

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DIEGO HENRIQUE WITCHEMICHEN

**DESENVOLVIMENTO DE BIOFILAMENTOS DE COMPÓSITOS DE  
POLI(FLUORETO DE VINILIDENO) E HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÕES  
BIOMÉDICAS.**

GUARAPUAVA

2021

DIEGO HENRIQUE WITCHEMICHEN

**DESENVOLVIMENTO DE BIOFILAMENTOS DE COMPÓSITOS DE  
POLI(FLUORETO DE VINILIDENO) E HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÕES  
BIOMÉDICAS.**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Química, área de concentração em Química Aplicada, para obtenção do título de mestre.

**Orientadora:** Prof. Dra. Taiana Gabriela Moretti  
Bonadio

GUARAPUAVA

2021

Catálogo na Publicação  
Rede de Bibliotecas da Unicentro

Witchemichen, Diego Henrique

W819d

Desenvolvimento de biofilamentos de compósitos de poli(fluoreto de vinilideno) e hidroxiapatita para aplicações biomédicas / Diego Henrique Witchemichen. – – Guarapuava, 2021.  
ix, 46 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Química. Área de concentração: Química Aplicada, 2021.

Orientadora: Taiana Gabriela Moretti Bonadio  
Banca Examinadora: Eryza Guimarães de Castro, Ivair Aparecido dos Santos

Bibliografia

1. Biocompósito. 2. Biofilamento. 3. PVDF. 4. Hidroxiapatita. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Química.

CDD 540


**DIEGO HENRIQUE WITCHEMICHEN**

**DESENVOLVIMENTO DE BIOFILAMENTOS DE COMPÓSITOS DE  
POLI(FLUORETO DE VINILIDENO) E HIDROXIAPATITA PARA  
APLICAÇÕES BIOMÉDICAS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química Aplicada, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 3 de setembro de 2021.

  
Prof. Dr. Ivair Aparecido dos Santos - UEM

  
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Eryza Guimarães de Castro - Unicentro

  
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Taiana Gabriela Moretti Bonadio - Orientadora

GUARAPUAVA-PR

2021

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Professora Dra. Taiana Gabriela Moretti Bonadio, pelos ensinamentos, apoio e acima de tudo paciência em me orientar durante esse trabalho. Sem dúvidas uma grande pesquisadora e um exemplo de mulher.

Ao colega de laboratório Eduardo Ricieri Fiorentin, pelo auxílio na produção dos filamentos.

À minha colega de laboratório Miriã Andrade de Oliveira pela ajuda nos testes de bioatividade.

À Professora Dra. Mychelle Viana pelo auxílio na realização dos testes de citotoxicidade.

À minha namorada Ana Flávia Caldas, pelo apoio incondicional, paciência, carinho e ajuda com algumas figuras desse trabalho. Sempre que precisei você estava lá para me ajudar.

Aos meus pais Lucia e Antônio, pelo incentivo e pelo apoio.

À CAPES pelo apoio financeiro e ao CCMN e GFAMA pela infraestrutura de laboratórios.

E gostaria de agradecer a todos que me ajudaram direta ou indiretamente na realização desse trabalho.

"A vida é como uma caixa de chocolates. Você nunca sabe o que vai encontrar."

Forrest Gump

## RESUMO

Neste trabalho, foram sintetizados biocompósitos contendo poli(fluoreto de vinilideno) (PVDF) e hidroxiapatita (HAp) para a produção de filamentos para impressão 3D, com o intuito de produzir próteses médicas para problemas esqueléticos. Para isso, foi utilizado o PVDF comercial (Alfa-Aesar 99,8%) na forma de pó. A hidroxiapatita (HAp) foi obtida pela calcinação de ossos bovinos. Os biocompósitos foram produzidos misturando-se o PVDF e a HAp, nas proporções 100% PVDF, 95%PVDF-5%HAp, 85%PVDF-15%HAp, e 75%PVDF-25%HAp. Com o uso de uma extrusora, os filamentos foram produzidos utilizando pellets dos compósitos. Os filamentos foram sujeitos a caracterizações estruturais e de bioatividade, fazendo o uso da espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia por energia dispersa (EDS), calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG), testes de bioatividade e viabilidade celular *in vitro*. Com o uso da espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier foram obtidos os modos vibracionais bem como a porcentagem de fase  $\beta$  do PVDF, que é a fase que apresenta as melhores propriedade piezelétricas. As imagens obtidas pelo MEV mostraram que a amostra apresenta boa consolidação, com uma conectividade 0-3 em alguns pontos, enquanto em outros há aglomeração de partículas. Os filamentos não apresentaram citotoxicidade, revelando uma viabilidade celular de aproximadamente 100%. A amostra contendo 85%PVDF-15%HAp se revelou bioativa *in vitro*, porém a mesma amostra, após o processo de impressão 3D, não apresentou bioatividade, necessitando uma maior investigação e aprimoramento.

Palavras-chave: Biocompósito, Biofilamento, PVDF, Hidroxiapatita.

## ABSTRACT

In this work, biocomposites containing poly(vinylidene fluoride) (PVDF) and hydroxyapatite (HAp) were synthesized for the production of filaments for 3D printing, in order to produce medical prostheses for skeletal problems. For this, it was used commercial PVDF (Alfa-Aesar 99.8%) in powder form. Hydroxyapatite (HAp) was obtained by calcining bovine bones. The biocomposites were obtained by mixing PVDF and HAp, in proportions 100% PVDF, 95% PVDF-5% HAp, 85% PVDF-15% HAp, and 75% PVDF-25% HAp. With an extruder, the filaments were obtained using composite pellets. The filaments were subjected to structural and bioactivity characterizations, using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), energy dispersed spectroscopy (EDS), differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetry (TG), in vitro bioactivity and cell viability tests. Using Fourier transform infrared spectroscopy, vibrational modes were obtained as well as the percentage of  $\beta$ -phase of PVDF, which is the phase with the best piezoelectric properties. The images obtained by SEM showed that the sample presents good consolidation, with 0-3 connectivity at some points, while at others there is particle agglomeration. The filaments did not show cytotoxicity, revealing a cell viability of approximately 100%. The sample containing 85%PVDF-15%HAp proved to be bioactive in vitro, but the same sample, after the 3D printing process, did not show bioactivity, requiring further investigation and improvement.

Keywords: Biocomposite, Biofilament, PVDF, Hydroxyapatite.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principais fases do poli(fluoreto de vinilideno) .....	14
Figura 2. Padrões de conectividade para materiais bifásicos propostos por Newnham. ....	16
Figura 3 – Representação esquemática de uma extrusora. ....	19
Figura 4 - Modos vibracionais de estiramento e dobramento. ....	22
Figura 5 - Exemplo de Espectro de FTIR de PVDF-HAp. ....	27
Figura 6 - Espectros FTIR dos filamentos 100%PVDF, 95%PVDF-5%HAp, 85%PVDF-15%HAp e 75%PVDF-25%HAp. ....	31
Figura 7 - Termogramas obtidos pela técnica de calorimetria diferencial de varredura (DSC) para a)PVDF em pó (precursor) b) filamento 100%PVDF, c) filamento 95%PVDF-5%HAp, d) filamento 85%PVDF-15%HAp e e) 75%PVDF-25%HAp.....	34
Figura 8 - Imagens de MEV com um aumento de 2500x onde: a)100%PVDF b)95%PVDF-5%HAp c)85%PVDF-15%HAp e d) 75%PVDF-25%HAp. ....	35
Figura 9 - Resultados do ensaio de citotoxicidade MTT para os filamentos 100%PVDF, 85%PVDF-15% HAp e 75%PVDF-25% HAp. Amostra controle: poço somente com o meio de cultura. ....	37
Figura 10 - Imagens de MEV das amostras imersas por sete dias em SBF a) amostra de HAp sinterizada b) amostra de 85%PVDF-15%HAp. ....	38
Figura 11 - Imagens de MEV das amostras imersas por 21 dias em SBF a), b) e c) amostra de 85%PVDF-15%HAp. d) amostra 85%PVDF-15%HAp impressa na forma de filamento. e) e c) Espectros de EDS obtidos nos pontos P1 e P2, respectivamente. ....	39

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Reagentes utilizados para a síntese do SBF, ordem de adição na solução e massa.....	29
Tabela 2. Modos vibracionais correspondentes ao PVDF e à hidroxiapatita, grupo funcional correspondente, fase correspondente e referências.....	32
Tabela 3. Concentração de PVDF e Porcentagem de fase $\beta$ para os filamentos 100%PVDF, 95%PVDF-5%HA <sub>p</sub> , 85%PVDF-15%HA <sub>p</sub> e 75%PVDF-25%HA <sub>p</sub> .....	33
Tabela 4. Ponto de fusão e solidificação para os filamentos 100%PVDF, 95%PVDF-5%HA <sub>p</sub> , 85%PVDF-15%HA <sub>p</sub> e 75%PVDF-25%HA <sub>p</sub> . ....	35

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	15
2.1 Materiais compósitos e biomateriais compósitos.....	15
2.2 Conectividade .....	16
2.3 Biocompósitos Polímero-Cerâmicos. ....	17
2.4 O compósito PVDF-Hap. ....	17
2.5 Processamento de materiais compósitos .....	18
2.5.1 Extrusão .....	18
2.6 Técnicas de Caracterização.....	20
2.6.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .....	20
2.6.2 Microscopia eletrônica de varredura .....	23
2.6.3 Espectroscopia por energia dispersa .....	23
2.6.4 Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	24
2.6.5 Termogravimetria .....	25
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	25
3.1 Produção dos compósitos na forma de filamentos.....	25
3.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .....	26
3.3 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV).....	28
3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	28
3.5 Testes de bioatividade <i>in vitro</i> .....	28
3.6 Testes de viabilidade celular <i>in vitro</i> .....	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	30
5. CONCLUSÕES.....	41
6. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS .....	41
7. REFERÊNCIAS .....	42

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), existem mais de 150 doenças, condições ou síndromes relacionadas a problemas esqueléticos.<sup>1</sup> A perda óssea normalmente é resultante de um trauma ou doença e reflete um risco significativo ao ser humano, causando sofrimento e até mesmo a morte.<sup>2</sup> Assim, tanto por doença ou acidente, as enfermidades esqueléticas, em sua maior parte, vêm acompanhadas de dor, limitações na mobilidade e perda na capacidade funcional. A consequência desses efeitos é a redução na capacidade de trabalho das pessoas, além do fato de limitar sua convivência social e causar danos em sua saúde mental.<sup>1,2</sup>

O osso é o segundo material biológico mais transplantado, ficando atrás somente do sangue, onde anualmente são mais de 3,5 milhões de enxertos ósseos realizados no mundo.<sup>3</sup> Para atender essa demanda, os avanços que ocorreram nas últimas décadas no desenvolvimento dos biomateriais artificiais têm o intuito de recuperar os tecidos ósseos danificados. Esses materiais apresentam propriedades físicas e biológicas que são compatíveis com os tecidos vivos dos hospedeiros, estimulando uma resposta regenerativa apropriada aos mesmos.<sup>4,5</sup>

Ano após ano o mercado dos biomateriais vem crescendo significativamente, sendo assim um atrativo para empresas de desenvolvimento tecnológico e também da comunidade científica no geral. De acordo com a empresa *MarketsandMarkets*, uma empresa global de pesquisa e consultoria de mercado, o mercado de biomateriais tem previsão para aumentar de US\$ 35,5 bilhões em 2020 para US\$ 47,5 bilhões em 2025, o que representa uma taxa composta de crescimento anual (CAGR) de 6% entre 2020 e 2025.<sup>6</sup>

A tentativa de reparar partes do corpo perdidas em acidentes ou doenças vem desde a antiguidade, onde eram utilizados materiais naturais como madeira. Com o avanço da tecnologia esses materiais foram substituídos por metais, cerâmicas e polímeros, que durante os anos 1960 a 1970 eram desenvolvidos de modo a serem inertes ao organismo, essa é chamada a primeira geração de biomateriais. Alguns exemplos desses materiais são aços inoxidáveis, ligas de titânio. Com o entendimento dos mecanismos biológicos foi desenvolvida a segunda geração de biomateriais de modo que interagissem com a superfície biológica, como a hidroxiapatita e biovidros. A terceira geração de biomateriais combinava as propriedades bioativas com

materiais reabsorvíveis, de modo que esses novos materiais estimulavam a regeneração de tecidos vivos.<sup>7</sup>

Atualmente a quarta geração de biomateriais está sendo desenvolvida com as descobertas sobre o comportamento eletrofisiológico das células. Nesse contexto, não apenas neurônios e músculos, mas outras células e tecidos possuem sinais bioelétricos que são capazes de governar comportamentos fisiológicos. Além disso, a identificação das funções das correntes e campos elétricos endógenos e externos, identificadas em processos de regeneração de tecidos, vem ajudando na compreensão dos mecanismos físicos que governam o comportamento do organismo vivo.<sup>7</sup>

