

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

FELIPPE MIGLIATO MAREGA

Análise da cristalinidade de *scaffolds* de poli (ϵ - caprolactona) reforçados por meio da técnica de calorimetria exploratória diferencial

São Carlos

2020

FELIPPE MIGLIATO MAREGA

Análise da cristalinidade de *scaffolds* de poli (ϵ - caprolactona) reforçados por meio da técnica de calorimetria exploratória diferencial

Trabalho de conclusão de curso apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como requisito para a obtenção do Título de Engenheiro de Materiais e Manufatura.

Orientadora: Prof^a. Dra. Marcia Cristina Branciforti

São Carlos

2020

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da
EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

M323a Marega, Felipe
Análise da cristalinidade de scaffolds de poli (e - caprolactona) reforçados por meio da técnica de calorimetria exploratória diferencial / Felipe Marega; orientadora Marcia Cristina Branciforti. São Carlos, 2020.

Monografia (Graduação em Engenharia de Materiais e Manufatura) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2020.

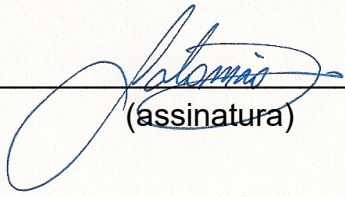
1. Calorimetria exploratória diferencial (DSC). 2. Scaffolds. 3. Poli (e - caprolactona). 4. Biovidro® 4585. 5. Nanofibras de celulose. I. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Candidato: Felipe Migliato Marega
Título do TCC: Análise da cristalinidade de scaffolds de poli (ϵ - caprolactona) reforçados por meio da técnica de calorimetria exploratória diferencial
Data de defesa: 13/11/2020

Comissão Julgadora	Resultado
Professor Doutor Marcia Cristina Branciforti (orientador)	APROVADO
Instituição: EESC - SMM	
Professor Doutor Eduardo Bellini Ferreira	APROVADO
Instituição: EESC - SMM	
Pesquisador Vínicius de Oliveira	APROVADO
Instituição: EESC - SMM	

Presidente da Banca: **Professor Associado Rafael Salomão**



(assinatura)

DEDICATÓRIA

*Ao meus pais Joselaine e Euclides, por
todo o suporte e incentivo,
Aos meus avós Dalides e José por terem
um papel fundamental no meu
desenvolvimento como ser humano,
Aos meus irmãos Gabrielle, Guilherme e
Diego, por sempre estarem ao meu lado
e me inspirarem.*

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Marcia Cristina Branciforti pela orientação, confiança, ensinamentos e paciência ao longo do projeto.

À Mestra Talita Villa Barbosa por desenvolver os *scaffolds* analisados no presente trabalho, além da confiança para a continuação dos estudos e análise desse.

Ao técnico Ricardo Gomes Pereira por sempre me auxiliar na execução dos ensaios, assim como por todos os ensinamentos e companheirismo ao longo da graduação.

Aos meus colegas de graduação que sempre estiveram presente ao longo da graduação, em diversas situações e que marcaram essa etapa da minha vida.

A todos os contribuintes brasileiros, que por meio da Universidade de São Paulo, proporcionaram minha formação como engenheiro de materiais e manufatura.

EPÍGRAFE

“Aqueles que passam por nós não vão sós.
Deixam um pouco de si, levam um pouco
de nós.”

Antoine de Saint-Exupery (1943)

RESUMO

MAREGA, F. M. **Análise da cristalinidade de *scaffolds* de poli (ϵ - caprolactona) reforçados por meio da técnica de calorimetria exploratória diferencial.** 2020. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

A estrutura do estado sólido em polímeros, que contempla o modo e grau em que as cadeias moleculares se empacotam, interfere diretamente nas propriedades finais do produto em desenvolvimento. Desse modo é essencial, durante o desenvolvimento de um novo material, produto ou processo, que uma análise do modo de cristalização do material polimérico seja conduzida, com finalidade de compreender como composição, parâmetros de processo e estrutura interferem na cristalinidade final. Particularmente no âmbito dos biomateriais para implantes, este parâmetro deve ser amplamente estudado, haja vista que a sinergia entre propriedades mecânicas e químicas resultam na efetividade final do tratamento.

Neste contexto, o presente trabalho avaliou o índice de cristalização de *scaffolds* compostos por uma matriz polimérica de poli (ϵ - caprolactona) reforçado com Biovidro[®]45S5 e nanofibras de celulose, por meio da técnica de calorimetria exploratória diferencial. Dessarte, possibilitando aferir que material de reforço atuou na cristalização da matriz polimérica nas diferentes composições propostas, de modo desfavorável. Portanto, foi verificado que ocorreu uma queda da cristalinidade com o aumento da concentração de biovidro e de nanofibras de celulose, assim, podendo explicar os resultados inferiores obtidos por Barbosa (2018) nos ensaios de viabilidade celular.

Palavras-chave: Calorimetria exploratória diferencial (DSC). *Scaffolds*. Poli (ϵ - caprolactona). Biovidro[®] 45S5. Nanofibras de celulose

ABSTRACT

MAREGA, F. M. **Crystallinity analysis of reinforced poly (ϵ - caprolactone) scaffolds using the differential scanning calorimetry technique**: 2020. Monografia (Trabalho de Conclusão) – São Carlos School of Engineering, University of São Paulo, 2020.

The structure of the solid state in polymers, i.e., the configuration and fraction in which the molecular chains are packaged, directly interfere in the final properties of the product under development. Therefore, it is essential, during the development of a new material, product or process, that an analysis of the crystallization structure of the polymeric material be conducted, in order to understand how composition, process parameters and structure interfere in the final crystallinity. Particularly in the scope of biomaterials for implants, this parameter must be widely studied, given that the synergy between mechanical and chemical properties results in the final effectiveness of the treatment. In this context, the present work evaluated the crystalline fraction of the scaffolds composed of a polymeric matrix of poly (ϵ - caprolactone) reinforced with Bioglass[®] 45S5 and cellulose nanofibers, using the differential scanning calorimetry technique. Thus, making it possible to understand how the reinforcement material acted in the crystallization of the polymeric matrix in the different compositions proposed. Therefore, it was verified that a decrease in crystallinity occurred with the increase in the concentration of bioglass and / or cellulose nanofibers, thus being able to explain the inferior results obtained by Barbosa (2018) in the cell viability tests.

Keywords: Differential Scanning Calorimetry (DSC). Scaffolds. Poly (ϵ - caprolactone). Bioglass[®] 45S5. Cellulose nanofiber

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Esquemática do processo de cristalização induzida por orientação	4
Figura 2 : Ilustração do modelo de micelas franjadas	5
Figura 3: (a) Esquemática do modelo switchboard, representando a superfície da lamela, região inter lamelar e cadeias inter lamelares. (b) Primeiro modelo proposto para cristalização a partir do polímero fundido	6
Figura 4: Representação ilustrativa do modelo da superfície lisa	7
Figura 5: Representação ilustrativa do modelo da superfície rugosa	7
Figura 6: Representação gráfica da lamela considerada na formulação de Gibbs-Thomson, com a descrição dos parâmetros analisado	8
Figura 7: (a) Micrografia óptica mostrando o perfil da cruz de malta;(b) Modelo gráfico de um esferulito	9
Figura 8: Curva da variação da energia volumétrica, da energia superficial e da barreira termodinâmica, mostrando o raio crítico	14
Figura 9: Comparação entre os mecanismos de nucleação homogênea e heterogênea.....	15
Figura 10: Esquemática das diferenças na nucleação sem e com a presença de agente nucleante.....	17
Figura 11: Representação da difração de raio X em uma estrutura cristalina.....	19
Figura 12: Padrão de difração típico de um polímero semicristalino, mostrando a área correspondente à fração amorfa (A_A) e a área correspondente à fração cristalina (A_C).....	19
Figura 13: Esquema do dispositivo de DSC para os dois sistemas possíveis.....	21
Figura 14: Curva modelo de um equipamento DSC destacando os eventos de cristalização e fusão.	22
Figura 15: Ilustração de uma estrutura tridimensional porosa de scaffolds.	24
Figura 16: Estrutura química (monômero) da poli(ϵ -caprolactona), segundo a nomenclatura da IUPAC	25
Figura 17: Diagrama ternário contendo as faixas de composições que abrangem a bioatividades dos biovidros	26
Figura 18: Classificação dos componentes descontínuos utilizados em compósitos	29
Figura 19: Etapas do processamento para obtenção do biovidro BV.....	30
Figura 20: Métodos de manufatura utilizados para confecção dos scaffolds	32
Figura 21: (a) Curvas do segundo aquecimento das amostras processadas pelo método 1; (b) Curvas do resfriamento das amostras processadas pelo método 1.	35

