AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS DE BLENDS POLIMÉRICAS
BIODEGRADÁVEIS REFORÇADAS COM BIO-HIDROXIAPATITA**

PEDRO RODRIGO DE SOUSA REIS

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear – Materiais**

Orientadora:

**Profa. Dra. Esperidiana Augusta Barretos de
Moura**

**São Paulo
2018**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS DE BLENDA POLIMÉRICAS
BIODEGRADÁVEIS REFORÇADAS COM BIO-HIDROXIAPATITA**

PEDRO RODRIGO DE SOUSA REIS

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear – Materiais**

**Orientadora:
Profa. Dra. Esperidiana Augusta Barretos de
Moura**

Versão Corrigida

**São Paulo
2018**

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais Pedro e Maria, meus maiores exemplos e a minha irmã Thais, minha companheira de todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Esperidiana Augusta Barretos de Moura, pelo apoio e orientação para a elaboração deste trabalho e, principalmente, por sua paciência e dedicação em me ensinar os verdadeiros valores da carreira acadêmica.

Ao Dr. Felipe Rebello Lourenço, pela parceria durante a realização de todo este trabalho e por me fazer compreender que eu poderia ser muito mais do que sempre imaginei.

Às colegas Julyana Galvão Santana, Heloisa Augusto Zen, Elizabeth Carvalho Leite Cardoso e Sandra Regina Scagliusi Martin pelo apoio e incentivo para a conclusão deste trabalho.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares e ao Centro de Química e Meio Ambiente (CQMA) pela valiosa oportunidade na realização deste trabalho e pela gratificante convivência com profissionais altamente gabaritados, o que resultou em meu crescimento pessoal e intelectual.

À GR Colors Ltda. e Centro Educacional ETIP em especial aos Srs. André Koith Kamei, Vanessa Aihara, Patricia Aciette, Alessandra Higa, Cristina Higa, Lucinéia Ribeiro, Aline Castro, Liliane Rodrigues, Mielle Hiroki, Dra. Sizue Ota Rogero e Dr. Derval dos Santos Rosa por todo o apoio fornecido para realização das atividades referentes ao mestrado, caracterização das amostras e, endossamento da importância do trabalho científico e do estreitamento da relação indústria/universidade.

À todos os amigos, colegas, funcionários e professores que de forma direta ou indireta foram essenciais para conclusão deste trabalho.

“Descobrir consiste em olhar para o que todo mundo está vendo e pensar uma coisa diferente”.

(Roger Von Oech)

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS DE BLENDA POLIMÉRICAS BIODEGRADÁVEIS REFORÇADAS COM BIO-HIDROXIAPATITA

Pedro Rodrigo de Sousa Reis

RESUMO

Este trabalho apresenta a preparação e caracterização de materiais compósitos baseados na mistura (blenda) de poli (ácido láctico) – PLA e poli (adipato co-tereftalato de butileno) – PBAT reforçados com bio-hidroxiapatita “HAp”, obtida a partir de cascas de ovos brancos de galinha. A obtenção de HAp foi realizada por via úmida, reação ácido-base. Primeiramente, foi obtido o bio-carbonato de cálcio a partir das cascas de ovos brancos de galinha, seguido de um ciclo térmico de aquecimento a 800 °C para a conversão em óxido de cálcio, o qual posteriormente foi sinterizado a 900 °C para a obtenção da HAp. Os materiais compósitos de PLA/PBAT reforçados com 1, 3 e 5 %, em massa, de HAp em pó, com tamanho de partículas iguais ou menor que 10 µm, foram preparadas pelo processo de extrusão utilizando-se uma extrusora de dupla-rosca. Após o processo de extrusão, os materiais foram alimentados ao funil de alimentação de uma injetora de laboratório para a obtenção dos corpos de prova para os ensaios de caracterização. Parte dos corpos de prova foram submetidos à esterilização por radiação gama (radioesterilização), utilizando-se feixe de elétrons de alta energia, gerados em um acelerador de elétrons industrial, de 1,5 MeV, à temperatura ambiente e na presença de ar, com dose de radiação de 25 kGy. As amostras de HAp foram caracterizadas por meio dos ensaios de difração de raios X (DRX), espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), termogravimetria (TG) e microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (MEV-FEG). O PLA/PBAT puro e seus compósitos não irradiados e irradiados foram caracterizados por meio dos ensaios de DRX, TG, MEV-FEG, calorimetria exploratória diferencial (DSC), temperatura de distorção térmica (HDT), ponto de amolecimento Vicat, resistência à tração, à flexão e ao impacto Izod, validação do processo de esterilização (teste de carga microbiana (Biocarga ou *Bioburden*) e ensaios de esterilidade) e citotoxicidade “*in vitro*” pelo método de incorporação do vermelho neutro para avaliação da biocompatibilidade das amostras. As análises de DRX da HAp mostraram os picos característicos presentes na fase amorfa da HAp; os picos e bandas largas pertencentes aos grupos moleculares da HAp foram identificados por meio da análise por FTIR; a estabilidade térmica da HAp obtida foi confirmada por termogravimetria, a qual mostrou uma pequena perda de massa com o aumento da temperatura, devido à queima do solvente, evaporação de água e queima de materiais orgânicos presentes na amostra de HAp, as imagens obtidas por MEV-FEG mostraram estruturas irregulares características da HAp. A incorporação de HAp na blenda de PLA/PBAT promoveu ganhos superiores a 10 % na temperatura de distorção térmica e no ponto de amolecimento Vicat original da blenda, aumento superior a 15 % nas propriedades mecânicas de resistência à tração e à flexão, e aumento superior a 10 % a resistência ao impacto Izod, melhorando suas propriedades de forma significativa quando comparado a blenda de PLA/PBAT. Os testes de carga microbiana e esterilidade mostraram que a dose de radiação de 25 kGy aplicada foi eficaz para a esterilização das amostras dos materiais. Todas as amostras apresentaram-se biocompatíveis em ambiente celular pelo teste de citotoxicidade “*in vitro*”, apresentando potencial para estudo “*in vivo*”.

OBTAINING AND CHARACTERIZATION OF COMPOSITES BASED ON BIODEGRADABLE POLYMERIC BLENDS REINFORCED WITH BIO-HYDROXYAPATITE

Pedro Rodrigo de Sousa Reis

This work presents the preparation and characterization of composites based on blends of poly (lactic acid) - PLA and poly (adipate co-terephthalate of butylene) - PBAT reinforced with bio-hydroxyapatite "HAp", obtained from avian eggshells waste of white color. The HAp was obtained by the wet chemical method from the acid-base reaction. Firstly, the bio-calcium carbonate (bio-CaCO₃) was obtained from the avian eggshells waste. The bio-CaCO₃ was submitted to a heating cycle at 800 °C in order to convert bio-CaCO₃ in the bio-calcium oxide, which was then sintered at 900 °C and the bio-HAp was obtained. PLA/PBAT reinforced with 1, 3 and 5 % in weight of HAp, particle size $\leq 10 \mu\text{m}$, were prepared by the extrusion process using a twin-screw extruder. After the extrusion process, the PLA/PBAT blend and its composites were fed into a laboratory injection molding machine and the specimens test were obtained for the characterization tests. Part of the specimens was submitted to sterilization by gamma radiation (radio-sterilization) with electron-beam using an industrial electron accelerator of 1.5 MeV, at the radiation dose of 25 kGy, room temperature and in the presence of air. HAp was characterized by X ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), thermogravimetry (TG) and scanning electron microscopy with field emission source (FE-SEM) analysis. The blends and composites (non-irradiated and irradiated samples) were characterized by XRD; TG; FE-SEM and differential scanning calorimetry (DSC) analysis. The thermal distortion temperature (HDT), Vicat softening temperature, tensile, flexural, and impact Izod tests were also carried out. The validation of materials sterilization process (*Bioburden* tests) and cytotoxicity test "*in vitro*" to evaluating the biocompatibility of the material composites were also made. XRD analyzes results showed a characteristic peak in the amorphous phase of HAp. FTIR analysis identified broad peaks and bands belonging to the molecular groups of HAp. The thermal stability of the HAp was confirmed by the TG analysis, which showed a small loss of mass with the increase of temperature due to the burning of solvents, water evaporation and burning of organic materials present in the sample of HAp. The FE-SEM images showed irregular structures characteristic of HAp. Regarding the PLA/PBAT/HAP composites, it can be observed increases up to 10 % in thermal distortion temperature and Vicat softening temperature, higher than 15 % in the tensile and flexural strength, and higher than 10 % in the Izod impact when compared with neat PLA/PBAT blend. The bioburden tests showed that radiation dose of 25 kGy was effective for sterilization of the materials. The results of the cytotoxicity test "*in vitro*" showed that all samples are biocompatible in the cellular environment, and therefore, presents a potential for "*in vivo*" study.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Tabela de resumo ANOVA.....	49
TABELA 2	Formulações dos compósitos.....	56
TABELA 3	Temperaturas utilizadas no processo de extrusão.....	56
TABELA 4	Temperaturas utilizadas para injeção dos corpos de prova.....	58
TABELA 5	Picos e bandas largas relacionadas a HAp obtidas por FTIR	70
TABELA 6	Temperaturas de decomposição térmica e perda de massa da HAp obtidas por TG.....	74
TABELA 7	Temperatura de fusão e entalpia de fusão para PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.....	83
TABELA 8	Temperaturas obtidas por TG para 5, 50 e 90 % de perda de massa para as amostras não irradiadas e irradiadas de PLA/PBAT e seus compósitos.....	85
TABELA 9	Temperatura de distorção térmica para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.....	86
TABELA 10	Valores de HDT obtidos para cada corpo de prova produzido com as amostras de PLA / PBAT e seus compósitos não irradiados.....	88
TABELA 11	Resultados da análise ANOVA para os valores de HDT obtidos para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.....	88
TABELA 12	Resultados do teste Tukey obtido a partir dos valores médios dos ensaios de HDT para PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.	89
TABELA 13	Valores de HDT obtidos para cada corpo de prova produzido com o PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.....	90
TABELA 14	Resultados da análise ANOVA dos valores de HDT do PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.....	90
TABELA 15	Teste Tukey obtidos a partir dos valores médios dos ensaios de HDT do PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.....	91
TABELA 16	Ponto de Amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.....	92
TABELA 17	Valores do ponto de amolecimento Vicat obtidos para cada corpo de prova de PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.....	94

TABELA 18	Resultados da análise ANOVA dos valores do ponto de amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.....	94
TABELA 19	Teste Tukey para as médias dos resultados do ponto de amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.....	95
TABELA 20	Valores obtidos nos ensaios de ponto de amolecimento Vicat para cada corpo de prova de PLA/PBAT e seus compósitos irradiados...	96
TABELA 21	Resultados da análise ANOVA para para os resultados do ponto de amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.....	96
TABELA 22	Resultados do teste Tukey para as médias obtidas nos ensaios do ponto de amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos irradiados	97
TABELA 23	Resultados para os ensaios de resistência à tração para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.....	98
TABELA 24	Resultados dos ensaios de resistência à flexão para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.....	100
TABELA 25	Resultados dos ensaios de resistência ao impacto Izod para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.....	102
TABELA 26	Resultados dos testes de contagem total de microrganismos aeróbicos realizados nas amostras de PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.....	107
TABELA 27	Resultados dos testes de esterilidade realizados nas amostras de PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.....	108
TABELA 28	Resultados dos testes de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro para o PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.....	109

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Polímeros aplicados como biomateriais (MARQUES, 2011).....	24
FIGURA 2	Estrutura do poli (ácido láctico) – PLA (fonte: TAN et al., 2013).	26
FIGURA 3	Estrutura do poli (adipato co-tereftalato de butileno) - PBAT	27
FIGURA 4	Blenda comercial (Ecovio®) formada por PLA/PBAT.....	29
FIGURA 5	Esquema de classificação para os diversos tipos de compósitos (CALLISTER, 2011).....	31
FIGURA 6	Estrutura dos íons ao longo do eixo C pertencentes a hidroxiapatita (fonte: ELLIOTT, 2002).....	35
FIGURA 7	Difração de raios X (fonte: CALIMAN, 2011).	40
FIGURA 8	Curvas de FTIR (fonte: BLAKESLEE et al., 1971).....	41
FIGURA 9	Curvas TG e DTG (fonte: CHAPIRO, 1962).....	42
FIGURA 10	Representação esquemática do MEV-FEG	43
FIGURA 11	Equipamento para teste de HDT (fonte: CANEVAROLO, 2006).	44
FIGURA 12	Equipamento de determinação do ponto de amolecimento Vicat....	45
FIGURA 13	Representação esquemática do ensaio de flexão.....	46
FIGURA 14	Diagrama simplificado de uma máquina de ensaios de impacto (fonte: CANEVAROLO, 2012)	47
FIGURA 15	Ensaio de impacto Izod	48
FIGURA 16	Curvas de viabilidade celular pelo teste de citotoxicidade pela incorporação de vermelho neutro (fonte: PITHON et al., 2008)	50
FIGURA 17	Estufa com passagem de ar usada para a secagem do material (fonte: Autor).	52
FIGURA 18	Moinho de bolas (fonte: Autor).....	53
FIGURA 19	Agitador mecânico (fonte: Autor).....	53
FIGURA 20	Bio-carbonato de cálcio seco, após o processo de classificação granulométrica (tamanho de partículas $\leq 20 \mu\text{m}$) (fonte: Autor).	54
FIGURA 21	Representação esquemática do processo de obtenção de carbonato de cálcio a partir das cascas de ovos brancos de galinha (fonte: Autor).	54
FIGURA 22	Óxido de cálcio obtido do carbonato de cálcio	55

FIGURA 23	Representação esquemática do processo de obtenção de óxido de cálcio a partir do carbonato de cálcio (fonte: Autor).	55
FIGURA 24	Bio-hidroxiapatita obtida no final do processo (partículas $\leq 10 \mu\text{m}$) (fonte: Autor).	56
FIGURA 25	Representação esquemática do processo de obtenção de bio-hidroxiapatita (fonte: Autor).	57
FIGURA 26	Extrusora dupla rosca HAAKE Rheomex, Thermo Scientific (fonte: Autor).	58
FIGURA 27	Grânulos dos compósitos processados	59
FIGURA 28	Representação esquemática do processo de preparação dos compósitos PLA/PBAT/HAP (fonte: Autor).	59
FIGURA 29	Injetora AX Plásticos®, modelo AX16I.	60
FIGURA 30	Forma esquemática do processo de obtenção de corpo de prova.	60
FIGURA 31	Difrator de raios X modelo Siemens - D5000.	61
FIGURA 32	Mettler Toledo TGA modulo “TGA/SDTA851E”	62
FIGURA 33	Microscópio JEOL-JSM-6701 F (fonte: Autor).	63
FIGURA 34	Espectro de DRX da amostra de carbonato de cálcio obtida a partir das cascas de ovos brancos (fonte: Autor).	68
FIGURA 35	Espectro de DRX da amostra de óxido de cálcio.	69
FIGURA 36	Espectro de DRX da amostra de bio-hidroxiapatita e fosfato tricálcico - β (fonte: Autor).	70
FIGURA 37	Espectro de FTIR da amostra de bio-hidroxiapatita obtida a partir de bio-carbonato de cálcio (fonte: Autor).	71
FIGURA 38	Curva de termogravimetria da amostra de bio-hidroxiapatita.	73
FIGURA 39	Micrografia MEV-FEG da amostra de carbonato de cálcio obtido a partir das cascas de ovos branco de galinha com magnitude de 7.500 vezes (fonte: Autor).	74
FIGURA 40	Micrografia MEV-FEG da amostra de HAP com magnitude de 20.000 vezes. (fonte: Autor).	75
FIGURA 41	Difratogramas das amostras de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiadas (fonte: Autor).	79

FIGURA 42	Difratogramas das amostras de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiadas (fonte: Autor).....	80
FIGURA 43	Resultados de DSC para PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiadas (fonte: Autor).	81
FIGURA 44	Resultados de DSC para PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiadas (fonte: Autor).	82
FIGURA 45	Curvas de TG para as amostras de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiados (fonte: Autor).....	84
FIGURA 46	Curvas de TG para as amostras de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiadas (fonte: Autor).....	84
FIGURA 47	Temperatura de distorção térmica para as amostras de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiados (fonte: Autor).	87
FIGURA 48	Temperatura de distorção térmica para as amostras de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiados (fonte: Autor).....	87
FIGURA 49	Ponto de amolecimento Vicat para PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiadas (fonte: Autor).....	93
FIGURA 50	Ponto de amolecimento Vicat para PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiadas (fonte: Autor).....	93
FIGURA 51	Resultados de resistência á tração no ponto de ruptura para os corpos de prova de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiados (fonte: Autor).	99

FIGURA 52	Resultados de resistência á tração no ponto de ruptura, para os corpos de prova de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiados (fonte: Autor).....	99
FIGURA 53	Resultados de resistência à flexão para os corpos de prova de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiados (fonte: Autor).....	101
FIGURA 54	Resultados de resistência à flexão para os corpos de prova de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiados (fonte: Autor).....	101
FIGURA 55	Resultados de resistência ao impacto Izod para PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiados (fonte: Autor).	103
FIGURA 56	Resultados de resistência ao impacto Izod para PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiados (fonte: Autor)	103
FIGURA 57	Micrografia MEV-FEG da amostra de PLA/PBAT com ampliação de 2.000 vezes. (fonte: Autor).....	104
FIGURA 58	Curvas de viabilidade celular obtidas no ensaio de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro (fonte: Autor). ...	109

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	18
2.	OBJETIVO	21
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
3.1.	Biomateriais.....	22
3.2.	Polímeros biodegradáveis.....	25
3.3.	Poli (ácido láctico) – PLA.....	25
3.4.	Poli (adipato co-tereftalato de butileno) – PBAT	27
3.5.	Blendas poliméricas.....	28
3.5.1.	Blenda de PLA/PBAT	28
3.6.	Compósitos.....	29
3.7.1	Classificação dos compósitos poliméricos	30
3.7.2.	Interação entre a matriz polimérica e a fase dispersa	31
3.7.	Resíduos de cascas de ovos de galinha	32
3.8.	Fosfato de cálcio e Fosfato Tricálcico	33
3.9.	Hidroxiapatita.....	34
3.10.	Obtenção de bio-hidroxiapatita	35
3.11.	Aplicações da bio-hidroxiapatita	37
3.12.	Utilização de cascas de ovos brancos de galinha para a síntese de bio-hidroxiapatita	38
3.13.	Aplicação de radiação ionizante em compósitos de blendas poliméricas biodegradáveis reforçadas com bio-hidroxiapatita	38
3.14.	Técnicas de caracterização	39
3.14.1.	Difração de raios X (DRX)	39
3.14.2.	Espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	39
3.14.3.	Termogravimetria (TG)	41
3.14.4.	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	42

3.14.5.	Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (MEV-FEG).....	43
3.14.6.	Temperatura de distorção térmica (HDT).....	44
3.14.7.	Ponto de amolecimento Vicat	44
3.14.8.	Ensaio de resistência à tração	45
3.14.9.	Ensaio de resistência à flexão	46
3.14.10.	Ensaio de resistência ao impacto Izod.....	47
3.14.11.	Validação do processo de esterilização	46
3.14.11.1	Carga microbiana (Biocarga ou <i>Bioburden</i>)	49
3.14.11.2	Ensaio de esterilidade	49
3.14.12.	Teste biológico.....	47
3.14.12.1	Teste de citotoxicidade “ <i>in vitro</i> ” pelo método de incorporação do vermelho neutro.....	49
3.14.13.	Análise de variância.....	49
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	52
4.1.	Materiais.....	52
4.2.	Obtenção do bio-carbonato de cálcio a partir de cascas de ovos brancos	52
4.3.	Obtenção de óxido de cálcio.....	55
4.4.	Obtenção da bio-hidroxiapatita	55
4.5.	Preparação dos compósitos	57
4.6.	Injeção dos corpos de prova	59
4.7.	Irradiação dos compósitos	61
4.8.	Caracterização	61
4.8.1.	Caracterização da bio-hidroxiapatita (HAp)	61
4.8.1.1.	Difração de raios X (DRX)	61
4.8.1.2.	Espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	62

4.8.1.3.	Termogravimetria (TG)	62
4.8.1.4.	Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (MEV-FEG).....	62
4.8.2.	Caracterização das amostras da blenda de PLA/PBAT e dos compósitos não irradiados e irradiados.....	63
4.8.2.1.	Difração de raios X (DRX)	63
4.8.2.2.	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	64
4.8.2.3.	Termogravimetria (TG)	64
4.8.2.4.	Ensaio de caracterização termomecânica.....	64
4.8.2.4.1.	Temperatura de deformação térmica	64
4.8.2.4.2.	Ponto de amolecimento Vicat	64
4.8.2.5.	Ensaio de caracterização mecânica.....	64
4.8.2.5.1.	Ensaio de resistência à tração	64
4.8.2.5.2.	Ensaio de resistência à flexão.....	65
4.8.2.5.3.	Ensaio de resistência ao impacto Izod	65
4.8.2.5.4.	Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (MEV-FEG).....	65
4.8.2.5.5.	Validação do processo de esterilização.....	63
4.8.2.5.5.1	Carga microbiana (Biocarga ou <i>Bioburden</i>)	63
4.8.2.5.5.2	Ensaio de esterilidade.....	66
4.8.2.5.6.	Teste biológico.....	64
4.8.2.5.7.	Ensaio de citotoxicidade “ <i>in vitro</i> ” pelo método de incorporação do vermelho neutro.....	66
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
5.1.	Caracterização da bio-hidroxiapatita.....	68
5.1.1.	Difração de raios X	68
5.1.1.1.	Difração de raios X do bio-carbonato de cálcio (CaCO ₃)	68
5.1.1.2.	Difração de raios X do óxido de cálcio (CaO)	69

5.1.1.3.	Difração de raios X da bio-hidroxiapatita (HAp)	70
5.1.2.	Espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	71
5.1.3.	Termogravimetria (TG)	72
5.1.4.	Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG).....	74
5.2.	Caracterização dos compósitos não irradiados e irradiados	79
5.2.1.	Difração de raios X (DRX)	79
5.2.2.	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	81
5.2.3.	Termogravimetria (TG)	83
5.2.4.	Temperatura de distorção térmica (HDT).....	85
5.2.5.	Ponto de amolecimento Vicat	91
5.2.6.	Ensaio de resistência à tração	97
5.2.7.	Ensaio de resistência à flexão.....	100
5.2.8.	Ensaio de resistência ao impacto Izod	102
5.2.9.	Ensaio de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG).....	104
5.2.10.	Carga microbiana (Biocarga ou <i>Bioburden</i>)	107
5.2.11.	Testes de esterilidade.....	107
5.2.12.	Teste de citotoxicidade “ <i>in vitro</i> ” pelo método de incorporação do vermelho neutro.....	108
6.	CONCLUSÕES	110
7.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	112
8.	PUBLICAÇÕES DERIVADAS	113
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114

1. INTRODUÇÃO

A qualidade de vida dos seres humanos tornou-se, nos últimos anos, um dos principais objetivos de novas pesquisas e estudos. A constante busca por melhorias no modo de vida levou a inovação em áreas relacionadas ao bem-estar do homem. Novas técnicas cirúrgicas, tratamentos de patologias e materiais apropriados vêm sendo desenvolvidos constantemente a fim de suprir a demanda por novas tecnologias nessa área. O desenvolvimento de novos biomateriais tornou-se fundamental, devido a sua importante contribuição para a melhoria da qualidade de vida do homem, representando um aumento na expectativa de vida, na saúde em geral e no bem-estar da população (MARQUES, 2011).