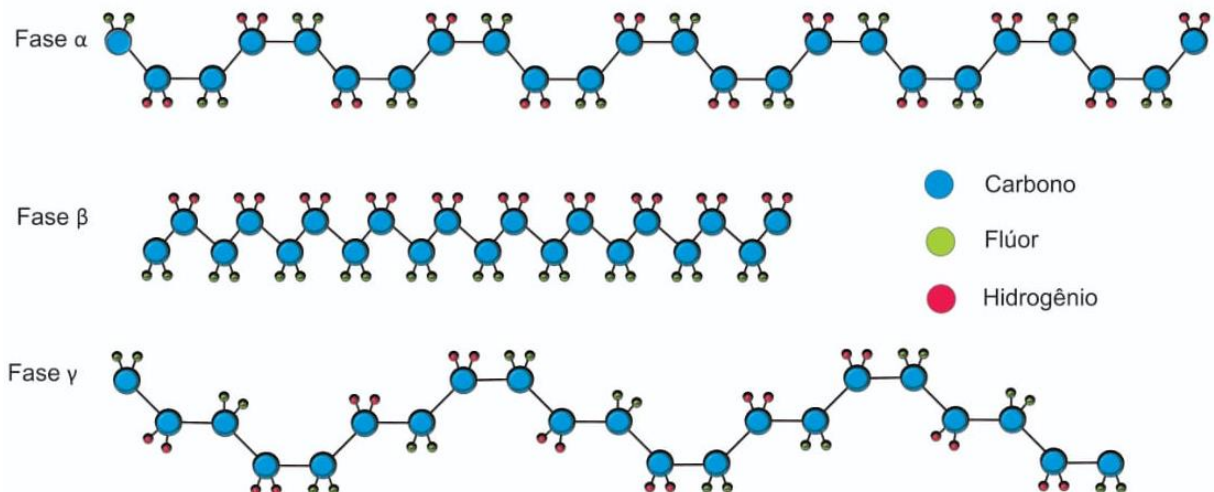
Apesar dos atuais biomateriais terem melhorado significativamente nos últimos anos, ainda podem ser aprimorados. Tais aprimoramentos são necessários para o conforto e recuperação de indivíduos convalescentes e para a urgência do retorno desses indivíduos às suas atividades normais/profissionais. Nesse sentido, uma série de experimentos importantes publicados em revistas de renome, como as do grupo *Nature*, vêm demonstrando que os mecanismos de sinalização elétrica podem ter um papel muito mais significativo do que se pensava anteriormente<sup>8,9,10</sup> e que os cientistas devem se preocupar em desenvolver novos biomateriais eletrônicos que “imitem” os potenciais e microambientes elétricos nos organismos vivos.<sup>8</sup>

No caso dos tecidos ósseos, uma classe de materiais que apresenta considerável potencial na mimetização dos microambientes elétricos é a dos materiais piezelétricos biocompatíveis. Na prática, o osso vivo possui um efeito piezelétrico intrínseco que administra o processo de remodelação óssea.<sup>11</sup> Assim sendo, o efeito piezelétrico deve ser um parâmetro relevante a ser considerado no desenvolvimento de novos biomateriais para substituir tecidos ósseos. Um material que apresenta grande potencial para tal aplicação é o compósito que combina o polímero biocompatível poli(fluoreto de vinilideno) (PVDF) com a cerâmica bioativa hidroxiapatita (HAp). Tal compósito (PVDF-HAp) é capaz de combinar a alta bioatividade da hidroxiapatita com a piezeletricidade do PVDF. Dessa maneira, o compósito pode ser ativado externamente de modo a potencializar a sua bioatividade e até mesmo acelerar o crescimento ósseo.<sup>12</sup>

O poli(fluoreto de vinilideno) (PVDF) é o polímero mais conhecido para aplicações piezelétricas. Graças a sua não toxicidade e alta flexibilidade, esse material vem sendo usado em uma variedade de aplicações biométicas.<sup>11</sup>

O PVDF é um polímero semicristalino, formado por uma cadeia de  $\text{CH}_2\text{-CF}_2$  e pode apresentar cinco fases:  $\alpha, \beta, \gamma, \delta$  e  $\epsilon$ , porém as fases mais utilizadas são a  $\alpha, \beta$  e  $\gamma$  devido a estabilidade das mesmas, como mostra a Figura 1. A fase  $\alpha$  é a mais comum e possui conformação Trans-Gauche (TGTG'), resultando em uma fase apolar devido a organização antiparalela dos átomos. A fase  $\beta$  é a mais importante no quesito as propriedades eletroativas, devido a sua conformação trans (TTTT) onde os dipolos  $\text{CH}_2\text{-CF}_2$  são orientados perpendicularmente ao eixo da cadeia resultando em um momento dipolar elétrico de  $8 \times 10^{-30}$  Cm.<sup>13</sup> As fases  $\gamma$  e  $\delta$  possuem ferroeletricidades, porém, devido as densidades do momento de dipolo serem muito inferiores em relação a fase  $\beta$ , ambas fases não possuem muitas aplicações práticas.<sup>14,15</sup>

Figura 1. Principais fases do poli(fluoreto de vinilideno)



Fonte: O autor (2021)

Tratando-se de biocompatibilidade, a hidroxiapatita se mostra o material cerâmico mais adequado em implantes ou substituição de tecidos ósseos. Sendo o principal componente mineral dos ossos (cerca de 69% da massa óssea) e dentes, a hidroxiapatita (HAp) possui a fórmula química  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , não apresentando efeitos citotóxicos para o organismo.<sup>16</sup>

A hidroxiapatita pode ser obtida por fontes naturais, como ossos bovinos, ossos de peixes, conchas e casca de ovo, como também por métodos químicos, que podem ser classificados em métodos químicos secos, que incluem a reação de estado sólido e a síntese por combustão, e métodos químicos úmidos, como processos hidrotermais, hidrólise, síntese sol-gel, precipitação, dentre outros.<sup>17</sup>

Apesar de suas excelentes propriedades biológicas, a hidroxiapatita pura não pode ser usada para aplicações que exigem uma carga mecânica elevada devido a sua baixa resistência mecânica. Contudo, há uma grande quantidade de pesquisas em biocompósitos que combinem a bioatividade da HAp com materiais de melhores propriedades mecânicas.<sup>16,17</sup>

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Materiais compósitos e biomateriais compósitos**

Materiais com propriedades singulares e não usuais são indispensáveis para uma série de aplicações de alta tecnologia, como por exemplo nas indústrias aeroespaciais, submarinas e bioengenharias.<sup>18</sup>

Um compósito pode ser definido como a combinação de dois materiais com propriedades específicas, resultando em um material multifásico que apresenta uma proporção significativa das propriedades das duas fases, resultando na melhor combinação das propriedades.<sup>18</sup> Os compósitos mais antigos são os naturais: a madeira que é composta das fibras de celulose que são resistentes e flexíveis em uma matriz de lignina que é mais rígida, e os ossos com o colágeno, uma proteína com alta resistência e flexibilidade, e a apatita que é rígida, mas frágil.<sup>19</sup>

A maioria dos materiais compósitos são formados por duas fases: a matriz que é contínua e envolve a outra fase, chamada de fase dispersa ou reforço. As propriedades dos compósitos são função das propriedades das fases integrantes, de sua fração e geometria da fase dispersa, como tamanho, distribuição e orientação das partículas.<sup>18</sup>

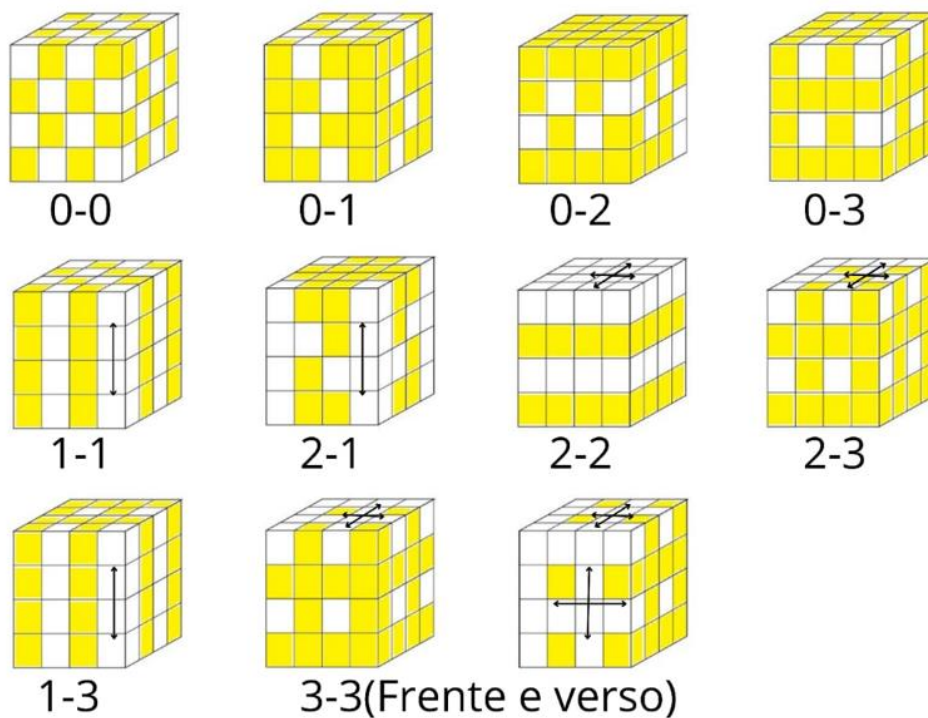
Com o intuito de obter produtos com propriedades específicas para aplicações biomédicas, os biocompósitos podem ser utilizados. Biocompósitos são uma classe especial de materiais compósitos onde a matriz polimérica e o reforço (fibras, partículas, pó, etc) são feitos de recursos naturais. Nos últimos anos, os biocompósitos vêm atraindo a atenção devido a sua sustentabilidade, representando uma alternativa ecológica e de baixo custo, com grande potencial para se tornarem substitutos biodegradáveis para os materiais convencionais à base de petróleo. Em relação aos compósitos convencionais, onde são utilizados reforços sintéticos, os

biocompósitos apresentam uma série de vantagens, como a renovabilidade e baixa densidade, tornando-os materiais leves e econômicos.<sup>20,21,22</sup>

## 2.2 Conectividade

A disposição das fases de um compósito é um dos principais fatores que afetam as propriedades eletromagnéticas do mesmo. Newnham et al. propuseram o conceito de conectividade para descrever a maneira como as fases individuais estão conectadas entre si.<sup>23</sup> Em um compósito bifásico, cada fase pode se conectar em zero, uma, duas ou três dimensões, resultando em dez tipos de conectividades: 0-0, 0-1, 0-2, 0-3, 1-1, 2-1, 2-2, 2-3, 1-3 e 3-3, como mostrado na figura 1.

Figura 2. Padrões de conectividade para materiais bifásicos propostos por Newnham.



Fonte: O autor (2021)

Os compósitos piezelétricos com a conectividade 0-3 são os mais estudados devido a sua facilidade em obtenção em várias formas como filmes finos, filamentos extrudados e moldes, dessa forma, se adequando a qualquer forma curva.<sup>23</sup> Essa conectividade específica consiste em partículas piezocerâmicas isoladas dispersas em uma matriz polimérica contínua.<sup>24</sup> As propriedades dos compósitos 0-3 são



extremamente dependentes das fases piezelétricas utilizadas, bem como do método de obtenção.<sup>23</sup> Furukawa et al. estudaram compósitos de PVDF-PZT, PE-PZT e PVA-PZT com conectividade 0-3, e mostraram que a constante dielétrica experimental é duas vezes maior do que os valores previstos teoricamente.

### **2.3 Biocompósitos Polímero-Cerâmicos.**

Baseado na composição dos tecidos vivos, cada vez mais busca-se desenvolver biocompósitos que sejam capazes de mimetizar os tecidos naturais, permitindo a aplicação *in vivo*. Dessa maneira, há um grande interesse no desenvolvimento de biocompósitos que combinem a biodegradabilidade de polímeros com as propriedades bioativas de cerâmicas.<sup>25</sup>

A elaboração de compósitos polímeros-cerâmicos tem se tornado um dos temas mais importantes no campo de biomateriais, em virtude de suas propriedades aprimoradas proporcionadas pelos diferentes constituintes, que não são vistas nesses materiais separados. Além do mais, esse tipo de preparação oferece uma gama de possibilidades, visto que proporciona a opção de adicionar outros componentes com funções ou propriedades específicas conforme a aplicação.<sup>26</sup>

Sun et al mostrou que ao combinar a hidroxiapatita com diferentes biopolímeros, formando nanocompósitos altamente porosos com o intuito mimetizar a composição e a estrutura do osso, obteve excelentes propriedades mecânicas junto com boas propriedades biológicas. No estudo de Pluta et al. foi mostrado a biocompatibilidade de diferentes compósitos polímero-cerâmicos, como polivinilpirrolidona e gelatina, para substituições de tecidos conjuntivos, onde a morfologia das células expostas aos compósitos ficou inalterada.<sup>27,28</sup>

### **2.4 O compósito PVDF-Hap.**

O uso de materiais metálicos para substituição de tecidos ósseos vem sendo utilizado há décadas, porém, o uso desse tipo de material no corpo humano vem apresentando alguns problemas como corrosão, desgaste e rejeição do tecido.<sup>29</sup>

Uma alternativa para as próteses feitas de materiais metálicos é o uso de polímeros, dentre eles, os que apresentam propriedades piezoelétricas, que, devido a sua capacidade de gerar cargas elétricas superficiais, podem ter um efeito positivo no crescimento, fixação e proliferação de células osteoblásticas, responsáveis pela síntese dos componentes orgânicos da matriz óssea.<sup>30</sup>

O compósito PVDF-Hap tem demonstrado grande potencial para a produção de implantes ósseos. Braga et al combinou várias proporções de PVDF-Hap e mostrou que 40% em massa de Hap é o limite para se ter um compósito homogêneo. Karimi et al mostrou que, ao utilizar nanopartículas de Hap, tende-se a aumentar a porosidade e o tamanho dos poros. Na dissertação de Silva, foi mostrado que o compósito apresenta propriedades físicas próximas do osso humano como densidade e cisalhamento e em todos os trabalhos mencionados, o compósito não apresentou citotoxicidade e se mostrou bioativo.<sup>29, 30, 31</sup>

## **2.5 Processamento de materiais compósitos**

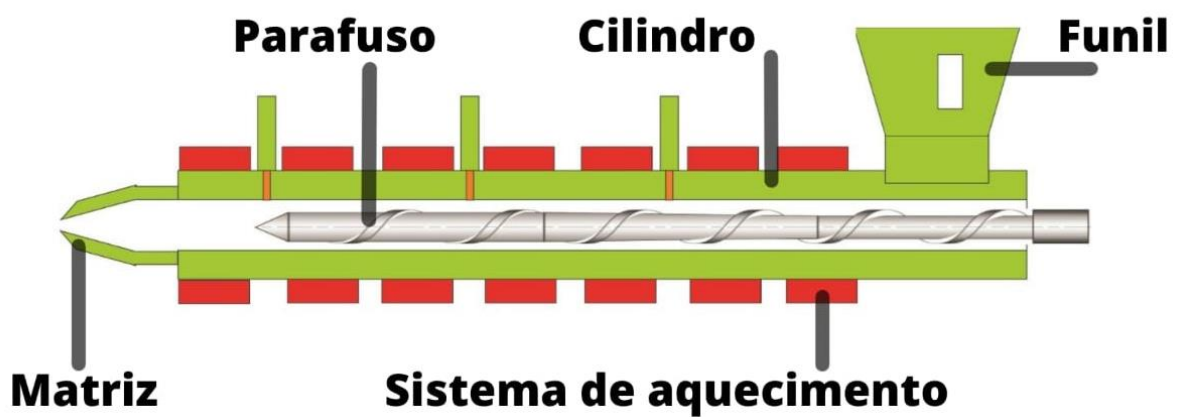
### **2.5.1 Extrusão**

O processo de extrusão é um dos principais procedimentos no processamento de polímeros. Extrudar um material significa empurrar ou forçar para fora através de uma abertura.