Figura 22: (a) Curvas do segundo aquecimento das amostras processadas pelo método 2; (b) Curvas do resfriamento das amostras processadas pelo método 2.	37
Figura 23: Gráfico comparativo da cristalinidade das amostras processadas pelos métodos 1 e 2	38
Figura 24: Esquematização das pontes de hidrogênio entra a matriz polimérica e a nanocelulose	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Comparação entre a composição do BV sintetizado e a do Biovidro [®] encontrada na literatura.....	31
Tabela 2: Composição das amostras obtidas pelos métodos 1 e 2 com a concentração em % m/m.....	32
Tabela 3: Resultados da análise térmica (temperatura de cristalização, temperatura de fusão, entalpia de fusão e cristalinidade) das amostras processadas pelo método 1.....	36
Tabela 4: Resultados da análise térmica (temperatura de cristalização, temperatura de fusão, entalpia de fusão e cristalinidade) das amostras processadas pelo método 2.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D	Tridimensional
ASTM	American Society for Testing and Materials
BV	Biovidro
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
NFC	Nanofibras de Celulose
PCL	Poli (ϵ – caprolactona)

LISTA DE SÍMBOLOS

T_m	Temperatura de fusão do cristal
T_m^o	Temperatura de fusão do cristal de espessura infinita
ΔH_f^∞	Entalpia de fusão do cristal de cadeias infinitamente estendidas
σ_e	Energia interfacial entre lamelas e região amorfa
l	Espessura da lamela
ΔH	Entalpia
ΔH_s	Entalpia superficial
ΔS	Entropia
T	Temperatura
ΔG	Varição da Energia Livre de Gibbs
ΔG_v	Varição da Energia Livre de Gibbs volumétrica
ΔG_d	Varição da Energia Livre associada a deformação elástica das moléculas
ΔG_s	Varição da Energia Livre de Gibbs superficial
σ	Energia superficial específica
r	Raio do embrião
V	Volume do embrião (núcleo)
A_{el}	Área superficial embrião/líquido
σ_{el}	Energia superficial na interface embrião/líquido
σ_{ie}	Energia superficial na interface impureza/embrião
σ_{il}	Energia superficial na interface impureza/líquido
P^i	Intensidade de uma propriedade
φ	Grau de cristalinidade real
\overline{P}_c^i	Intensidade parcial da fase cristalina
\overline{P}_a^i	Intensidade parcial da fase amorfa
d	Distância entre planos regulares
θ	Ângulo de difração
X_c	Índice de cristalinidade
A_c	Área da região cristalina
A_A	Área da região amorfa
ΔH_m	Entalpia de fusão da amostra
ΔH_m^o	Entalpia de fusão do polímero 100% cristalino

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVOS.....	2
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
3.1	Cristalização.....	3
3.1.1	Cristalização durante a polimerização.....	3
3.1.2	Cristalização induzida por orientação.....	4
3.1.3	Cristalização sob condições quiescentes.....	4
3.2	Modelos de morfologia de polímeros semicristalinos.....	5
3.2.1	Modelo de micelas franjadas.....	5
3.2.2	Modelos lamelares.....	6
3.2.3	Modelo da superfície rugosa.....	7
3.3	Equação de Thomson – Gibbs.....	8
3.4	Estruturas macroscópicas de cristalização.....	9
3.4.1	Estrutura esferulítica.....	9
3.5	Fatores que afetam a cristalinidade.....	10
3.5.1	Fatores estruturais.....	10
3.6	Termodinâmica de cristalização.....	12
3.6.1	Nucleação homogênea.....	12
3.6.2	Nucleação heterogênea.....	14
3.6.3	Auto nucleação.....	15
3.7	Agentes nucleantes.....	16
3.8	Métodos de análise do grau de cristalinidade.....	17
3.8.1	Difração de raios x de alto ângulo.....	18
3.8.2	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	20
3.9	Engenharia tecidual.....	23
3.10	Materiais.....	24

3.10.1	Poli (ϵ - caprolactona) (PCL).....	24
3.10.2	Biovidro® 45S5.....	26
3.10.3	Nanofibras de celulose (NFC).....	27
3.10.4	Materiais compósitos.....	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1	Materiais.....	29
4.2	Métodos.....	31
4.2.1	Preparação dos scaffolds.....	31
4.2.2	Calorimetria exploratória diferencial.....	32
5	RESULTADOS.....	33
5.1	Amostras extrudadas diretamente no cabeçote (Método 1).....	34
5.2	Amostras previamente extrudadas (Método 2).....	36
6	DISCUSSÃO.....	39
7	CONCLUSÕES.....	42
8	REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

Materiais poliméricos são amplamente utilizados por todos os segmentos da indústria, desde *comodities* do cotidiano até mecanismos de alta performance, como dispositivos biomédicos. Desse modo, a alta gama de aplicações exige que essa classe de material tenha suas propriedades adaptadas às necessidades solicitadas em cada aplicação. Portanto, uma vez que essas são altamente determinadas pela microestrutura, torna-se inevitável o compreender dos mecanismos de cristalização desses materiais durante o processo de solidificação, de modo a possibilitar o desenvolvimento de um produto com as propriedades finais específicas para área de atuação (CANEVAROLO, 2006).

A engenharia tecidual é uma área de aplicação de polímeros na qual são desenvolvidos ambientes propícios para o crescimento e diferenciação celular de tecidos vivos que sofreram alguma espécie de avaria (BRAGA, 2015). Desse modo, foram desenvolvidas estruturas tridimensionais denominadas *scaffolds*, que por meio da composição e da estrutura porosa, visam mimetizar a matriz extracelular dos tecidos (O' BRIEN, 2011). Para tal, uma estratégia que vem sendo desenvolvida e melhorada é a utilização de materiais compósitos a base de polímero biocompatível e partículas cerâmicas bioativas, visando melhorar as propriedades mecânicas e afinidade com o organismo biológico. Ou seja, é de extrema importância o estudo do modo de cristalização desses materiais, haja vista que o particulado cerâmico adicionado a massa polimérica pode atuar diretamente favorecendo a cristalinidade, como um agente nucleante, ou dificultá-la, impedindo o empacotamento das cadeias poliméricas (ZANG, 2017).

Dentre as inúmeras combinações possíveis, uma que vem sendo amplamente estudada é constituída pela dispersão de um particulado de Biovidro® 45S5, capaz de formar ligações com o tecido ósseo, em uma matriz de poli (ϵ – caprolactona) (PCL), que é um polímero termoplástico, semicristalino, que apresenta boa biocompatibilidade, biodegradação e biorreabsorção. Além disso, a incorporação de nanofibras de celulose (NFC) no compósito é uma estratégia viável para melhorar as propriedades finais do material.

Nesse contexto, o presente trabalho é uma continuação dos estudos desenvolvidos por Barbosa (2018), que desenvolveu um *scaffold* a base de PCL, Biovidro® 45S5 e NFC por meio da técnica de manufatura aditiva. Desse modo, visando complementar os estudos por ela iniciado, essa pesquisa tem como finalidade o estudo da influência da incorporação do

particulado cerâmico e das nanofibras de celulose sobre os mecanismos de cristalização da matriz polimérica.

2 OBJETIVOS

O objetivo principal desse trabalho foi analisar os efeitos da incorporação das partículas de biovidro e das nanofibras de celulose sobre a cristalização da matriz de PCL nas composições dos *scaffolds* desenvolvidos e manufaturados por Barbosa (2018). Para este fim, foi utilizada a técnica de calorimetria exploratória diferencial na análise dos *scaffolds* de diferentes composições.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Cristalização

O processo de cristalização em polímeros termoplásticos é definido como sendo uma transformação cinética e termodinâmica, de modo que nesse a estrutura química é conformada, obtendo uma regularidade estrutural repetitiva, formando domínios cristalinos (CANEVAROLO, 2006)

A cristalização dos polímeros pode ser amplamente classificada em três grupos principais, segundo a natureza do processo: (I) Cristalização durante a polimerização; (II) Cristalização induzida pela orientação; e (III) Cristalização sob condições quiescente (ZHANG, 2017).

3.1.1 Cristalização durante a polimerização

Caracterizada especialmente pela formação macroscópica de um cristal único, nesse processo os monômeros que compõem o cristal agregam-se em cadeias por meio da polimerização em estado sólido (ZHANG, 2017).

Diferente ao processo “normal” de cristalização, em que o crescimento do cristal é exclusivamente consequência da mudança de estado físico do material, nessa classe, o cristal, possui uma parcela da formação associada às reações químicas na interface sólido/líquido ou gás/sólido (ZHANG, 2017).