Materiais voltados para implantes exigem cuidados extremos, devido aos riscos que podem acarretar a saúde humana. O desenvolvimento, a pesquisa e a comercialização legal de inovações nesta área estão regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2018).

Segundo a “American Standard for Testing and Methods” (ASTM-D-833), polímeros biodegradáveis são polímeros que se degradam pela ação de microrganismos de ocorrência natural como bactérias, fungos, algumas algas e por componentes celulares, os quais podem ser consumidos em semanas ou meses sob condições favoráveis de biodegradação e cuja decomposição resulta em dióxido de carbono, água e biomassa, decorrente da ação de enzimas e organismos vivos, o poli (ácido láctico) – PLA, poli (adipato co-tereftalato de butileno) – PBAT, poli (β-hidroxibutirato) – PHB e poli (ε-caprolactona) – PCL são alguns dos mais populares polímeros biodegradáveis utilizados (FRANCHETTI et al., 2016; ARMENTANO et al., 2013).

A aplicação de materiais biodegradáveis incentiva nova pesquisas na área de biopolímeros, materiais aplicados à medicina e ao manejo do meio ambiente apresentando uma solução viável e de curto prazo para amenizar grande parte dos problemas ambientais gerados principalmente pelo seu descarte, pois, aliam um ciclo de vida curto quando devidamente manejados, a um processo atóxico de eliminação. O uso de polímeros biodegradáveis é um componente importante para o desenvolvimento econômico (MARQUES, 2011; MUTHURAJ et al., 2014).

Melhorias relacionadas as propriedades mecânicas e físico-químicas dos plásticos biodegradáveis foram desenvolvidas, porém, apesar de inúmeros materiais dessa classe já estarem disponíveis no mercado e alguns com ampla utilização, há um longo caminho para apresentar competitividade direta com polímeros sintéticos já utilizados, quando comparados suas propriedades (BRITO, 2011; KANG et al., 2018).

Por estas circunstâncias, blendas poliméricas que é uma mistura física de dois ou mais polímeros de forma a obter um novo material que reúna as propriedades de ambos os componentes separadamente, vêm sendo pesquisadas e desenvolvidas com propriedades biodegradáveis, pois apresentam uma alternativa eficiente para melhorar as propriedades mecânicas da matrizes polimérica biodegradável, resultando em materiais mais atraentes e competitivos para aplicação industrial (MORAES, 2004; LUNA et al., 2015).

Atualmente existem inúmeras pesquisas na área de blendas com matriz poliméricas biodegradáveis, dentre estes trabalhos destaca-se a utilização da blenda formada por PLA/PBAT, um copoliéster totalmente biodegradável e semiflexível. Constituído por poli (ácido láctico) – PLA, um biopolímero proveniente de fontes renováveis como cana-de-açúcar e amido de milho e pelo poli (adipato co-tereftalato de butileno) – PBAT um polímero de origem fóssil (FECHINE, 2017; ADRAR et al., 2018).

Diante deste cenário a aplicação de blendas poliméricas biodegradáveis em compósitos que podem ser definidos de diferentes formas. Contudo, dentre as inúmeras definições de compósitos, uma definição genérica e ampla refere-se, sendo um material formado a partir de pelo menos duas fases, uma fase contínua (matriz) e uma fase dispersa (reforço) em uma escala microscópica ou macroscópica de maneira a obter um novo material, com propriedades que não seria possível por meio de polímeros separados (CALLISTER, 2011).

Inúmeras aplicações tecnológicas necessitam de materiais com características específicas que não podem ser encontradas em materiais isolados ou convencionais. A procura por materiais com propriedades adequadas para uma determinada aplicação tem impulsionado o desenvolvimento de novos materiais compósitos biodegradáveis. Os compósitos poliméricos vêm sendo utilizados em larga escala em diversos campos de aplicação tais como, peças automotivas, aeronáuticas, eletrodomésticas, componentes eletrônicos e biomateriais (MORAES et al., 2014).

A adição de bio-hidroxiapatita (HAp ou HAP) que é uma cerâmica pertencente à família dos fosfatos que possui estabilidade em meio neutro e alcalino, biocompatibilidade e similaridade com as estruturas ósseas como fase de reforço em biomateriais compósitos, se deve ao fato da sua biocompatibilidade permitir realizar ligações de natureza química com o tecido ósseo, possibilitando o crescimento do osso ao redor do implante em um curto período de tempo. Depois de implantada e de fornecer sustentação para o crescimento ósseo, a HAp passa a ser absorvida pelo organismo, o que resulta no tecido regenerado (KARLSSON, 1990; VAZ, 2007; FERREIRA et al., 2017; CLARK et al., 2017).

A aplicação de radiação ionizante (raios gama ou feixe de elétrons) como método para esterilização a frio de biomateriais, processo esse chamado de radioesterilização. Já aplicada a mais de 45 anos em áreas como medicina, indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia, esta técnica permite a redução ou eliminação de carga microbiana. Entre as principais vantagens do uso de radiação ionizante como processo de esterilização está ausência de iniciadores químicos e o processo pode ser utilizado em temperatura ambiente. Atualmente observa-se crescimento no uso da radiação ionizante em equipamentos médicos, instrumentos cirúrgicos e biomateriais (NOGUEIRA, 2012; ISO, 2015).

2. OBJETIVO

Este trabalho tem por objetivo a obtenção de bio-hidroxiapatita a partir de cascas de ovos brancos de galinha, o desenvolvimento de compósitos baseados em blendas poliméricas biodegradáveis de poli (ácido láctico) – PLA e poli (adipato co-tereftalato de butileno) – PBAT reforçados com a bio-hidroxiapatita e a caracterização do compósito explorando a sua aplicação como biomaterial.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Biomateriais

No passado, devido à disponibilidade de recursos, a remoção de tecidos e membros danificados era a única alternativa clínica viável para melhorar a qualidade de vida dos pacientes acometidos por traumas ou lesões de tecidos ou órgãos. Entretanto, a partir do século passado com a descoberta e aplicação de antissépticos, antibióticos, vacinas e medicamentos a expectativa de vida aumentou nos países desenvolvidos. Este crescimento significa que mais pessoas estão preocupadas com a qualidade de vida e de maneira indireta, com a qualidade de seus tecidos corporais (MARQUES, 2011).

Há cerca de 40 anos, houve uma revolução nos cuidados médicos com a substituição bem-sucedida de tecidos e órgãos. Um dos aspectos primordiais nessa revolução da substituição de tecidos foi a descoberta, ou em muitos casos, a modificação de materiais sintetizados pelo homem para estabelecer uma interface entre o tecido hospedeiro vivo e o material sintetizado (HENCH, 1998).

A partir desse desenvolvimento de novos produtos para o trato clínico, iniciou-se a busca por definições que melhor expressam o conceito de biomateriais. A preocupação aparante nessas definições era relatar de maneira sucinta e genérica os materiais como um todo, apresentando suas condições de aplicação, relatando sua função, ou ainda descrevendo a origem do material.

Biomateriais são definidos como sendo toda substância ou combinação de substâncias, de origem natural ou sintética que são toleradas de forma transitória, por tempo indeterminado ou permanente pelos diversos tecidos que constituem os órgãos dos seres vivos. Os biomateriais são empregados como todo ou parte integrante de um sistema para tratamento, ampliação ou substituição de diversos tecidos, órgãos ou funções corporais de seres vivos (MIRTCHI et al., 1988).

O desenvolvimento e a aplicação de biomateriais estão intimamente envolvidos, aos fatores de biocompatibilidade, bioadaptabilidade e biofuncionalidade. Biocompatibilidade representa que o material e seus produtos de degradação devem ser tolerados pelos tecidos envoltórios e não deve causar prejuízo ao organismo a curto e longo prazo, ou seja, é a capacidade do material induzir a resposta apropriada ao hospedeiro em uma dada aplicação específica. Por sua vez, bioadaptabilidade é considerada como sendo a habilidade do material se tornar integrado ao tecido

hospedeiro na implantação, adaptando-se a sua especificidade em termo de desempenho mecânico. Por fim, a biofuncionalidade trata-se da habilidade de dispositivos em desempenhar imediatamente e de maneira bem-sucedida as funções específicas da parte substituída ou reposta do corpo (MARQUES, 2011; RAVAGLIOLI e KRAJEWSKI, 1992).

Para que um biomaterial seja aceito clinicamente como material de implante, este deverá atender a alguns requisitos fundamentais, ou seja, o material deve ser biocompatível, bioadaptável, biofuncional e por fim, o material deve ser esterilizável, usualmente por radiação ionizante, óxido de etileno (ETO) ou autoclave, dependendo das características físico-químicas do material (FISCHMAN, 1994; MADRID et al., 2013).

Os biomateriais tendem a conferir diferentes respostas ao tecido durante o período de estadia do implante na interface tecidual, podendo ser classificados, de acordo com o seu comportamento fisiológico em:

- Biotoleráveis: Materiais apenas tolerados pelo organismo, sendo isolados dos tecidos adjacentes através da formação de uma camada envoltória de tecido fibroso. Esta camada é induzida pela liberação de compostos químicos, íons, produtos de corrosão e outros por parte do material implantado.
- Bioinertes: Materiais tolerados pelo organismo, mas que a forma de envoltório fibroso é mínima, praticamente inexistente. O material não libera nenhum tipo de componente.
- Bioativos: Materiais em que ocorrem ligações de natureza química entre o material e o tecido ósseo (osteointegração). Em função da similaridade química entre estes materiais e a parte mineral óssea, os tecidos ósseos se ligam a estes materiais, permitindo a osteocondução através do recobrimento por células ósseas denominadas osteócitos, osteoblastos e osteoclastos.
- Bioabsorvíveis: Materiais que após certo período em contato com os tecidos acabam sendo degradados, solubilizados ou fagocitados pelo organismo. Tais materiais são extremamente interessantes em aplicações clínicas em função de ser desnecessária nova intervenção cirúrgica para retirada do material de implante.

Os biomateriais também podem ser classificados quanto a sua estrutura química, podendo ser biomateriais metálicos, biocerâmicos, biopolímeros e biomateriais compósitos (HENCH, 1998; FISCHMAN, 1994).

A FIG. 1 apresenta alguns exemplos de polímeros aplicados como biomateriais. Dependendo de sua origem os polímeros podem ser classificados em naturais ou sintéticos (MARQUES, 2011).

FIGURA 1 – Polímeros aplicados como biomateriais (MARQUES, 2011).

3.2. Polímeros biodegradáveis

Polímeros biodegradáveis, segundo a “American Standard for Testing and Methods” (ASTM-D-833) são polímeros que degradam pela ação de microrganismos de ocorrência natural como bactérias, fungos, algumas algas e por componentes celulares, os quais podem ser consumidos em semanas ou meses sob condições favoráveis de biodegradação e cuja decomposição resulta em dióxido de carbono, água e biomassa, decorrente da ação de enzimas e organismos vivos. Descobertos a cerca de uma década, os biodegradáveis têm ainda participação mínima no mercado, apesar de suas vantagens, em razão do seu custo de produção elevado (FRANCHETTI et al., 2016; ARMENTANO et al., 2013).

A biodegradação de polímeros é um processo natural pelo qual os elementos presentes em sua estrutura são convertidos em compostos mais simples. Em geral, podemos dizer que é um processo que ocorre de maneira natural, pois, o polímero é consumido como forma de alimentação ou como fonte de energia para microrganismos, sob condições adequadas de umidade, temperatura e disponibilidade de oxigênio. A degradação acontece rapidamente sem deixar resíduos tóxicos ou prejudiciais de alguma forma ao ambiente (ROCHA et al., 2017).

3.3. Poli (ácido láctico) – PLA

O poli (ácido láctico) – PLA é um poliéster alifático de cadeia linear, termoplástico, semicristalino ou amorfo, biocompatível e biodegradável sintetizado a partir do ácido láctico. O ácido láctico necessário para produzir o PLA é obtido por fermentação bacteriana proveniente de fontes naturais renováveis que contém amido ou açúcar tais como: milho, trigo, cana-de-açúcar, beterraba e batata, sendo que os métodos mais utilizados para sua produção é polimerização por condensação direta do ácido láctico e a polimerização a partir da abertura do anel do lactídeo (CARRASCO et al., 2010; FREITAS et al., 2017).

Suas propriedades térmicas e mecânicas são superiores à dos outros poliésteres alifáticos biodegradáveis, como o polibutileno succinato – PBS, o polihidroxibutirato – PHB e a policaprolactona – PCL. Este fato é explicado pelo PLA ser um poliéster linear alifático, produzido a partir do L-ácido láctico, D-ácido láctico e D-L-ácido láctico. A quantidade de cada um deles usados na produção do PLA

influência as suas propriedades mecânicas, cristalinidade e até mesmo a sua degradação. O PLA composto por mais de 93 % de L-ácido geralmente é semicristalino, enquanto que o PLA com composição entre 50 e 93 % de L-ácido láctico é estritamente amorfo (AURAS et al., 2004; TÁBI et al., 2010; FAMBRI e MIGLIARESI, 2012).

Entre as suas propriedades estão a rigidez e transparência semelhantes às de alguns polímeros produzidos à base de petróleo (polímeros convencionais), sendo uma alternativa aos polímeros convencionais. Apesar de suas vantagens, algumas propriedades do PLA como fragilidade, baixa deformação de ruptura e baixa estabilidade térmica limitam sua aplicação em larga escala (JAMSHIDIAN et al., 2010; AL-ITRY et al., 2014).

A degradação do PLA ocorre rapidamente dentro de semanas ou meses, devido ao ataque de microrganismos no ambiente natural, sendo fortemente dependente das condições ambientais. O seu principal mecanismo de degradação é a hidrólise, sucedida pelo ataque de bactérias, sobre os resíduos fragmentados. A hidrólise é acelerada por ácidos ou bases e é dependente do teor de umidade e temperatura. (JAMSHIDIAN et al., 2010; TOKIWA e CALABIA, 2006).

Este poliéster alifático de cadeia linear pode ser aplicado na confecção de fibras para indústria têxtil, sacolas plásticas, filmes para agricultura entre outras aplicações industriais. Pelo fato de ser biocompatível o PLA pode ser usado como material para implantes cirúrgicos, sistemas de administração de medicamentos e fibras para suturas (BRITO et al., 2011; TAN et al., 2013).

A FIG. 2 apresenta a estrutura química do poli (ácido láctico) – PLA.

FIGURA 2 - Estrutura do poli (ácido láctico) – PLA (fonte: TAN et al., 2013).

3.4. Poli (adipato co-tereftalato de butileno) – PBAT

O poli (adipato co-tereftalato de butileno) PBAT é um copoliéster derivado do petróleo, composto por cadeias alifáticas e aromáticas que embora não seja proveniente de fonte renovável, se apresenta biodegradável em solo e em meio aquoso, degradando-se em algumas semanas por ação de enzimas. Devido a sua cadeia química flexível se ajustar aos sítios ativos de enzimas presentes em fungos e algumas bactérias. Após poucos dias ou semanas, diferentemente dos polímeros poliolefínicos, como o polipropileno - PP, o polietileno - PE, os quais podem levar anos para degradarem (SOUSA, 2012; CHEN et al., 2006; KANG et al., 2018).

A FIG. 3 apresenta a estrutura química do poli (adipato co-tereftalato de butileno) - PBAT.

FIGURA 3- Estrutura do poli (adipato co-tereftalato de butileno) - PBAT
(fonte: HERREIRA et al., 2013).

O PBAT é um polímero flexível, e tem um elevado alongamento à ruptura, assim como muitos poliésteres biodegradáveis, apresenta boas propriedades hidrofílicas. As principais limitações do PBAT são a sua baixa resistência térmica e mecânica (SOUSA, 2012; ADRAR et al., 2018).

Este polímero biodegradável é um dos mais promissores, devido sua capacidade de processamento por extrusão em equipamentos convencionais de polímeros termoplásticos e por sua degradação que acontece rapidamente. A sua suscetibilidade ao ataque biológico somado a boa processabilidade em linhas de extrusão vem aumentando o interesse por este polímero, apresentando grande relevância em aplicações industriais, principalmente na área de filmes para agricultura, embalagem para alimentos, sacolas de compras e sacos para adubos (FUKUSHIMA et al., 2013; WU et al., 2017).

3.5. Blendas poliméricas

Blendas poliméricas podem ser desenvolvidas por meio da mistura de dois ou mais polímeros, resultando em um material que reúna as propriedades de ambos os componentes, portanto, com melhores propriedades para uma dada aplicação que cada um dos polímeros que a compõe separadamente. Deste modo, as blendas poliméricas tornaram-se uma alternativa de baixo custo para melhorar o desempenho dos polímeros convencionais sem que tenha a necessidade de desenvolvimento de novos materiais ou aditivos. Atualmente, grande parte das pesquisas em blendas poliméricas estão aplicadas ao desenvolvimento de misturas contendo polímeros biodegradáveis e na compreensão de como controlar a morfologia destes materiais (CALLISTER, 2011; MUTHURAY et al., 2014).

As blendas poliméricas podem ser classificadas como miscíveis, parcialmente miscíveis e imiscíveis, no qual polímeros miscíveis termodinamicamente tendem a formar quando misturados, em uma fase homogênea. Sua miscibilidade entre dois ou mais componentes dependerá de sua compatibilidade química, quantidades relativas e da geometria da fase dispersa (forma das partículas, tamanho e distribuição) e das condições de temperatura e pressão que é submetida por um período (CALLISTER, 2011; LUNA et al., 2015).

Deste modo, as propriedades de uma blenda estão diretamente relacionadas à sua morfologia, que são determinadas por fatores como: propriedades reológicas dos polímeros formadores da blenda, compatibilidade e miscibilidade dos componentes, tensão interfacial entre os polímeros constituintes da blenda, condições de processamento e composição da mistura (CALLISTER, 2007).

3.5.1. Blenda de PLA/PBAT

A blenda de PLA/PBAT é produzida pela empresa BASF, denominado de Ecovio® (FIG. 4). Esta blenda polimérica comercial, obtida pelo processo de extrusão entre o poli (adipato co-tereftalato de butileno) – PBAT e o poli (ácido láctico) – PLA. Trata-se de uma blenda totalmente biodegradáveis e completamente compostável. Seu processo de decomposição poderá ocorrer em poucas semanas em ambientes propícios (MUTHURAY et al., 2014; BASF, 2018).

Aliando as propriedades mecânicas de seus materiais constituintes, o Ecovio® apresenta propriedades como termoplástico semiflexível com boas propriedades mecânicas, estrutura morfológica semicristalina, aspecto opaco e estabilidade termicamente até 230 °C (BASF, 2018; ARRUDA et al., 2016).

O Ecovio® pode ser aplicado em sacolas plásticas, embalagens para cosméticos, embalagens para revistas, filmes, tubetes para reflorestamento, entre outras aplicações. O Ecovio® por se tratar de uma blenda constituída por dois polímeros termoplásticos pode ser reprocessado e reciclado, no qual seus produtos podem ser obtidos por extrusão, injeção, sopro ou termoformagem (SILVA et al., 2014; AGNELLI et al., 2012; BASF, 2018).

FIGURA 4- Blenda comercial (Ecovio®) formada por PLA/PBAT
(fonte: BASF, 2018).

3.6. Compósitos

Atualmente inúmeras áreas tecnológicas procuram por material com características específicas que não podem ser obtidas por materiais isolados ou convencionais. Os compósitos podem ser definidos de diferentes formas. Contudo, dentre as inúmeras definições de compósitos, uma definição genérica e ampla refere-se, sendo um material formado a partir de pelo menos duas fases, uma fase contínua (matriz) e uma fase dispersa (reforço) em uma escala microscópica ou macroscópica de maneira a obter um novo

material, com propriedades que não seria possível através de polímeros separados (CALLISTER, 2011).

Os compósitos são considerados como partículas onde toda sua dimensão é uniforme e igual, são comumente esféricas ou floculadas. Esses compósitos podem ser divididos em 2 classes: os compósitos de fibras contínuas e os compósitos de fibras descontínuas, cada tipo de compósito pode ser aplicado de uma forma, devido a sua variação em reforço, formação de volume ou modificação da matéria (MOTISUKE et al., 2012; SOUZA et al., 2013).

As propriedades dos compósitos dependeram, dentre diversos fatores, de suas fases constituintes e suas quantidades relativas. As propriedades mecânicas ainda poderão depender das características da fase dispersa que dependerá de seu tamanho, distribuição, da interface entre as fases e a quantidade de cada componente no sistema (CALLISTER, 2011).