Os polímeros podem ser divididos em três grupos: termoplásticos, termorrígidos e elastômeros. Os termoplásticos podem ser amolecidos e solidificados várias vezes ao adicionar ou remover calor, desse modo, sua estrutura química geralmente não muda de modo considerável durante o processo de extrusão. Já os termorrígidos sofrem uma reticulação polimérica quando sua temperatura é elevada acima de certo ponto, essa reação une as moléculas formando uma rede tridimensional que não se altera ao reduzir a temperatura novamente, assim, os termorrígidos sofrem uma mudança irreversível ao passarem pela reticulação, tornando esses polímeros não recicláveis. Os elastômeros ou borrachas são capazes de sofrerem grandes deformações, que ao se retirar a força de deformação, o material retorna completamente ou quase completamente, comportando-se como um elástico.<sup>32,33</sup>

O processo de extrusão se inicia ao colocar o material no funil, que, pela ação da gravidade, desce para o cilindro da extrusora, alojando-se entre o parafuso e o cilindro da extrusora. À medida que o parafuso gira, o material vai sendo carregado através do cilindro, sendo aquecido pelo sistema de aquecimento até o ponto de fusão. Conforme o material é empurrado pela matriz, ele adquire a forma da seção transversal da mesma. A figura 2 ilustra um esquema de uma extrusora.

Figura 3 – Representação esquemática de uma extrusora.



Fonte: O autor (2021)

### 2.5.2 A técnica de impressão 3D de filamentos.

A impressão 3D, também conhecida como prototipagem rápida, vem atraindo o interesse da indústria, da comunidade acadêmica e de amadores, devido à sua versatilidade, flexibilidade de design, baixo volume de produção, redução de desperdício, entre outras vantagens. Além disso, tem sido desenvolvida técnicas de impressão 3D utilizando materiais poliméricos que oferecem uma gama mais ampla de propriedades.<sup>34,35</sup>

Uma das formas mais acessíveis de manufatura aditiva é a impressão 3D utilizando a extrusão de polímeros e compósitos. Este tipo de processo é utilizado em uma série de aplicações biomédicas, como o planejamento cirúrgico virtual tridimensional, a geração de modelos anatômicos e a fabricação de implantes específicos do paciente. Alguns exemplos são placas ortopédicas para cirurgia reconstrutiva e implantes ósseos protéticos.<sup>36</sup>

O processo de impressão 3D começa com um modelo no computador, que pode ser criado por dados de imagens adquiridos ou estruturas construídas em software de desenho assistido por computador (CAD). Os dados do modelo em malha 3D são transformados em arquivos de camadas em 2D e enviados para a máquina de impressão. Na impressora, um filamento polimérico alimenta um bico de extrusão aquecido, que derrete e o deposita em uma placa de construção. As camadas vão sendo construídas ao se depositar o material uma sobre as outras, onde cada camada é formada por filamentos extrudados e individuais, e esse processo se repete até a geometria desejada ser concluída.<sup>33</sup>

## **2.6 Técnicas de Caracterização**

### **2.6.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

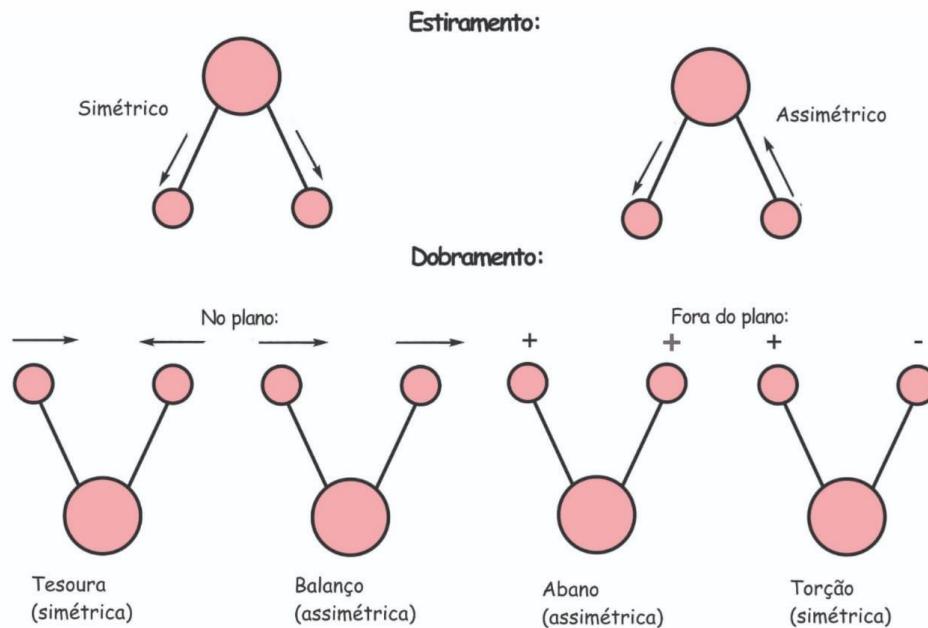
No espectro eletromagnético, a radiação de infravermelho compreende uma região onde os comprimentos de onda são maiores que a luz visível (400 a 800nm aproximadamente) e menores que as microondas (1mm). A maioria dos compostos que possuem ligações covalentes absorvem radiação nessa faixa, isso porque a frequência de vibração das moléculas é aproximadamente a mesma da radiação infravermelha, desse modo, ao absorver essa radiação as moléculas ficam excitadas em um estado de maior energia vibracional.<sup>37</sup>

Assim como outras formas de absorção de energia, a absorção no infravermelho é quantizada, isto é, absorvem apenas determinadas frequências, que representam alterações de energias de 8 a 40 kJ/mol.<sup>38</sup> Contudo, nem todas as ligações das moléculas são capazes de absorver energia no infravermelho. Para que haja uma vibração com absorção de energia no infravermelho é necessário que ocorra uma variação do momento de dipolo elétrico da molécula. Para que uma molécula seja capaz de interagir com o campo eletromagnético da radiação incidente e absorver ou criar um fóton, ela deve possuir um dipolo oscilante com essa mesma frequência característica. Desse modo, vibrações que ocorrem em razão de alterações do momento de dipolo, de átomos deslocados uns em relação aos outros, são ditas ativas no infravermelho. Vibrações inativas no infravermelho são aquelas cujo o momento de dipolo não se altera, ou seja, não absorvem energia.<sup>39</sup>

Os movimentos dos átomos em uma molécula resultam nos modos vibracionais. Esses movimentos podem gerar alongamentos nas ligações químicas, chamados de deformação axial ou estiramento, ou alterações no ângulo de ligação, chamadas deformações angulares ou dobramento.<sup>34</sup> Os modos vibracionais dependem do número de graus de liberdade em uma molécula. Em um sistema onde há  $N$  átomos livres para se movimentarem nas três dimensões, cada átomo possui 3 graus de liberdade, então, o sistema possui  $3N$  graus de liberdade. Porém, se esses átomos possuem uma ligação entre si, formando uma molécula, podemos descartar três graus de liberdade translacional devido ao movimento em fase de todos os átomos. Outros três graus de liberdade devem ser eliminados para moléculas não lineares, devido aos movimentos rotacionais da molécula. Então, podemos esperar  $3N-6$  graus de liberdade para os movimentos vibracionais. Caso a molécula seja linear, onde há somente 2 graus de liberdade rotacional, teremos  $3N-5$  graus de liberdade rotacional.<sup>40</sup>

Os modos vibracionais mais simples ativos no infravermelho são o estiramento e o dobramento. Na figura 3 estão esquematizados os tipos de modos vibracionais e suas variações angulares, que podem ser no plano, com o movimento simétrico chamado de tesoura, ou assimétrico chamado de balanço, e fora do plano, com o movimento de abano simétrico, ou torção assimétrico.

Figura 4 - Modos vibracionais de estiramento e dobramento.



Fonte: O autor (2021)

Para obter os espectros de infravermelho, é utilizado um espectrofotômetro de infravermelho que possui uma fonte de radiação, essa radiação é colimada por um espelho e direcionada para um divisor de feixes. Um dos feixes segue em direção a um espelho fixo e outro segue em direção a um espelho móvel, ambos sendo refletidos para o divisor de feixes. O espelho móvel cria uma diferença no caminho óptico entre os dois feixes que, ao se encontrarem, podem ocorrer interferências construtivas ou destrutivas. Esse feixe recombinado então atravessa a amostra que absorve parte da radiação. A radiação não absorvida incide em um detector e é gerado um interferograma que mostra a intensidade da radiação detectada. O espectro de absorção no infravermelho é obtido ao se aplicar a transformada de Fourier no interferograma coletado.

O espectro de infravermelho pode ser obtido também através da técnica da reflexão total atenuada (ATR), na qual a amostra é colocada sobre um cristal que pode ser de diamante, Germânio ou Silício. Esse cristal precisa ter um índice de refração superior ao do material, onde o feixe infravermelho passa induzindo a reflexão interna total da radiação incidente, que penetra na amostra como uma onda evanescente.

Esse feixe então é atenuado em regiões do espectro onde a amostra absorve energia, e é direcionado para um detector que gerará um espectro das bandas vibracionais características.<sup>41</sup>

### **2.6.2 Microscopia eletrônica de varredura**

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma importante técnica utilizada corriqueiramente na análise microestrutural de materiais. Entre as vantagens desta técnica está a elevada profundidade de foco, resultando em uma imagem com aparência tridimensional, como também a possibilidade de combinar a análise microestrutural com a microanálise química.

O microscópio eletrônico de varredura consiste em um canhão de elétrons, esse canhão produz um feixe de elétrons colimado com um diâmetro de aproximadamente 50 Å que incide na amostra, os elétrons desse feixe interagem com os átomos da amostra, dando origem a uma variedade de processos físicos chamados de eventos de espalhamento. Esses eventos de espalhamento transferem energia para os átomos da amostra a partir dos elétrons do feixe, produzindo os elétrons retroespalhados, elétrons secundários e raios X que transmitem informações sobre a amostra, como características topográficas, composição, estrutura cristalina e campos elétricos e magnéticos locais.<sup>42</sup> (Goldstein)

Para a formação da imagem os elétrons secundários são os que mais interessam. Eles são resultantes de interações inelásticas entre o feixe de elétrons e os átomos da amostra, possuem baixa energia e proporcionam imagens de alta resolução. Já os elétrons retroespalhados são provenientes de interações elásticas e possuem alta energia, que ao serem detectados junto com os elétrons secundários geram o contraste de tons de cinza na imagem, sendo possível relacionar o número atômico médio da região observada.<sup>36</sup>

### **2.6.3 Espectroscopia por energia dispersa**

A espectroscopia por energia dispersiva (EDS) é uma técnica utilizada para a estimativa da composição elementar e mapeamento. Vem sendo utilizada em controle de qualidade em muitas indústrias como: computadores, semicondutores, metais e

polímeros. Também é utilizada na medicina para análise de sangue, tecidos, ossos e órgãos, no controle ambiental para detecção do amianto, em campo para prospecção de minérios, arqueologia e oceanografia, identificação e detecção de falsificações em obras de arte, análise forense entre outros. As maiores vantagens do EDS são a velocidade de aquisição dos dados, a eficiência, facilidade de uso e portabilidade.<sup>43</sup>

Ao bombardear uma amostra com elétrons de alta energia, os elétrons que são eliminados de sua camada interna produzem um buraco (lacuna) de elétron na camada interna e, em seguida, o elétron de nível de energia mais alto é transferido para um nível de energia mais baixo. Essa transferência de elétrons fornece liberação na forma de raios X. Esses raios X característicos são detectados pelo EDS. Ao medir a energia de raios X característica e a intensidade dos raios X de cada elemento, podemos estimar a composição elementar de uma amostra e calcular a concentração desse elemento em massa ou fração atômica.<sup>44</sup>

#### **2.6.4 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)**

A análise térmica é o termo utilizado para descrever as técnicas de caracterização onde uma propriedade física e/ou os produtos de reação de uma amostra são medidos em função da temperatura.