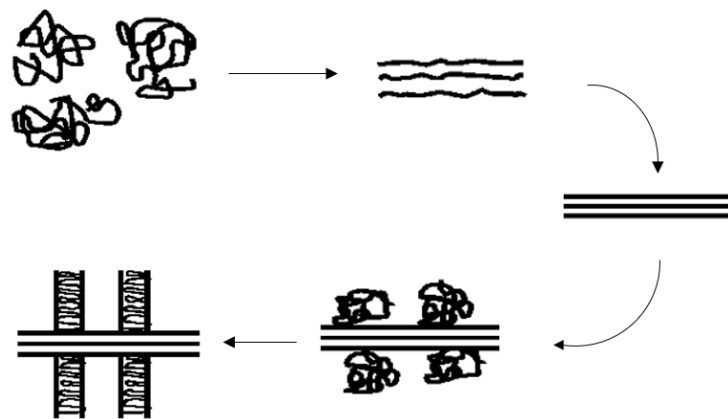
Devido a essas características descritas, os materiais gerados por meio desse processo apresentam propriedades finais relevantes para determinadas aplicações, como exemplo o caráter condutor presente em cristais de poli (nitreto de enxofre) que se assemelham a atribuídas em metais (10 a 1730 S/cm) e em temperaturas criogênicas, a supercondutores. Portanto, esses materiais contém uma ampla aplicabilidade no setor de sensores (MADEIRO, 2012).

3.1.2 Cristalização induzida por orientação

O processo de cristalização induzida por orientação é transcorrente de uma diminuição da entropia conformacional, devido à distorção das cadeias de seu estado de conformação mais provável. Desse modo, ao manter essa deformação em um estado de entropia inferior, uma menor quantidade da parcela conformacional necessita ser sacrificada para que ocorra a transformação do estado cristalino (KELLER, 1979).

Portanto essa diminuição na entropia total de fusão possibilita que a cristalização ocorra em temperaturas mais altas do que em uma condição de repouso, esse mecanismo é ilustrado na Figura 1 (KELLER, 1979).

Figura 1: Esquematização do processo de cristalização induzida por orientação



Fonte: Keller, 1979

3.1.3 Cristalização sob condições quiescentes

Caracterizada pela a cristalização de moléculas flexíveis de cadeia longa com regularidade estrutural suficiente, tanto de origem natural como sintéticas. A cristalização sob condições quiescentes apresenta duas rotas principais de mecanismos: (A) Cristalização de soluções diluídas, que apresenta-se como uma estratégia para análise dos cristais de polímeros, haja vista que esses podem ser isolados com precisão; (B) Cristalização a partir do fundido, essa que se aproxima mais do uso prático e em escala industrial do material polimérico, embora apresente um elevado grau de complexidade em sua fundamentação teórica (KELLER, 1979).

Desse modo, devido à alta aplicabilidade da cristalização a partir do fundido, o entendimento dos fenômenos de nucleação, crescimento e cinética do desenvolvimento das regiões cristalinas nesse processo tem apresentado intenso interesse fundamental e prático ao longo dos anos. Dessa forma, modelos foram propostos visando a compreensão da estrutura morfológica dessas regiões (KELLER, 1979).

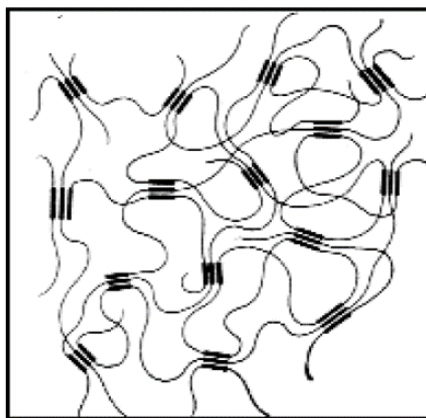
3.2 Modelos de morfologia de polímeros semicristalinos

3.2.1 Modelo de micelas franjadas

Inicialmente idealizado por Hermann, Gerngross e Abitz no início de 1930, esse foi, posteriormente, finalizado por Flory que permaneceu aceito durante um longo período. Esse modelo explana que os polímeros semicristalinos são constituídos por duas fases distintas: uma fase cristalina dispersa em uma matriz amorfa (CANEVAROLO, 2006).

Os cristalinicos, são pequenas estruturas de aproximadamente 100 Å compostas por partes de segmentos de polímeros que se alinham gerando regiões cristalina agrupadas, de modo que uma cadeia pode participar de vários cristalinicos. O crescimento dessas estruturas é impedido pela presença de emaranhados de regiões tensas que constituem a fase amorfa, desse modo, a interface entre ambas as regiões é composta por “franjas de cadeias que estão presentes em ambas as fases como observado na Figura 2 (CANEVAROLO, 2006).

Figura 2 : Ilustração do modelo de micelas franjadas



Fonte: Herman; Gerngross; Abitz,1930

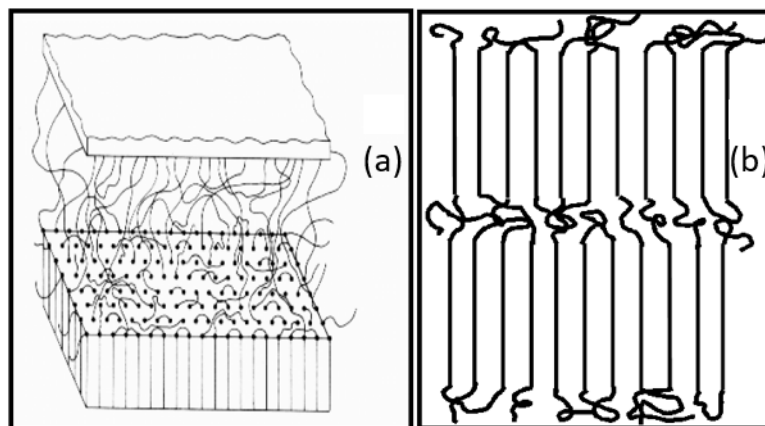
Esse modelo, uma vez que considera que os segmentos de cadeias localizados nas regiões amorfa permanecem tensionados, assume que um polímero nunca poderá se tornar 100 % cristalino. Portanto, embora esse não seja considerado o mais válido para descrever a morfologia da cristalização polimérica, apresenta grande valor na descrição da morfologia de polímeros que apresentam baixo nível de cristalinidade (CANEVAROLO, 2006).

3.2.2 Modelos lamelares

3.2.2.1 Modelo da reentrada aleatória (“*switchboard folded model*”)

Inicialmente proposto por Flory, esse modelo se baseia no dobramento aleatório das cadeias poliméricas em uma mesma lamela ou em lamelas adjacentes, como observado na Figura 3 (FLORY, 1954).

Figura 3: (a) Esquematização do modelo *switchboard*, representando a superfície da lamela, região inter lamelar e cadeias inter lamelares. (b) Primeiro modelo proposto para cristalização a partir do polímero fundido



Fonte: Flory, 1954

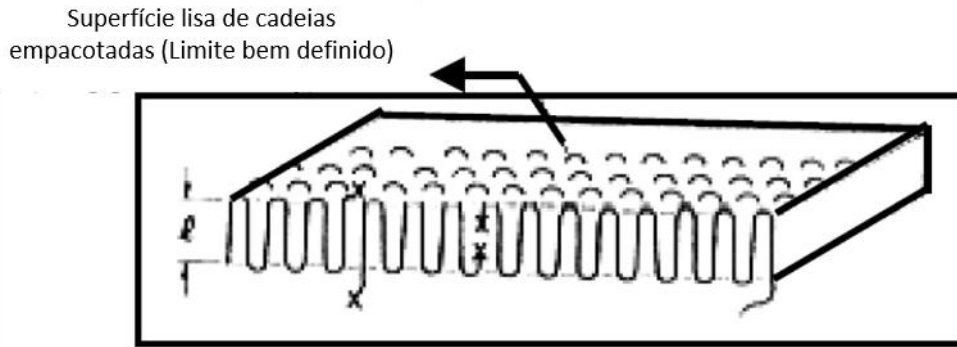
3.2.2.2 Modelos de reentrada adjacente (“*regular folding*”)

3.2.2.2.1 Modelo da superfície lisa

Caracterizada pela existência de limites acentuados e bem definidos entre a fase cristalina e amorfa, esse modelo idealiza que imperfeições como múltiplas nucleações e defeitos como terminações de cadeias ocorram, porém em baixa intensidade. Por tanto, devido

à baixa densidade de imperfeições, os cristais possuem uma superfície “lisa” como ilustrado na Figura 4 (FLORY, 1954).

Figura 4: Representação ilustrativa do modelo da superfície lisa

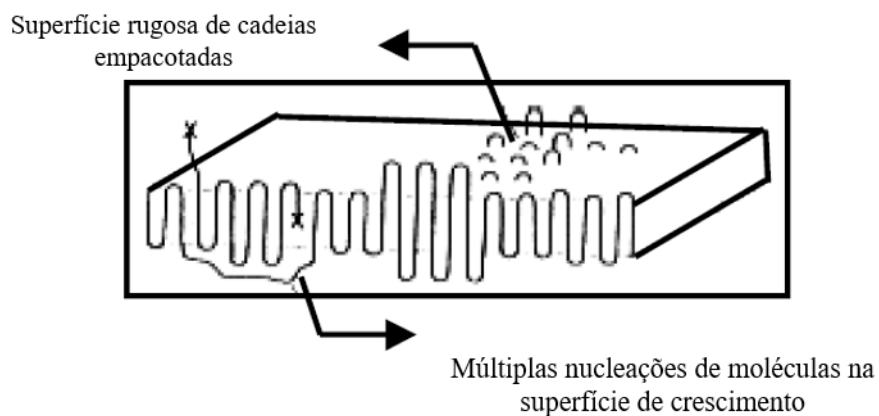


Fonte: Flory, 1954

3.2.3 Modelo da superfície rugosa

Antagonicamente ao modelo da superfície lisa, esse modelo assume que imperfeições como múltiplas nucleações e terminações de cadeias ocorrem com maior recorrência. Desse modo, a superfície apresenta um aspecto rugoso, deixando de exibir um limite nítido na fase cristalina como um todo, possuindo apenas em regiões localizadas, como representado na Figura 5 (FLORY, 1954).