3.7.1 Classificação dos compósitos poliméricos

Os compósitos poliméricos podem ser classificados como compósitos reforçados com partículas ou fibras, ou compósitos estruturais.

Os compósitos reforçados com fibras são classificados como curtas e longas (contínuas), baseando-se numa relação de forma λ , conforme a equação 1, onde $\lambda \leq 100$ representam as fibras curtas e $\lambda > 100$ consideram-se longas.

$$\lambda = L.D^{-1} \quad (1)$$

Onde (L) representa o comprimento da fibra e (D) o seu diâmetro.

Dentre os tipos de compósitos ainda pode-se citar os compósitos reforçados com partículas grandes ou nanométricas. Baseado na relação de forma λ , apresentada na equação 1, quando $\lambda \leq 1$ considera-se que o material é particulado. Dentre este material particulado, diâmetros iguais ou menores que 100 nm caracterizam partículas nanométricas (CALLISTER, 2011).

Os compósitos estruturais mais comuns são os laminados e os painéis sanduíche. Suas propriedades dependem não só das propriedades dos materiais

constituintes, mas também de projeto geométrico de vários elementos estruturais (CALLISTER, 2011).

A FIG. 5 apresenta o esquema de classificação dos diferentes tipos de compósitos.

FIGURA 5 – Esquema de classificação para os diversos tipos de compósitos (CALLISTER, 2011).

3.7.2. Interação entre a matriz polimérica e a fase dispersa

A interface entre o reforço e a matriz de um compósito representa um dos principais desafios na fabricação deste material, pois um dos requisitos para a obtenção de boas propriedades em compósitos é uma adequada adesão interfacial entre os materiais que o compõem. Esta interface é o encontro entre as superfícies dos componentes dos compósitos por um determinado mecanismo de interação. Existem essencialmente duas formas para o aumento da adesão reforço-matriz, a primeira forma é alterar a superfície do reforço e a segunda é modificar as propriedades da matriz. Dentre estas possibilidades, a adesão pode ocorrer principalmente por meio de três mecanismos de ligações ou até

mesmo uma combinação entre estes mecanismos, conforme descrito a seguir (SOUZA et al., 2013; NOGUEIRA, 2012).

- Método mecânico ou interação mecânica: Esta interação inclui os efeitos de ancoragem e atrito, devido às irregularidades nas superfícies da matriz e da fibra. Sabe-se que a rugosidade de um material está diretamente relacionada com a eficiência da ligação. Contudo, poucos são os casos em que a interação mecânica funciona por si só, em geral necessita-se de outro mecanismo como complemento.

- Métodos físicos: Este método utiliza tratamento por corona, plasma ou aquecimento, com este tipo de tratamento não há alteração da composição química da fase dispersa, sua junção acontecerá por meio de ligação mecânica entre a fase dispersa e a matriz pela ação da força de Van der Waals.

- Métodos químicos: Quando no compósito existem constituintes que não são miscíveis entre si, há a possibilidade de adicionar um agente compatibilizante. Os compatibilizantes são comumente conhecidos como agentes de acoplamento sendo estes capazes de formar ligações mais fortes como ligações covalentes e iônicas que necessitam de maior energia para serem rompidas (SOUZA et al., 2013; SU et al., 2014).

3.7. Resíduos de cascas de ovos de galinha

Os ovos de galinha são considerados alimentos fundamentais para alimentação, mais completos para a saúde humana, assim como o leite. O ovo está entre os produtos com baixo custo de aquisição e seu valor nutricional representa alta fonte de proteínas e nutrientes como ácido fólico, ferro, selênio e vitaminas A, B, D, E e K. Nos últimos 10 anos 40 % da produção de ovos mundial teve sua origem em nosso país. Para a indústria isso proporciona vantagens econômicas pelo grande consumo de ovos pela população e pela exportação nas formas de ovos em pó, líquido ou congelado, porém esse processo gera um número expressivo de resíduos de cascas de ovos (OLIVEIRA et al., 2009; WANG et al., 2016).

A casca do ovo é rica em minerais como carbonato de cálcio, fosfato de cálcio e carbonato de magnésio, e representa cerca de 10 % do peso do ovo. Os resíduos gerados por este material chegam a cerca de 5,92 milhões de toneladas ao ano, em escala mundial. Entretanto, parte destas cascas é utilizada por vários seguimentos da

indústria como de cosméticos, suplementos, alimentares e fertilizantes. Ainda assim, esse resíduo apesar de representar um grande valor econômico é pouco valorizado, e constitui um resíduo industrial volumoso e potencialmente poluente em razão de seu teor de proteínas (PERES et al., 2010; AZEVEDO et al., 2014).

A alta concentração de carbonato de cálcio e fosfato de cálcio presente nas cascas de ovos podem ser utilizadas em rotas de sintetização, apresentando utilização para reposição de estruturas semelhantes com a fase mineral dos ossos e dentes, devido sua excelente biocompatibilidade e boa bioatividade. Dentre as sínteses realizadas com o carbonato de cálcio destaca-se principalmente a síntese de fosfato de cálcio para obtenção de bio-hidroxiapatita (HAp ou HAP) que é uma das cerâmicas mais utilizadas em aplicações ortopédicas e odontológicas além de inúmeras outras aplicações tecnológicas, tais como: removedor de metais pesados em solução, adsorvente em cromatografia líquida e catalisador de reações químicas (GOMES et al., 2012; PERES et al., 2010).

3.8. Fosfato de cálcio e Fosfato Tricálcico

Dentre os fosfatos de cálcio os mais estudados são aqueles que possuem estruturas chamadas de apatitas, cuja sua família apresenta estruturas cristalinas. Essa estrutura é responsável pelo fosfato de cálcio ser tão importante biologicamente, pois possuem semelhança com a composição pertencente ao esmalte dos dentes, na dentina, na cementação, nos tecidos ósseos e em ocorrências patológicas, como cálculos dentários e renais, cristais salivares e calcificações em geral (MENDES FILHO, 2006; CARLO et al., 2018; CALIMAN, 2011).

O fosfato tricálcico (TCP) é obtido a partir da síntese do fosfato de cálcio e se apresenta sob duas formas a alfa (α) e a beta (β), sendo a mais empregada a forma β . O fosfato tricálcico - β (TCP- β) não pode ser precipitado em soluções aquosas, é produzido em altas temperaturas ou por reação em via úmida, o TCP- β é ocasionalmente chamado de “cinza de osso” (DOROZHKIN, 2009; GUTIERRES et al., 2006; AZEVEDO et al., 2014).

O TCP- β puro não recebe grande atenção na biomedicina, devido à sua rápida velocidade de absorção, a qual limita a sua aplicação nesta área. Já em compostos

bifásicos estabilizados com HAp, tem apresentado resultados satisfatórios, tendo seu interesse na área médica por ser utilizado como cimento ósseo de fosfato tricálcico - β combinado com a HAp (DOROZHKIN, 2009; CLARK et al., 2017).

3.9. Hidroxiapatita

As apatitas possuem formula química geral $M_{10}(YO_4)_6Z_2$, entretanto, pode ocorrer trocas em seus sítios mudando-a. Entre a inversão mais comum está a que acontece no sítio Z, formando apatitas como: bromoapatita, cloroapatita, fluorapatita e hidroxiapatita. Estas estruturas receberam este nome de origem grega em virtude de “*apatites*” significar enganadora, em razão da sua capacidade de dificultar a identificação na função de compatibilidade com estruturas cristalinas (CALIMAN, 2011; CLARK et al., 2017).

Destaca-se entre as apatitas pertencentes à família dos fosfatos a hidroxiapatita, $Ca_5(PO_4)_3(OH)$, geralmente escrita como $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ para denotar que existem duas moléculas por célula unitária. A hidroxiapatita possui estabilidade em meio neutro e alcalino, apresenta propriedades isomorfas, excelente biocompatibilidade e similaridade com as estruturas cristalinas presentes nos tecidos ósseos (VOLKMER, 2006; CARLO et al., 2018).

Sua estrutura formada por cálcio é pertencente ao sistema hexagonal com grupo espacial $P6_3/m$, o qual é caracterizado por sua simetria perpendicular (ao longo do eixo C) com três eixos “a” equivalentes (a_1 , a_2 , a_3), formando ângulos de 120° entre si, como mostrado na FIG. 6 (ELLIOTT, 2002; RODRIGUES et al., 2018).

A hidroxiapatita está entre as cerâmicas de múltiplos estudos, devido a sua grande importância em diferentes áreas da medicina como ortopedia e odontologia.

FIGURA 6 - Estrutura dos íons ao longo do eixo C pertencentes a hidroxiapatita (fonte: ELLIOTT, 2002).

3.10. Obtenção de bio-hidroxiapatita

Existem inúmeros métodos para a síntese de HAp, dentre estes destacam-se as reações por estado sólido e as reações por via úmida (RIVERA et al., 2009).

As reações por estado sólido é um método que requer temperaturas elevadas (cerca de 950 °C) e tratamentos térmicos durante longos períodos. Apresenta desvantagens como falta de reprodutibilidade, caráter multifásico e perda de estequiometria (devido à volatilização de reagentes a altas temperaturas), assim a síntese por via úmida é a escolha mais viável (FERREIRA et al., 2017).

A precipitação por via úmida é o método mais empregado pela sua simplicidade, baixo custo e fácil aplicação na produção industrial. O método de precipitação por via úmida acontece em estágios:

No primeiro estágio da reação, os íons cálcio e fosfato em solução alcalina precipitam na forma de fosfato de cálcio amorfo. O fosfato de cálcio amorfo se forma primeiramente porque é a fase de maior solubilidade, com o decorrer do envelhecimento do precipitado dentro da solução mãe, essa fase se transforma seguidamente por dissolução e recristalização nas fases menos solúveis, no caso, a hidroxiapatita. Para síntese a partir de fosfatos de cálcio em um pH acima de 7,0 na primeira fase é obtida o fosfato de cálcio amorfo (mais solúvel), que lentamente se transforma em HAp (menos solúvel) (WUA et al., 2016; AZEVEDO et al., 2014).

Por essa razão, é de extrema importância para obtenção de HAp, que os processos de envelhecimento dentro da solução mãe sejam longos e com um rigoroso controle de pH. A reação por via úmida que acontece por meio de precipitação pode ocorrer por meio de uma reação entre sais que contenham o grupo fosfato e o íon cálcio ou então por uma reação ácido-base (CALIMAN, 2011).

A reação entre os sais de fosfato e cálcio pode acontecer, por exemplo, entre nitrato de cálcio $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ e fosfato de amônio $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, entretanto, outras combinações de sais de cálcio e fosfato são possíveis, comumente emprega-se, hidróxido de amônio para elevar o pH da solução para manter a solução acima de pH 7,0. A desvantagem deste método se apresenta, devido sua sensibilidade às concentrações dos reagentes e do pH da solução, em outras palavras, caso não haja um controle rigoroso, o processo pode obter fases indesejadas na sinterização da HAp (CALIMAN, 2011; CLARK et al., 2017).

A reação ácido-base que consiste, na adição gota a gota de ácido fosfórico, H_3PO_4 , na suspensão de hidróxido de cálcio, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, em agitação, conforme a reação descrita na equação (2).

A utilização desse método por boa parte da comunidade científica, é devido a sua conveniente aplicação industrial, pois apresenta como subproduto da reação somente água, não sendo necessários tratamentos posteriores para purificação. Ainda pode-se ressaltar que os reagentes utilizados são de baixo custo e de fácil acesso (VOLKMER, 2006; MENDES FILHO, 2006).

Esta técnica permite que ao final do processo de síntese, seja possível a realização de sinterização em temperaturas e tempos menores que o atribuído a fusão da HAp, obtendo um material sólido e estável.

3.11. Aplicações da bio-hidroxiapatita

A biocompatibilidade da HAp permite que realize ligações de natureza química com o tecido ósseo permitindo o crescimento do osso ao redor do implante em curto período, esta atividade é chamada de osteocondução, e faz da HAp a escolha certa para a composição de próteses e implantes (GUASTALDI et al., 2010; CARLO et al., 2018).

Depois de implantada e de fornecer sustentação para o crescimento ósseo, a HAp passa a ser absorvida pelo organismo, o que resulta no tecido ósseo regenerado no lugar onde o implante de HAp foi alojado (KARLSSON, 1990; CUNHA et al., 2010).

Segundo Wu et al. (2016) a HAp começa a ser reabsorvida gradualmente após o implante. Essa característica é desejada em alguns tipos de implantes, de modo que ela possa ser degradada lentamente enquanto o osso em formação é repostado, evitando a presença de material estranho ao organismo durante longos períodos (VAZ, 2007).

Na área odontológica sua aplicação consiste em evitar perda óssea após a restauração ou extração de dentes. Esta aplicação é semelhante à sua utilização na ortopedia, promovendo a ligação entre o implante e o tecido ósseo (CUNHA et al., 2016).

Por sua alta capacidade de adsorver ou absorver moléculas, o seu uso como adjuvante farmacotécnico em ação prolongada de drogas anticancerígenas auxiliando no tratamento de tumores ósseos. A manipulação e aplicação de drogas anticancerígenas em agrupamentos porosos de HAp permite que o tratamento da doença seja realizado com a liberação gradual da droga no organismo. Esta técnica é atraente, pois, combina o tratamento do tumor com a substituição do osso doente (VOLKMER, 2006; VAZ, 2007; MENDES FILHO, 2006).

3.12. Utilização de cascas de ovos brancos de galinha para a síntese de bio-hidroxiapatita

A procura por novos métodos para a obtenção de HAp é de grande interesse, devido à importância deste material na aplicação biomédica. A utilização de resíduos provenientes da agroindústria do ovo contribui para a preservação do meio ambiente, agrega valor a este abundante resíduo, e proporciona economia na obtenção de HAp, devido à sua simplicidade, baixo custo e facilidade de implementação do método. A escolha de matérias-primas obtidas a partir de resíduos agroindustriais, como fontes de cálcio e fósforo é a chave para a elaboração de novos procedimentos (AHMED et al., 2008).

Partindo deste princípio, a utilização de cascas de ovos brancos de galinha como fonte alternativa de íons de cálcio no método da síntese de bio-hidroxiapatita se faz viável e de grande interesse, uma vez que, este é um resíduo rico em carbonato de cálcio e que não possui grandes incentivos para o reaproveitamento. As cascas de ovos são uma fonte renovável de carbonato, ou seja, são constantemente produzidas em quantidades significativas, e ainda apresentam pureza elevada quando comparadas às jazidas naturais ou outras fontes como conchas e ostras (NAYAR et al., 2009).

Pode-se acrescentar que no mundo atual é necessário diminuir a devastação que está sendo causada ao meio ambiente e para isso é necessário o desenvolvimento de tecnologias limpas, não tóxicas e ambientalmente amigáveis para procedimentos de síntese (NAYAR et al., 2009; AHMED et al., 2008).

3.13. Aplicação de radiação ionizante em compósitos de blendas poliméricas biodegradáveis reforçadas com bio-hidroxiapatita

A radiação ionizante pode ser uma radiação eletromagnética (raios gama (γ) e raios X) ou de partículas como, por exemplo, radiação alfa (α) e beta (β), além de feixes de partículas aceleradas (elétrons, neutros, prótons, dêutrons, produtos de fissão, entre outros) (CHARLESBY, 1960).

Na radiação ionizante, quando os elétrons acelerados transferem a energia para o material absorvidor, as ligações eletrônicas do absorvedor se quebram e os elétrons mudam sua trajetória, originando estado ionizando ou excitado, gerando íons ou

radicais livres. Somente se considera ionização quando a radiação ionizante possui energia superior à energia da ligação química e ao interagir com os elétrons das moléculas localizadas ao longo da sua trajetória perde sua energia. O resultado da absorção desta energia pode gerar a quebra ou o rearranjo das cadeias químicas (CHAPIRO, 1962; BUSTOS et al., 2015; NOGUEIRA, 2012).

A interação da radiação ionizante com a matéria pode ocorrer por diversos processos sendo os mais importantes a “produção de pares”, “efeito fotoelétrico” e “efeito Compton”. A predominância de um efeito sobre o outro, depende da energia do fóton ou partícula incidente e do número atômico dos elementos químicos que constituem as moléculas da matéria (RATNAM, 2015; SATTIA et al., 2015).

A aplicação da radiação ionizante (raios gama ou feixe de elétrons) como método para esterilização a frio de materiais é chamado de radioesterilização. Aplicada a mais de 45 anos em áreas como medicina, indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia, esta técnica permite a redução ou eliminação de carga microbiana. Entre as principais vantagens do uso de radiação ionizante como processo de esterilização está a ausência de iniciadores químicos e o processo pode ser utilizado em temperatura ambiente. Atualmente observa-se um crescimento no uso da radiação ionizante para a esterilização de equipamentos médicos, instrumentos cirúrgicos e biomateriais (OLIVEIRA, 2006; ISO, 2015).

3.14. Técnicas de caracterização

3.14.1. Difração de raios X (DRX)

A difração de raios X é uma técnica bastante utilizada para a caracterização de HAp, pois permite obter informações importantes sobre os parâmetros de rede, cristalinidade e fases presentes nas cerâmicas de HAp (CALIMAN, 2011).

Esta análise consiste em um feixe de raios X que incide sobre um conjunto de planos cristalinos, cuja distância interplanar é d , e o ângulo de incidência é θ . Os feixes refletidos por dois planos subsequentes apresentarão o fenômeno da difração, conforme esquema representado na FIG. 7.

FIGURA 7 – Difração de raios X (fonte: CALIMAN, 2011).

A equação 3 representa lei de Bragg

$$n\lambda = 2 d \sin \theta \quad (3)$$

Onde:

n = representa a ordem de difração,

λ = comprimento de onda da radiação incidente,

d = distância interlamelar

θ = ângulo de difração.

3.14.2. Espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho com transformada de Fourier é bastante empregada para a confirmação da fase HAp produzida a partir de fontes alternativas, confirmando a presença dos picos e bandas principais pertencentes a estrutura de HAp (LEVITT, 2012).

Esta técnica consiste em fornecer informações a respeito da identidade, pureza e presença de grupos funcionais característicos em compostos

orgânicos e inorgânicos, através de espectro infravermelho de absorção ou emissão de um sólido, líquido ou gás. Um espectrômetro FTIR coleta simultaneamente dados de alta resolução espectral em uma ampla faixa, conferindo vantagem significativa sobre um espectrômetro dispersivo e medindo a intensidade em uma faixa estreita de comprimentos de onda. A técnica também é importante, devido a sua sensibilidade na determinação dos grupos moleculares da HAp através da utilização de laser infravermelho e geração de espectros (BLAKESLEE et al., 1971).

A FIG. 8 apresenta um modelo de curvas de espectroscopia no infravermelho (FTIR).

FIGURA 8 - Curvas de FTIR (fonte: BLAKESLEE et al., 1971).

3.14.3. Termogravimetria (TG)

As análises por termogravimetria são baseadas no estudo da variação de massa de uma amostra resultante de uma transformação física ou química em função do tempo ou da temperatura. Os resultados deste tipo de análise são as curvas de variação de massa *versus* temperatura, chamadas de curvas termogravimétricas, e suas derivadas, estas curvas apresentam informações sobre estabilidade térmica e composição da amostra (MENDES, 2006).

A FIG. 9 apresenta modelos de curvas termogravimetria (TG) e termogravimetria derivada DTG.

FIGURA 9 - Curvas TG e DTG (fonte: CHAPIRO, 1962)

3.14.4. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A análise térmica por calorimetria exploratória diferencial é utilizada para determinar mudanças físicas ou químicas que são acompanhadas por ganho ou perda de calor. Quando as substâncias são aquecidas, várias transformações físicas ou químicas envolvendo absorção ou evolução de calor podem ocorrer. Como eventos térmicos de materiais poliméricos pode-se citar: (MARQUES, 2011).

- Temperatura de transição vítrea (T_g): Temperatura abaixo da qual a cadeia principal do polímero não possui mobilidade.
- Temperatura de fusão (T_m): Somente ocorre em materiais com um mínimo de cristalinidade. Em materiais totalmente amorfos este evento não ocorre.
- Grau de cristalinidade (X_c): Propriedades físicas como dureza, resistência mecânica, densidade, entre outras, variam consideravelmente com o percentual de cristalinidade, que relaciona a quantidade de material cristalino e material amorfo de uma amostra.
- Temperatura de cristalinidade (T_c): Entalpia de fusão ΔH_m e Entalpia de cristalização (ΔH_c)

3.14.5. Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (MEV-FEG)

O microscópio de varredura eletrônica utiliza a interação de elétrons com a amostra, basicamente elétrons primários, emitidos por uma fonte de elétrons contida no equipamento, interagindo com a amostra e os mesmos elétrons, ou elétrons provenientes desta interação, são captados pelos detectores do equipamento para a formação da imagem. A determinação da ampliação da imagem é simples, uma vez que não estão envolvidas lentes (CANEVAROLO, 2006).

Este tipo de equipamento é dividido em duas partes: câmara de amostras e a coluna. A coluna trabalha mantida sob vácuo e contém em sua parte superior um canhão de elétrons, abaixo deste canhão existem lentes magnéticas que são responsáveis por formar um fino feixe de elétrons que incidem sobre a amostra. A fonte mais comum para elétrons é um filamento de tungstênio aquecido a 270 K (CANEVAROLO, 2012).

A FIG. 10 apresenta de forma esquemática o microscópio eletrônico de varredura com fonte de emissão de campo.

FIGURA 10 - Representação esquemática do MEV-FEG
(fonte: CANEVAROLO, 2006).

3.14.6. Temperatura de distorção térmica (HDT)

A temperatura de distorção térmica é um dos métodos utilizados para medir a temperatura de amolecimento dos materiais poliméricos. Este ensaio consiste em determinar a temperatura na qual um corpo de prova padronizado deforma em 0,24 mm, submetido a aquecimento a uma taxa constante de $0,2 \pm 0,2$ °C por minuto e a uma carga de 0,455 MPa ou 1,82 MPa (CANEVAROLO, 2012).

A FIG. 11 apresenta o esquema do equipamento utilizado para o teste de HDT.

FIGURA 11 - Equipamento para teste de HDT (fonte: CANEVAROLO, 2006).