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica que permite a caracterização de importantes propriedades físicas, como a determinação de transições de fase, bem como as mudanças de entalpia e entropia, reações de desidratação, decomposição, óxido-redução, etc. Esse tipo de caracterização tem a atenção devido a sua simplicidade e universalidade, pois, as características medidas por meio da calorimetria, como a entalpia e a capacidade calorífica, têm um significado físico claro.<sup>45</sup>

Na calorimetria exploratória diferencial, é medida a variação de entalpia da amostra em relação a um material de referência termicamente inerte, enquanto ambos são submetidos a uma programação controlada de temperatura. O arranjo mais simples é aquele no qual a amostra e a referência são colocadas sobre uma placa condutora e ambos são aquecidos pela mesma fonte de calor, desse modo, sendo possível determinar a diferença do fluxo de calor entre ambas.<sup>36</sup>



### 2.6.5 Termogravimetria

A termogravimetria (TG) utiliza o calor para produzir reações e mudanças físicas nos materiais. Através da TG é possível obter informações quantitativas de qualquer mudança de massa que esteja associada a uma transição ou degradação térmica. As curvas fornecidas pela TG são características para um composto, devido a sequência única das reações físico-químicas que ocorrem nas faixas de temperatura que são função da estrutura molecular.<sup>46</sup>

Entre as técnicas de análise térmica, a TG faz o uso da variação da massa da amostra em função do tempo ou da temperatura para a determinação de vários eventos térmicos como a absorção, adsorção, vaporização, sublimação, decomposição, oxidação e redução. O princípio da técnica se baseia na mudança de massa sob condições programadas, no modo isotérmico a alteração do peso é registrada em função do tempo, já no modo de varredura essa alteração é registrada em função da temperatura.<sup>47</sup>

O equipamento é composto pela balança térmica, que é o principal componente do sistema. A balança possui várias subunidades que são a micro balança eletrônica, o porta amostra, o forno, o programador de temperatura e o detector. A balança térmica consiste em uma haste que segura o braço de uma micro balança. A amostra é colocada no porta amostra, enquanto as mudanças de massa são registradas pelo detector, o programador de temperatura mantém a amostra isotermicamente em uma temperatura de interesse ou a aquece em uma taxa programada. A curva TG pode ser plotada em função da perda de peso da amostra, na forma diferencial (perda de peso em função do tempo) ou em função da temperatura.<sup>43,44</sup>

## 3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 3.1 Produção dos compósitos na forma de filamentos

Para a confecção dos biofilamentos utilizou-se o polímero PVDF (Alfa-Aesar 99,8%) na forma de pó, com massa molecular igual a  $6,4 \times 10^4$  g/mol.

A hidroxiapatita (HAp) foi obtida pela calcinação de ossos bovinos a 900 °C, conforme descrito por Miyahara e colaboradores.<sup>48</sup>

A hidroxiapatita e o poli (fluoreto de vinilideno) – PVDF (ambos em pó), foram misturados em um moinho de baixa energia da ACB Labor®, Brazil por 12 horas a 170 rpm formando compósitos com proporções de 0%, 5%, 15% e 25% em massa de HAp. Após a mistura, os compósitos em pó foram compactados em prensa uniaxial a 3 MPa por 1 minuto formando pastilhas de 5,0 cm de comprimento, 3,0 cm de largura e 3,0 mm de altura, que foram divididas em pedaços menores de aproximadamente 10 mm para formar *pellets*, que então foram consolidados em um tratamento térmico de 170 °C por uma hora. Para a produção dos biofilamentos, os *pellets* consolidados foram depositados em uma extrusora (Filmaq 3D) onde foram extrudados uma temperatura de 220°C com velocidade de rosca de 18 rpm utilizando-se um bico circular de 1,75 mm. Para cada composição, foram extrudados 5 metros de filamento.

### 3.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

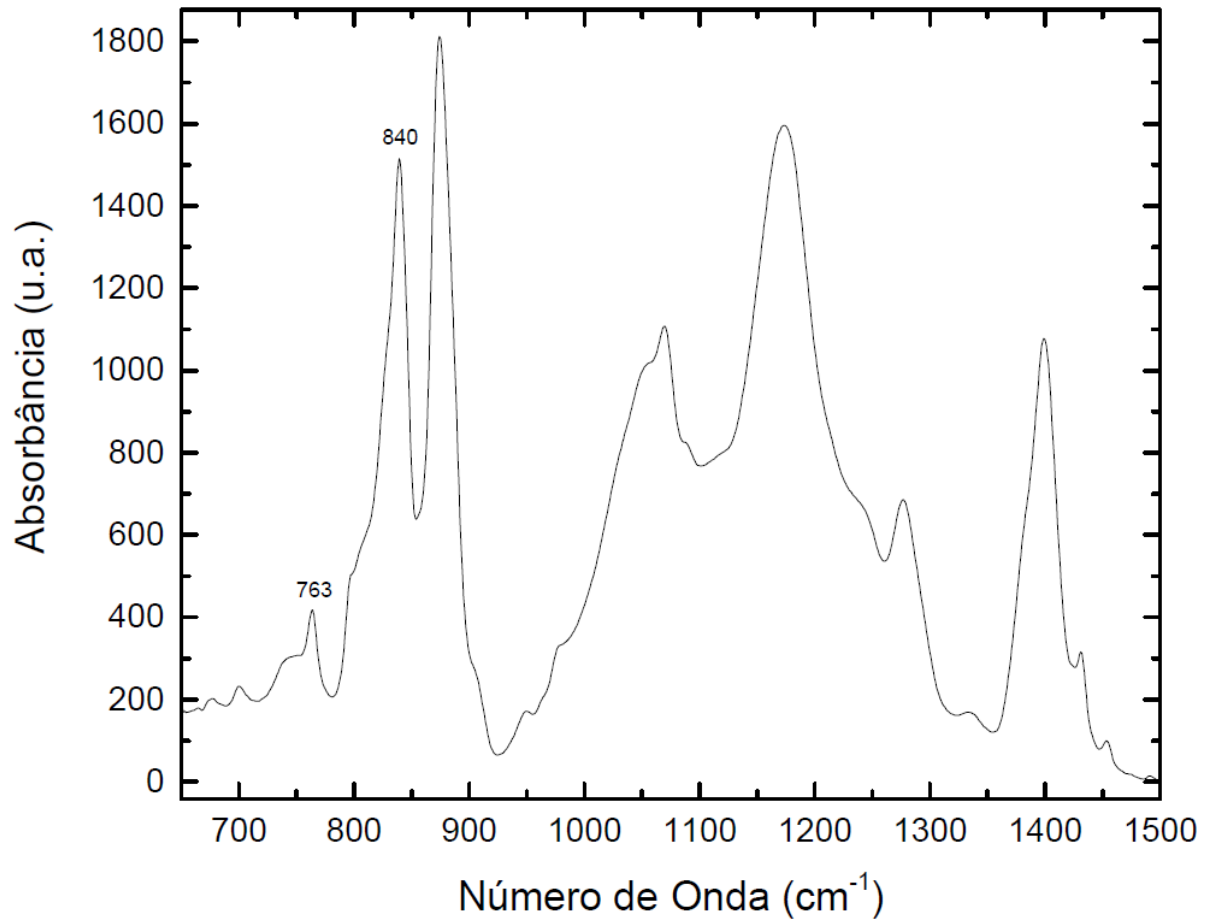
Para caracterizar as fases cristalinas do biocompósito foi utilizada a espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). As medidas foram realizadas em um espectrômetro da marca Perkin Elmer, modelo Frontier. O espectrômetro está localizado no Centro de Ciências Moleculares e Nanotecnologia (CCMN). Os dados foram obtidos com acessório de refletância total atenuada (ATR), na região de 4000 cm<sup>-1</sup> a 650 cm<sup>-1</sup> onde um pedaço de aproximadamente 2 mm da amostra foi cortado e inserido no equipamento.

A porcentagem de fase eletroativa (soma de beta com gama) para cada uma das composições foi calculada utilizando o método de Cai e colaboradores:<sup>49</sup>

$$F(EA) = \frac{I_{EA}}{\left(\frac{K_{840}}{K_{763}}\right)I_{763} + I_{EA}} \times 100\% \quad (1)$$

Onde  $I_{EA}$  e  $I_{763}$  são as absorbâncias em 840 e 763 cm<sup>-1</sup> respectivamente,  $K_{840}$  e  $K_{763}$  são os coeficientes de absorbâncias em seus respectivos números de onda, cujo valores são 7,7x10<sup>4</sup> e 6,1x10<sup>4</sup> cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup> respectivamente como mostrado na figura 1.

Figura 5 - Exemplo de Espectro de FTIR de PVDF-HAp.



Caso no espectro haja picos bem definidos em  $1275\text{ cm}^{-1}$  (pico exclusivo da fase beta) e também em  $1234\text{ cm}^{-1}$  (pico exclusivo da fase gama), as porcentagens das fases beta e gama poderão ser obtidas, respectivamente, pelas equações (2) e (3).

$$F_{(\beta)} = F_{EA} \times \left( \frac{\Delta H_{\beta'}}{\Delta H_{\beta'} + \Delta H_{\gamma'}} \right) \times 100\% \quad (2)$$

$$F_{(\gamma)} = F_{EA} \times \left( \frac{\Delta H_{\gamma'}}{\Delta H_{\beta'} + \Delta H_{\gamma'}} \right) \times 100\% \quad (3)$$

Sendo,

- $F_{(\beta)}$  porcentagem da fase  $\beta$
- $F_{(\gamma)}$  porcentagem da fase  $\gamma$
- $\Delta H_{\beta}$ , diferença nas absorvâncias entre o pico em  $1275\text{ cm}^{-1}$  e o vale em  $1260\text{ cm}^{-1}$
- $\Delta H_{\gamma}$ , e diferença entre o pico em  $1234\text{ cm}^{-1}$  e o vale mais próximo em  $1225\text{ cm}^{-1}$ .

Dessa maneira, mesmo que haja as duas fases eletroativas no polímero é possível estimar sua porcentagem.<sup>16</sup>

### **3.3 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)**

A caracterização da microestrutura dos biocompósitos foi feita via microscopia eletrônica de varredura (MEV). As imagens de MEV foram feitas no equipamento TM3000 da marca Hitachi localizado no CCMN. As imagens de fratura foram obtidas em amostras clivadas perpendicularmente ao comprimento dos filamentos com o auxílio de um estilete. Neste caso, o a lâmina do estilete foi encostada na superfície das amostras e uma peça metálica foi colidida contra o mesmo para que houvesse a quebra do material.

### **3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

Para analisar pontos de fusão e outras possíveis transições de fase foi utilizada a calorimetria exploratória diferencial (DSC). Para realizar as medidas foi utilizado um pedaço de aproximadamente 4mg de cada amostra que foi colocado em um cadinho de alumina e aquecido a uma taxa de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  até  $300^{\circ}\text{C}$  em uma atmosfera de ar e depois resfriadas na mesma taxa até  $50^{\circ}\text{C}$ .

### **3.5 Testes de bioatividade *in vitro***

Os testes de bioatividade *in vitro* foram realizados imergindo-se os filamentos em um fluido corpóreo simulado (SBF) e analisando-se possíveis nucleações de fosfatos de cálcio nas superfícies após alguns dias de imersão. O SBF foi preparado utilizando o protocolo proposto por Kokubo e Takadama [50] visando-se produzir um fluido com concentração iônica e pH próximos ao do plasma sanguíneo. A ordem, os reagentes e as quantidades utilizadas estão mostradas na Tabela 1. Basicamente, o

preparo do SBF foi realizado dissolvendo-se os oito primeiros reagentes da Tabela 1, um a um de forma lenta em um Becker de polipropileno contendo 700 ml de água milli-Q a 36,5 °C.

Tabela 1. Reagentes utilizados para a síntese do SBF, ordem de adição na solução e massa.

Ordem de adição	Reagentes	Massa
1	NaCl	8.035 g
2	NaHCO <sub>3</sub>	0.355 g
3	KCl	0.225 g
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> . 3H <sub>2</sub> O	0.231 g
5	MgCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0.311 g
6	HCl [1.0M]	39 mL
7	CaCl <sub>2</sub>	0.292 g
8	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.072 g
9	(HOCH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CNH <sub>2</sub>	6.118 g
10	HCl [1.0M]	0–5 mL

Em seguida, mais água deionizada foi adicionada à mistura até completar 900 ml e utilizou-se o Tris hidroximetil amino metano e o HCl para ajustar o pH da solução em 7,4 (pH do sangue). Por fim, o SBF foi filtrado em uma membrana com poros de 0,45 µm com auxílio de uma seringa. Após o preparo, o SBF ficou armazenado em geladeira por até 21 dias.

Para a realização dos testes, primeiramente pedaços de 8 mm de comprimento do filamento contendo 15% de hidroxiapatita foram limpos em ultrassom por 15 min em álcool etílico (98%) e secos em estufa a 40 °C durante 24 horas. Após a secagem as amostras foram presas em presilhas de nylon e imersas em frascos de polipropileno contendo 15 ml de SBF por 21 dias.

Após o teste, as amostras foram enxaguadas com água destilada, secas em estufa a 40°C por 24 horas e analisadas por microscopia eletrônica de varredura.

Foi realizado o teste em uma amostra impressa no formato de filamento visando avaliar se o processo de impressão poderia alterar a bioatividade *in vitro* das amostras. Para isso, o filamento foi impresso em uma impressora GEEETech i3 utilizando-se uma temperatura de 220 °C.