Figura 5: Representação ilustrativa do modelo da superfície rugosa

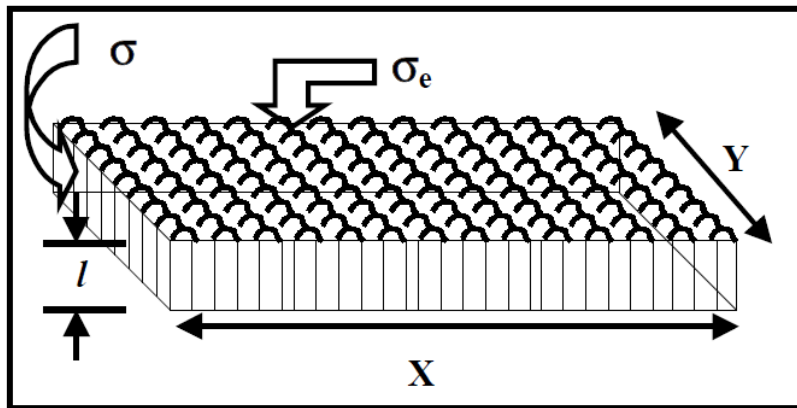


Fonte: Flory, 1954

3.3 Equação de Thomson – Gibbs

A morfologia do cristal lamelar, como descrita nos modelos acima, pode ser modelada segundo conceito termodinâmicos fundamentais por meio da equação de Thomson – Gibbs que correlaciona a espessura da lamela com a temperatura de fusão do cristal. Desse modo, assumindo a existência de uma lamela fina, em que a espessura é muito menor do que as demais dimensões (requisito essencial para aplicação da teoria), a espessura pode ser calculada por meio da Equação (1), que apresenta os parâmetros descritos no esquema da Figura 6 (ZHANG, 2017).

Figura 6: Representação gráfica da lamela considerada na formulação de Gibbs-Thomson, com a descrição dos parâmetros analisado



Fonte: Adaptado de Zhang, 2017

$$T_m = T_m^o \left[1 - \frac{2\sigma_e}{l \Delta H_f^\infty T_m^o} \right] \quad (1)$$

Na qual:

T_m = Temperatura de fusão do cristal

T_m^o = Temperatura de fusão do cristal de espessura infinita

ΔH_f^∞ = Entalpia de fusão do cristal de cadeias infinitamente estendidas

σ_e = Energia interfacial entre lamelas e região amorfa

l = Espessura da lamela

Portanto, essa equação possibilita, de modo cabível, a estimativa do valor da temperatura de fusão no equilíbrio, como também a energia interfacial entre as lamelas e

região amorfa por meio da extrapolação da curva dos pontos de T_m vs $\frac{1}{l}$. A espessura da lamela pode ser obtida por meio de técnicas como a deespalhamento de raios – X de baixo ângulo (SAXS), enquanto a temperatura de fusão do cristal é usualmente verificada por meio da técnica de DSC (ZHANG,2017).

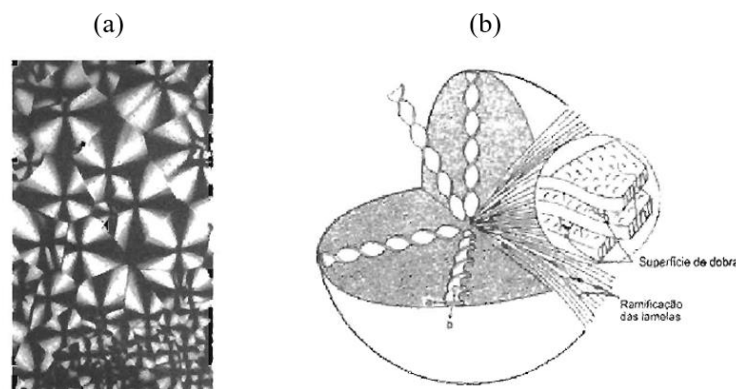
3.4 Estruturas macroscópicas de cristalização

3.4.1 Estrutura esferulítica

Durante o resfriamento de um polímero cristalizável fundido, a cristalização inicia-se pela formação de núcleos individuais que se desenvolvem radialmente, em todas as direções, dando origem aos esferulito. Esses constituídos por milhares de monocristais lamelares oriundo da expansão radial do núcleo, são interligados por material amorfo e que analogamente com materiais policristalinos “exercem” papel análogo aos grãos desses (CANEVAROLO,2006).

Estruturalmente os esferulitos são formados por lamelas finas, inicialmente paralelas umas às outras, mas que durante o crescimento, se divergem, torcem e ramificam tornando-se essas estruturas macroscópicas que podem ser facilmente observadas por meio de microscópio ótico de luz polarizada com aumento de apenas algumas dezenas de vezes. O perfil característico observado na microscopia é conhecido como “Cruz de Malta” devido à natureza birrefringente das frações amorfas e cristalinas presentes nos esferulitos, como as ilustradas na Figura 7 (CANEVAROLO,2006).

Figura 7: (a) Micrografia óptica mostrando o perfil da cruz de malta;(b) Modelo gráfico de um esferulito



Fonte: Canevarolo, 2006

3.5 Fatores que afetam a cristalinidade (CANEVAROLO, 2006)

A cristalinidade de um material polimérico é influenciada por três categorias de fatores principais, que são: estruturais, presença de outra molécula ou fase e pelas condições de processamento utilizadas. Desse modo, o grau de cristalinidade do material apresenta um aumento quando a influência do parâmetro em análise promove um aumento da regularidade espacial das macromoléculas, possibilitando maior facilidade de empacotamento, ou seja, o crescimento dos cristalitos é estimulado.

3.5.1 Fatores estruturais

Essa classe abrange parâmetros relativos à estrutura química molecular do polímero, desse modo analisando desde a quantidade de átomos presentes até como esses estão configurados formando os meros e as cadeias. Segundo Canevarolo (2006) pode-se subdividir esses fatores em:

3.5.1.1 Linearidade da cadeia

A presença de ramificações da cadeia principal, devido ao volume livre nas terminações dessas, o empacotamento é desfavorecido. Ou seja, cadeias lineares tendem a apresentar uma maior cristalinidade quando comparadas com cadeias ramificadas.

3.5.1.2 Taticidade

Devido à regularidade na disposição dos grupamentos laterais, polímeros estereo regulares tendem a apresentar uma maior cristalinidade quando comparados com os atáticos que comumente são amorfos.

3.5.1.3 Grupamentos laterais

O impedimento estérico presente nos grupamentos laterais dificultam e em alguns casos impede o empacotamento regular das cadeias, de modo a reduzir a cristalinidade do

material. Desse modo, o volume dos grupamentos laterais tem efeito inverso na cristalinidade, ou sejam, grupamento com alto volume, como fenilas, diminuem a cristalinidades quando comparados com grupamentos de menor volume.

3.5.1.4 Configuração em torno das duplas ligações

Dependendo da configuração isomérica em torno das duplas ligações, o material pode apresentar maior ou menor tendência ao empacotamento. Desse modo, a isomeria “*trans*” por apresentar uma propensão a se conformar em uma estrutura próxima a “*zig-zag*”, quando em regime deformacional, tendem a apresentar cristalização induzida por deformação quando comparada com a isomeria “*cis*”.

3.5.1.5 Polaridade

Embora esse fator não seja essencial para o empacotamento das macromoléculas, a presença de polaridade é uma condição benéfica a cristalização, ou seja, facilita. Esse efeito é oriundo de uma maior interação entre os segmentos da cadeia, assim, possibilitando uma maior aproximação.

3.5.1.6 Rigidez da cadeia principal

A rigidez associada com as cadeias poliméricas tende a facilitar o empacotamento durante a cristalização, haja vista que quanto mais rígida, maior a tendência das cadeias permanecerem paralelas entre si no estado fundido. Portanto, durante o resfriamento o ordenamento prévio mantido favorece um maior volume dos cristalinos e conseqüentemente uma maior cristalinidade.

3.5.1.7 Copolimerização

A presença de um copolímero, ou seja, uma cadeia principal formada por dois ou mais meros, tendem a dificultar o empacotamento diminuindo o grau de cristalinidade.

3.6 Termodinâmica de cristalização

O processo de cristalização de um polímero inicia-se com a nucleação primária. Desse modo, nessa etapa do processo ocorre a formação dos núcleos iniciais, ou seja, pequenas regiões com arranjo ordenado das macromoléculas, para posteriormente ocorrer um crescimento dessas com finalidade de transformarem-se em cristais, na etapa denominada crescimento.