3.14.7. Ponto de amolecimento Vicat

O ponto de amolecimento Vicat é um dos métodos utilizado para a medição do ponto de amolecimento de materiais poliméricos. O ensaio consiste em determinar a temperatura na qual uma agulha de ponta plana com 1 mm² de área, penetra um corpo de prova padronizado a uma profundidade de 1 mm, sujeita a uma carga constante e pré-determinada (CANEVAROLO, 2012).

A FIG. 12 apresenta o esquema do equipamento utilizado para o ponto de amolecimento Vicat.

FIGURA 12 - Equipamento de determinação do ponto de amolecimento Vicat
(fonte: ASTM 1525, 2000).

3.14.8. Ensaio de resistência à tração

O ensaio de tração avalia as propriedades mecânicas dos polímeros através da tração monitorada de um corpo de prova, obtendo-se como leitura a tensão aplicada e a deformação ocasionada no mesmo momento.

A partir dos resultados obtidos nos ensaios de tração, podem-se calcular os seguintes parâmetros: módulo de elasticidade, tensão e deformação na força máxima, tensão e deformação na ruptura (SALES, 2014).

A tensão nominal (σ_t) é definida como sendo a razão entre a força de tração (F) e a área da seção transversal inicial do corpo de prova (A_o), conforme expresso na equação 4.

$$\sigma_t = \frac{F}{A_o} \quad (4)$$

A deformação nominal (ε) é definida como sendo a razão entre o incremento do comprimento do corpo de prova ($L-L_0$) e o comprimento inicial do corpo de prova (L_0), sendo expressa pela equação 5.

$$\varepsilon = \frac{(L-L_0)}{L_0} \quad (5)$$

O módulo de elasticidade (E) é definido como sendo a razão entre a tensão nominal (σ_i) e a deformação (ε) correspondente, conforme expresso pela equação 6.

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (6)$$

3.14.9. Ensaio de resistência à flexão

O ensaio de determinação das propriedades de flexão consiste em um sistema de carregamento de força de três pontos, isto é, o corpo de prova permanece apoiado sobre dois pontos enquanto uma carga é aplicada no centro do corpo de prova (terceiro ponto) conforme apresentado por Sales (2014) e Brow (2002) na FIG. 13.

FIGURA 13– Representação esquemática do ensaio de flexão (fonte: SALES, 2014)

3.14.10. Ensaio de resistência ao impacto Izod

Devido a sua natureza viscoelástica os materiais poliméricos apresentam um comportamento mecânico extremamente sensível a taxas de deformação. Os testes de impacto proporcionam solicitações mecânicas extremas para os materiais poliméricos, ou seja, estes materiais são submetidos a tensões elevadas em um espaço de tempo muito curto. A resistência ao impacto de um material depende de uma série de fatores dentre eles a temperatura de realização do ensaio, velocidade do impacto durante o teste, sensibilidade aos entalhes padronizados, força recebida pelo corpo de prova, geometria e condições de confecção do corpo de prova entre outros (SALES, 2014).

Grande parte dos ensaios de impacto são realizados em corpos de prova com entalhe, o objetivo de se utilizar este tipo de corpo de prova é simular o processo de ruptura de um material que apresente um defeito oriundo de sua constituição química ou de seu processo de fabricação (CANEVAROLO, 2006).

Os ensaios de impacto Izod são realizados através de uma máquina de impacto pendular podem ser modelados, de uma maneira simplificada, através de uma massa presa a extremidade de um pêndulo simples, que atinge um corpo de prova em um local predeterminado conforme FIG. 14.

FIGURA 14- Diagrama simplificado de uma máquina de ensaios de impacto (fonte: CANEVAROLO, 2012).

A energia de impacto necessária para romper um corpo de prova pode ser calculada conforme a equação 7 abaixo.

$$\frac{1}{2}mv^2 = mg(h_0 - y) \quad (7)$$

Na equação 7 o lado direito representa a perda de energia potência do martelo após romper o corpo de prova ao atingir a posição de repouso. Nesta equação ***m*** representa a massa do pêndulo, ***v*** a velocidade máxima do martelo, ***g*** o valor da aceleração da gravidade e ***y*** a altura do martelo após romper o corpo de prova.

O ensaio de impacto Izod é um ensaio de impacto que utiliza uma máquina pendular utilizando um corpo de prova com entalhe, conforme FIG. 15.

FIGURA 15- Ensaio de impacto Izod
(fonte: BROWN, 2002)

3.14.11. Validação do processo de esterilização

A validação é o mecanismo utilizado para assegurar que qualquer procedimento, processo, equipamento, material, atividade ou sistema realmente conduza aos resultados esperados (*World Health Organization* - WHO, 2007).

A validação da esterilização visa estruturar, em um modelo padronizado, a destruição de todas as formas de vida microbiana (bactérias e fungos) por um processo que utiliza agentes físicos ou químicos. A prática da esterilização visa a incapacidade de reprodução de todos os organismos presentes no material a ser esterilizado, causando a morte microbiana até que a probabilidade de sobrevivência do agente contaminante seja menor que 1: 1.000.000 (PINTO et al., 2010).

3.14.11.1. Carga microbiana (Biocarga ou *Bioburden*)

Segundo a farmacopeia brasileira 5ª edição o teste de carga microbiana (Biocarga ou *Bioburden*) tem como objetivo de validação ou revalidação de um processo de esterilização ou controle do processo de fabricação, avaliando por meio de uma estimativa da população de microrganismos nas superfícies de equipamentos, áreas, mesas, paredes, frascos de produtos vazios, produtos a granel. No caso de produtos para a saúde, é uma parte importante na avaliação da eficiência do processo de esterilização aplicado, sendo parte integrante da validação e controle do processo.

Os ensaios de biocarga seguindo a farmacopeia brasileira 5ª edição (Parte I), é realizado a contagem da população de microrganismos que apresentam crescimento visível, em 48 horas e 5 dias de análise, em meios de cultura ágar caseína-soja a $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e ágar sabouraud-dextrose a $22,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.14.11.2. Ensaio de esterilidade

O ensaio de esterilidade consiste na imersão direta asséptica do produto sujeito à esterilização num meio de cultura que promova o crescimento microbiológico seguido de incubação durante um determinado período. Este ensaio tem como objetivo a validação da eficiência do processo empregado para esterilização segundo PINTO et al. (2010) o material não deve apresentar nenhum tipo de crescimento bacteriano ou fúngico.

O ensaio de esterilidade seguindo a farmacopeia brasileira 5ª edição (Parte I), consiste na contagem da população de microrganismos (bactérias e fungos) que apresentam crescimento visível, em 7 e 14 dias de análise, em meios de cultura ágar caseína-soja a $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e ágar sabouraud-dextrose a $22,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.14.12. Teste biológico

3.14.12.1. Teste de citotoxicidade “*in vitro*” pelo método de incorporação do vermelho neutro

Segundo órgão internacional de padronização (*Internacional Standard Organization*, ISO 10993), o teste de citotoxicidade “*in vitro*” é o primeiro teste para avaliar a biocompatibilidade de qualquer material para implante. Após a comprovação

deste ensaio e de sua não toxicidade pelo teste “*in vitro*”, o estudo da biocompatibilidade do material pode ser aplicado em animais de laboratório (SCHMALZ et al., 1995).

O teste de citotoxicidade “*in vitro*” pelo método de incorporação do vermelho neutro consiste basicamente em colocar o material diretamente em contato com uma cultura de células de mamíferos, verificando-se as alterações celulares por diferentes mecanismos, entre os quais a incorporação de corantes vitais ou a inibição da formação de colônias celulares. A vantagem deste método está em ser rápido, sensíveis, reprodutível e de baixo custo (SCHMALZ et al., 1995; PITHON et al., 2008).

A FIG. 16 apresenta a curva de viabilidade celular no teste de citotoxicidade pela incorporação de vermelho neutro.

FIGURA 16 – Curvas de viabilidade celular pelo teste de citotoxicidade pela incorporação de vermelho neutro (fonte: PITHON et al., 2008).

3.14.13. Análise de variância

Conforme Montgomery e Runger (2012) a análise de variância (ANOVA) é uma ferramenta que permite determinar se há diferenças entre as médias de um determinado conjunto de dados.

A TAB. 1 apresenta o resumo dos cálculos estatísticos realizados para a análise variância.

TABELA 1 – Tabela de resumo ANOVA.

Fonte de Variação	Soma de Quadrados	Graus de liberdade	Média Quadrática	F
Tratamentos	$SQ_{\text{tratamentos}}$	$a - 1$	$MQ_{\text{tratamentos}}$	$\frac{MQ_{\text{tratamentos}}}{MQ_{\text{erro}}}$
Erros	SQ_{erros}	$a(n - 1)$	MQ_{erro}	
Total	SQ_{total}	$an - 1$		

Uma vez calculado o valor F para o conjunto de dados estudados, este deve ser comparado com os valores tabelados. Caso o valor obtido seja inferior ao valor tabelado, considera-se que não há diferença significativa entre as médias, caso o valor seja superior ao valor F tabelado, considera-se que há diferença em pelo menos uma das médias avaliadas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

Para a obtenção e desenvolvimento deste trabalho foram utilizados os seguintes materiais:

- ❖ Blenda de PLA/PBAT - Ecovio®, Basf Corporation.
- ❖ Cascas de ovos brancos de galinha – resíduos provenientes de restaurantes e padarias da região de Ribeirão Pires - São Paulo.
- ❖ Ácido fosfórico 2M, Labsynth®.

4.2. Obtenção do bio-carbonato de cálcio a partir de cascas de ovos brancos

Para a remoção das impurezas, as cascas de ovos passaram pelos processos de limpeza e de redução de partículas como descritos a seguir:

Limpeza: Neste processo as cascas foram lavadas com água comum para retirada dos resíduos de ovos, seguida de 10 ciclos de fervura em água destilada, à temperatura de ebulição da água, por um período de 4 horas. Após este período a água foi trocada e o ciclo repetido. Após esta etapa as cascas foram secas em estufa com circulação de ar por 2 horas a 100 ± 2 °C (FIG. 17).

FIGURA 17 - Estufa com passagem de ar usada para a secagem do material (fonte: Autor).

Redução do tamanho das partículas: Após a secagem as cascas de ovos foram moídas em um moinho de bolas por 10 horas (FIG. 18). O material resultante da moagem foi seco em estufa com circulação de ar por 24 horas a 100 ± 2 °C para a redução de umidade para menor que 2 %. Após a secagem as partículas foram classificadas por um agitador mecânico por 8 horas, com obtenção de partículas com tamanho médio ≤ 20 μm (FIG. 19). A FIG. 20 apresenta o carbonato de cálcio obtido após o processo de classificação granulométrica e padronização do tamanho de partículas.

FIGURA 18 – Moinho de bolas (fonte: Autor).

FIGURA 19 – Agitador mecânico (fonte: Autor).

FIGURA 20 – Bio-carbonato de cálcio seco, após o processo de classificação granulométrica (tamanho de partículas $\leq 20 \mu\text{m}$) (fonte: Autor).

A FIG. 21 apresenta de forma esquemática o processo de obtenção do carbonato de cálcio a partir das cascas de ovos brancos de galinha.

FIGURA 21 – Representação esquemática do processo de obtenção de carbonato de cálcio a partir das cascas de ovos brancos de galinha (fonte: Autor).

4.3. Obtenção de óxido de cálcio

O bio-carbonato de cálcio (obtido a partir das cascas de ovos brancos) foi submetido a um ciclo térmico de aquecimento a 800 °C por 3 horas, com taxa de aquecimento de 10 °C/min, para a obtenção do óxido de cálcio. A FIG. 22 apresenta o óxido de cálcio obtido após o ciclo térmico.

FIGURA 22 - Óxido de cálcio obtido do carbonato de cálcio (fonte: Autor).

A FIG. 23 apresenta de forma esquemática o processo de obtenção do óxido de cálcio a partir do carbonato de cálcio.

FIGURA 23 – Representação esquemática do processo de obtenção de óxido de cálcio a partir do carbonato de cálcio (fonte: Autor).

4.4. Obtenção da bio-hidroxiapatita

Para a obtenção da bio-hidroxiapatita foi utilizado o método por via úmida por reação de ácido-base, onde foram colocados 5,6 g óxido de cálcio em 150 mL de água destilada obtendo uma solução com pH igual a 11,0. Posteriormente foi adicionado na

solução 30 mL de ácido fosfórico a 2M por gotejamento controlado (aproximadamente 1,0 mL/min), sob a temperatura de $\pm 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ e agitação magnética. Após a completa adição da solução de ácido fosfórico, o produto obtido permaneceu por um período de ± 5 horas, sob agitação magnética à temperatura de $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ (pH por volta de 7,0) até que o líquido fosse totalmente evaporado formando uma pasta viscosa. Essa pasta foi colocada na estufa à temperatura de $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Em seguida, o produto foi desagregado com gral e pistilo, peneirado utilizando uma peneira com malha de $75\text{ }\mu\text{m}$ e sinterização à temperatura de $900\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 horas. Posteriormente as partículas foram moidas em moinho de bola por 2 horas e classificadas granulometricamente utilizando um agitador mecânico por 3 horas, para a obtenção de partículas de HAp com tamanho médio $\leq 10\text{ }\mu\text{m}$.

A FIG. 24 apresenta a bio-hidroxiapatita obtida (partículas $\leq 10\text{ }\mu\text{m}$).

FIGURA 24 - Bio-hidroxiapatita obtida no final do processo (partículas $\leq 10\text{ }\mu\text{m}$)
(fonte: Autor).

A FIG. 25 apresenta de forma esquemática o processo de obtenção de bio-hidroxiapatita a partir do óxido de cálcio.

FIGURA 25 - Representação esquemática do processo de obtenção de bio-hidroxiapatita (fonte: Autor).

4.5. Preparação dos compósitos

Os compósitos de HAp em matriz de PLA/PBAT, de acordo com as formulações apresentadas na TAB. 2, foram preparadas com a utilização de uma extrusora co-rotante de dupla-rosca HAAKE, modelo Rheomex 332p, com 16 mm e $L / D = 25$ da Thermo Scientific (FIG. 26) pertencente ao laboratório de processamento de materiais compósitos do Centro de Química e Meio Ambiente (CQMA) do IPEN/CNEN –SP. A extrusão foi realizada na faixa de temperatura de 145 a 155 °C (TAB. 3), velocidade de rotação das roscas de 60 rpm e velocidade de alimentação de 30 rpm. O material extrudado foi resfriado com jatos de ar seco para uma melhor estabilidade dimensional do material e submetido ao processo de granulação contínua (FIG. 27). Posteriormente os materiais compósitos PLA/PBAT/HAP preparados foram secos em estufa com passagem de ar à temperatura de 60 ± 2 °C por 4 horas para

secagem final e acondicionados em embalagens plásticas aluminizadas e com barreira a oxigênio. Posteriormente os materiais foram submetidos a injeção para confecção dos corpos de prova para os ensaios. Parte dos corpos de prova dos materiais compósitos foram submetidos a esterilização por radiação ionizante (radioesterilização) para avaliar a eficiência da dose de radiação de 25 kGy na esterilização dos materiais, bem como os efeitos do tratamento por irradiação nas suas propriedades.

TABELA 2 – Formulações dos compósitos.

Formulação	PLA (%, em massa)	PBAT (%, em massa)	HAP (%, em massa)
PLA/PBAT BLEND	50,0	50,0	0,0
PLA/PBAT /HAP 1 %	50,0	50,0	1,0
PLA/PBAT /HAP 3 %	50,0	50,0	3,0
PLA/PBAT /HAP 5 %	50,0	50,0	5,0

FIGURA 26 – Extrusora dupla rosca HAAKE Rheomex, Thermo Scientific (fonte: Autor).

TABELA 3 - Temperaturas utilizadas no processo de extrusão.

Zona	1	2	3	4	5	6
Temperatura (°C)	155	155	155	155	145	145

FIGURA 27 – Grânulos dos compósitos processados
(fonte: Autor).

A FIG. 28 apresenta de forma esquemática o processo de preparação dos compósitos PLA/PBAT/HAP.

FIGURA 28 - Representação esquemática do processo de preparação dos compósitos PLA/PBAT/HAP (fonte: Autor).

4.6. Injeção dos corpos de prova

As amostras da blenda de PLA/PBAT e dos compósitos PLA/PBAT/HAP obtidos no processo de extrusão foram mantidos em estufa, com passagem de ar, por 1 hora à temperatura de 60 ± 2 °C e, posteriormente alimentadas ao funil de alimentação da injetora de laboratório AX Plásticos®, modelo AX16I (FIG. 29), pertencente ao laboratório de processamento de materiais compósitos do Centro de Química e Meio Ambiente (CQMA) do IPEN/CNEN-SP, para a confecção dos corpos de prova utilizados nos ensaios de caracterização mecânica. A injeção dos corpos de prova foi realizada na faixa de temperatura de 100 a 110 °C (TAB. 4).

FIGURA 29 – Injetora AX Plásticos®, modelo AX16I
(fonte: Autor).

TABELA 4 – Temperaturas utilizadas para injeção dos corpos de prova.

Zona	1	2	3	4
Temperatura (°C)	100	110	110	100

A FIG. 30 apresenta de forma esquemática o processo de obtenção dos corpos de prova da blenda de PLA/PBAT e seus compósitos.

FIGURA 30 – Forma esquemática do processo de obtenção de corpo de prova
(fonte: SILVA, 2016).

4.7. Tratamento por Irradiação

O tratamento por irradiação foi realizado no acelerador de elétrons modelo “Dynamitron II” localizado no CTR-IPEN/CNEN-SP com dose de radiação de 25 kGy à temperatura ambiente e na presença de ar, com energia de 1,5 MeV, corrente de 2,81 mA e taxa de dose de 1,5 kGy/s.

4.8. Caracterização

4.8.1. Caracterização da bio-hidroxiapatita (HAp)

A bio-hidroxiapatita foi caracterizada por meio dos ensaios de difração de raios X (DRX), espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), termogravimetria (TG) e microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (MEV-FEG).

4.8.1.1. Difração de raios X (DRX)

Os espectros de DRX das amostras de HAp foram determinados em um difratômetro modelo Siemens - D5000 (FIG. 31), operado a 40 kV e 40 mA com radiação de CuK α ($\lambda = 15,4 \text{ \AA}$), com 2θ variando entre 2° e 10° .

FIGURA 31– Difrator de raios X modelo Siemens - D5000
(fonte: Autor).

4.8.1.2. Espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As análises por FTIR foram realizadas no equipamento Shimadzu modelo IRAffinity-1 acessório ATR, sendo esta técnica empregada para identificar as bandas características dos grupos funcionais presentes na bio-hidroxiapatita. Foi adotada para as análises a faixa de varredura de 4000 a 650 cm^{-1} .

4.8.1.3. Termogravimetria (TG)

As análises por TG foram realizadas no equipamento Mettler Toledo TGA modulo “TGA/SDTA851E” (FIG. 32) com temperatura inicial de 30 °C elevada a até 1200 °C com taxa de aquecimento de 10 °C/min em atmosfera inerte de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min.

FIGURA 32 – Mettler Toledo TGA modulo “TGA/SDTA851E”
(fonte: Autor)

4.8.1.4. Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (MEV-FEG)

As amostras foram crio-fraturadas em nitrogênio líquido, recobertas com carbono e analisadas no microscópio JEOL-JSM-6701 F (FIG. 33) com tensão de aceleração de 1- 30 kV e EDS Thermo-Scientific modelo Noran System Six.

FIGURA 33 – Microscópio JEOL-JSM-6701 F (fonte: Autor).

4.8.2. Caracterização das amostras da blenda de PLA/PBAT e dos compósitos não irradiados e irradiados

As amostras da blenda e dos compósitos não irradiados e irradiados foram caracterizadas por meio das análises de difração de raios X (DRX), calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG), microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (MEV-FEG), ensaios termomecânicos (temperatura de distorção térmica (HDT), ponto de amolecimento Vicat), ensaios mecânicos (resistência à tração, à flexão, e ao impacto Izod), ensaios de validação do processo de esterilização (carga microbiana (Biocarga ou *Bioburden*), testes de esterilidade) e teste biológico (citotoxicidade “*in vitro*” pelo método de incorporação do vermelho neutro).

4.8.2.1. Difração de raios X (DRX)

Os espectros de DRX das amostras da blenda e dos compósitos foram determinados em um difratômetro modelo Siemens - D5000, difractor operado a 40 kV e 40 mA com radiação de CuK α ($\lambda = 15,4 \text{ \AA}$), com 2θ variando entre 2° e 10° .

4.8.2.2. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As análises por DSC foram realizadas no equipamento Mettler Toledo DSC 822e de 25 °C a 300 °C, taxa de aquecimento de 10 °C/min, atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL/min, em 3 ciclos de aquecimento/resfriamento.

4.8.2.3. Termogravimetria (TG)

As análises por TG foram realizadas no equipamento Mettler Toledo TGA modulo “TGA/SDTA851E” com temperatura inicial de 30 °C elevada a até 1200 °C com taxa de aquecimento de 10 °C/min em atmosfera inerte de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min.

4.8.2.4. Ensaios de caracterização termomecânica

4.8.2.4.1. Temperatura de distorção térmica

O ensaio para determinação da temperatura de distorção térmica foi realizado conforme a norma a ASTM D 648 (2001), método A – 1,80 MPa, taxa de aquecimento de 120 °C/h; utilizando equipamento do fabricante INSTRON, modelo CEAST HV3. Neste ensaio foram realizados testes em três corpos de prova de cada material.

4.8.2.4.2. Ponto de amolecimento Vicat

O ensaio para determinação do ponto de amolecimento Vicat foi realizado conforme a norma ASTM D 1525-06 (2004), método B – 50 N, taxa de aquecimento: 50 °C/h utilizando o equipamento do fabricante INSTRON, modelo CEAST HV3.

4.8.2.5. Ensaios de caracterização mecânica

4.8.2.5.1. Ensaios de resistência à tração

Os ensaios foram realizados segundo a norma ASTM D 638-01 (2001) a 25 °C, utilizando a máquina universal de ensaios, fabricante, INSTRON, modelo 5564. Neste ensaio foram testados seis corpos de prova de cada material e os valores médios foram relatados.