### 3.6 Testes de viabilidade celular *in vitro*

Para testar a viabilidade celular foram feitos ensaios *in vitro* utilizando pré-osteoblastos MC3T3-E1. As células utilizadas foram cultivadas em  $\alpha$ -MEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS). As culturas de células foram mantidas a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. As células co-confluentes foram lavadas com PBS, tripsinizadas por 30 segundos, o excesso de tripsina foi removido, ressuspensão com o meio apropriado e usado nos experimentos de placa de 96 poços. As células foram semeadas a uma densidade de  $2,5 \times 10^5$  células por poço e após 24 horas incubadas a 37°C (5% CO<sub>2</sub>). Foram colocadas amostras de 6mm de comprimento em cada poço em triplicata e o poço sem material foi utilizado como controle negativo. Foram realizados três experimentos independentes em triplicata.

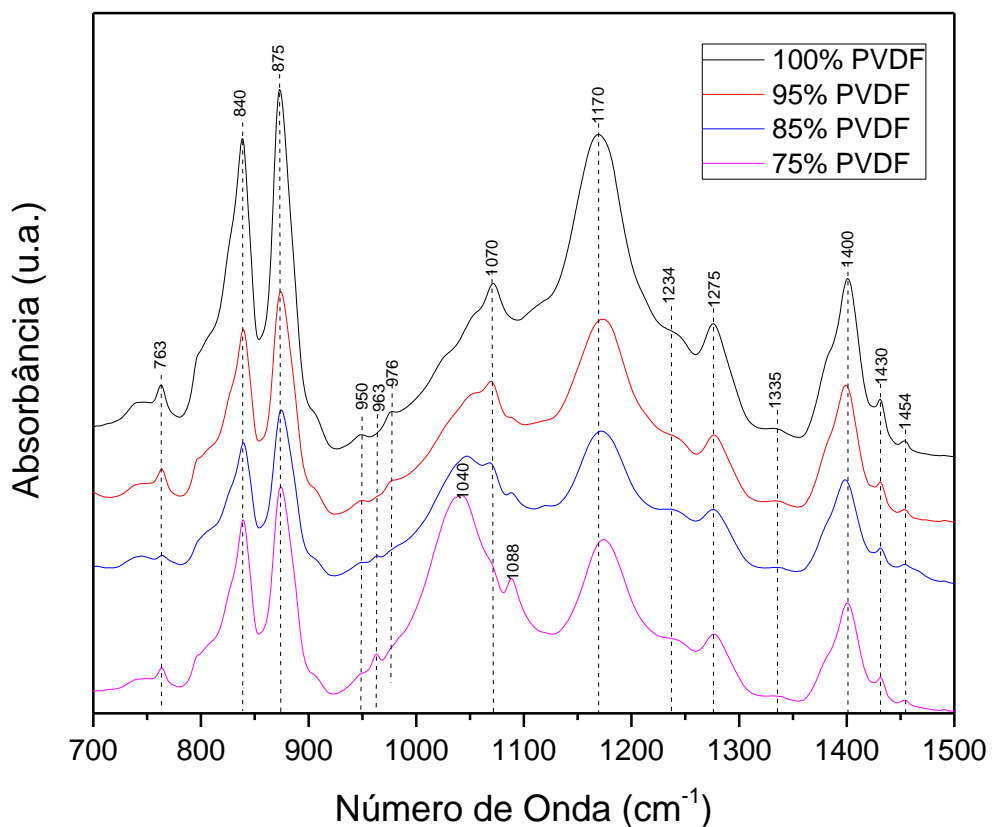
Ao final do período de incubação, foi avaliado o número de células viáveis crescidas pelo método de viabilidade celular MTT. Este método tem como base a capacidade das mitocôndrias de células viáveis reduzir o MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) um sal amarelo solúvel em água, em formazan, um composto insolúvel de cor roxa. Para a determinação quantitativa da proliferação celular, foram utilizados 5 mg/mL de solução de MTT em PBS (pH 7,4). A solução de MTT foi aquecida a 37°C e 20 $\mu$ L foram despejados nos poços de uma placa de cultura e, em seguida, colocados em uma incubadora umidificada a 37°C sob uma atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> por 90 min. O sobrenadante foi removido e 100 $\mu$ L de DMSO foram adicionados a cada placa de poço. Após agitar a placa por 30s (usando um agitador de placas), as amostras foram analisadas em um leitor de ELISA no comprimento de onda de 540cm<sup>-1</sup>, usando 630cm<sup>-1</sup> como referência. A partir dos valores de absorbância (lidos nos comprimentos de onda desejados) foi possível quantificar a porcentagem de viabilidade celular.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 5 são mostrados os espectros de FTIR dos filamentos 100%PVDF, 95%PVDF-5%HAp, 85%PVDF-15%HAp e 75%PVDF-25%HAp bem como as indicações dos números de onda para as principais bandas. As bandas que ocorrem para o filamento de 100% de PVDF em 763, 875 e 1070 são referentes à fase alfa do PVDF.<sup>51,52</sup> A banda em 1275 cm<sup>-1</sup> está relacionada à fase beta do polímero.<sup>48</sup> As bandas 950 e 1234 pertencem à fase gama. Há regiões de sobreposição na região

das bandas em 840 e 1170 que são reportadas como pertencendo às fases beta e/ou gama [e na região da banda de 1434  $\text{cm}^{-1}$  que pode estar relacionada à modos vibracionais de dobramento das fases alfa, beta e/ou gama.<sup>48</sup> A banda fraca em 1454  $\text{cm}^{-1}$  pode estar relacionada à presença de defeitos na cadeia polimérica do tipo cauda-cauda [ $\delta$  ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ )].<sup>53</sup> Tais defeitos podem ocorrer durante a adição do monômero à cadeia polimérica em crescimento durante a síntese ou durante o processamento do material, devido à quebra e reorganização da cadeia <sup>54</sup>. Para as amostras contendo hidroxiapatita são observadas três bandas novas bandas centralizadas em 961, 1042 e 1088  $\text{cm}^{-1}$ . A banda em 961  $\text{cm}^{-1}$  é referente ao modo de estiramento simétrico  $\nu_1$  do  $\text{PO}_4$  e as outras duas estão relacionadas ao estiramento simétrico  $\nu_3$  do  $\text{PO}_4$ .<sup>55</sup> A intensidade dessas bandas aumenta conforme aumenta-se a quantidade de hidroxiapatita nos compósitos. Não foram observadas mudanças significativas nos números de onda das bandas do PVDF, o que indica que não houve alteração química na cadeia polimérica com a adição de HAp.

Figura 6 - Espectros FTIR dos filamentos 100%PVDF, 95%PVDF-5%HAp, 85%PVDF-15%HAp e 75%PVDF-25%HAp.



Na Tabela 2 são mostrados modos vibracionais encontrados na literatura correspondentes ao PVDF e à hidroxiapatita e suas respectivas regiões espectrais, grupo funcional, fase correspondente e referências.

Tabela 2. Modos vibracionais correspondentes ao PVDF e à hidroxiapatita, grupo funcional correspondente, fase correspondente e referências.

<b>Banda (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Grupo</b>	<b>Modo de vibração</b>	<b>Fase correspondente</b>	<b>Referências</b>
<b>763</b>	CF <sub>2</sub>	Flexão no plano (balanço)	α	56
<b>840</b>	CH <sub>2</sub> , CF <sub>2</sub>	flexão no plano (CH <sub>2</sub> ) e estiramento assimétrico (CF <sub>2</sub> )	β,γ	46, 48, 53
<b>875</b>	CF <sub>2</sub>	estiramento*	α	49
<b>963</b>	PO <sub>4</sub>	estiramento simétrico	HAp	57
<b>976</b>	CH	deformação fora do plano	α	48
<b>1040</b>	PO <sub>4</sub>	estiramento assimétrico	HAp	54
<b>1070</b>	CH <sub>2</sub>	deformação fora do plano	α	49
<b>1088</b>	PO <sub>4</sub>	estiramento assimétrico	HAp	54
<b>1170</b>	CH <sub>2</sub>	estiramento assimétrico	β,γ	58,59
<b>1234</b>	CF	deformação fora do plano	γ	48
<b>1275</b>	CF	deformação fora do plano	β	48
<b>1400</b>	CF <sub>2</sub>	estiramento*	α	49
<b>1454</b>	δ (CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> )	-	Defeito na cadeia do polímero	60

\*tipo de estiramento não encontrado



Um fato interessante a se notar é que não ocorreram sobreposições entre as bandas de HAp e as do PVDF. Dessa maneira, foi possível calcular a porcentagem de fase polar  $\beta$  em cada uma das composições utilizando o método de Cai e colaboradores <sup>46</sup> e os resultados estão listados na tabela 3.

Tabela 3. Concentração de PVDF e Porcentagem de fase  $\beta$  para os filamentos 100%PVDF, 95%PVDF-5%HAp, 85%PVDF-15%HAp e 75%PVDF-25%HAp.

Concentração	Porcentagem de fase $\beta$
PVDF em pó	33%*
PVDF 100%	64%
PVDF 95% - 5% HAp	62%
PVDF 85% - 15% HAp	65%
PVDF 75% - 25% HAp	64%

\* porcentagem obtida da referência 61.

O cálculo da porcentagem da fase beta permitiu inferir dois comportamentos interessantes: o primeiro é que houve um aumento da porcentagem da fase beta após o processamento do polímero (consolidação seguida de extrusão) e o segundo é que houve pouca variação das porcentagens de fase  $\beta$  entre as amostras extrudadas.

De fato, a fase  $\alpha$  é a única fase apolar do PVDF. Dentre as outras fases, a fase  $\beta$  é a que apresenta maior polarização e, conseqüentemente, melhores propriedades piezelétricas. No entanto, o PVDF cristaliza-se predominantemente na fase  $\alpha$  a partir do fundido, com teor bastante baixo de fase  $\beta$ .<sup>62</sup>

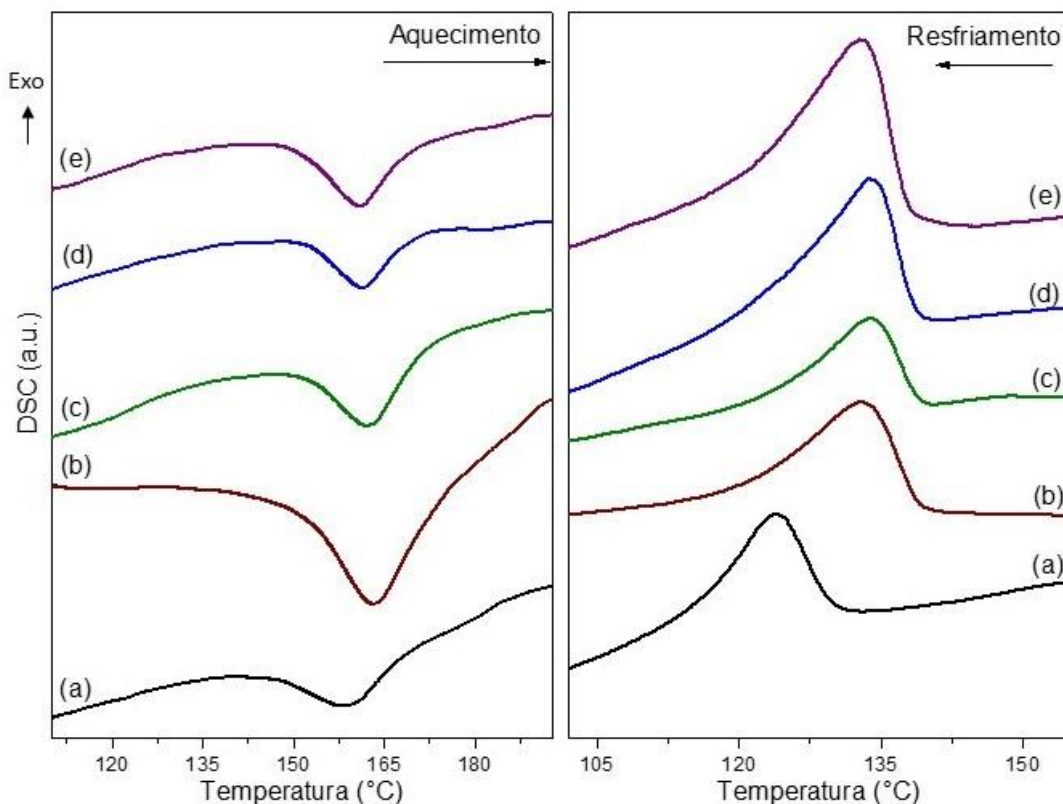
Diferentes estratégias podem ser utilizadas para a formação da fase beta a partir da fase alfa do PVDF. A mais comum refere-se ao estiramento mecânico do polímero aquecido.<sup>63,64</sup> Outras técnicas reportadas são: a aplicação de um campo elétrico elevado, a evaporação de solventes a temperaturas inferiores a 80°C, a copolimerização trifluoroetileno (TrFE), dentre outras <sup>65</sup>. No presente trabalho, filamentos foram produzidos utilizando um processo simples consistindo da produção de pellets de PVDF e de sua mistura com hidroxiapatita (prensagem e aquecimento), seguido de uma extrusão em uma temperatura acima do ponto de fusão do polímero. O processo foi suficiente para conformar boa parte das cadeias poliméricas na fase beta tornando-a majoritária no sistema. Assim sendo, o método de produção utilizado torna-se vantajoso para a produção de compósitos em que se deseje explorar a fase piezelétrica do PVDF.

Ao alterar a concentração de HAp em relação ao PVDF foi constatado que houve pouca variação na porcentagem da fase beta em relação ao PVDF puro, cerca

de 2% para a concentração de 5% de HAp e 1% para a concentração de 15%. Assim, a adição de hidroxiapatita (até 25% em massa) não inibe a conversão de fase alfa em beta durante o processamento.

A partir da calorimetria exploratória diferencial foi possível observar os pontos de fusão e solidificação do biocompósito como mostra a figura 6 e a Tabela 4.