A nucleação primária pode ocorrer por meio de diversos mecanismos, sendo os principais: nucleação homogênea, nucleação heterogênea e a auto nucleação (MANRICH; ZANOTTO; HAGE, 1992).

3.6.1 Nucleação homogênea

O mecanismo de nucleação homogênea ocorre para qualquer material cristalizável sob condições específicas. Desse modo, ao apresentar-se abaixo da temperatura de fusão, condição de super resfriamento, a energia livre da fase cristalina é menor do que a do líquido, assim, o próprio movimento aleatório das macromoléculas resulta no ordenamento regular das mesmas (MANRICH; ZANOTTO; HAGE, 1992).

Portanto, para que a nucleação aconteça de forma espontânea, a variação da energia livre de Gibbs deve ser negativa ($\Delta G < 0$), descrita fundamentalmente na Equação (2), essa apresenta a componente da variação da entalpia do sistema (ΔH) e a variação da entropia (ΔS), sendo que quando o sistema encontra-se na temperatura de fusão (T_m), a energia livre de Gibbs é numericamente igual a zero ($\Delta G = 0$) (MANRICH; ZANOTTO; HAGE, 1992). Assim, quanto maior o super resfriamento, maior será a variação da energia. Embora, essas condições para um líquido amorfo sejam necessárias, não são suficientes para afirmar que ocorrerá cristalização, uma vez que a cinética de cristalização não é determinada somente pelo parâmetro termodinâmico (ΔG) (ZHANG, 2017). De acordo com a termodinâmica clássica, o total de energia livre relevante para a formação de um cristal a partir da fase amorfa pode ser expressa pela Equação (3), que é composta por uma componente de energia volumétrica (ΔG_v), uma componente de energia livre superficial (ΔG_s) e uma associada a deformação associada à deformação elástica das moléculas (ΔG_d).

Para que ocorra a formação de um núcleo estável, a barreira energética de Gibbs deve ser alcançada, assim, um número suficiente de cadeias se organizam de forma a regular gerando um embrião com raio maior (r) ou igual ao raio crítico ($r_{crítico}$) que possibilite a

estabilidade. Esse fenômeno ocorre uma vez que a composição química permanece constante durante a transformação de fase e a energia associada à deformação elástica das moléculas é igual a zero ($\Delta G_d = 0$). Portanto a barreira termodinâmica será um resultado da soma dos fatores de diminuição da energia livre volumétrica (ΔG_v) e do aumento da energia livre superficial (ΔG_s), como observado na Equação (4) (MANRICH; ZANOTTO; HAGE, 1992).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (2)$$

$$\Delta G = \Delta G_v + \Delta G_s + \Delta G_d \quad (3)$$

$$\Delta G = \Delta G_v + \Delta G_s \quad (4)$$

Como a energia livre volumétrica da fase cristalina é sempre menor do que a da fase líquida, então $\Delta G_v < 0$. De modo contrário a energia livre superficial específica embrião/matriz sempre apresenta um caráter positivo. Assim sendo, por considerações geométricas, assumindo que o volume ocupado pelo núcleo é esférico, obtém-se por meio da Equação (4), a Equação (5) (MANRICH; ZANOTTO; HAGE, 1992).

$$\Delta G = \frac{4}{3}\pi r^3 \Delta G_v + 4\pi r^2 \sigma \quad (5)$$

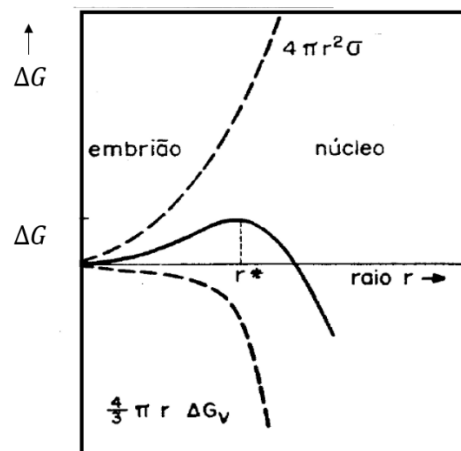
Derivando a Equação (5), a fim de obter o ponto máximo da função, e igualando -a zero, como descrito na Equação (6) pode -se obter o valor do raio crítico (Equação (7)), verificado no curva representada na Figura 8 como ponto de inflexão da curva. Analogamente, pode-se obter o valor da barreira energética no ponto crítico, como observado na Equação (8) (MANRICH; ZANOTTO; HAGE, 1992).

$$\frac{d\Delta G}{dr} = \frac{d\left(\frac{4}{3}\pi r^3 \Delta G_v + 4\pi r^2 \sigma\right)}{dr} = 0 \quad (6)$$

$$r = r_{\text{critico}} = \frac{2\sigma}{|\Delta G_v|} = \frac{2\sigma T_m}{\Delta H_s \Delta T} \quad (7)$$

$$\Delta G_{\text{critico}} = \frac{16\pi\sigma^3}{3\Delta G_v^2} \quad (8)$$

Figura 8: Curva da variação da energia volumétrica, da energia superficial e da barreira termodinâmica, mostrando o raio crítico



Fonte: Adaptado de Manrich; Zanotto; Hage (1992).

Portanto, conforme observado nas curvas da Figura 8, a barreira termodinâmica apresenta um valor máximo compreendido no denominado raio crítico. Ou seja, abaixo desse valor limiar da dimensão do núcleo, todo embrião formado não possui estabilidade termodinâmica suficiente para se desenvolver em forma de núcleo, mesmo que esteja a uma temperatura inferior à de fusão, sendo destinado a ser fundir novamente (regime metaestável de super resfriamento). Ou seja, não ocorre uma transformação efetiva da fase líquida para a fase sólida (MANRICH; ZANOTTO; HAGE, 1992).

Ademais, conclui-se que o embrião com raio superior ao crítico, tem seu crescimento favorecido, haja visto que esse fenômeno propicia uma diminuição da energia livre do sistema, ou seja, é termodinamicamente vantajoso. Outra análise que pode ser observada por meio da Equação (7) e pela curva, é que um maior super resfriamento promove a diminuição do raio crítico necessário, haja vista que a diferença da energia livre volumétrica entre o líquido e o sólido é maior (ZHANG, 2017).

3.6.2 Nucleação heterogênea

No campo prático, a nucleação heterogênea ocorre com maior frequência do que a condição homogênea. Esse fenômeno é proveniente da existência de sítios preferenciais como, como partículas de impurezas e materiais introduzidos deliberadamente (como aditivos agentes de nucleação), outras fases do material, ou até mesmo a superfície de contato do recipiente que contém o material (MANRICH; ZANOTTO; HAGE, 1992).

Esse mecanismo de nucleação possibilita um raio de curvatura maior do que o raio crítico com uma energia superficial líquido/sólido muito menor do que a necessária no mecanismo homogêneo. Desse modo, a energia necessária associada com a formação da superfície é reduzida, tornando a barreira termodinâmica menor. Ou seja, a presença de superfícies facilmente “molhadas”, como observado na Figura 9, pelo polímero fundido e pelo sólido, diminuem a energia necessária para ocorrer a cristalização, tornando esse fenômeno mais recorrente, como pode ser observado no equacionamento, Equação (9) (MANRICH; ZANOTTO; HAGE, 1992):

$$\Delta G = V\Delta G_v + A_{el} \sigma_{el} + \pi r^2 \sigma_{ie} - \pi r^2 \sigma_{il} \quad (9)$$

Na qual:

V = Volume do embrião (núcleo)

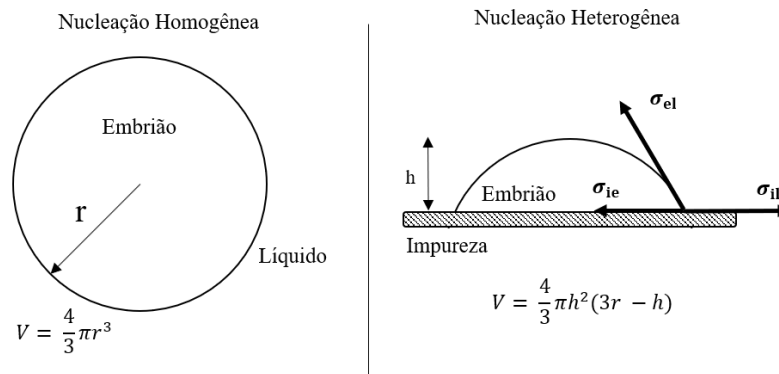
A_{el} = Área superficial embrião/líquido

σ_{el} = Energia superficial na interface embrião/líquido

σ_{ie} = Energia superficial na interface impureza/embrião

σ_{il} = Energia superficial na interface impureza/líquido

Figura 9: Comparação entre os mecanismos de nucleação homogênea e heterogênea



Fonte: Adaptado de Manrich; Zanotto; Hage, 1992.

