, T.; KISHIDA, A.; AKASHI, M. Apatite formation on/in hydrogel matrices using an alternate soaking process: II. Effect of swelling ratios of poly(vinyl alcohol) hydrogel matrices on apatite formation. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 10, n. 3, p. 331–339, 1999. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tbsp20>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

TAGUCHI, T.; KISHIDA, A.; MITSURU AKASHI. Apatite formation on/in hydrogel matrices using an alternate soaking process (III) : Effect of physico-chemical factors on apatite formation on/ in poly(vinyl alcohol) hydrogel matrices. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 10, n. 8, p. 795–804, 1999. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tbsp20>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

TAMIMI, F. et al. Bone regeneration in rabbit calvaria with novel monetite granules. **Journal**

of Biomedical Materials Research - Part A, v. 87, n. 4, p. 980–985, 2008.

TAMIMI, F. et al. Resorption of monetite granules in alveolar bone defects in human patients. **Biomaterials**, v. 31, n. 10, p. 2762–2769, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.12.039>>.

TAN, C. Y. et al. The effects of calcium-to-phosphorus ratio on the densification and mechanical properties of hydroxyapatite ceramic. **International Journal of Applied Ceramic Technology**, v. 12, n. 1, p. 223–227, 2015.

TASIC, A. M. et al. Synthesis, structure and thermogravimetric analysis of α,ω -telechelic polydimethylsiloxanes of low molecular weight. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v. 82, n. 12, p. 1395–1416, 2017.

TERRETT, O. M. et al. Molecular architecture of softwood revealed by solid-state NMR. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2019.

TEZUKA, Y. et al. Surface studies on poly(vinyl alcohol)—poly(dimethylsiloxane) graft copolymers. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 114, n. 1, p. 16–25, 1986. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0021979786902365>>.

TÕNSUAADU, K. et al. A review on the thermal stability of calcium apatites. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 110, n. 2, p. 647–659, 2012.

TORRES, J. et al. Monetite granules versus particulate autologous bone in bone regeneration. **Annals of Anatomy**, v. 200, p. 126–133, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aanat.2015.03.008>>.

TRUONG, V. K. et al. The influence of nano-scale surface roughness on bacterial adhesion to ultrafine-grained titanium. **Biomaterials**, v. 31, n. 13, p. 3674–3683, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.01.071>>.

TRYZNOWSKI, M. et al. Wood adhesive application of poly(hydroxyurethane)s synthesized with a dimethyl succinate-based amide backbone. **RSC Advances**, v. 7, n. 48, p. 30385–30391, 2017.

VARENNE, S.; SCHREIBER, H. P. On Origins of Time-Dependence in Contact Angle Measurements. **The Journal of Adhesion**, v. 76, n. 4, p. 293–306, 1 ago. 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/00218460108030723>>.

VASILAKOS, S. P. et al. Thermomechanical properties and bioactivity evaluation of silicone rubber composites. **Polymer Composites**, v. 39, n. 7, p. 2560–2570, 2018.

WANG, C.; NAIR, S.; WYNNE, K. J. Wilhelmy balance characterization beyond contact angles: Differentiating leaching from nanosurface reorganization and optimizing surface

modification. **Polymer**, v. 116, p. 565–571, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.polymer.2017.01.047>>.

WANG, J.-Q. Q. et al. Insights into quaternary ammonium salts-catalyzed fixation carbon dioxide with epoxides. **Catalysis Science & Technology**, v. 2, n. 7, p. 1480–1484, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C2CY20103H>>.

WANG, T. et al. Cellulose Structural Polymorphism in Plant Primary Cell Walls Investigated by High-Field 2D Solid-State NMR Spectroscopy and Density Functional Theory Calculations. **Biomacromolecules**, v. 17, n. 6, p. 2210–2222, 13 jun. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b00441>>.

WANG, W.; WANG, C. Polyurethane for biomedical applications: A review of recent developments. In: **The Design and Manufacture of Medical Devices**. Elsevier, 2012. p. 115–151.

WEBB, P. A.; ORR, C. **Analytical Methods in Fine Particle Technology**. Micromeritics Instrument Corp, . 395 p. 1997.