Figura 7 - Termogramas obtidos pela técnica de calorimetria diferencial de varredura (DSC) para a) PVDF em pó (precursor) b) filamento 100%PVDF, c) filamento 95%PVDF-5%HAp, d) filamento 85%PVDF-15%HAp e e) 75%PVDF-25%HAp.



A amostra de PVDF em pó apresentou seu ponto de fusão em 147°C e solidificação em 130 °C. Após o processo de extrusão, a temperatura de fusão passou para 153 °C enquanto a temperatura de solidificação aumentou para 139 °C. Esse aumento nas temperaturas pode estar relacionado à mudança das fases cristalinas ou a stress causados durante o processo de extrusão. Ao acrescentar HAp na composição foi observado que as temperaturas de início de fusão e solidificação são muito próximas para todos os filamentos. Este resultado também indica que as temperaturas de transição da matriz PVDF após a submissão ao processo extrusão não são dependentes da quantidade de HAp nos compósitos. Um resultado semelhante foi relatado no estudo de Corcione e colaboradores.<sup>66</sup> Para filamentos de

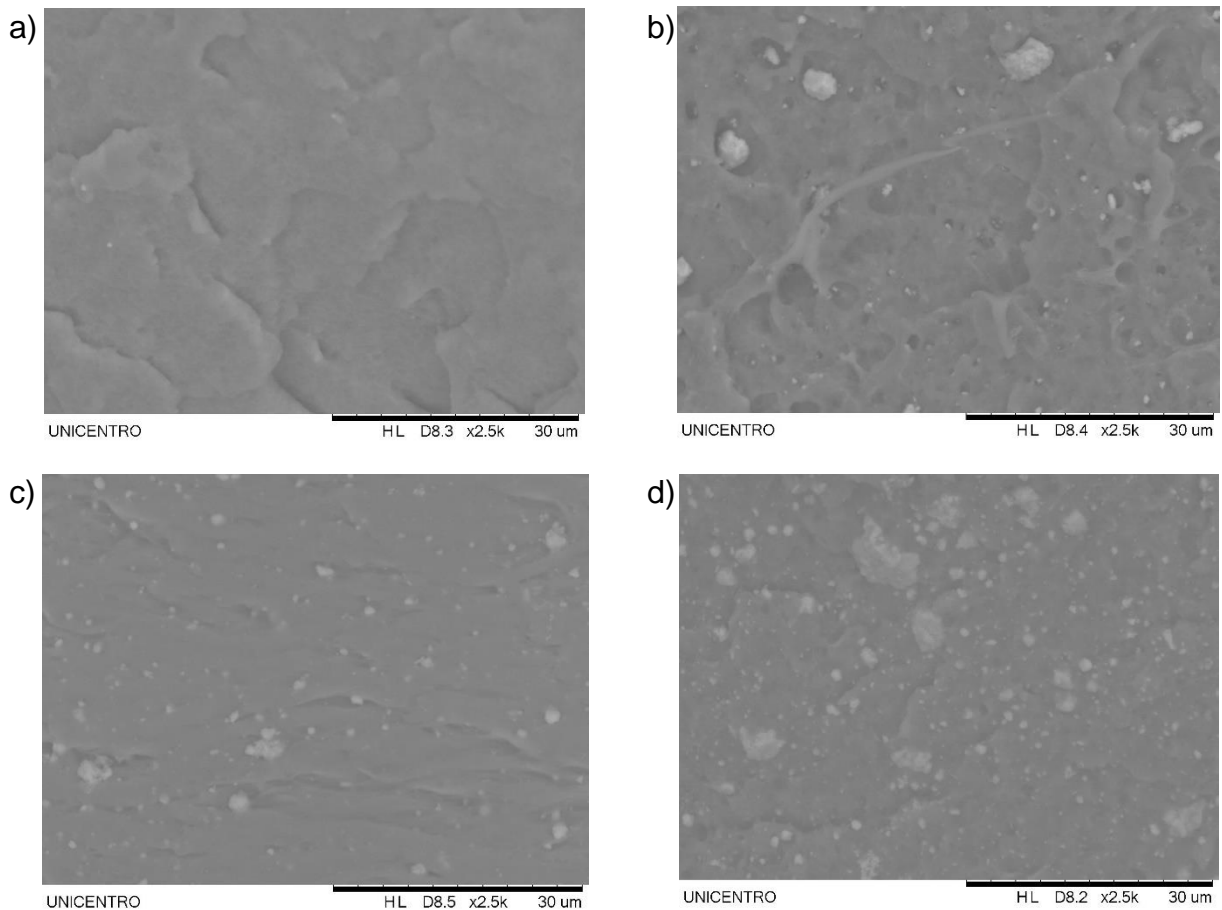
PLA, em que 50% em massa de microesferas Hap foram adicionadas na matriz polimérica sem alterar o ponto de fusão do PLA.

Tabela 4. Ponto de fusão e solidificação para os filamentos 100%PVDF, 95%PVDF-5%HAp, 85%PVDF-15%HAp e 75%PVDF-25%HAp.

Amostra	T <sub>m</sub> (°C) - onset	T <sub>s</sub> (°C) - onset
PVDF pó	147°C	130°C
Filamento 100% PVDF	153°C	139°C
Filamento 95%PVDF-5%HAp	152°C	139°C
Filamento 85%PVDF-15%HAp	153°C	138°C
Filamento 75%PVDF-25%HAp	151°C	139°C

Na figura 7 estão as imagens obtidas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) nas superfícies de fratura dos filamentos.

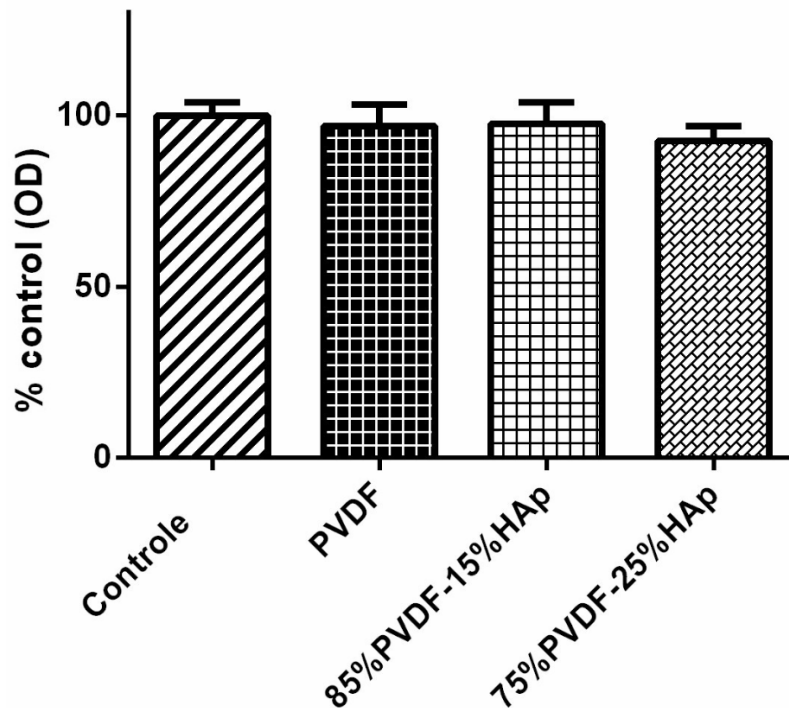
Figura 8 - Imagens de MEV com um aumento de 2500x onde: a)100%PVDF b)95%PVDF-5%HAp c)85%PVDF-15%HAp e d) 75%PVDF-25%HAp.



Ao observar as imagens nota-se uma boa consolidação do polímero. Esse resultado está de acordo com os da Tabela 2 pois todos os filamentos foram obtidos acima do ponto de fusão do polímero. Com o aumento da concentração de HAp, houve um aumento também na quantidade de partículas dispersas na matriz. Utilizando o padrão de conectividade de Newnham<sup>67</sup> observa-se uma conectividade do tipo 0-3 em alguns pontos enquanto em outros há a presença de aglomerados de partículas de HAp. Em relação aos demais padrões de conectividade, os compósitos com conectividade 0-3 apresentam algumas vantagens, como baixo custo e facilidade no preparo<sup>68</sup>. Porém, para que esse tipo de conectividade seja garantida, a fase cerâmica deve permanecer abaixo de 40%.<sup>36</sup> Embora todos os filamentos possuam porcentagem de HAp menor que 40%, os aglomerados mostraram que é preciso aprimorar o processo de preparo das amostras, caso esse tipo de conectividade seja desejada.

Na Figura 8 são mostrados os resultados de viabilidade celular após 24 h de incubação utilizando-se células MC3T3-E1. Para todas as amostras, a viabilidade das células pré-osteoblastos foi de aproximadamente 100%. Essa excelente viabilidade celular demonstra que os filamentos não apresentaram citotoxicidade para essas células pré-osteoblásticas. Curiosamente, as amostras não melhoraram de comportamento com o aumento da quantidade de HAp. Todavia, em testes *in vitro* realizados em trabalhos anteriores do grupo com pastilhas sinterizadas de PVDF puro ou em quantidades muito baixas de HAp (<10%), não foi observada nucleação de fosfato de cálcio quando as amostras ficaram imersas em SBF. De fato, tal efeito é desejável para que haja integração entre o biomaterial e o osso vivo.

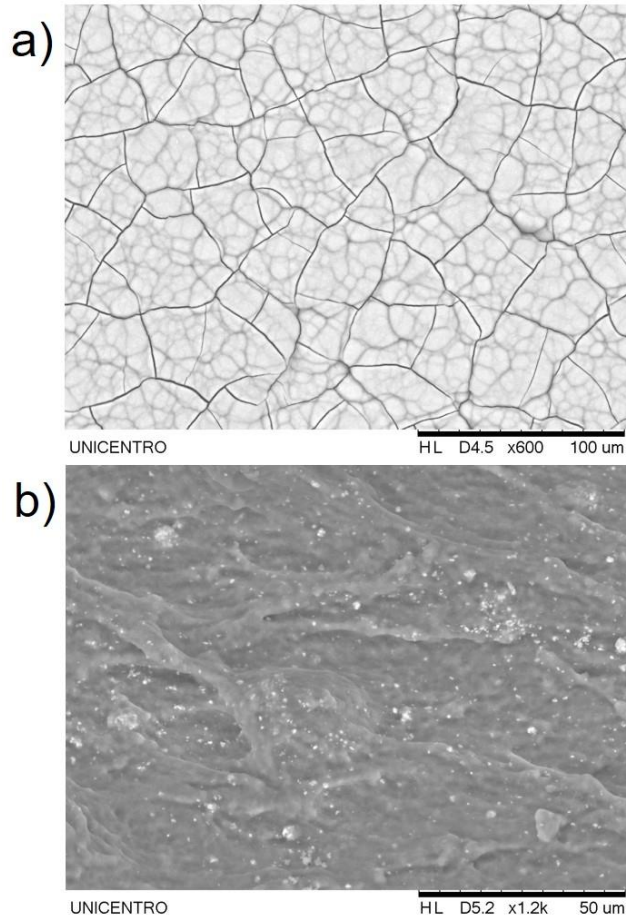
Figura 9 - Resultados do ensaio de citotoxicidade MTT para os filamentos 100%PVDF, 85%PVDF-15% HAp e 75%PVDF-25% HAp. Amostra controle: poço somente com o meio de cultura.



Nas Figuras 9 e 10 são mostrados os resultados dos testes de bioatividade *in vitro*. A amostra contendo 75%PVDF-25%HAp não foi testada pois foi verificado em experimentos paralelos do Grupo de Pesquisa que ela não seria adequada para o processamento por impressão 3D. Por outro lado, as amostras 100% PVDF e 95%PVDF-5%HAp não apresentaram crescimento de apatita até 21 dias de imersão. Assim, os resultados apresentados a seguir referem-se à amostras do filamento 85%PVDF-15%HAp e a uma amostra padrão de hidroxiapatita.

Nas Figuras 9 (a) e (b) são mostradas as imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das amostras padrão (amostra sinterizada de HAp) e do filamento contendo 15% de HAp após sete dias de imersão em SBF. Na Figura 5 (a) é possível observar uma densa e uniforme camada nucleada sobre a amostra padrão com morfologias globulares e trincas características do crescimento de apatita [50]. Essa amostra foi imersa como um controle de qualidade do SBF. Como a mesma apresentou crescimento de apatita, pode se concluir que o SBF foi produzido corretamente. Na Figura 9 (b) é mostrada uma imagem da superfície do filamento 85%PVDF-15%HAp após sete dias de imersão em SBF. Para esse período de imersão não foi observado crescimento de apatita na superfície do filamento.