3.6.3 Auto nucleação

Esse mecanismo de nucleação baseia-se na atuação de resíduos cristalinos como núcleos. Desse modo, caso a temperatura ou o tempo de fusão não forem o suficiente para liquefazer todo o material (fusão parcial), parte da estrutura cristalina é retida no fundido e em

um subsequente resfriamento, podem atuar favorecendo a formação de núcleos, ou seja, ocorrendo um aumento da cristalização (SUPAPHOL; SPRUIELL, 2000).

3.7 Agentes nucleantes

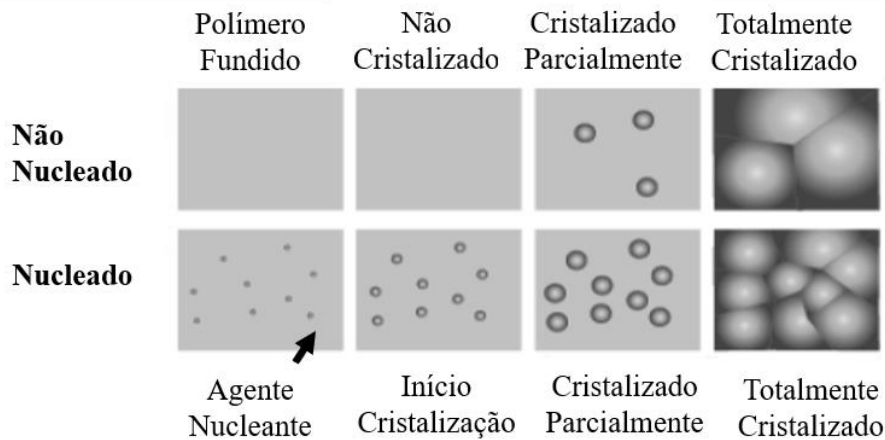
Devido à alta dependência entre as propriedades físicas, óticas e químicas dos polímeros semicristalinos com a microestrutura e cristalinidade, é usual que durante o processo de desenvolvimento de um material sejam utilizados compostos com habilidade de modificar essas propriedades, como no caso dos agentes nucleantes que favorecem a cristalização. Além disso, a utilização desses está associada também aos parâmetros de processamento, haja vista que com a utilização desses, fatores como tempo de permanência no molde, taxa de resfriamento e temperatura de processo podem ser modificados para obter um processo mais eficaz, eficiente e lucrativo (RABELLO,2000).

O princípio fundamental do modo de ação de um agente nucleante está em conformidade com o mecanismo de cristalização heterogênea, ou seja, esses atuam como um sítio/ superfície preferencial de cristalizar, tornando o processo termodinamicamente mais favorável. Conseqüentemente, ocorre um aumento no número de núcleos, que ocasiona uma maior taxa de cristalização e um início de processo em temperaturas mais elevadas (menor super resfriamento). No entanto, esses eventos não necessariamente resultam em um maior índice de cristalinidade (RABELLO,2000).

O aumento na densidade de núcleos presente durante a cristalização promove uma diminuição significativa no tamanho dos esferulitos finais, assim podendo melhorar propriedades óticas (caso a transparência seja desejada) e tornando o material mais resistente a solicitações mecânicas em regime de tração. Além disso, em condições ideais de dispersão, os agentes possibilitam obter uma morfologia mais homogênea de esferulitos, minimizando o gradiente de propriedades ao longo do polímero (RABELLO,2000).

Esse processo de redução do tamanho médio dos esferulitos, juntamente com aumento do número de núcleos é ilustrado na Figura 10.

Figura 10: Esquematisação das diferenças na nucleação sem e com a presença de agente nucleante



Fonte: Próprio Autor

Em contra partida, caso os agentes nucleantes não estejam com o tamanho de partícula ou em uma condição de dispersão e distribuição adequados, esses, durante o processo de resfriamento da massa polimérica, podem atuar de modo a prejudicar a formação de uma estrutura homogênea e em casos extremos desfavorecer a cristalinidade (RABELLO,2000).

A eficácia de um aditivo nucleante geralmente está associada com as seguintes características presentes neles (RABELLO,2000):

- Conter um grupo polar e um não polar (esse em contato com o polímero fundido);
- Ser insolúvel ou tornar-se insolúvel no polímero;
- Ter emparelhamento epitaxial com o cristal do polímero;
- Ser cristalino
- Ter um ponto de fusão maior do que o do polímero;
- Ser quimicamente estável na faixa de temperatura de processamento da matriz polimérica;

3.8 Métodos de análise do grau de cristalinidade

Ao longo dos anos as técnicas de obtenção do índice de cristalinidade, assim como os equipamentos utilizados, têm sido aprimoradas visando uma análise mais detalhada e precisa dos parâmetros envolvidos. Embora esses métodos possuam considerável exatidão e eficácia,

devido as particularidades de cada um em definir a interface entre as fases amorfa e cristalinidade, o resultado obtido em cada um nem sempre são pariformes (BURGT,2002).

Os métodos de difração de raio X de alto ângulo (WAXD) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC), são os mais utilizados na prática e se baseiam primordialmente no modelo de coexistência de duas fases: cristalina e amorfa. Assim sendo, ambos se baseiam na Equação (10), para efeito do cálculo da cristalinidade segundo a propriedade analisada (BURGT,2002).

$$P^i = \varphi \bar{P}_c^i + (1 - \varphi) \bar{P}_a^i \quad (10)$$

Na qual:

$P^i =$ Intensidade de uma propriedade

$\varphi =$ Grau de cristalinidade real

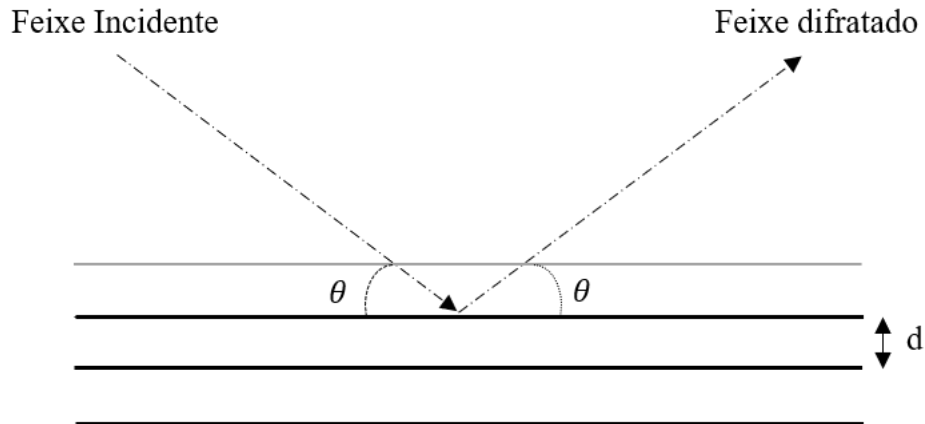
$\bar{P}_c^i =$ Intensidade parcial da fase cristalina

$\bar{P}_a^i =$ Intensidade parcial da fase amorfa

3.8.1 Difração de raios x de alto ângulo

A técnica de difração de raios X é amplamente utilizada para análise de parâmetros e aspectos de cristalização em polímeros semicristalinos devido à alta eficácia (BURGT,2002). Desse modo, os cristalitos presentes na massa polimérica difratam os feixes monocromáticos de raio X incidentes na amostra em ângulos específicos, θ . Portanto, a relação entre o ângulo de difração e o espaçamento entre os planos regulares do cristal é regida pela lei de Bragg, como representada na Figura 11 e descrita pela Equação (11)(BURGT,2002):

Figura 11: Representação da difração de raio X em uma estrutura cristalina

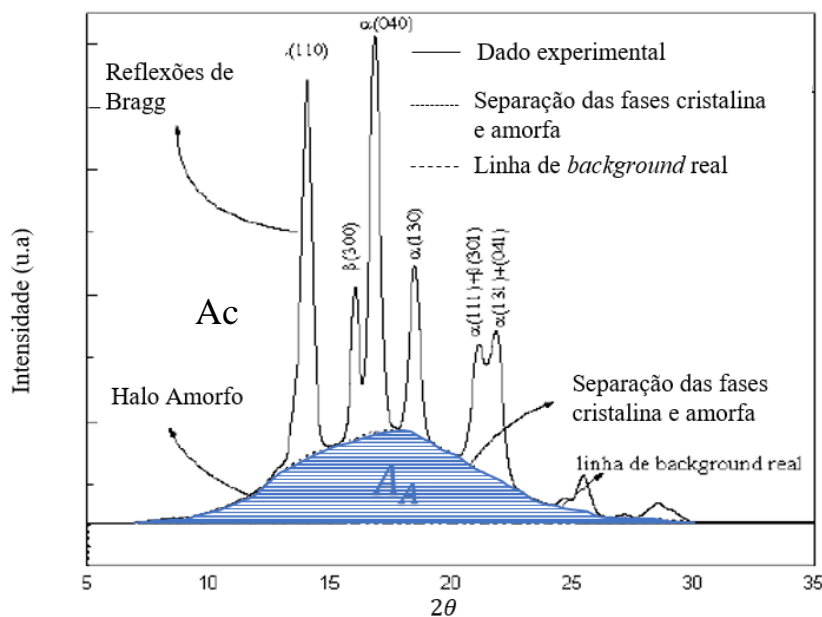


Fonte: Burgt, 2002

$$\lambda = 2d \cdot \sin \theta \quad (11)$$

A determinação da cristalinidade percentual (X_c) da amostra é mensurada a partir do difratograma obtido, representado na Figura 12. Dessarte, considerando o modelo fases no polimérico, fase amorfa e fase cristalina, pode-se por meio relação de proporção entre as áreas sob a curva dessas frações, obtidas por integração das intensidades espalhadas, calcular a cristalinidade da amostra segundo a Equação (12) (BURGT,2002).