4.8.2.5.2. Ensaio de resistência à flexão

Os ensaios foram realizados segundo a norma ASTM D 790 (2000), flexão em três pontos, utilizando a máquina universal de ensaios, fabricante EMIC, modelo DL 2000. Neste ensaio foram testados cinco corpos de prova de cada formulação proposta e os valores médios foram relatados.

4.8.2.5.3. Ensaio de resistência ao impacto Izod

O ensaio de resistência ao impacto Izod foi realizado nos compósitos a fim de se determinar a resistência ao impacto dos materiais. Os ensaios foram realizados conforme a norma ASTM D 256 (2006) e foram realizados utilizando o equipamento do fabricante INSTRON, modelo CEAST 9050.

4.8.2.5.4. Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (MEV-FEG)

As amostras foram crio-fraturadas em nitrogênio líquido, recobertas com carbono e analisadas no microscópio JEOL-JSM-6701 F com tensão de aceleração de 1- 30 kV e EDS Thermo-Scientific modelo Noran System Six.

4.8.2.5.5. Validação do processo de esterilização

4.8.2.5.5.1. Carga microbiana (Biocarga ou *Bioburden*)

Os ensaios de carga microbiana foram realizados utilizando as amostras de PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados. Primeiramente, as amostras foram lavadas com 10 mL de água destilada. Esta água de lavagem foi utilizada para a realização dos ensaios. Os microrganismos escolhidos para a validação foram: *Staphylococcus aureus* (ATTC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATTC 9027), *Escherichia coli* (ATTC 8739), *Candida albicans* (ATTC 10231), *Aspergillus brasiliensis* (ATTC 16404). A partir dos repiques incubados a 32 °C $\pm$ 2,5 durante 24 horas, foram feitas as padronizações dos microrganismos em solução salina 0,9 %. As amostras foram avaliadas por diluição seriada 1:10 em solução tampão fosfato pH 7,0. O volume de 1,0 mL de cada preparação foi transferido para as placas de Petri. O controle positivo foi realizado transferindo 1,0 mL do inóculo padronizado para a placa de Petri. E o controle negativo foi preparado para verificar a esterilidade

dos meios de cultura. As amostras de microrganismos foram ensaiadas em triplicata. O volume de 20 mL de meios de cultura ágar caseína de soja e ágar Sabouraud-dextrose foram adicionados, respectivamente, para bactérias e fungos, as quais foram incubadas em estufa a $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 horas para bactérias e $22,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 dias para fungos.

4.8.2.5.5.2. Ensaios de esterilidade

Os ensaios de esterilidade foram realizados utilizando as amostras de PLA/PBAT e seus compósitos irradiados. Como primeiro passo as amostras foram lavadas em 10 mL de água destilada. Esta água de lavagem foi utilizada para a realização dos ensaios. Os microrganismos escolhidos para a validação foram: *Staphylococcus aureus* (ATTC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATTC 9027), *Escherichia coli* (ATTC 8739), *Candida albicans* (ATTC 10231), *Aspergillus brasiliensis* (ATTC 16404). A partir dos repiques incubados a $32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas, foram feitas as padronizações dos microrganismos em solução salina 0,9 %. As amostras foram avaliadas por diluição seriada 1:10 em solução tampão fosfato pH 7,0. O volume de 1,0 mL de cada preparação foi transferido para placas de Petri. O controle positivo foi feito transferindo 1,0 mL do inóculo padronizado para placa de Petri. E o controle negativo foi preparado para verificar a esterilidade dos meios de cultura. As amostras e microrganismos foram ensaiados em triplicata. O volume de 20 mL de meios de cultura ágar caseína de soja e ágar Sabouraud-dextrose foram adicionados, respectivamente, para bactérias e fungos e incubadas em estufa a $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 7 dias para bactérias e $22,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 14 dias para fungos.

4.5.2.5.6. Teste biológico

4.5.2.5.6.1. Ensaios de citotoxicidade “*in vitro*” pelo método de incorporação do vermelho neutro

Os ensaios de citotoxicidade foram realizados utilizando as amostras de PLA/PBAT e dos seus compósitos irradiados. Foram preparados para os ensaios meios de cultivo padrão e extração descritos a seguir:

Preparação do meio de cultivo padrão: A linhagem celular utilizada foi a NIH-3T3, células fibroblásticas de camundongo. As células foram mantidas em garrafas de 25 cm² contendo meio de cultura DMEM (Dulbeccos Modified Eagle Medium) suplementado com 10 % de Soro Fetal Bovino (SFB) e gentamicina 0,1 mg/mL, a 37 °C, em atmosfera úmida com 5 % de CO₂. Esse meio de cultivo é denominado meio de cultivo padrão.

Preparação do meio de extração: Para a realização dos testes foram utilizadas amostras dos materiais com área de 0,5 cm², as quais permaneceram 24 horas em 5 mL de meio DMEM com 10 % de SFB. Após esse período, os meios foram filtrados com filtros de 0,22 µm para remoção de partículas e manutenção da esterilidade. Os meios assim obtidos foram denominados de meio de extração (ME) e foram utilizados a 100 % ou misturados com igual volume de meio padrão, obtendo-se ME a 50 %, para todos os materiais avaliados.

Os ensaios de citotoxicidade foram realizados no tempo de 72 horas, e em paralelo, foram mantidas culturas do meio de cultivo padrão, utilizadas como controle negativo. Após a compatibilidade com o meio de cultivo padrão, as células foram plaqueadas em quadruplicata na densidade de 4x10³ células por poço, em placas de cultura de 24 poços. Após o período de incubação as células expostas ao meio de extração (ME) foram comparadas com o controle e avaliadas quanto à morfologia e atividade metabólica pelo teste em meio de cultivo padrão (MTT) [3-(4,5-dimetilazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] e Vermelho Neutro (VN). Todas as amostras foram avaliadas em triplicatas e os dados obtidos foram tratados com teste estatístico ANOVA de 1 via e as diferenças foram avaliadas pelo pós-teste de Duncan (p <0,05). Todos os ensaios de citotoxicidade foram realizados.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização da bio-hidroxiapatita

5.1.1. Difração de raios X (DRX)

5.1.1.1. Difração de raios X do carbonato de cálcio (CaCO_3)

A FIG. 34 apresenta o difratograma de DRX da amostra de carbonato de cálcio (CaCO_3) obtido a partir das cascas de ovos brancos de galinha após a secagem e com tamanho de partículas $\leq 20 \mu\text{m}$. Observa-se nesta figura os picos com alta intensidade que representam a estrutura cristalográfica da fase do carbonato de cálcio demonstrando a presença do CaCO_3 (FILHO et al., 2006).

FIGURA 34 - Espectro de DRX da amostra de carbonato de cálcio obtida a partir das cascas de ovos brancos (fonte: Autor).

A FIG. 34 mostra a presença de carbonato de cálcio uma vez que seus picos característicos foram registrados na posição 2θ (27,7, 31,8, 39,5, 44,0, 48,5 e 57,4 °). Estes resultados estão de acordo com os apresentados por Caliman (2011) e Gomes et al. (2012). Assim, com base no difratograma apresentado nesta figura pode-se afirmar que o processo de obtenção de CaCO_3 a partir dos resíduos de cascas de ovos brancos de galinha foi eficiente.

5.1.1.2. Difração de raios X do óxido de cálcio (CaO)

A presença da fase de óxido de cálcio (CaO) pode ser observada no espectro de DRX apresentado na FIG. 35. obtido a partir da amostra de CaCO_3 calcinada à temperatura de 800 °C por 3 horas.

FIGURA 35 - Espectro de DRX da amostra de óxido de cálcio
(fonte: Autor)

A presença de óxido de cálcio no espectro apresentado na FIG. 35 é confirmada pela presença dos picos característico, registrados na posição 2 θ (27,7, 31,8, 34,3, 36,2, 48,9 e 57,2 °). Este resultado mostra que o processo de obtenção foi eficiente. Verificou-se ainda na FIG. 35, a presença de hidróxido de cálcio formado pela umidade do ar. A presença de hidróxido de cálcio não interfere na utilização do CaO já que a transformação em bio-hidroxiapatita é o objetivo da etapa seguinte, onde o óxido de cálcio obtido foi solubilizado em água para obtenção de uma suspensão de Ca(OH)_2 para ser utilizada na reação de precipitação por via úmida (MONMA et al., 1987).

5.1.1.3. Difração de raios X da bio-hidroxiapatita (HAp)

Pode-se observar no espectro da FIG. 36 a presença das fases de bio-hidroxiapatita (HAp) e fosfato tricálcico- β (TCP- β), obtidos na terceira e última etapa do processo de obtenção HAp, após o método de precipitação por via úmida ácido-base, seguido da sinterização em um ciclo térmico de aquecimento a 900 °C por 2 horas (FILHO et al., 2006). Nesta etapa do processo após a adição do óxido de cálcio em água destilada, o pH medido foi igual a 11,0 e após a completa adição da solução de ácido fosfórico o pH foi reduzido para 7,0. Segundo Padilla e Vallet (2005), que encontraram em seus estudos o resultado de pH igual a 11,0 e o atribuíram a presença o hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2), que possui baixa solubilidade por apresentar poucos íons OH^- dispersos na suspensão, isso faz com que ele seja consumido rapidamente quando se inicia a adição de ácido fosfórico (mesmo em velocidades lentas), ocorrendo assim a deficiência de íons OH^- livres no meio e causando rapidamente uma grande diminuição do pH reduzindo-o para 7,0 formando a fase TCP- β .

FIGURA 36 - Espectro de DRX da amostra de bio-hidroxiapatita e fosfato tricálcico- β (fonte: Autor).

Na FIG. 36 é possível observar a presença das fases amorfas pertencentes a HAp como registrados na posição 2θ entre 25 e 35 °. O principal pico desta apatita de cálcio está registrado em 31,8 ° como pode ser observado na FIG. Este pico é característico e corresponde a principal estrutura desta cerâmica. A obtenção do fosfato tricálcico- β (TCP- β) como produto desta síntese, como já mencionado anteriormente, se deve ao fato da reação ocorrer em meio aquoso (suspensão) e também devido ao processo de sinterização da HAp a 900 °C (SLOSARCZYK et al., 1966).

5.1.2. Espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A FIG. 37 apresenta o espectro de FTIR da amostra de HAp obtida. Este espectro teve como objetivo identificar os picos e bandas pertencentes a amostra de HAp. Como evidenciado por Arboleda et al., 2016 e por Gréta e Ferenc (2009) em seus estudos, os grupos funcionais de maior importância, os quais caracterizam a presença da fase HAp por FTIR são os picos próximo a 623 e 1167 cm^{-1} relacionados ao PO_4^{3-} e ao pico a 633 cm^{-1} atribuído ao OH. Pode-se observar neste espectro os grupos pertencentes a HAp ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$), como apresentados na TAB. 5.

FIGURA 37 - Espectro de FTIR da amostra de bio-hidroxiapatita obtida a partir de carbonato de cálcio (fonte: Autor).

TABELA 5 – Picos e bandas largas relacionadas a HAp obtidas por FTIR

Bio-hidroxiapatita									
	PO ₄ ⁻³	OH	Ca	NO ₃	PO ₄ ⁻³	H ₂	O	NO	OH
cm ⁻¹	623	633	800	821	1167	1250	1300	1450	2500

Observando-se a FIG. 37 e TAB. 5, o pico próximo a 800 cm⁻¹ está relacionado ao Ca, o pico estreito em 821 cm⁻¹ refere-se a deformação do NO₃. O alongamento PO₄⁻³ é observado em 1167 cm⁻¹; uma banda larga próximo de 1250 cm⁻¹ atribuída a H₂; outra banda larga próxima a 1300 cm⁻¹ atribuída ao O; o pico em 1450 cm⁻¹ atribuído ao estiramento do NO e por fim a banda larga entre 2000 e 2500 cm⁻¹ atribuída ao estiramento OH do Ca(OH)₂. As bandas largas encontradas em 1167 cm⁻¹ e 2500 cm⁻¹ são características da HAp e também são denominadas de cálcio amorfo (BALÁZSI et al., 2007).

5.1.3. Termogravimetria (TG)

A FIG. 38 apresenta a curva termogravimetria da HAp em função da sua estabilidade térmica. A perda de massa da HAp com o aumento da temperatura segundo Riviera e Araiza (1999) está relacionada a queima de solventes, evaporação das moléculas de água adsorvidas no pó de HAp, queima de materiais orgânicos presentes nas cascas de ovos, proteínas e materiais extracelulares.

FIGURA 38 – Curva de termogravimetria da amostra de bio-hidroxiapatita (fonte: Autor).

Observa-se na FIG. 38 quatro regiões endotérmicas de perda de massa. A primeira região em 153,7 °C corresponde a queima do ácido fosfórico absorvido pelo HAp, com perda de massa de 3,34 %. A segunda região em 278,1 °C pode ser atribuída a eliminação de moléculas de água adsorvidas na amostra, com perda de massa de 1,71 %. Na terceira região em 698 °C está relacionada a queima de materiais orgânicos que constituem as cascas de ovos, com perda de massa de 2 % (SUCHANEK et al., 1998; RIVIERA e ARAIZA, 1999). A quarta e última região em 819 °C mostra o aparecimento de um pico, que segundo Riviera e Araiza (1999) está relacionado à mudança da fase de HAp para TCP- β , como foi identificado anteriormente pelo ensaio de difração de raios X.

A TAB. 6 apresenta as temperaturas de decomposição térmica e a perda de massa da amostra de HAp obtidas pela análise termogravimétrica. A partir dos resultados apresentados na FIG. 38 e TAB. 6 pode-se concluir que a HAp apresenta alta estabilidade à temperatura, uma vez que à temperatura da ordem de 1337 °C a perda de massa foi de apenas 15 %.

TABELA 6 - Temperaturas de decomposição térmica e perda de massa da HAp obtidas por TG.

Material	T. Inicial ^(a) (°C)	Perda de massa (50 %)	T. Final ^(b) (°C)	Perda de massa (100 %)
HAp	32,41	7,4	1.336,93	14,8

(a) temperatura inicial de perda de massa

(b) temperatura final de perda de massa

5.1.4. Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG)

A FIG. 39 apresenta a micrografia com magnitude de 7.500 vezes do carbonato de cálcio obtido a partir das cascas de ovos brancos de galinha após realização da limpeza, classificação granulométrica e secagem. Esta micrografia teve como objetivo a confirmação da estrutura morfológica pertencente ao carbonato de cálcio de origem biológica o qual apresenta a mesma morfologia e aspecto, quando comparado ao carbonato de origem mineral (SLOSARCZYK et al., 1996).

FIGURA 39 – Micrografia MEV-FEG da amostra de carbonato de cálcio obtido a partir das cascas de ovos branco de galinha com magnitude de 7.500 vezes (fonte: Autor).

Pode-se observar na FIG. 39 partículas de tamanhos irregulares, entretanto, com morfologias similares. Segundo Eric e Miguel (1999) pode-se afirmar que esta estrutura se trata de cristais de calcita pertencentes ao carbonato de cálcio. Em seus estudos Filho (2006) identificou os picos referentes aos cristais de calcita por ensaio de difração de raios X na posição 2θ ($31,8^\circ$), que também podem ser vistos na FIG. 34 deste trabalho.

As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) da HAp estão apresentadas nas figuras 40 (a, b, c, d). Estas micrografias com diferentes magnitudes mostram uma morfologia de grãos aglomerados de granulometrias variadas.

FIGURA 40 a) – Micrografia MEV-FEG da amostra de HAp com magnitude de 20.000 vezes (fonte: Autor).

FIGURA 40 b) – Micrografia MEV-FEG da amostra de HAp com magnitude de 10.000 vezes. (fonte: Autor).

FIGURA 40 c) – Micrografia MEV-FEG da amostra de HAp com magnitude de 7.500 vezes. (fonte: Autor).

FIGURA 40 d) – Micrografia MEV-FEG da amostra de HAp com magnitude de 5.000 vezes. (fonte: Autor).

Nas micrografias apresentadas nas figuras 40 (a, b, c, d) é possível observar que existem diferentes tamanhos e morfologias de HAp. Segundo Tas (2000) o tamanho, morfologia e estruturas irregulares deste material é característico da HAp. Suas estruturas irregulares estão relacionadas ao processo de sinterização da pasta obtida na síntese e as condições de processamento para a classificação granulométrica das partículas (PETROV et al., 2001).

A FIG. 40 e) apresenta o espectro de dispersão de energia (EDS) que foi utilizado para identificação da fase existente, onde foi possível reconhecer a presença dos íons O, Ca, P e N característicos da estrutura molecular da HAp (VERNA et al., 2011).

FIGURA 40 e) - Espectro por energia dispersiva da amostra de bio-hidroxiapatita (fonte: Autor).

O espectro por energia dispersiva FIG. 40 e) apresenta os elementos químicos Oxigênio (O), Cálcio (Ca), Fósforo (P) e Nitrogênio (N) que estão presentes em todas as regiões analisadas (FILHO et al., 2006). Estes elementos foram identificados por Raynaud e Champion (2002) como grupos moleculares pertencentes a fase da bio-hidroxiapatita e fosfato tricálcico- β .

5.2. Caracterização dos compósitos não irradiados e irradiados

5.2.1. Difração de raios X (DRX)

Nas figuras 41 e 42 são apresentados os difratogramas das amostras de PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.

FIGURA 41 – Difratogramas das amostras de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiados (fonte: Autor).

Como pode ser observado na FIG. 41 os picos registrados na posição 2θ em 18 e 20 ° são relacionados a blenda formada por PLA/PBAT, comportamento similar foi observado por Carrasco et al. (2010) e Tábi et al. (2010), onde os picos de maior intensidade registrados na posição 2θ em 18 e 20 ° foram atribuídos a fase cristalina característica dos polímeros PLA e PBAT respectivamente. O não aparecimento do pico característico de HAp na posição 2θ próximo a 31,8 ° sugere que as partículas de HAp foram bem incorporadas na matriz de PLA/PBAT resultando na formação dos materiais compósitos PLA/PBAT/HAP. Observa-se também nesta figura similaridade, entre os espectros do PLA/PBAT e seus compósitos, isto indica que a incorporação de 1 a 5 % em massa de HAp na matriz de PLA/PBAT não causou

alterações significativas na cristalinidade dos materiais compósitos obtidos em relação à cristalinidade do PLA/PBAT (FUKUSHIMA et al., 2012; FALCONE et al., 2004; SILVA et al., 2014).

FIGURA 42 – Difratogramas das amostras de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiados (fonte: Autor).

Comparando-se as FIG. 41 e 42 não são observadas quaisquer mudanças significativas nos difratogramas ou presença de novos picos, indicando que o tratamento por irradiação com dose de 25 kGy não causou o surgimento de novas simetrias cristalinas ou mudanças na ordem estrutural das amostras dos materiais tratados. Desta forma, pode-se afirmar que o tratamento com dose de radiação de 25 kGy não causa alterações significativas nas cadeias poliméricas do PLA/PBAT e dos seus materiais compósitos aqui estudados (KUCHNIER e MORALES, 2013).

5.2.2. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Nas figuras 43 e 44 são apresentados os resultados obtidos nos ensaios de DSC das amostras de PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados. Observa-se que a temperatura de fusão do PLA/PBAT está próxima ao 180 °C, com a adição de cargas de HAp, houve um aumento em sua temperatura e entalpia de fusão, contudo, os valores obtidos em todas as amostras se apresentaram dentro da faixa de 150 °C a 200 °C. Segundo Araújo et al. (2014) e Pereira et al. (2014) que realizaram estudos com PLA/PBAT descrevem esta faixa sendo típica para este material. Para os resultados obtidos nos compósitos PLA/PBAT/HAP não irradiados, houve um leve aumento na temperatura de fusão e entalpia, este fenômeno provavelmente é causado pela diminuição da viscosidade do polímero por meio da adição da carga de HAp promovendo o aumento da mobilidade das cadeias poliméricas lineares, fato este anteriormente observado por Fukushima et al. (2012).

FIGURA 43 - Resultados de DSC para PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiados (fonte: Autor).

FIGURA 44 - Resultados de DSC para PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiados (fonte: Autor).

A TAB. 7 apresenta os resultados da análise de DSC para as temperaturas de fusão (T_m , °C) e entalpia de fusão (ΔH_m , Jg⁻¹) das amostras de PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados. Comparando-se as amostras não irradiadas e irradiadas, pode-se observar que o processo de irradiação a 25 kGy não alterou os resultados de temperatura de fusão e entalpia, este fator pode ser entendido como o processo de irradiação não realizou alterações significativas nos materiais estudados (OLIVEIRA, 2006).

TABELA 7 – Temperatura de fusão e entalpia de fusão para PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.

Materiais	Temperatura de Fusão (T _m , °C)	Entalpia de Fusão (ΔH _m , Jg ⁻¹)
PLA/PBAT BLEND A	180.12	161.23
PLA/PBAT/HAP 1 %	183.38	164.77
PLA/PBAT/HAP 3 %	186.71	166.52
PLA/PBAT/HAP 5 %	187.29	167.33
PLA/PBAT BLEND A*	180.37	161.03
PLA/PBAT/HAP 1 %*	183.43	164.38
PLA/PBAT/HAP 3 %*	186.30	165.71
PLA/PBAT/HAP 5 %*	187.55	167.41

*Compósitos irradiados

5.2.3. Termogravimetria (TG)

As figuras 45 e 46 apresentam a comparação das curvas de termogravimetrias do PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados. Observa-se que não houve mudança significativa na temperatura inicial de degradação térmica dos materiais estudados. Ou seja, a incorporação de 1, 3 e 5 % em massa de HAp não causou alterações importantes na estabilidade térmica original da blenda de PLA/PBAT. Comportamento similar foi observado por Oliveira (2006) onde a incorporação de cargas de carbonato de cálcio ao PLA/PBAT, não promoveu mudanças significativas na temperatura inicial de degradação térmica dos compósitos quando comparados ao PLA/PBAT puro.