WEI, Q.; TANG, Y. ¹³C-NMR study on structure evolution characteristics of high-organic-sulfur coals from typical chinese areas. **Minerals**, v. 8, n. 2, 2018.

WOOLRICH, P. F. Toxicology, industrial hygiene and medical control of TDI, MDI and PMPPi. **American Industrial Hygiene Association Journal**, v. 43, n. 2, p. 89–97, 1 fev. 1982. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/15298668291409415>>.

WU, S. et al. Influence of surface topography on bacterial adhesion: A review (Review). **Biointerphases**, v. 13, n. 6, p. 060801, 2018.

XU, H. H. K. et al. Nanocomposite containing amorphous calcium phosphate nanoparticles for caries inhibition. **Dental Materials**, v. 27, n. 8, p. 762–769, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2011.03.016>>.

XU, J.; BUTLER, I. S.; GILSON, D. F. R. FT-Raman and high-pressure infrared spectroscopic studies of dicalcium phosphate dihydrate (CaHPO₄·2H₂O) and anhydrous dicalcium phosphate (CaHPO₄). **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 55, n. 14, p. 2801–2809, 1999. Disponível em: <www.elsevier.nl/locate/saa>. Acesso em: 15 dez. 2017.

YADAV, N. et al. Versatile functionalization of polymer nanoparticles with carbonate groups: Via hydroxyurethane linkages. **Polymer Chemistry**, v. 10, n. 26, p. 3571–3584, 2019.

YANG, H. et al. Structural factors affecting ¹³C NMR chemical shifts of cellulose: a computational study. **Cellulose**, v. 25, n. 1, p. 23–36, 2018.

YANG, W. et al. Recycling and Disposal Methods for Polyurethane Foam Wastes. **Procedia Environmental Sciences**, v. 16, p. 167–175, 1 jan. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878029612005610>>. Acesso em: 1 mar. 2018.

YEN, M. S.; TSAI, P. Y.; HONG, P. Da. The solution properties and membrane properties of polydimethylsiloxane waterborne polyurethane blended with the waterborne polyurethanes of various kinds of soft segments. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 279, n. 1–3, p. 1–9, 2006.

YILGÖR, I.; YILGÖR, E.; WILKES, G. L. **Critical parameters in designing segmented polyurethanes and their effect on morphology and properties: A comprehensive review** *Polymer (United Kingdom)*, 2015. . Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0032386114011136/1-s2.0-S0032386114011136-main.pdf?_tid=03c63276-166a-11e8-bb94-00000aabb0f01&acdnat=1519150703_d06b6dd45e62a53bc548c064f47bea9b>. Acesso em: 20 fev. 2018.

YU, Y. et al. Advanced solid-state ¹H/³¹P NMR characterization of pyrophosphate-doped calcium phosphate cements for biomedical applications: The structural role of pyrophosphate. **Ceramics International**, v. 45, n. 16, p. 20642–20655, 2019a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.07.047>>.

YU, Y. et al. The monetite structure probed by advanced solid-state NMR experimentation at fast magic-angle spinning. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 24, p. 1–18, 2019b.

ZHANG, L. et al. Rechargeable dental adhesive with calcium phosphate nanoparticles for long-term ion release. **Journal of Dentistry**, v. 43, n. 12, p. 1587–1595, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2015.06.009>>.

ZHANG, Z. **Chemical functionalization of nanofibrillated cellulose by alkoxysilanes : application to the elaboration of composites and foams**. 2013. L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 1, 2013. Disponível em: <http://ori-oai.u-bordeaux1.fr/pdf/2013/ZHANG_ZHENG_2013.pdf>.

ZHAO, J. et al. Stretch-Induced Crystallization and Phase Transitions of Poly(dimethylsiloxane) at Low Temperatures: An in Situ Synchrotron Radiation Wide-Angle X-ray Scattering Study. **Macromolecules**, v. 51, n. 21, p. 8424–8434, 2018.

ZHU, Z. et al. Synthesis of Polysiloxanes Bearing Cyclic Carbonate Side Chains. Dielectric Properties and Ionic Conductivities of Lithium Triflate Complexes. **Macromolecules**, v. 27, n.

15, p. 4076–4079, 1994.