Figura 12: Padrão de difração típico de um polímero semicristalino, mostrando a área correspondente à fração amorfa (A_A) em destaque e a área correspondente à fração cristalina (A_C).



Fonte: Burgt, 2002

$$X_c(\%) = \frac{A_c}{A_c + A_A} \times 100 \quad (12)$$

Em que:

A_c = Área da região cristalina

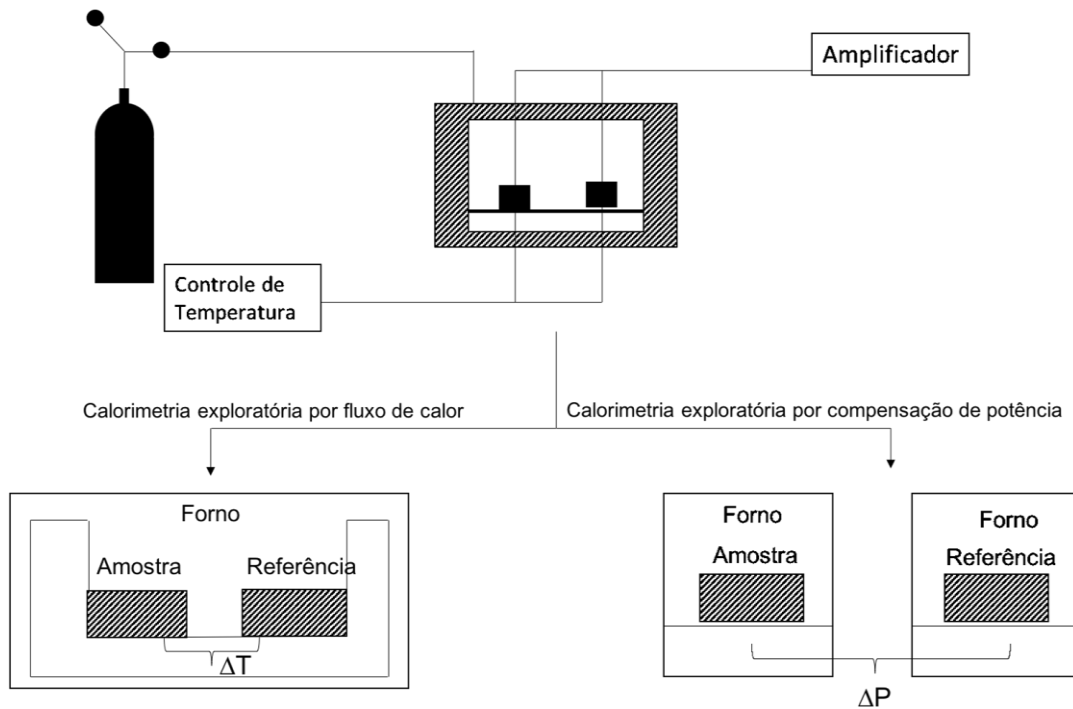
A_A = Área da região amorfa

3.8.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Calorimetria exploratória diferencial pode ser definida com uma técnica termoanalítica na qual as variações de entalpia da amostra são monitoradas em relação à um material de referência termicamente inerte enquanto ambas são submetidas a um ciclo térmico controlado e previamente definido segundo as propriedades esperadas do material. Ou seja, de modo a acompanhar e obter as propriedades físicas específicas do material (CANEVAROLO, 2006).

Essa técnica apresenta duas vertentes de atuação: a calorimetria exploratória por compensação de potência e a calorimetria exploratória por fluxo de calor, Figura 13. A primeira, consiste em manter uma temperatura na amostra e na referência por meio de fornos individuais, de modo que, a potência requerida pelos aquecedores (ΔP) é correlacionada com as energias envolvidas nos fenômenos endotérmicos e exotérmicos. Já na segunda variante, a amostra e a referência são mantidas em um forno único, assim sendo averiguado a diferença entre a temperatura (ΔT) desses, por meio de termopares (BROWN, 2006).

Figura 13: Esquema do dispositivo de DSC para os dois sistemas possíveis.



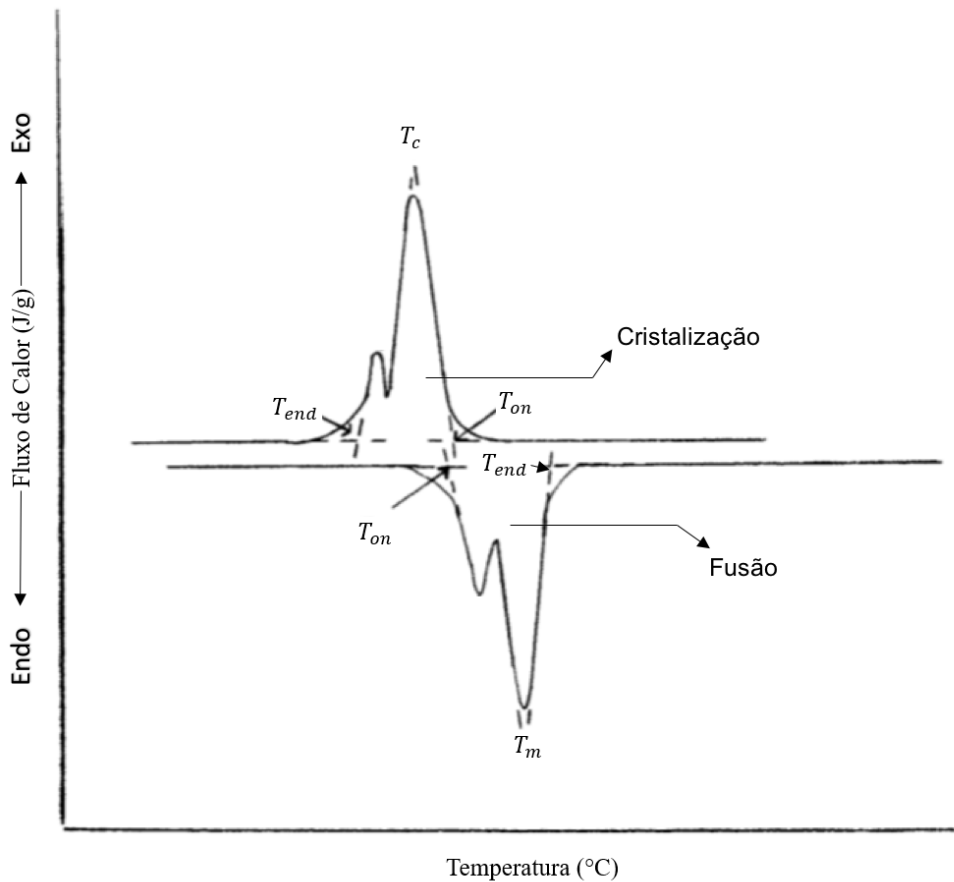
Fonte: Próprio Autor

3.8.2.1 Temperatura de fusão

A temperatura de fusão é compreendida sendo um valor médio da faixa de temperatura em que ocorre o desaparecimento das regiões cristalinas devido à fusão dos cristalitos. Esse evento termodinâmico ocorre devido ao fornecimento de energia necessária para superar as energias intermoleculares secundárias, de modo a desestruturar o empacotamento regular das macromoléculas (CANEVAROLO, 2006).

Desse modo, essa mudança termodinâmica é caracterizada como endotérmica e de primeira ordem, como observada na Figura 14. Para a determinação da temperatura de fusão do polímero, assim como a sua respectiva entalpia, por meio do DSC, utiliza-se a técnica descrita na norma ASTM D3418. Essa baseia-se na intersecção de retas tangentes às curvas para delimitação das temperaturas de início e fim ($T_{on_{set}}$ e $T_{end_{set}}$) e da área a ser calculada, como mostra a Figura 14 (CANEVAROLO, 2006).

Figura 14: Curva modelo de um equipamento DSC destacando os eventos de cristalização e fusão.



Fonte: ASTM 3418, 2015

3.8.2.2 Temperatura de cristalização

Essa mudança termodinâmica é de origem exotérmica e é classificada como sendo de primeira ordem, ou seja, oriunda da variação da energia livre do sistema.