FIGURA 45 – Curvas de TG para as amostras de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiadas (fonte: Autor).

FIGURA 46 – Curvas de TG para as amostras de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiadas (fonte: Autor).

A TAB. 8 apresenta as temperaturas obtidas por TG para 5, 50 e 90 % de perda de massa para PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados. Os resultados apresentados nesta tabela mostram um pequeno aumento de 1 °C na temperatura de degradação térmica do PLA/PBAT contendo 3 e 5 % de HAP. Observa-se também nesta tabela que o tratamento por irradiação com 25 kGy não causou mudanças na temperatura de degradação térmica das amostras de PLA/PBAT e seus compósitos.

TABELA 8 – Temperaturas obtidas por TG para 5, 50 e 90 % de perda de massa para as amostras não irradiadas e irradiadas de PLA/PBAT e seus compósitos.

Materiais	5 % de perda de massa (T °C)	50 % de perda de massa (T °C)	90 % de perda de massa (T °C)
PLA/PBAT BLEND A	273,06	282,55	302,44
PLA/PBAT/HAP 1 %	273,15	282,67	302,57
PLA/PBAT/HAP 3 %	274,07	283,24	303,40
PLA/PBAT/HAP 5 %	274,12	283,67	303,67
PLA/PBAT BLEND A*	273,12	282,52	302,48
PLA/PBAT/HAP 1 %*	273,21	282,63	302,55
PLA/PBAT/HAP 3 %*	274,07	283,34	303,57
PLA/PBAT/HAP 5 %*	274,16	283,65	303,87

*Compósitos irradiados

5.2.4. Temperatura de distorção térmica (HDT)

A TAB. 9 apresenta os resultados dos ensaios de temperatura de distorção térmica para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados. Os resultados apresentam o valor médio calculado a partir dos resultados obtidos nos testes com três corpos de prova, para um desvio padrão menor que 10 % para todos os testes. Os resultados mostraram que a temperatura de distorção térmica da blenda de PLA/PBAT é da ordem de 55 °C, a qual aumentou com a adição de

HAp, apresentou um ganho de 10 %, para os compósitos contendo 5 % de HAp. Estes resultados indicam que os compósitos PLA/PBAT/HAP apresentam uma temperatura de trabalho maior que a temperatura da blenda PLA/PBAT. Este aumento pode ser atribuído à dispersão do material na blenda, sendo um indicativo de que as partículas de HAp estão bem dispersas na matriz de PLA/PBAT. O tratamento por irradiação não causou alteração significativa na HDT dos materiais estudados.

TABELA 9 - Temperatura de distorção térmica para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.

Materiais	HDT (°C)
PLA/PBAT BLENDA	55,3 ($\pm 0,2$)
PLA/PBAT/HAP 1 %	59,6 ($\pm 0,3$)
PLA/PBAT//HAP 3 %	62,1 ($\pm 0,3$)
PLA/PBAT/HAP 5 %	64,2 ($\pm 0,2$)
PLA/PBAT BLENDA*	55,2 ($\pm 0,3$)
PLA/PBAT/HAP 1 %*	59,7 ($\pm 0,2$)
PLA/PBAT/HAP 3 %*	62,2 ($\pm 0,2$)
PLA/PBAT/HAP 5 %*	64,1 ($\pm 0,3$)

*Compósitos irradiados

As figuras 47 e 48 apresentam, respectivamente, o gráfico de barras dos resultados obtidos nos ensaios de HDT para PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.

FIGURA 47 – Temperatura de distorção térmica para as amostras de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiadas (fonte: Autor).

FIGURA 48 – Temperatura de distorção térmica para as amostras de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiadas (fonte: Autor).

Para verificar se existem diferenças significativas nos valores de HDT das amostras não irradiadas de PLA/PBAT e seus compósitos, os dados foram submetidos a análise de variância ANOVA.

A TAB. 10 apresenta os valores de HDT obtidos para cada corpo de prova produzido com o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.

TABELA 10 - Valores de HDT obtidos para cada corpo de prova produzido com as amostras de PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.

	PLA/PBAT BLENDAS	PLA/PBAT/HAP 1 %	PLA/PBAT/HAP 3 %	PLA/PBAT/HAP 5 %
	HDT (°C)	HDT (°C)	HDT (°C)	HDT (°C)
*CP1	55,3	59,6	62,1	64,1
*CP2	55,4	59,7	62,1	64,2
*CP3	55,2	59,5	62,1	64,3

*Corpo de prova

A TAB. 11 apresenta os resultados da análise ANOVA para os valores de HDT obtidos para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.

TABELA 11 – Resultados da análise ANOVA para os valores de HDT obtidos para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados (SQ)	Graus de liberdade	Média Quadrática (MQ)	Teste F
Tratamentos	30,100	2	9,070	19
Resíduos	2,199	10	0,378	
Total	28,299	8		

A tabela de referência estabelece um valor máximo para o teste F igual a 1,99 para as condições de 2 graus de liberdade para os tratamentos e 10 graus de liberdade para os resíduos e um nível de confiança de 95 %, desta forma, com base no valor F obtido para as amostras é possível afirmar que não há a diferença estatística entre pelo menos uma das médias.

As médias foram analisadas e agrupadas pelo software estatístico Minitab 16, através do teste de Tukey, para um nível de confiança de 95 %.

A TAB. 12 apresenta os resultados do teste de Tukey para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados obtidos a partir dos valores médios dos ensaios de HDT.

TABELA 12 – Resultados do teste Tukey obtido a partir dos valores médios dos ensaios de HDT para PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.

Materiais	Média HDT (°C)	Grupo
PLA/PBAT BLENDA	55,3 ($\pm 0,2$)	A
PLA/PBAT/HAP 1 %	59,6 ($\pm 0,3$)	AB
PLA/PBAT/HAP 3 %	62,1 ($\pm 0,3$)	BC
PLA/PBAT/HAP 5 %	64,2 ($\pm 0,2$)	CD

Conforme o teste de Tukey, as amostras que compartilham o mesmo grupo são estatisticamente iguais.

A TAB. 13 apresenta os valores de HDT obtidos para cada corpo de prova produzido com o PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.

TABELA 13 - Valores de HDT obtidos para cada corpo de prova produzido com o PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.

	PLA/PBAT BLENDA*	PLA/PBAT /HAP 1 %*	PLA/PBAT/HAP 3 %*	PLA/PBAT/HAP 5 %*
	HDT (°C)	HDT (°C)	HDT (°C)	HDT (°C)
CP1	55,4	59,7	62,2	64,1
CP2	55,2	59,6	62,1	64,1
CP3	55,1	59,8	62,3	64,1

*Compósitos irradiados

A TAB. 14 apresenta os resultados da análise ANOVA dos valores de HDT do PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.

TABELA 14 – Resultados da análise ANOVA dos valores de HDT do PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados (SQ)	Graus de liberdade	Média Quadrática (MQ)	Teste F
Tratamentos	30,243	2	10,087	20
Resíduos	2,402	9	0,298	
Total	29,245	10		

A tabela de referência estabelece valor máximo para o teste F igual a 1,78 para as condições de 2 graus de liberdade para os tratamentos e 11 graus de liberdade para os resíduos e um nível de confiança de 95 %, desta forma, com base no valor F obtido para as amostras é possível afirmar que não há a diferença estatística entre pelo menos uma das médias.

As médias foram analisadas e agrupadas pelo software estatístico Minitab 16, através do teste de Tukey, para um nível de confiança de 95 %.

A TAB. 15 apresenta os resultados do teste de Tukey para o PLA/PBAT e seus compósitos irradiados obtidos a partir dos valores médios dos ensaios de HDT.

TABELA 15 – Teste Tukey obtidos a partir dos valores médios dos ensaios de HDT do PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.

Materiais	Média HDT (°C)	Grupo
PLA/PBAT BLENDAS*	55,2 (± 0,3)	A
PLA/PBAT/HAP 1 %*	59,7 (± 0,2)	A B
PLA/PBAT/HAP 3 %*	62,2 (± 0,2)	B C
PLA/PBAT/HAP 5 %*	64,1 (± 0,3)	C D

*Compósitos irradiados

Conforme o teste de Tukey, as amostras que compartilham o mesmo grupo são estatisticamente iguais.

Comparando-se os estudos de variância em software estatístico das amostras não irradiadas e irradiadas, os resultados dos ensaios de HDT não apresentaram alterações significativas (PEREIRA et al., 2014).

5.2.5. Ponto de amolecimento Vicat

A TAB. 16 apresenta os resultados dos ensaios de ponto de amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados. Estes resultados mostram o valor médio calculado a partir dos resultados obtidos nos testes com três corpos de prova, cujo desvio padrão foi menor que 10 % para todos os testes. Os resultados mostraram que ponto de amolecimento Vicat da blenda de PLA/PBAT é da ordem de 80 °C, a qual aumentou com a adição de HAp, apresentando um aumento de até 10 % para os compósitos contendo 5 % de HAp. Estes resultados indicam que os compósitos PLA/PBAT/HAP apresentam um ponto de amolecimento Vicat levemente maior que aquele apresentado pela blenda PLA/PBAT. Este aumento pode ser atribuído à dispersão do material na blenda, sendo um indicativo de que as

partículas de HAp estão adequadamente dispersas na matriz de PLA/PBAT. O tratamento por irradiação não causou alteração significativa no ponto de amolecimento Vicat dos materiais estudados.

TABELA 16 - Ponto de Amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.

Materiais	Vicat (°C)
PLA/PBAT BLEND A	80,2 ($\pm 0,3$)
PLA/PBAT/HAP 1 %	83,3 ($\pm 0,2$)
PLA/PBAT/HAP 3 %	85,2 ($\pm 0,4$)
PLA/PBAT/HAP 5 %	86,5 ($\pm 0,2$)
PLA/PBAT BLEND A*	80,3 ($\pm 0,2$)
PLA/PBAT/HAP 1 %*	83,2 ($\pm 0,4$)
PLA/PBAT/HAP 3 %*	85,2 ($\pm 0,3$)
PLA/PBAT/HAP 5 %*	86,4 ($\pm 0,2$)

*Compósitos irradiados

As figuras 49 e 50 apresentam, respectivamente, os gráficos de barras obtidos no ensaio de ponto de amolecimento Vicat para PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.

Figura 49 - Ponto de amolecimento Vicat para PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiados (fonte: Autor).

FIGURA 50 - Ponto de amolecimento Vicat para PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiados (fonte: Autor).

Para verificar se há diferenças significativas entre as amostras não irradiadas os dados foram submetidos a análise de variância ANOVA.

A TAB. 17 apresenta os valores do ponto de amolecimento Vicat obtidos para cada corpo de prova produzido com o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.

TABELA 17 – Valores do ponto de amolecimento Vicat obtidos para cada corpo de prova de PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.

	PLA/PBAT BLENDAS	PLA/PBAT /HAP 1 %	PLA/PBAT/HAP 3 %	PLA/PBAT/HAP 5 %
	Vicat (°C)	Vicat (°C)	Vicat (°C)	Vicat (°C)
*CP1	80,3	83,4	85,3	86,6
*CP2	80,1	83,2	85,2	86,4
*CP3	80,2	83,3	85,1	86,5

A TAB. 18 apresenta os resultados da análise ANOVA para PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.

TABELA 18 – Resultados da análise ANOVA dos valores do ponto de amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados (SQ)	Graus de liberdade	Média Quadrática (MQ)	Teste F
Tratamentos	55,0789	2	5,387	64,024
Resíduos	0,3985	9	0,1999	
Total	55,4774	11		

A tabela de referência estabelece valor máximo para o teste F igual a 1,99 para as condições de 2 graus de liberdade para os tratamentos e 9 graus de liberdade para os resíduos e um nível de confiança de 95 %, desta forma, com base no valor F obtido para as amostras é possível afirmar que não há a diferença estatística entre pelo menos uma das médias.

As médias foram analisadas e agrupadas pelo software estatístico Minitab 16, através do teste de Tukey, para um nível de confiança de 95 %.

A TAB. 19 apresenta os resultados obtidos no teste de Tukey para as médias dos resultados do ponto de amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.

TABELA 19 - Teste Tukey para as médias dos resultados do ponto de amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.

Materiais	Média Vicat (°C)	Grupo
PLA/PBAT BLEND A	80,2 (± 0,3)	A
PLA/PBAT/HAP 1 %	83,3 (± 0,2)	A B
PLA/PBAT/HAP 3 %	85,2 (± 0,4)	B C
PLA/PBAT//HAP 5 %	86,5 (± 0,2)	C D

Conforme o teste de Tukey, as amostras que compartilham o mesmo grupo são estatisticamente iguais.

A TAB. 20 apresenta os valores obtidos nos ensaios de ponto de amolecimento Vicat para cada corpo de prova produzido com o PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.

TABELA 20 - Valores obtidos nos ensaios de ponto de amolecimento Vicat para cada corpo de prova de PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.

	PLA/PBAT BLENDA*	PLA/PBAT/HAP 1 %*	PLA/PBAT/HAP 3 %*	PLA/PBAT/HAP 5 %*
	Vicat (°C)	Vicat (°C)	Vicat (°C)	Vicat (°C)
CP1	80,3	83,3	85,2	86,4
CP2	80,4	83,1	85,3	86,5
CP3	80,2	83,2	85,1	86,3

*Compósitos irradiados

A TAB. 21 apresenta os resultados da análise ANOVA para os resultados do ponto de amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.

TABELA 21 – Resultados da análise ANOVA para para os resultados do ponto de amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados (SQ)	Graus de liberdade	Média Quadrática (MQ)	Teste F
Tratamentos	56,0589	2	4,584	60,000
Resíduos	0,3578	10	0,1584	
Total	56,4167	11		

A tabela de referência estabelece valor máximo para o teste F igual a 1,99 para as condições de 2 graus de liberdade para os tratamentos e 10 graus de liberdade para os resíduos e um nível de confiança de 95 %, desta forma, com base no valor F obtido para as amostras é possível afirmar que não há a diferença estatística entre pelo menos uma das médias.

As médias foram analisadas e agrupadas pelo software estatístico Minitab 16, através do teste de Tukey, para um nível de confiança de 95 %.

A TAB. 22 apresenta os resultados obtidos no teste de Tukey para as médias obtidas nos do ponto de amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.

TABELA 22 - Resultados do teste Tukey para as médias obtidas nos ensaios do ponto de amolecimento Vicat para o PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.

Formulação	Média Vicat (°C)	Grupo
PLA/PBAT BLEENDA*	80,3 ($\pm 0,2$)	A
PLA/PBAT/HAP 1 %*	83,2 ($\pm 0,4$)	A B
PLA/PBAT/HAP 3 %*	85,2 ($\pm 0,3$)	B C
PLA/PBAT/HAP 5 %*	86,4 ($\pm 0,2$)	C D

*Compósitos irradiados

Conforme o teste de Tukey, as amostras que compartilham o mesmo grupo são estatisticamente iguais.

Comparando-se os estudos de variância em software estatístico os resultados dos ensaios do ponto de amolecimento Vicat das amostras não irradiadas e irradiadas do PLA/PBAT e seus compósitos não apresentaram alterações significativas.

5.2.6. Ensaio de resistência à tração

A TAB. 23 apresenta os resultados dos ensaios de resistência à tração do PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados. Estes resultados mostram o valor médio calculado a partir dos resultados obtidos nos testes com cinco corpos de prova, cujo desvio padrão foi menor que 10 % para todos os testes. Como se pode observar, os compósitos apresentaram, em geral, tanto para a resistência à tração no ponto de ruptura, como para o módulo de elasticidade e a deformação no ponto de ruptura de até 15 % quando comparados aos resultados obtidos para as amostras da

blenda de PLA/PBAT. Estes resultados podem indicar uma boa adesão entre os componentes da formulação, sugerindo a formação de compósitos com boa dispersão das partículas de HAp (SILVA et al., 2014).

TABELA 23 - Resultados para os ensaios de resistência à tração para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.

Materiais	Módulo de elasticidade (MPa)	Resistência à tração no ponto de ruptura (MPa)	Deformação no ponto de ruptura (%)
PLA/PBAT BLENDAS	582,8 ± 1,1	17,8 ± 0,4	40,2 ± 3,5
PLA/PBAT/HAP 1 %	599,2 ± 0,9	18,3 ± 0,3	41,3 ± 2,7
PLA/PBAT/HAP 3 %	638,5 ± 0,8	19,5 ± 0,2	44,1 ± 3,4
PLA/PBAT/HAP 5 %	667,9 ± 1,0	20,4 ± 0,2	46,2 ± 2,8
PLA/PBAT BLENDAS*	579,5 ± 0,9	17,7 ± 0,3	40,0 ± 3,2
PLA/PBAT/HAP 1 %*	602,4 ± 1,0	18,4 ± 0,1	41,6 ± 2,5
PLA/PBAT/HAP 3 %*	638,5 ± 0,7	19,5 ± 0,1	44,1 ± 3,5
PLA/PBAT/HAP 5 %*	664,7 ± 1,1	20,3 ± 0,3	46,0 ± 2,9

*Compósitos irradiados

As figuras 51 e 52 apresentam, respectivamente, os gráficos de barras obtidos nos resultados de resistência à tração no ponto de ruptura para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados. Comparando-se os resultados dos ensaios para as amostras não irradiadas e irradiadas, observa-se que de forma geral as propriedades de resistência à tração foram poucas afetadas pela dose de irradiação de 25 kGy (RABELLO e WHITE 1997).

FIGURA 51 – Resultados de resistência à tração no ponto de ruptura para os corpos de prova de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiados (fonte: Autor).

FIGURA 52 – Resultados de resistência à tração no ponto de ruptura, para os corpos de prova de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiados (fonte: Autor).

5.2.7. Ensaio de resistência à flexão

A TAB. 24 apresenta os resultados dos ensaios de resistência à flexão para as amostras não irradiadas e irradiadas de PLA/PBAT e seus compósitos. Estes resultados mostram o valor médio calculado a partir dos resultados obtidos nos testes com cinco corpos de prova, cujo desvio padrão foi menor que 10 % para todos os testes. Similar ao que ocorreu nos testes de resistência à tração, como se pode observar, os compósitos não irradiados apresentaram uma resistência à flexão de até 09 % quando comparados a blenda de PLA/PBAT. Após a irradiação observou-se um pequeno aumento no módulo de flexão dos materiais compósitos de até 10 %. Estes resultados podem indicar um leve aumento de rigidez gerada pela adição da de partículas de HAp à blenda (SILVA, 2011).

TABELA 24 - Resultados dos ensaios de resistência à flexão para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.

Materiais	Módulo de Flexão (MPa)	Resistência à flexão na Força Máxima (MPa)
PLA/PBAT BLENDA	1031,9 ± 17,8	24,8 ± 0,3
PLA/PBAT/HAP 1 %	1065,2 ± 15,5	25,7 ± 0,5
PLA/PBAT/HAP 3 %	1102,6 ± 16,4	26,5 ± 0,4
PLA/PBAT/HAP 5 %	1127,7 ± 17,3	27,3 ± 0,3
PLA/PBAT BLENDA*	1027,8 ± 17,5	24,7 ± 0,4
PLA/PBAT/HAP 1 %*	1073,6 ± 15,2	25,8 ± 0,3
PLA/PBAT/HAP 3 %*	1098,5 ± 16,5	26,4 ± 0,5
PLA/PBAT/HAP 5 %*	1140,1 ± 17,1	27,4± 0,2

*Compósitos irradiados

As figuras 53 e 54 apresentam, respectivamente, os gráficos de barras obtidos a partir dos resultados de resistência à flexão para PLA/PBAT e seus

compósitos não irradiados e irradiados. Comparando-se as amostras não irradiadas e irradiadas, de forma geral as propriedades quanto a resistência à flexão foram poucas afetadas pela dose de irradiação de 25 kGy.

FIGURA 53 – Resultados de resistência à flexão para os corpos de prova de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiados (fonte: Autor).

FIGURA 54 – Resultados de resistência à flexão para os corpos de prova de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiados (fonte: Autor).

5.2.8. Ensaio de resistência ao impacto Izod

A TAB. 25 apresenta os resultados dos ensaios de resistência ao impacto Izod para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados. Estes resultados mostram o valor médio calculado a partir dos resultados obtidos nos testes com cinco corpos de prova, cujo desvio padrão foi menor que 10 % para todos os testes. Como se pode observar, os compósitos apresentaram, em geral, resistência ao impacto Izod superior a até 10 % quando comparados a blenda pura de PLA/PBAT. Segundo Silva et al. (2014) e Pilla et al. (2010), isso indica que houve boa dispersão das partículas de HAp nos compósitos.

TABELA 25 - Resultados dos ensaios de resistência ao impacto Izod para o PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados.

Formulação	Resistência ao Impacto (J/m)
PLA/PBAT BLENDA	28,6 ± 2,5
PLA/PBAT/HAP 1 %	29,3 ± 1,9
PLA/PBAT/HAP 3 %	30,5 ± 2,2
PLA/PBAT/HAP 5 %	31,3 ± 2,0
PLA/PBAT BLENDA*	28,7 ± 2,2
PLA/PBAT/HAP 1 %*	29,2 ± 2,0
PLA/PBAT/HAP 3 %*	30,4 ± 2,4
PLA/PBAT/HAP 5 %*	31,3 ± 1,8

*Compósitos irradiados

As figuras 55 e 56 apresentam, respectivamente os gráficos de barras obtidos a partir dos resultados de resistência ao impacto Izod para PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados. Comparando-se as amostras não irradiadas e irradiadas, de forma geral as propriedades quanto a resistência ao impacto Izod foram pouco afetadas pela irradiação à dose de 25 kGy.

FIGURA 55 – Resultados de resistência ao impacto Izod para PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiados (fonte: Autor).

FIGURA 56 – Resultados de resistência ao impacto Izod para PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 3 % e PLA/PBAT/HAP 5 % irradiados (fonte: Autor).

5.2.9. Ensaio de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG)

No presente trabalho foram realizados ensaios de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) para as amostras de PLA/PBAT, PLA/PBAT/HAP 1 %, PLA/PBAT/HAP 5 % não irradiados e identificação do tamanho médio das partículas de HAp. As micrografias para todos os materiais possuem magnitude de 2.000 vezes e estão apresentadas nas FIG. 57 (a, b, c, d).