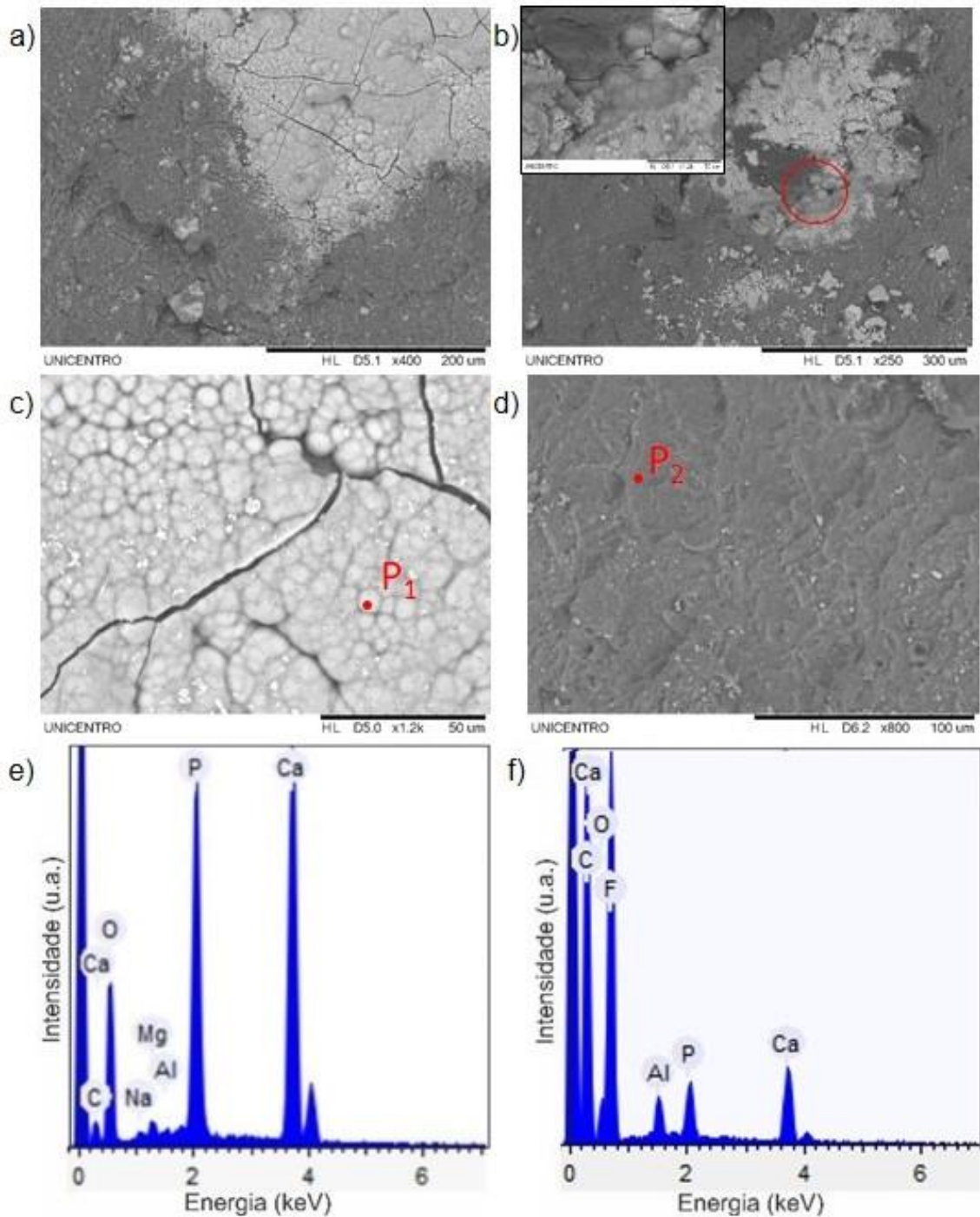
Figura 10 - Imagens de MEV das amostras imersas por sete dias em SBF a) amostra de HAp sinterizada b) amostra de 85%PVDF-15%HAp.



Na Figura 10 é mostrada uma imagem de MEV para outro pedaço da amostra 85%PVDF-15%HAp que ficou imerso por 21 dias em SBF. Nota-se na Figura 10 (a) que houve nucleação de uma camada com morfologia semelhante à da apatita. Porém há regiões com crescimento e regiões sem crescimento. Na Figura 10 (b) observa-se um ponto de início de nucleação com morfologia globular. Na Figura 10 (c) observa-se uma região com uma densa e uniforme camada. A partir destas imagens pode-se concluir que o filamento 85%PVDF-15%HAp é bioativo *in vitro*. Caso contrário, não seria observada nenhuma nucleação, ainda que com um período maior de imersão (21 dias). Obviamente, a bioatividade é inferior à da amostra padrão, como já era esperado. Nota-se ainda que a nucleação não ocorreu de forma uniforme, mas ocorreu em vários pontos da amostra. Portanto, acredita-se que com períodos maiores

de imersão, toda a superfície do filamento apresentaria crescimento de apatita, mas esse efeito ainda precisa ser investigado.

Figura 11 - Imagens de MEV das amostras imersas por 21 dias em SBF a), b) e c) amostra de 85%PVDF-15%HAp. d) amostra 85%PVDF-15%HAp impressa na forma de filamento. e) e c) Espectros de EDS obtidos nos pontos P1 e P2, respectivamente.



Na Figura 10 (d) é mostrada uma imagem da superfície do filamento que foi obtido por impressão 3D a partir do filamento 85%PVDF-15%HA<sub>p</sub> extrudado após 21 dias de imersão em SBF. Não foi observada nenhuma região com nucleação semelhante às Figuras 10 (a), (b) e (c). Verifica-se portanto, que o processo de impressão 3D afetou a bioatividade do filamento e necessita de maior investigação e aprimoramento. Nas Figuras 10 (e) e 6 (f) são mostrados dois espectros de EDS. O primeiro é referente a uma região com alto crescimento de apatita (Ponto P<sub>1</sub> da Figura 10 c). Nota-se a presença de picos intensos referentes ao elemento cálcio (Ca) e ao elemento fósforo (P) indicando que a camada nucleada trata-se de fato de um fosfato de cálcio (apatita). Além disso, pequenas concentrações dos elementos sódio (Na) e (Mg) que normalmente são encontrados em apatitas de origem animal ou nucleadas em SBF [50]. É interessante notar que não aparece o elemento flúor (F) proveniente do PVDF no espectro. Isso demonstra que a camada nucleada sobre a amostra nesta região foi densa. Por outro lado, é possível observar a presença do elemento alumínio (Al) que não pertencia a nenhum componente da amostra. Tal elemento pode ter aparecido por conta do porta amostra metálico ou por pequenas contaminações na amostra. O outro espectro de EDS (figura 6 f – ponto P<sub>2</sub>), refere-se à região da amostra impressa em que não houve nucleação de apatita. Nesse espectro a intensidade dos picos de Ca e P são bem menores e o pico de F aparece bastante pronunciado. Um pico referente ao Al também ocorre. Diante disso, conclui-se que nessa região não houve nucleação de apatita e que as intensidades observadas de Ca e P são, provavelmente, devido à hidroxiapatita que já estava no filamento.



## 5. CONCLUSÕES

Com base nas análises realizadas, foi possível concluir que é possível a produção de filamentos com o biocompósito PVDF-HAp com fase  $\beta$  majoritária e com pouca variação das porcentagens das fases (cerca de 2%) entre as amostras de 0 a 25% de HAp. Pelos resultados obtidos por MEV, foi possível concluir que o filamento apresentou boa consolidação, conectividade 0-3 e presença de alguns aglomerados de HAp. Os testes de bioatividade mostraram que o filamento 85%PVDF-15%HAp é bioativo apresentando várias regiões de crescimento de apatita após imersão em SBF. Já os testes de viabilidade celular mostraram que nenhum dos filamentos produzidos apresentou citotoxicidade quando testados em pré-osteoblastos. Portanto, os compósitos contendo PVDF e HAp apresentaram as seguintes características: bioatividade *in vitro*, ausência de citotoxicidade e fases eletroativas do PVDF como majoritárias apresentando alto potencial para o desenvolvimento de biomateriais compósitos de quarta geração.

## 6. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Durante a realização desse trabalho, surgiram novas ideias que visam dar continuidade ao estudo dos filamentos de PVDF-HAp. Pretende-se, por exemplo, realizar de testes de impressão 3D nos filamentos obtidos variando-se diferentes parâmetros de impressão para termos peças versáteis, de diferentes tamanhos, e sem perder as propriedades bioativas. Alguns testes de impressão já foram realizados e foram promissores, todavia, por conta da crise sanitária causada pela pandemia da Covid-19, os testes laboratoriais precisaram ser interrompidos. Pretende-se também, no futuro, realizar testes de implantes dos compósitos produzidos em animais em sítio ósseo e ectópico visando avaliar como os tecidos vivos se comportam na presença do biomaterial.

## 7. REFERÊNCIAS

- 
- <sup>1</sup> WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Musculoskeletal conditions**. 2018. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/musculoskeletal-conditions>>. Acesso em: 03 jul. 2019.
- <sup>2</sup> SZPALSKI, Caroline et al. Cranial bone defects: current and future strategies. **Neurosurgical Focus**, [s.l.], v. 29, n. 6, p.8-19, dez. 2010. Journal of Neurosurgery Publishing Group (JNSPG). <http://dx.doi.org/10.3171/2010.9.focus10201>.
- <sup>3</sup> HENKEL, Jan; WOODRUFF, Maria A.; EPARI, Devakara R.; STECK, Roland; GLATT, Vaida; DICKINSON, Ian C.; CHOONG, Peter F. M.; SCHUETZ, Michael A.; HUTMACHER, Dietmar W.. Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions — A 21st Century Perspective. **Bone Research**, [S.L.], v. 1, n. 3, p. 216-248, 25 set. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.4248/br201303002>.
- <sup>4</sup> RATNER, Buddy D. *et al.* **Biomaterials Science**: an introduction to materials in medicine. 3. ed. San Diego, 2013.
- <sup>5</sup> HUEBSCH, Nathaniel; MOONEY, David J.. Inspiration and application in the evolution of biomaterials. **Nature**, [S.L.], v. 462, n. 7272, p. 426-432, nov. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nature08601>.
- <sup>6</sup> MARKETSandMARKETS. **Biomaterials Market by Type of Materials (Metallic, Ceramic, Polymers, Natural), Application (Cardiovascular, Orthopedic, Dental, Plastic Surgery, Wound Healing, Neurological disorders, Tissue Engineering, Ophthalmology) - Global Forecast to 2025**. Disponível em: [https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biomaterials-393.html?gclid=CjwKCAjwmqKJBhAWEiwAMvGt6NHuHD5t2xSRh88yvUbPO-XaRA2-1uv6fPlqq4OUuOHTN\\_IJH2-7QxoCA0MQAvD\\_BwE](https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biomaterials-393.html?gclid=CjwKCAjwmqKJBhAWEiwAMvGt6NHuHD5t2xSRh88yvUbPO-XaRA2-1uv6fPlqq4OUuOHTN_IJH2-7QxoCA0MQAvD_BwE). Acesso em: 20 ago. 2021.
- <sup>7</sup> NING, Chengyun; ZHOU, Lei; TAN, Guoxin. Fourth-generation biomedical materials. **Materials Today**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 2-3, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mattod.2015.11.005>.
- <sup>8</sup> COHEN, D.J.; NELSON, W.J.; MAHARBIZ, M.M.; Galvanotactic control of collective cell migration in epithelial monolayers. **Nature Materials**, V.13, p. 409-417, 2014.
- <sup>9</sup> ZHAO, M. et al. Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase-gand PTEN. **Nature**. v. 442 n. 27, p. 457-460, 2006.
- <sup>10</sup> ZHOU, Z. et al. Polarization of an electroactive functional film on titanium for inducing osteogenic differentiation. **Scientific Reports**. v.6, p. 35512(1-7), 2016.

- 
- <sup>11</sup> JACOB, Jaicy et al. Piezoelectric smart biomaterials for bone and cartilage tissue engineering. **Inflammation And Regeneration**, [s.l.], v. 38, n. 1, p.1-11, 27 fev. 2018. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/s41232-018-0059-8>.
- <sup>12</sup> BONADIO, T.G.M. et al. Polyvinylidene fluoride/hydroxyapatite/b-tricalcium phosphate multifunctional biocomposite: Potentialities for bone tissue engineering. *Current Applied Physics* v.17, p. 767-773, 2017.
- <sup>13</sup> WANG, Xiaomei; SUN, Fazhe; YIN, Guangchao; WANG, Yuting; LIU, Bo; DONG, Mingdong. Tactile-Sensing Based on Flexible PVDF Nanofibers via Electrospinning: a review. *Sensors*, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 330, 24 jan. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/s18020330>.
- <sup>14</sup> KABIR, Ekramul; KHATUN, M; NASRIN, L; RAIHAN, Mustafa J; RAHMAN, M. Pure $\beta$ -phase formation in polyvinylidene fluoride (PVDF)-carbon nanotube composites. *Journal Of Physics D: Applied Physics*, [S.L.], v. 50, n. 16, p. 163002-163002, 20 mar. 2017. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1361-6463/aa5f85>.
- <sup>15</sup> FUJISAKI, Yoshihisa. Poly(Vinylidene fluoride-Trifluoroethylene) P(VDF-TrFE)/Semiconductor Structure Ferroelectric-Gate FETs. *Topics In Applied Physics*, [S.L.], p. 157-183, 2016. Springer Netherlands. [http://dx.doi.org/10.1007/978-94-024-0841-6\\_8](http://dx.doi.org/10.1007/978-94-024-0841-6_8).
- <sup>16</sup> BONAN, R. F. et al. Métodos de reforço microestrutural da hidroxiapatita. *Cerâmica*, v. 60, p.402-410, jan. 2014.
- <sup>17</sup> SUCHANEK, Wojciech; YOSHIMURA, Masahiro. 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, 1 jan. 1998.
- <sup>18</sup> CALLISTER, William D.; RETHWISCH, David G.. **Ciência e Engenharia de Materiais: uma introdução**. 9. ed. Rio de Janeiro,: Ltc, 2016. Cap. 16. p. 581-624.
- <sup>19</sup> BARBERO, Ever J.. **Introduction to Composite Materials Design**. 2. ed. Boca Raton: Crc, 2011.
- <sup>20</sup> RIGHETTI, Maria; CINELLI, Patrizia; MALLEGGNI, Norma; MASSA, Carlo; ALIOTTA, Laura; LAZZERI, Andrea. Thermal, Mechanical, Viscoelastic and Morphological Properties of Poly(lactic acid) based Biocomposites with Potato Pulp Powder Treated with Waxes. **Materials**, [S.L.], v. 12, n. 6, p. 990, 26 mar. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ma12060990>.
- <sup>21</sup> KUMAR, Anuj; JYSKE, Tuula; MÖTTÖNEN, Veikko. Properties of Injection Molded Biocomposites Reinforced with Wood Particles of Short-Rotation Aspen and Willow. **Polymers**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 257, 22 jan. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/polym12020257>.
- <sup>22</sup> RIGHETTI, Maria Cristina; CINELLI, Patrizia; MALLEGGNI, Norma; STÄBLER, Andreas; LAZZERI, Andrea. Thermal and Mechanical Properties of Biocomposites Made of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and Potato Pulp

---

Powder. **Polymers**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 308, 12 fev. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/polym11020308>.