FIGURA 57 a) - Micrografia MEV-FEG da amostra de PLA/PBAT com magnitude de 2.000 vezes. (fonte: Autor).

A FIG. 57 a) mostra a micrografia de uma amostra da blenda PLA/PBAT, pode-se observar nesta figura uma superfície contínua e rugosa, com a presença de estrias causadas pelo processo de crio-fraturamento utilizado na preparação da amostra para o ensaio. Considerando-se que o PLA e PBAT são imiscíveis, esperava-se encontrar neste ensaio uma superfície crio-fraturada com os domínios do PLA e do PBAT bem definidos, contudo, em razão desta blenda tratar-se de um material comercial “Ecovio®”, possivelmente o fabricante adicionou algum agente de compatibilização durante o processamento do produto garantindo a homogeneidade entre as fases PLA e PBAT.

FIGURA 57 b) - Micrografia MEV-FEG da amostra de PLA/PBAT/HAP 1 % com magnitude de 2.000 vezes. (fonte: Autor).

FIGURA 57 c) - Micrografia MEV-FEG da amostra de PLA/PBAT/HAP 5 % com magnitude de 2.000 vezes. (fonte: Autor).

FIGURA 57 d) - Micrografia MEV-FEG da amostra de PLA/PBAT/HAP 5 % com magnitude de 2.500 vezes mostrando uma partícula de HAP com a maior dimensão da ordem de 8 µm (fonte: Autor).

De maneira geral, pode-se observar nas figuras 57 b, c) uma superfície crio-fraturada rugosa com estrias correspondentes ao processo de crio-fraturamento da amostra para a realização do ensaio MEV-FEG. As superfícies destas figuras mostram partículas de bio-hidroxiapatita de morfologia irregular homogeneamente dispersas na matriz e com tamanho de partículas muito menores que o original de 10 µm que possuíam quando foram adicionadas a matriz; exceto para a FIG. 57 d) que mostra uma partícula com tamanho da ordem de 8 µm na sua maior dimensão, o qual ainda é menor que o original. Estes resultados sugerem que as partículas sofreram redução de tamanho durante a extrusão em razão do processo de cisalhamento provocado pelas dupla-roscas. Em todas as micrografias, nota-se que não há sinais de deslocamento da HAP em relação a matriz, o que sugere uma boa adesão interfacial entre HAP-matriz (WANG et al., 2005; ALIREZA et al., 2010).

5.2.10. Carga microbiana (Biocarga ou *Bioburden*)

A TAB. 26 apresenta os resultados obtidos nos testes de carga microbiana realizada durante 5 dias consecutivos nas amostras de PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados. Segundo a farmacopeia brasileira 5ª edição este ensaio é utilizado para a avaliação da carga microbiana de bactérias e fungos que estão presentes nas amostras. Os resultados para os testes de biocarga encontraram o número de microrganismos totais aeróbicas similares, com média menor que 4 UFC/unidade. Os resultados apresentados nestes testes foram utilizados como base para a avaliação da eficácia da aplicação da dose de irradiação de 25 kGy na esterilização dos materiais compósitos obtidos neste trabalho.

TABELA 26 - Resultados dos testes de biocarga realizados nas amostras de PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados.

Materiais	Resultados Analíticos *UFC/ unidade	Data do ensaio
PLA/PBAT BLEENDA	3 UFC/ unidade	10/12/2017 a 15/12/2017
PLA/PBAT/HAP 1 %	5 UFC/ unidade	10/12/2017 a 15/12/2017
PLA/PBAT/HAP 3 %	4 UFC/ unidade	10/12/2017 a 15/12/2017
PLA/PBAT/HAP 5 %	5 UFC/ unidade	10/12/2017 a 15/12/2017
MÉDIA DE UFC/UNIDADE	< 4 UFC/ unidade	- - -

*UFC – Unidade Formadora de Colônia

5.2.11. Testes de esterilidade

A TAB. 27 apresenta os resultados obtidos nos testes de esterilidade realizado durante 14 dias consecutivos e após efetuada contagem da carga microbiana de bactérias e fungos presentes nas amostras de PLA/PBAT e seus compósitos irradiados. Os resultados dos testes de esterilidade mostram que o processo de radioesterilização na dose aplicada de 25 kGy foi eficiente para obtenção de material

ausente e livre de crescimento microbiológico. Desta forma segundo a farmacopeia brasileira 5° edição as amostras estudadas são consideradas estéreis.

TABELA 27 - Resultados dos testes de esterilidade realizados nas amostras de PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.

Materiais	*UFC/ Bactérias	UFC/ Fungos	Data do ensaio
PLA/PBAT BLENDA	Negativo	Negativo	03/01/2018 a 17/01/2018
PLA/PBAT/HAP 1 %	Negativo	Negativo	03/01/2018 a 17/01/2018
PLA/PBAT/HAP 3 %	Negativo	Negativo	03/01/2018 a 17/01/2018
PLA/PBAT/HAP 5 %	Negativo	Negativo	03/01/2018 a 17/01/2018

*UFC – Unidade Formadora de Colônia

5.2.12. Teste de citotoxicidade “*in vitro*” pelo método de incorporação do vermelho neutro

A TAB. 28 e a FIG. 58 apresentam os resultados dos testes de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro para as amostras de PLA/PBAT e seus compósitos irradiados. Como pode ser observado as amostras não apresentaram diferença significativa entre o PLA/PBAT e seus compósitos avaliados, desta forma apresentando viabilidade celular superior a 75 %, permitindo classificá-las como não citotóxicas de acordo com a farmacopeia américa-USP 23° edição (1995). Por meio da análise de viabilidade celular de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro, pode-se concluir que o PLA/PBAT e seus compósitos, têm potencial para serem utilizados como biomateriais.

TABELA 28 - Resultados dos testes de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro para o PLA/PBAT e seus compósitos irradiados.

Concentração Extrato (%)	% Viabilidade celular					
	Controle Negativo	Controle Positivo	PLA/PBAT BLEND	PLA/PBAT/ HAP 1 %	PLA/PBAT/ HAP 3 %	PLA/PBAT/ HAP 5 %
100	82 ±7	01 ±0	118 ±1	119 ±5	101 ±3	97 ±4
50	97 ±16	09 ±7	116 ±1	111 ±6	101 ±3	107 ±2
25	91 ±15	95 ±1	116 ±3	85 ±3	107 ±4	111 ±3
12,5	97 ±14	97 ±10	104 ±4	90 ±6	102 ±6	111 ±4
6,25	86 ±8	100 ±5	100 ±3	105 ±5	86 ±4	98 ±11

FIGURA 58 - Curvas de viabilidade celular obtidas no ensaio de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro (fonte: Autor).

6. CONCLUSÕES

Obtenção de bio-hidroxiapatita a partir de cascas de ovos brancos de galinha:

- ❖ Os picos característicos presentes na fase amorfa da HAp foi identificados por meio das análises de difração de raios X.
- ❖ Os picos e bandas largas apresentados pela espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho com transformada de Fourier confirmaram a presença dos grupos moleculares pertencentes a HAp.
- ❖ A curva da análise termogravimétrica da amostra de HAp é semelhante a obtida por Riviera e Araiza (1999) e mostrou a estabilidade térmica da HAp. As perdas de massa observadas podem ser explicadas pela queima do ácido fosfórico, pela evaporação das moléculas de água adsorvidas na HAp e queima de materiais orgânicos que constituem as cascas de ovos.
- ❖ As estruturas irregulares características da HAp foram observadas nas imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) das amostras de HAp.

Portanto, com base nestes resultados pode-se concluir que a HAp foi obtida a partir das cascas de ovos brancos de galinha pela metodologia aplicada neste trabalho.

Em relação à blenda de PLA/PBAT e seus compósitos não irradiados e irradiados, pode-se concluir que:

- ❖ Por meio dos ensaios de DRX foi possível verificar os dois picos registrados na posição 2θ em 18 e 20 ° relacionados a blenda de PLA/PBAT. O não aparecimento do pico característico de HAp na posição 2θ próximo a 31,8 ° sugerem que as partículas de HAp foram bem incorporadas na matriz de PLA/PBAT resultando na formação dos materiais compósitos PLA/PBAT/HAP. A similaridade observada entre os espectros do PLA/PBAT e seus compósitos indicam que a incorporação de 1, 3 e 5 % em massa de HAp na matriz de PLA/PBAT não causou alterações significativas na cristalinidade dos materiais compósitos obtidos, quando comparados a cristalinidade do PLA/PBAT.

- ❖ Os resultados obtidos nas análises de DSC dos compósitos mostraram que a adição de 1 %, 3 % e 5 %, em massa de HAp causou um leve aumento na temperatura de fusão e entalpia de fusão da blenda de PLA/PBAT.
- ❖ As curvas de termogravimetrias da blenda de PLA/PBAT e seus compósitos não mostraram mudanças significativas na estabilidade térmica dos materiais estudados.
- ❖ Os resultados dos ensaios de HDT e ponto de amolecimento Vicat mostraram um aumento de até 10 % quando comparados a blenda de PLA/PBAT, devido à adição de 1, 3 e 5 % em massa de HAp na matriz de PLA/PBAT.
- ❖ Os resultados dos ensaios mecânicos de resistência à tração, à flexão e ao impacto izod, mostram um aumento superior até 15 % quando comparados aos resultados obtidos para a blenda de PLA/PBAT. Estes resultados sugerem uma boa adesão HAp-matriz.
- ❖ As micrografias mostram uma superfície crio-fraturada rugosa com estrias correspondentes ao processo de crio-fraturamento da amostra para a realização do ensaio MEV-FEG. As superfícies destas figuras mostram partículas de HAp de morfologia irregular homogeneamente dispersas na matriz e com tamanho de partículas menores que o original de 10 μm , sugerindo que as partículas sofreram redução de tamanho durante a extrusão em razão do processo de cisalhamento provocado pelas dupla-roscas. Em todas as micrografias, nota-se que não há sinais de deslocamento da HAp em relação a matriz, o que sugere uma boa adesão interfacial entre HAp-matriz.
- ❖ O tratamento por irradiação com a dose de 25 kGy não causaram mudanças significativas nas amostras de PLA/PBAT e seus compósitos.

Observando os resultados obtidos nos testes biológicos, pode-se concluir que:

- ❖ Os testes de carga microbiana e esterilidade para a validação do processo de esterilização mostraram que o tratamento por irradiação com a dose de 25 kGy foi eficiente para eliminação de bactérias e fungos, tornando o material estéril.
- ❖ Os testes de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro apresentou viabilidade celular superior a 75 %, permitindo classificar a blenda de PLA/PBAT e seus compósitos como não citotóxicos, apresentando potencial para serem utilizados como biomateriais.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para melhor conhecimento dos compósitos de PLA/PBAT/HAP, sugere-se os seguintes pontos como trabalhos futuros:

- ❖ Aperfeiçoar a reação de precipitação da HAp, estudando a influência dos parâmetros críticos (temperatura da reação, velocidade de gotejamento, concentração dos reagentes, pH e temperatura de sinterização).
- ❖ Avaliar as propriedades estudadas dos compósitos ao longo do tempo, por ensaio de biodegradação em meio simulado.
- ❖ Avaliar as propriedades dos compósitos quanto ao stress e fadiga.
- ❖ Realizar ensaios “*in vivo*” para avaliação de sua adesão histológica.

8. PUBLICAÇÕES DERIVADAS

REIS, P. R. SOUSA.; SANTANA, J. G.; OLIVEIRA, R.; RANGARI, V. K.; MOURA. E. **Biodegradable polymer blends reinforced with bio-hydroxyapatite nanoparticle - Preparation and Characterization.** In: Pan American Congress of Nanotechnology Fundamentals and Applications to Shape the Future, 2017.

REIS, P. R. SOUSA; OLIVEIRA, R; SANTANA, J. G.; RANGARI, V. K.; LOURENÇO F. R.; MOURA. E. **Bio-hidroxiapatita obtido a partir de resíduos renováveis aplicados a regeneração óssea - Sínteses e Caracterização, v. 1. p. 394-402.** In: Congresso Latino Americano de Biomateriais, Órgãos Artificiais e Engenharia de Tecidos - SLABO, Maresias. Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais - OBI, 2017.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBONA, F. A XRD and TEM study on the transformation of amorphous calcium phosphate in the presence of magnesium. **Journal Cryst Growth**, n. 165, p. 98-105, 1996.

ADRAR, S; HABI, A; AJJI, A. GROHENS. Synergistic effects in epoxy functionalized graphene and modified organo-montmorillonite PLA/PBAT blends. **Applied Clay Science**, v. 157, n. 1, p. 12933-12943, 2018.

AGNELLI, M. A. J.; CASARIN, A. S.; MALMONGE, M.S.; ROSÁRIA, F. Blendas PHB/ poliésteres biodegradáveis – biodegradação em Solo. **Polímeros**, v.1, p.1-8, 2012.

AHMED, S.; AHSAN, M. Synthesis of Ca-hydroxyapatite bioceramic from egg shell and its characterization. **Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research**, n.43, p. 501-512, 2008.

AL-ITRY, R; LAMNAWAR, K; MAAZOUZ, A. Reactive extrusion of PLA, PBAT with a multi-functional epoxide: physico-chemical and rheological properties. **European Polymer Journal**, v. 58, p. 90-102, 2014.

ALJABO, A.; NEEL, E. A. B.; KNOULES, J. C.; YOUNG, A. M. Development of dental composites with reactive fillers that promote precipitation of antibacterial-hydroxyapatite layers. **Materials Science and Engineering C**, v.60, p.285-292, 2016.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Standard test method for tensile properties of plastics**. (ASTM D 638-01), 2001.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Standard test methods for Vicat softening temperature of plastics**. (ASTM D 1525 – 04), 2004.

APARECIDA, A. H.; SILVA, A. C.; Braga, F. J. C. **Estudo da influência da velocidade de adição de ácido na composição e tamanho de nanopartículas de**

hidroxiapatita (HA) obtidas por neutralização. In: 20º Congresso Engenharia e Ciência dos Materiais (20ºCBECIMAT), Joinville – SC, 2013.

ARBOLEDA, A; FRANCO, M; CAICEDO, J; TIRADO, L; GOYES, C. Synthesis and chemical and structural characterization of hydroxyapatite obtained from eggshell and tricalcium phosphate. **Journal Ingeniería y Competitividad**, v-18, p. 69-71, 2016.

ARMENTANO, I.; BITINIS, N.; FORTUNATI, E.; MATTIOLI, S.; RESCIGNANO, N; VERDEJO, R.; LOPEZ-MANCHADO, M. A.; KENNY, J. M. Multifunctional nanostructured PLA materials for packaging and tissue engineering. **Journal Progress in Polymer Science**, v. 38, p. 1212-1214, 2013.

ARRUDA, C. L; MAGATON, M; BRETAS, R. E. S; UEKI, M. M. Influence of chain extender on mechanical, thermal and morphological properties of blown films of PLA/PBAT blends. **Polymer Testing**, v. 43, p. 27-37, 2016.

AURAS, R.; HARTE, B.; SELKE, S. An Overview of Polylactides as Packaging Materials. **Macromolecular Bioscience**, v. 4, p. 835–864, 2004.

AZEVEDO, A. G. S, STRECKER, K. Avaliação da influência da razão ca/p nos valores de cristalinidade e crescimento de cristalitos durante a Sinterização de pós de hidroxiapatita. **Eclética Química**, v. 39, p. 141-150, 2014.

BALA'ZSI; C. F; WE'BER, Z; KO'VE'R, E; HORVA'TH, C; NE'METH. Preparation of calcium-phosphate bioceramics from natural resources. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 27, p. 1601–1606, 2007.

BASF. Disponível em: <http://www.basf.com.br/default.asp?id=1216>. Acesso em: 12 de janeiro de 2018.

BLAKESLEE, S. R; CONDRATE, S. R. BIOCERAMICS: Materials and Applications. **Journal American Ceramic Soc.**, v. 54, p. 559-568, 1971.

BRANDELERO, R. P. H.; GROSSMANN, M. V. M.; YAMASHITA, F. Hidrofilicidade de filmes de amido/poli (Butileno Adipato co-tereftalato) (PBAT) adicionados de Tween 80 e óleo de soja. **Polímeros**, v.23, p.270-275, 2013.

BRITO, G. F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E. M. MÉLO T. J. A. Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.62, p.127-139, 2011.

BUSTOS-GRIFFIN, E; HALLMAN, G.J; GRIFFIN, R.L. Phytosanitary irradiation irradiation in ports of entry: a practical solution for developing countries. **Journal Food Sci. Technol.** v. 50, p.249-255, 2015.

CALIMAN, L. B. **Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida a partir de casca de ovo de avestruz**. Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal do Espírito Santo, 2011.

CALLISTER, W.D.J. **Ciência e engenharia de materiais uma introdução**. Rio de Janeiro: Editora LTC, p. 422-451, 2011.

CANEVAROLO JUNIOR, S.V. **Ciência dos Polímeros: Um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. São Paulo: Editora Artliber, p. 17-19, 2006.

CANEVAROLO, S. **Técnicas de Caracterização de Polímeros**. Ed 1. São Paulo, Editora Artliber, 2012.

CARLO, C. E; BORGES, B. P. A; REZENDE, F. C; MOREIRA, L. C. J; FONSECA, C. C; PONTES, S. C. K; DUARTE, S. T. Avaliação do efeito osteoindutor da hidroxiapatita e do Biovidro implantados em tecido subcutâneo de cão. **Ceres**, v. 54, n. 316, p. 492-500, 2018.

CARRASCO, F.; PAGÈS, P.; GÁMEZ-PÉREZ, J.; SANTANA, O.O.; MASPOCHC, M.L. Processing of poly (lactic acid): Characterization of chemical structure, thermal

stability and mechanical properties. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, p. 116-125, 2010.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. **Journal Program Polymers Science**, v.23, p.1273-1335, 1998.

CHAPIRO, A. Radiation chemistry of Polymeric Systems. New York, **John Wiley & Sons**, 1962.

CHARLESBY, A. Atomic Radiation and polymers. New York, **Pergamon Press**, 1960.

CHAUDHURI, B. Preparation and characterization of nanocrystalline hydroxyapatite from egg shell and K_2HPO_4 Solution. **Materials Letters**, v. 97, p. 148-150, 2013.

CHEN, L.; QIU, X.Y.; XI, Z. G.; HONG, Z. K.; SUN, J. R.; CHEN, X. S. Poly (Llactide)/starch blends compatibilized with poly(L-lactide)-g-starch copolymer. **Journal Carbohydrate Polymers**, v. 65, p.75–80, 2006.

CLARK, S. J; PAYNE, M. C. 2002. First-principles simulation: ideas, illustrations and the CASTEP code. **Journal Phys. Condens. Matter**. 14, 2017.

CUCHIARA, C.C.; BORGES, C.S. BOBROWSKI, V.L. Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador da citogenotoxicidade de cursos d'água. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.6, n.1, p.33-38, 2012.

CUNHA, V.; FERREIRA, A. M. C; CONSTANTINO, V. R. L.; TRONTO, J; VALIM, J. B. Hidróxidos Duplos Lamelares: Nanopartículas Inorgânicas Para Armazenamento e Liberação de Espécies de Interesse Biológico e Terapêutico. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 159-171, 2010.

DALEY, T.; DAMM, D. D.; HADEN, J. A.; KOLODYCHAK, M. T. Oral lesions associated with hydroxyapatite cosmetic filler. **Mosby**, v.114, p.107-107, 2012.

DICKER, M.P.M.; DUCKWORTH, P.F.; BAKER, A.B.; FRANCOIS, G.; HAZZARD, M.K.; WEAVER, P.M. Green composites: A review of material attributes and complementary applications. **Journal Composites: Part A**, v.56, p.280–289, 2014.

DOROZHKIN, S. V. Calcium orthophosphates in nature, biology and medicine. **Journal Materials**, v.2, p. 399-498, 2009.

ELLIOTT, J. C.; WILSON, R. M.; DOWKER, S. E. P. Apatite structures. **Advances in X-ray Analysis**, v.45, p.172-181, 2002.

ESTEVES, A. C. C.; TIMMONS, A. B.; TRINDADE, T. Nanocompósitos de matriz polimérica: estratégias de síntese de materiais híbridos. **Química nova**, v.27, n.5, p.798-806, 2004.

FALCONE, D. M. B. **Influência da incorporação de poli (ácido Láctico) - PLA, de pó de madeira e outros aditivos no comportamento físico-mecânico do Poli(hidroxibutirato) – PHB**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.

FAMBRI, L; MIGLIARESI, C. Crystallization and Thermal Properties, in: Poly (lactic acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications, **John Wiley & Sons**, v. 3, p. 148-158, 2010.

FARIAS, R, K, J; PEREIRA, S, M, M; FIGUEIREDO. Avaliação de boas pratica e contagem microbiológica das refeições de uma unidade de alimentação hospitalar, do município de São Miguel do Guamá – Pará. **Revista Alim. Nutr.** Araraquara, v.22, n.1, p. 113-119, 2011.

FARMACOPEIA BRASILEIRA (FB). **Farmacopeia Brasileira**, 5. ed. Brasília, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

FECHINE, G. J. M. A era dos polímeros biodegradáveis. **Plásticos Moderno**, v. 423, p.101-111, 2017.

FERREIRA, S. W; COSTA, R. M. C; FERREIRA, B. R. S; NUNES, F. S. Propriedades estruturais e eletrônicas da hidroxiapatita a partir de cálculos de primeiros princípios, **Engevista**, v. 19, n. 1, p. 194-201, 2017.

FISCHIMAN, G. S. Characterization of ceramics. Bioceramics: Materials and applications. **Journal Westerville**, p. 59-71, 1994.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis- uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v.29, n.4, p.811-816, 2016.

FREIRE, N, M; HOLANDA, J, N, F. Characterization of avian eggshell waste aiming its use in a ceramic wall tile paste. **Cerâmica**, v. 52, p.240-244, 2006.

FREITAS, L. P. A; TONINO FILHO, R, L; CALVÃO, S. P; SOUZA, A.M. C. Effect of montmorillonite and chain extender on rheological, morphological and biodegradation behavior of PLA/PBAT blends. **Polymer Testing**, v. 62, p.189-195, 2017.

FUKUSHIMA, K.; WU, M.H.; BOCCHINI, S.; RASYIDA, A.; YANG, M.C. PBAT based nanocomposites for medical and industrial applications. **Materials Science and Engineering**, v. C 32, p. 1331–1351, 2012.

FURUKAWA, T. Biodegradation Behavior of Ultra-High-Strength Hydroxyapatite/Poly (L-Lactide) Composite Rods For Internal "Xation Of Bone Fractures. **Journal Biomaterials**, v.21, p 889-898, 2000.

GAMELAS, J. A. F.; MARTINS A. G. Surface properties of carbonated and non-carbonated hydroxyapatites obtained after boné calcination at diferente temperatures. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.478, p.62-70, 2015.

GERGELY, G; WÉBER, F; LUKÁCS, I; TÓTH, A.L; HORVÁTH, J. M; BALÁZSI, C. Preparation and characterization of hydroxyapatite from eggshell. **Ceramics International**, v.36, p.803- 806, 2010.

GOMES, L. C.; DILELLO, B. C.; CAMPOS, J. B.; SAMPAIO, M. Síntese e caracterização de fosfato de cálcio a partir de casca de ovo de galinha. **Cerâmica**, v.58, p.448-452, 2012.

GOMES, R. O. **Caracterização de propriedades mecânicas de plásticos biodegradáveis à base de amido**. Dissertação (Graduação) - Escola Politécnica, Universidade Federal, Rio de Janeiro, 2014.

GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1352-1358, 2010.

GUILLET, J. **Polymer photo physics and photochemistry**. New York, Cambridge University Press, 1985.

GUTIERRES, M; LOPES, M. A; HUSSAIN, N. S; CABRAL, A. T; ALMEIDA, L.; SANTOS, J. D. Substitutos ósseos - conceitos gerais e estado atual. **Arquivos de Medicina**, v.19, n.4, p. 1989-1998, 2006.

HASSAN K, M. Synthesis And Characterisation Of Bio-Based Hydroxyapatite Nanoparticles. **Journal Nano And Biomaterials**, v.1, p. 250-259, 2010.

HENCH, L. L. Biomaterials: A Forecast for the Future. **Biomaterials**, London, p. 1419-1423, 1998.

HO, K.G; POMETTO, A.L III. Temperature effects on soil mineralization of polylactic acid plastic in laboratory respirometers. **Journal of Environmental Polymer Degradation**, v. 7, p. 101–108, 1999.

IDRIS, K; TIJANI, I, H; BASHIR A. M; HARUNA, S; YUSUF, H; JIBRIN, N, M; SULAIMAN, M. From Garbage to Biomaterials: An Overview on Egg ShellBased Hydroxyapatite. **Journal of Materials**, v.5, p. 1-6, 2014.

ISO. **Sterilization of health care products – Radiation sterilization – Part Requirements for development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices**. ISO 11137-1:2015, 2015.

ISO. **Sterilization of health care products – Radiation sterilization – Part Establishing the sterilization dose**. ISO 11137-2:2015, 2015.

JACOMO, D.H.; GOMES, M.; TEIXEIRA, J.G.; SILVA, V.A.; OLIVEIRA, R.R.; ABREU, A; MOURA, E. A. B. Composite Based on Poly (Vinyl Alcohol), Starch and Sugarcane Bagasse Ashes. **Journal of Materials**, v.3, p. 80-96, 2012.

JAMSHIDIAN, M.; TEHRANY, E.A.; IMRAN, M.; JACQUOT, M.; DESOBRY, S. Poly-Lactic Acid: Production, Applications, Nanocomposites, and Release Studies. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.9, p. 552-571, 2010.

JIANN-YANG, H.; CHENGGUANG, B.; CARPENTER, J; IKHMAYIES, S, J; BOWEN, L; SERGIO NEVES, M; ZHIWEI, P; MINGMING ZHANG. Characterization of Minerals, Metals, and Materials. **Journal Hoboken John Wiley & Sons**, v.1, p. 455-464, 2013.

KANG, Y; CHEN, P; SHI, X; ZHANG, G; WANG, C. Preparation of open-porous stereocomplex PLA/ PBAT scaffolds and correlation between their morphology, mechanical behavior, and cell compatibility. **Royal society of chemistry**, v. 8, p. 65-75, 2018.

KANNAN, S.; ROCHA, J.H.G.; VENTURA, J.M.G.; LEMOS, A.F.; FERREIRA, J.M.F. Effect of Ca/P ratio of precursors on the formation of different calcium apatitic ceramics - An X-ray diffraction study. **Scripta Materialia**, n.53, p. 1259–1262, 2005.

KAPLAN DL, MAYER JM, BALL D, MCCASSIE J, ALLEN AL, STENHOUSE P. Fundamentals of biodegradable polymers. In: Ching C, Kaplan DL, Thomas EL (EDS) Biodegradable polymers and packaging. **Journal Technomic Pub Co Lancaste**, p. 1–42, 1993.

KIJCHAVENGKUL, T.; AURAS, R.; RUBINO, M.; SELKE, S.; NGOUAJIO, M.; FERNANDEZ, T. Biodegradation and hydrolysis rate of aliphatic aromatic polyester. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, p. 2641-2647, 2010.

KRANZ H, UBRICH N, MAINCENT P, BODMEIER R. Physicomechanical properties of biodegradable poly (D, L-lactide) and poly (D, L-lactide-co-glycolide) films in the dry and wet states. **Journal Pharm Sci**, v. 89, p.1558–1566, 2000.

KRISHNA, S. R. D. A novel route for synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite from eggshell waste. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.18, n.9, p.1735-1743, 2007.

KUCHNIER, C.N.; MORALES, A.R. **Estudo do efeito de aditivo extensor de cadeia nas propriedades térmicas e na morfologia de blendas de PLA/PBAT**. In: 12º Congresso Brasileiro de Polímeros (12ºCBPol), Florianópolis – SC, 2013.

LEVVITT, S. R. Characterization of hydroxyapatite coating deposited by thermal plasma spraying on titanium alloys. **Journal Mat. Lett**, v. 136, p. 138-143, 2012.

LUNA, C. B. B.; SILVA, D. F.; BASÍLIO, S. K. T.; ARAÚJO, M. E.; SILVA, A. L.; BEZERRA, A. F. C. Desenvolvimento de blendas poliméricas visando a tenacificação dos polímeros: Uma revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v.36, p.67-80, 2015.

MADRID, J. F; NUESCA, G. M; ABAD, L. V. Gamma radiation-induced grafting of glycidyl methacrylate (GMA) onto water hyacinth fibers. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 85, p.182–188, 2013.

MARQUES, R. D. **Obtenção e caracterização de blendas poliméricas de poli (ácido láctico-co-glicólico) e poli (isopreno) para aplicação como biomaterial.** Dissertação (Mestrado em Engenharia, Área de Concentração: Ciência dos Materiais), Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 2011.

MCCARTHY S, P; RANGANTHAN A, MA, W. Advances in properties and biodegradability of co-continuous, immiscible, biodegradable, polymer blends. **Macromol Symp**, v. 144, p.63–72,1999.

MENDES FILHO, ANTONIO ALVES. **Síntese e caracterização de Hidroxiapatita e compósitos a partir de matéria-prima reciclada.** Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais), Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP, 2006.

MIRACHI, A; LEMAITRE, J; TERAOKA, N. Calcium phosphate cements: Study of the beta-tricalcium phosphate – Monocalcium phosphate system. **Journal Biomaterials**, Louvain-La-Nueve, p. 475-480, 1988.

MONMATURAPO, J. N. Nano-size Hydroxyapatite Powders Preparation by Wet-Chemical Precipitation Route. **Journal of Metals, Materials and Minerals**. v.18, n.1, p. 15-20, 2008.

MORAES, M. F. V. **Produção e caracterização de blenda polimérica biodegradável poli(hidroxibutirato)[PHB] /copoliéster alifático aromático [Ecoflex®] para aplicações em embalagens.** Dissertação (Mestrado) – Centro Tecnológico de Minas Gerais, 2004.

MORAES, S. B.; BOTAN, R.; LONA, L, M. F. Síntese e caracterização de nanocompósitos de poliestireno/hidroxissal lamelar. **Química nova**, v.37, n.1, p.18-21, 2014.

MORALES, R, A; PEREIRA, B, R. Estudo do comportamento térmico e mecânico do PLA modificado com aditivos nucleantes e modificador de impacto. **Polímeros**, v.24, n.2, p. 198-202, 2014.

MOTISUKE, M.; BERTRAN, C. A. Síntese de “whiskers” de CaSiO_3 em fluxo salino para elaboração de biomateriais. **Cerâmica**, v.58, p.504-508, 2012.

MUTHURAJ, R; MISRA, M; MOHANTY, A. K. Biodegradable poly (butylene succinate) and poly (butylene adipate-co-terephthalate) Blends: reactive Extrusion and Performance Evaluation. **Journal of Polymer and the Environment**, v, 22, p.336-349, 2014.

NAGASAWA, N.; KANEDA, A.; KANAZAWA, S.; YAGI, T.; MITOMO, H.; YOSHII, F.; TAMADA, M. Application of poly (lactic acid) modified by radiation crosslinking. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, v.236, p.611–616, 2005.

NAIR, S. L; LAURENCIN, T, C. Biodegradable Polymers as Biomaterials. **Journal Progress in Polymer Science**, v.32, p.762-798, 2007.

NAYAR, S.; GUHA, A. Waste utilization for the controlled synthesis of nanosized hydroxyapatite. **Materials Science and Engineering**, n.29, p. 1326–1329, 2009.

NOGUEIRA, B. R. **Avaliação dos efeitos da radiação ionizante por feixe de elétrons na incorporação de fibra de piaçava (*Attalea funifera* mart.) no copolímero de etileno e álcool vinílico (EVOH)**. Dissertação (Mestrado), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo 2012.

OLIVEIRA, D. A.; BANELLI, P.; AMANTE, E. R. Valorização de resíduos sólidos: cascas de ovos como matéria prima no desenvolvimento de novos produtos. **Journal International Workshop Advanvance in Cleaner Production**, v.1, p.1-11, 2009.

OLIVEIRA, M. L. **Efeitos da Radiação Gama no polímero biodegradável poli (hidroxibutirato) e no copolímero poli (Hidroxibutirato-co-hidroxivalerato)**. Tese (Doutorado em Tecnologias Energéticas e Nucleares), Universidade Federal do Pernambuco – Pernambuco, 2006.

PADILLA, S.; VALLET-REGÍ, M.; GINEBRA, M. P.; GIL, F. J. Processing and mechanical properties of hydroxyapatite pieces obtained by the gelcasting method. **Journal of the European Ceramic Society**. v.25, p. 375–383, 2005.

PALSIKOWSKI, A, P. **Estudos do comportamento da biodegradabilidade em solo de blendas compatibilizadas de PLA/PBAT e seus efeitos genotóxicos e mutagênicos**. Dissertação (Mestrado), Unicamp, Campinas-SP, 2015.

PANTANI, R; DE SANTIS, F; SORRENTINO, A; DE MAIO, F; TITOMANLIO, G. Study Polymers Degradable of PLA/PBAT. **Journal Polymers Grad Stab**, v.95, p.1148-1158, 2010.

PARK, J. W. Evaluation of bone healing with eggshell-derived bone graft substitutes in rat calvaria: A pilot study. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v.87, n.1, p.203-214, 2007.

PELLICANO, M; PACHEKOSKI W; AGNELLII J. A. M. Influência da adição de amido de mandioca na biodegradação da blenda polimérica PHBV/Ecoflex®. **Revista Polímeros**, v.19, p.3-15, 2009.

PERES, A. P.; WASZCZYNSKYJ, N. Farinha de casca de ovo: determinação do teor de cálcio biodisponível. **Visão Acadêmica** - Curitiba, v.11, n.1, p.74-80, 2010.

PETROV, O. E.; DYULGEROVA, E.; PETROV, L.; POPOVA, R. Characterization of calcium phosphate phases obtained during the preparation of sintered biphasic Ca-P ceramics. **Materials Letters**, v.48, p.162–167, 2001.

PILLA, S.; KIMB, S. G.; AUER, G. K; GONG, S; PARK, C. B. Microcellular extrusion foaming of poly(lactide)/poly(butylenes adipate-co-terephthalate) blends. **Polymer**, v.42, p.9819- 9826, 2001.

PINTO, T, J, A; KANEKO, T, M; PINTO, A, F. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. São Paulo: Atheneu Editora, 2010.

PITHON, M. M. Utilização de mini implante na ortodontia. **Revista Saúde**, v.4, p. 1-19, 2008.

RAHMAN, M, M; NETRAVALI, A; TIMOB, J, B; APALANGYA, V; RANGARI, V, K. Bio-inspired “green” nanocomposite using hydroxyapatite synthesized from eggshell waste and soy protein. **Journal Applied Polymer Science**, n.15, p.0-10, 2016.

RATNAM, C.T.; RAMLEE, N.A.; APPADU, S.; MANSHOR, S. M.; ISMAIL, H. Preparation and Electron Beam Irradiation of PVC/ENR/CNTs Nanocomposites. **Journal Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 54, n. 2, 2015.

RAVAGLIOLI, A; KRAJEWSKI, A. **Bioceramics: Materials, properties, applications**. New York: Chamoman & Hall. 1992.

RAYNAUD, S.; CHAMPION, E.; BERNACHE-ASSOLLANT, D.; THOMAS, P. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterisation and thermal stability of powders. **Biomaterials**, v. 23, p.1065–1072, 2002.

RAYNAUD, S; CHAMPION, E; BERNACHE-ASSOLLANT, D; LAVAL, J. Determination of calcium/phosphorus atomic ratio of calcium phosphate apatites using X-ray diffractometry. **Journal of the American Ceramic Society**, v.84, n.2, p. 359–66, 2001.

RIVERA, M. E; ARAIZA, M; BROSTOW, W; CASTAÑO; DIAZ-ESTRADA; HERNÁNDEZ, R; RODRIGUEZ, R, J. Synthesis of hydroxyapatite from eggshells. **Materials Letters**, v.41, p.128- 134, 1999.

RUSSIAS, J; SAIZ, R, K; NALLA, K,; GRYN, R, O; TOMSIA, A, P. Fabrication mechanical properties of PLA/HÁ composites: A study of in vitro degradation. **Materials Science & Engineering**, v.26, p. 1289-1295, 2006.

SABA, N.; TAHIR, P.M.; JAWAID, M. A Review on Potentiality of Nano Filler/Natural Fiber Filled Polymer Hybrid Composites. **Polymers**, v. 6, p.2247-2273, 2014.

SALES, N. J. **Estudo do efeito da incorporação das argilas branca de cubati e cloisite Na[®] nas propriedades do termoplástico acrilonitrila butadieno estireno submetido à radiação ionizante.** Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2016.

SANTOS, A; WLADYMYR J. B; SOUZA, F, M; ROSEMBERG, B. Obtenção de hidroxiapatita (fosfato de cálcio) a partir da casca do ovo de galinha. **Revista acadêmico científica**, v.7, p.1-8, 2015.

SANTOS, M. L; FLORENTINO, A, O; SAEKI, M, J; APARECIDA, A, H; FOOK LIA, M, V; GUASTADI. Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. **Ecletica Química**, v.3, p.29-35, 2005.

SARTORI, M. N. **Estudo e desenvolvimento de nanocompósitos PBT/Argila bentonita tratados por radiação ionizante – preparação e caracterização.** Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2014.

SASIKUMAR, S; VIJAYA RAGHAVAN, R. Low Temperature Synthesis of Nanocrystalline Hydroxyapatite from Egg Shells by Combustion Method. **Trends Biomater**, v.19, p.70-74, 2006.

SATTIA, A.; CIOLINO, A.; ANDREUCETTA, N.; VALLÉS, E. The role of unsaturations in the Gamma irradiation of crosslinkable polymers. **Radiation Physics and Chemistry**, v.115, p.119–126, 2015.

SCHMALZ, G.; BROWNE, R. M. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. **Intern. Dental**, v. 45, p. 275-278, 1995.

SHONO, M. M; NIWA, A. B. M; OSÓRIO, N. E. S. Tratamento para rejuvenescimento das mãos com hidroxiapatita de cálcio. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v.4, n.2, p.186-188, 2012.

SILVA, C. M; OLIVEIRA, S. V.; ARAÚJO, E, M. Propriedades mecânicas e térmicas de sistemas de PLA e PBAT/PLA. **Revista Eletrônica de Matérias e Processos**, v.9, n.2, p. 112-117, 2014.

SILVA, M. H. P. Apostila de Biomateriais, **Ceramed**, 2007.

SLOSARCZYK, A; STOBICRSKA, E; PASZKICWICZ, Z; GAWLICKI, M. Calcium phosphate materials prepared from precipitate with various calcium phosphorus molar ratios, **Journal American Ceramic Soc**, v.79, p.2539–2544, 1996.

SOUZA, P. M. S.; MORALES, A. R.; MEI, L. H. I. Estudo da influência de argilas organofílicas no processo de biodegradação do PLA. **Polímeros**, v.24, n.1, p.110-116, 2014.

SU, Y.; OUYANG, Q.; ZHANG, W.; LI, Z.; GUO, Q.; FAN, G.; ZHANG D. Composite structure modeling and mechanical behavior of particle reinforced metal matrix composites. **Materials Science and Engineering: A**. v. 597, p. 359-369, 2014.

SUCHANEK, W; YOSHIMURA, M; Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. **Journal of Materials Research**, v. 13, n. 1, p. 94 -117, 1998.

TÁBI, T.; SAJÓ, I.E.; SZABÓ, F.; LUYT, A.S.; KOVÁCS, J.G. Crystalline structure of annealed polylactic acid and its relation to processing. **Polymer Letters**, v.4, no.10, p. 659–668, 2010.

TAN, L.; YU, X.; WAN, P.; YANG, K. Biodegradable materials for bone repairs: A review. **Journal of Materials Science & Technology**, v. 29, p. 503-513, 2013.

TAS, A.C. Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 373C in synthetic body fluids. **Journal Biomaterials**, v. 21, p.1429–1438, 2000.

TOKIWA, Y.; CALABIA, B.P. Biodegradability and biodegradation of poly(lactide). **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 72, p. 244–251, 2006.

UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP). **Farmacopéia Americana**. 23. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1995.

VALLET-REGÍ, M; GONZÁLEZ-CALBET, J. M. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. Progress in Solid. **State Chemistry**, n.32, p.1-31, 2004.

VAZ, G. J. O. **Propriedades de biocerâmicas porosas de fosfato de cálcio obtidas com matérias-primas de origem orgânica e sintética**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais), Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP, 2007.

VÉLEZ, J.; CARDONA, N.; GÓMEZ, J.; LÓPEZ, E. Sintesis de hidroxiapatita por combustion a partir del carbonato de cálcio obtenido de cascaras de huevos de gallina. **Revista Colombiana de Materiales**, v.1, n.5, p.97-102, 2013.

VERMA, N; KUMAR, V; BANSAL, C. M. Characterization of avian eggshell waste aiming its use in a ceramic wall tile paste. **Journal Environ. Stud**, v.21, p.491-497, 2011.

VERMA, N; KUMAR, V; BANSAL, M, C. Utilization of eggs shell waste in cellulase production by neurospora crasser under wheat brain-based solid state fermentation. **Pol. J. Environ. Stund**, v.21, n.2, p 491-497, 2012.

VOLKMER, T. M.. **Obtenção e caracterização de Hidroxiapatita porosa pelo método *gelcasting* de espumas para uso como implantes**. Dissertação (Mestrado

em Engenharia, Área de Concentração: Ciência dos Materiais), Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 2006.

WANG, K. H; CHOI, M.H; KOO, C.M; CHOI, Y. S; CHUNG, I. J. Synthesis and characterization of maleated. **Journal Materials Science and Engineering**, v.87, p.69–76, 2005.

WANG, L; LI, Y; ZUO, Y; ZHANG, L; ZOU; Q; CHENG, L; JIANG, H. Porous bioactive scaffold of aliphatic polyurethane and hydroxyapatite for tissue regeneration. **Biomed. Mater**, v. 4, p.250-258, 2009.

WANG, S; SONG, C; CHEN, G; GUO, T; LIU, J; ZHANG, B. Characteristics and biodegradation properties of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/organophilic montmorillonite (PHBV/OMMT) nanocomposite. **Journal Materials Science and Engineering**, v.30, p. 255-267, 2010.

WANG, Y; HAO, H; LI, Y; ZANG, S. Selenium-substituted hydroxyapatite nanoparticles and their in vivo antitumor effect on hepatocellular carcinoma. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.140, p.297-306, 2016.

WU, N; ZHANG, H. Mechanical properties and phase morphology of super-tough PLA/PBAT/EMA-GMA multicomponent blends. **Materials Letters**, v.192, p. 17-20, 2017.

WUA, S; HSUA, H; HSUA, S; CHANG, Y; HOC, W. Synthesis of hydroxyapatite from eggshell powders through ball milling and heat treatment. **Jornal of Asian Ceramic Societies**, v.4, p.85-90, 2016.

YAMAMOTO, M; WITT, U; SKUPIN, G; BEIMBORN, D; MÜLLER, R.J. Biodegradable aliphatic-aromatic polyesters: “Ecoflex®”. **Biopolymers**, v.4, p. 145-158, 2005.

YEONG W. Y.; CHUA C. K.; LEONG K. F. CHANDRASEKERAN M. Rapid prototyping in tissue engineering: Challenges and potentials. **Trends in Biotechnology**, Singapore, v.22, n.12. p. 874-883, 2004.

ZHOU, H; LEE, J. Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v.7, p. 2769-2781, 2011.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax (0XX11) 3133-8908
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil
<http://www.ipen.br>

O IPEN é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento, associada à
Universidade de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela Comissão
Nacional de Energia Nuclear, órgão do
Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.