<sup>23</sup> SAFARI, A.. Development of piezoelectric composites for transducers. **Journal de Physique III**, [S.L.], v. 4, n. 7, p. 1129-1149, jul. 1994. EDP Sciences. <http://dx.doi.org/10.1051/jp3:1994191>.

<sup>24</sup> BOWEN, C.R.; TOPOLOV, V.Yu.. Piezoelectric sensitivity of PbTiO<sub>3</sub>-based ceramic/polymer composites with 0–3 and 3–3 connectivity. **Acta Materialia**, [S.L.], v. 51, n. 17, p. 4965-4976, out. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1359-6454\(03\)00283-0](http://dx.doi.org/10.1016/s1359-6454(03)00283-0).

<sup>25</sup> SANTOS, Thaiane Maria Balestreri Knopf dos; MERLINI, Claudia; ARAGONES, Águedo; FREDEL, Márcio Celso. Manufacturing and characterization of plates for fracture fixation of bone with biocomposites of poly (lactic acid-co-glycolic acid) (PLGA) with calcium phosphates bioceramics. **Materials Science And Engineering: C**, [S.L.], v. 103, p. 109728, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2019.05.013>.

<sup>26</sup> VALLETREGI, M. Synthesis of ceramic-polymer-drug biocomposites at room temperature. **Solid State Ionics**, [S.L.], v. 101-103, p. 887-892, nov. 1997. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0167-2738\(97\)00219-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0167-2738(97)00219-1).

<sup>27</sup> SUN, Fangfang; ZHOU, Hongjian; LEE, Jaebeom. Various preparation methods of highly porous hydroxyapatite/polymer nanoscale biocomposites for bone regeneration. **Acta Biomaterialia**, [S.L.], v. 7, n. 11, p. 3813-3828, nov. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2011.07.002>.

<sup>28</sup> PLUTA, K.; FLORKIEWICZ, W.; MALINA, D.; RUDNICKA, K.; MICHLEWSKA, S.; KRÓLCZYK, J.B.; SOBCZAK-KUPIEC, A.. Measurement methods for the mechanical testing and biocompatibility assessment of polymer-ceramic connective tissue replacements. **Measurement**, [S.L.], v. 171, p. 108733, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.measurement.2020.108733>.

<sup>29</sup> BRAGA, Francisco José Correa *et al.* Characterization of PVDF/HAP composites for medical applications. **Materials Research**, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 247-251, set. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-14392007000300005>.

<sup>30</sup> KARIMI, Saeid; GHAEI, Azadeh; BARZIN, Jalal. Preparation and characterization of a piezoelectric poly (vinylidene fluoride)/nanohydroxyapatite scaffold capable of naproxen delivery. **European Polymer Journal**, [S.L.], v. 112, p. 442-451, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.01.027>.

<sup>31</sup> SILVA, Ludmilla Magalhães. **PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÕES FÍSICAS DO COMPÓSITO BIOATIVO PVDF-HAP COM POTENCIAL PARA IMPLANTE ÓSSEO**. 2015. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Física, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2015.

<sup>32</sup> RAUWENDAAL, Chris. **Polymer Extrusion**. 5. ed. Munich: Hanser, 2014.

- 
- <sup>33</sup> GILES JUNIOR, Harold F. *et al.* **Extrusion: The Definitive Processing Guide and Handbook**. Norwich: William Andrew, 2005.
- <sup>34</sup> HANON MM, Zsidai L, Comprehending the role of process parameters and filament color on the structure and tribological performance of 3D printed PLA, *Journal of Materials Research and Technology*, <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.08.061>.
- <sup>35</sup> OVIEDO, A.M.; PUENTE, A.H.; BERNAL, C.; PÉREZ, E.. Mechanical evaluation of polymeric filaments and their corresponding 3D printed samples. **Polymer Testing**, [S.L.], v. 88, p. 106561, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106561>.
- <sup>36</sup> ALLUM, James; GLEADALL, Andrew; SILBERSCHMIDT, Vadim V.. Fracture of 3D-printed polymers: crucial role of filament-scale geometric features. **Engineering Fracture Mechanics**, [S.L.], v. 224, p. 106818, fev. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.engfracmech.2019.106818>.
- <sup>37</sup> ATKINS, Peter; JONES, Loretta. **Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente..** 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2012. Tradução técnica: Ricardo Bicca de Alencastro.
- <sup>38</sup> PAVIA, Donald L.; LAMPMAN, Gary M.; KRIZ, George S.; VYVYAN, James R.. **INTRODUÇÃO À ESPECTROSCOPIA**. 4. ed. Bellingham: Cengage, 2010. Revisão técnica: Paulo Sergio Santos.
- <sup>39</sup> ROSSO, Jaciele M.. **Estudos de síntese e propriedades ferroicas de soluções sólidas BaTiO<sub>3</sub>-NaNbO<sub>3</sub>**. 2017. 178 f. Tese (Doutorado) - Curso de Física, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2017.
- <sup>40</sup> SALA, Oswaldo. **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**. 2. ed. São Paulo: Unesp, 2008.
- <sup>41</sup> LIMA, Cássio Aparecido. **Caracterização Bioquímicas de Lesões Neoplásticas via Espectroscopia de Absorção no Infravermelho por Transformada de Fourier**. 2015. 67 f. Dissertação (Doutorado) - Curso de Tecnologia Nuclear, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2015.
- <sup>42</sup> GOLDSTEIN, Joseph I. *et al.* **Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis**. 2. ed. Nova Iorque: Plenum, 1992.
- <sup>43</sup> GEISS, R. H.; HUANG, T. C.. Quantitative X-ray energy dispersive analysis with the transmission electron microscope. **X-Ray Spectrometry**, [S.L.], v. 4, n. 4, p. 196-201, out. 1975. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/xrs.1300040410>.
- <sup>44</sup> MISHRA, Raghvendra Kumar; ZACHARIAH, Ajesh K.; THOMAS, Sabu. Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy Techniques for Nanomaterial. **Microscopy Methods In Nanomaterials Characterization**, [S.L.], p. 383-405, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-323-46141-2.00012-2>.

- 
- <sup>45</sup> SCHICK, C.. Differential scanning calorimetry (DSC) of semicrystalline polymers. *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, [S.L.], v. 395, n. 6, p. 1589-1611, 14 out. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-009-3169-y>.
- <sup>46</sup> SANDLER, Stanley R.; KARO, Wolf; BONESTEEL, Jo-Anne; PEARCE, Eli M.. Thermogravimetric analysis. *Polymer Synthesis And Characterization*, [S.L.], p. 108-119, 1998. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-012618240-8/50022-8>.
- <sup>47</sup> LOGANATHAN, Sravanthi; VALAPA, Ravi Babu; MISHRA, Raghvendra Kumar; PUGAZHENTHI, G.; THOMAS, Sabu. Thermogravimetric Analysis for Characterization of Nanomaterials. *Thermal And Rheological Measurement Techniques For Nanomaterials Characterization*, [S.L.], p. 67-108, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-323-46139-9.00004-9>.
- <sup>48</sup> MIYAHARA, R. Y.; GOUVÊA, D.; TOFFOLI, S. M.. Obtenção e caracterização de cinza de ossos bovinos visando à fabricação de porcelana de ossos - bone china. *Cerâmica*, [S.L.], v. 53, n. 327, p. 234-239, set. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0366-69132007000300004>.
- <sup>49</sup> CAI, Xiaomei; LEI, Tingping; SUN, Daoheng; LIN, Liwei. A critical analysis of the  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  phases in poly(vinylidene fluoride) using FTIR. *Rsc Advances*, [S.L.], v. 7, n. 25, p. 15382-15389, 2017. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c7ra01267e>.
- <sup>50</sup> T. Kokubo and H. Takadama, "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?," *Biomaterials*, vol. 27, no. 15, pp. 2907–2915, 2006.
- <sup>51</sup> BORMASHENKO, Ye.; POGREB, R.; STANEVSKY, O.; BORMASHENKO, Ed.. Vibrational spectrum of PVDF and its interpretation. *Polymer Testing*, [S.L.], v. 23, n. 7, p. 791-796, out. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymertesting.2004.04.001>.
- <sup>52</sup> LINS, Luanda Chaves; LIVI, Sébastien; MARÉCHAL, Manuel; DUCHET-RUMEAU, Jannick; GÉRARD, Jean-François. Structural dependence of cations and anions to building the polar phase of PVDF. *European Polymer Journal*, [S.L.], v. 107, p. 236-248, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2018.08.022>.
- <sup>53</sup> M.L.L. O'Shea, C. Morterra, M.J.D.J.D Low, Spectroscopic Studies of Carbons XVII Pyrolysis of Polyvinylidene Fluoride. In: *Materials Chemistry and Physics*. Vol.26, pp. 193–205. 1990.
- <sup>54</sup> CIRILO, L.C.M. CARACTERIZAÇÃO DO RESÍDUO PÓS-INDUSTRIAL DE PVDF VISANDO POTENCIAL UTILIZAÇÃO VIA RECICLAGEM PRIMÁRIA. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.
- <sup>55</sup> Panda, R. N., Hsieh, M. F., Chung, R. J. , Chin, T. S., FTIR, XRD, SEM and solid state NMR investigations of carbonate-containing hydroxyapatite nano-particles

---

synthesized by hydroxide-gel technique, *J. Physics and Chemistry of Solid*, 64, (2003), 193.

<sup>56</sup> S. Lanceros-Méndez, J. F. Mano, A. M. Costa & V. H. Schmidt (2001): FTIR AND DSC STUDIES OF MECHANICALLY DEFORMED  $\beta$ -PVDF FILMS, *Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics*, 40:3-4, 517-527.

<sup>57</sup> REHMAN, I; BONFIELD, W. Characterization of hydroxyapatite and carbonated apatite by photo acoustic FTIR spectroscopy. **Journal Of Materials Science: Materials in Medicine**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-4, 1997. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1018570213546>.

<sup>58</sup> Xuemei Lu, Yuelian Peng, Haoran Qiu, Xinrui Liu, Lei Ge, Anti-fouling membranes by manipulating surface wettability and their anti-fouling mechanism, *Desalination*, Volume 413, 2017, Pages 127-135.

<sup>59</sup> B. Seyhan Ince-Gunduz, Robert Alpern, Debeshu Amare, Jennifer Crawford, Breanna Dolan, Stacey Jones, Ryan Kobylarz, Matthew Reveley, Peggy Cebe, Impact of nanosilicates on poly(vinylidene fluoride) crystal polymorphism: Part 1. Melt-crystallization at high supercooling, *Polymer* 51 (2010) 1485–1493.

<sup>60</sup> GREGÓRIO JR, R.; CESTARI, M.; BERNARDINO, F. E. Dielectric behaviour of thin films of  $\beta$ -PVDF/PZT and  $\beta$ -PVDF/BATiO<sub>3</sub> composites. *Journal of Materials Science*, v. 31, p. 2925-2930, 1996.

<sup>61</sup> M.S. MALHERBI **COMPÓSITOS PVDF-HIDROXIAPATITA PRODUZIDOS POR ELETROFIAÇÃO PARA APLICAÇÃO BIOMÉDICA**. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2021

<sup>62</sup> Meng, N., Zhu, X., Mao, R., Reece, M. J. & Bilotti, E. Nanoscale interfacial electroactivity in PVDF/PVDF-TrFE blended films with enhanced dielectric and ferroelectric properties. *J. Mater. Chem. C* 5, 3296–3305 (2017).

<sup>63</sup> Meng, N., Zhu, X., Mao, R., Reece, M. J. & Bilotti, E. Nanoscale interfacial electroactivity in PVDF/PVDF-TrFE blended films with enhanced dielectric and ferroelectric properties. *J. Mater. Chem. C* 5, 3296–3305 (2017).

<sup>64</sup> J. Lando, H. Olf, and A. Peterlin, “Nuclear magnetic resonance and x-ray determination of the structure of poly (vinylidene fluoride),” *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry*, vol. 4, no. 4, pp. 941–951, 1966.

<sup>65</sup> P. Sajkiewicz, A. Wasiak, and Z. Gocłowski, “Phase transitions during stretching of poly (vinylidene fluoride),” *European polymer journal*, vol. 35, no. 3, pp. 423–429, 1999.

<sup>66</sup> C. E. Corcione, F. Gervaso, F. Scalera, S. K. Padmanabhan, M. Madaghiele, F. Montagna, A. Sannino, A. Licciulli, A. Maffezzoli, Highly loaded hydroxyapatite microsphere/PLA porous scaffolds obtained by fused deposition modelling, *Ceramics*

---

International, Volume 45, Issue 2, Part B, 2019, Pages 2803-2810, <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.07.297>.

<sup>67</sup> NEWNHAM, R.E.; SKINNER, D.P.; CROSS L.E. Connectivity and Piezoelectric-Pyroelectric Composites, **Materials Research Bulletin**. v. 13, p. 525-536, 1978.

<sup>68</sup> NEWNHAM, R.E.; SKINNER, D.P.; CROSS L.E. Connectivity and Piezoelectric-Pyroelectric Composites, Materials Research Bulletin. v. 13, p. 525-536, 1978.