Para a análise dos parâmetros dessa transição em uma curva característica de DSC, utiliza-se a técnica exposta pela norma ASTM D3418, como apresentado na Figura 14 (CANEVAROLO, 2006).

3.8.2.3 Cálculo da cristalinidade

O índice de cristalinidade (X_c) obtido por meio da técnica de DSC é mensurado por meio da relação entre a entalpia de fusão da amostra (ΔH_m , dada pela área do pico endotérmico) e a

entalpia de fusão do material em uma condição 100 % cristalino (ΔH_m^o), Equação (13) (CANEVAROLO, 2006).

$$X_c(\%) = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^o} \times 100 \quad (13)$$

Devido às influências que a cristalinidade exerce sobre as propriedades finais dos polímeros, no presente trabalho, foi proposto a análise da cristalinidade de materiais a base de poli (ϵ - caprolactona) com diferentes composições.

3.9 Engenharia tecidual

A engenharia tecidual, primeiramente definida em 1988 durante o *Workshop* da Fundação Nacional de Ciência, tem enfoque no desenvolvimento de ambientes propícios para o crescimento e diferenciação celular de tecidos vivos que sofreram algum tipo de dano (O'BRIEN, 2011). Desse modo, a sinergia multidisciplinar entre as áreas da medicina, engenharia mecânica e ciência dos materiais visa a aplicação direta das técnicas e metodologias dos princípios de engenharia e ciência para o desenvolvimento de produtos que restaurem, mantenham ou melhorem a função do tecido, quando implantados no paciente, assim, proporcionando uma melhor qualidade de vida ao indivíduo (BRAGA, 2015).

Para tais aplicações essa linha de pesquisa e desenvolvimento apresenta como unidade fundamental os *scaffolds*, que por meio da combinação de materiais biocompatíveis, biodegradáveis e bioativos visam mimetizar a matriz celular dos tecidos, apresentando uma configuração tridimensional porosa, como observada na Figura 15. Dessa forma, propiciando um ambiente favorável a adesão, diferenciação e proliferação celular, de modo a possibilitar a formação, e assim, o reparo de um novo tecido (BRAGA, 2015).

O *modus operandi* dessas estruturas denominadas *scaffolds* é baseado na combinação do ambiente oriundo dos biomateriais, que por meio da degradação e composição, liberam compostos nutritivos para o desenvolvimento do tecido, juntamente com a estrutura porosa que é projetada para uma melhor migração e difusão de nutrientes, além de possibilitar a formação de nervos e vascularização (KARAGEORGIUS; KAPLAN, 2005).

Figura 15: Ilustração de uma estrutura tridimensional porosa de *scaffolds*.



**Scaffold poroso
biodegradável**

Fonte: Adaptado de Moroni; Elisseff, 2008

Uma vez que a cristalinidade dos materiais poliméricos está intrinsecamente associada com a propriedades mecânicas, física e química dos produtos, é fundamental que os mecanismos de cristalização dos *scaffolds* sejam compreendidos. Desse modo, tornando possível manipular as configurações micrométricas do material para resultarem em propriedades específicas para cada aplicação.

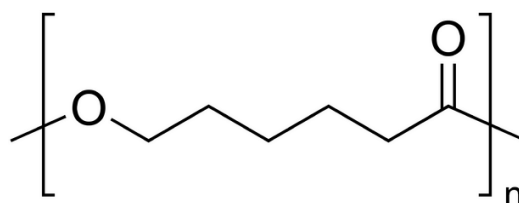
Assim sendo, esse trabalho visou analisar a cristalinidade de diferentes composições de *scaffolds*, de modo a tentar correlacionar o índice de cristalinidade de cada um com as propriedades finais desses.

3.10 Materiais

3.10.1 Poli (ϵ - caprolactona) (PCL)

A poli (ϵ - caprolactona), que apresenta como estrutura de repetição o monômero da Figura 16, tem sido bastante utilizada em aplicações médicas devido a biocompatibilidade, tendo como principal propriedade ser biorreabsorvível, ou seja, sua decomposição resulta em produtos que são eliminados por vias metabólicas e que podem favorecer a proliferação celular em torno do implante (LAM et al., 2008; BRAGA, 2015).

Figura 16: Estrutura química (monômero) da poli(ϵ -caprolactona), segundo a nomenclatura da IUPAC



Fonte: Braga, 2015

Estruturalmente, a PCL é um poliéster alifático linear que apresenta hidrofobicidade (interessante para aplicações médicas, uma vez que não absorve água, ou seja, não incha em contato com o fluido celular) e é semicristalino, tendendo a apresentar uma diminuição da cristalinidade com o aumento do peso molecular (BRAGA, 2015).

O material a base de poli (ϵ - caprolactona) quando exposto a fluído aquosos, inicialmente sofre hidratação. Desse modo, o processo de degradação é iniciado por meio da hidrólise das ligações ésteres, originando produtos do tipo oligômeros e monômeros solúveis e não tóxicos. A degradação tem continuidade por meio de processos biologicamente ativos ou pela clivagem hidrolítica passiva. Portanto, esse fenômeno pode ser explicado por dois estágios principais (LAM et al., 2008):

O primeiro estágio consiste na penetração e difusão das moléculas de água nas regiões amorfas do material e subsequente a cisão hidrolítica das ligações ésteres. Posteriormente, após uma parcela significativa da região amorfa ter sido degradada, inicia-se o segundo estágio, que ocorre nas regiões cristalinas. Um aumento da cristalinidade do material pode ocorrer durante esse processo devido a um rearranjo das cadeias de menor massa molar oriundas da degradação da fase amorfa. Ou seja, o controle do grau de cristalinidade desses materiais promove diretamente um maior controle sobre as propriedades de biodegradação e bioreabsorção, assim como, o modo de atuação quando implantados (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005).

Portanto, a bioreabsorção ocorre quando a biodegradação gera produtos e subprodutos com características do metabolismo orgânico, especificadamente ácidos que compõe o ciclo de Krebs (LAM et al., 2008).

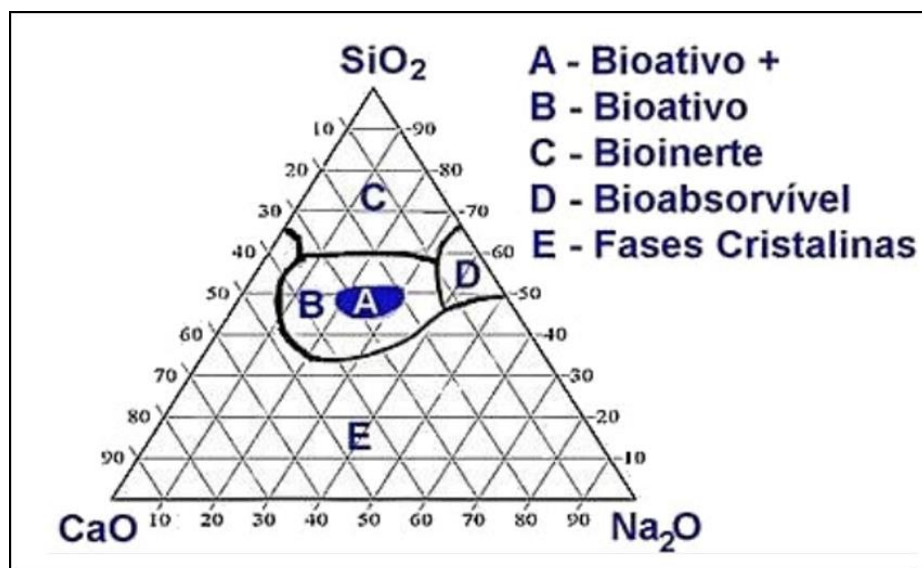
No presente trabalho, devido as características, a PCL foi utilizada como matriz polimérica para a fabricação dos *scaffolds* que tiveram sua cristalinidade estudada.

3.10.2 Biovidro® 45S5

Pela definição biovidro é considerado um material mineral com estrutura amorfa ou com baixa ordem cristalina, que contém em sua composição elementos químicos como cálcio, fosforo, sódio e silicatos, é considerado bioativo, osseointegrador e promotor da regeneração óssea (BRAGA, 2014; HENCH, 2002).

Primeiramente desenvolvido por Larry L. Hench do Imperial College em Londres, o Biovidro® 45S5 continha em sua composição 45%SiO₂.24,5%CaO.24,5%Na₂O.6% P₂O₅ essa que, assim como suas variantes, se localizam dentro de uma faixa específica para garantir sua bioatividade, conforme diagrama ternário apresentado na Figura 17 (HENCH, 2002).

Figura 17: Diagrama ternário contendo as faixas de composições que abrangem a bioatividades dos biovidros



Fonte: Braga, 2015

Os biovidros podem apresentar propriedades fundamentais para aplicação na formação de tecido ósseo como osteoindutores, possuindo a capacidade da formação de ligações tanto com tecidos moles como com tecidos duros, e catalisadores de formação de camada de hidroxiapatita carbonatada em meio biológico. No entanto, a resposta biológica principal desses materiais é a capacidade para estimular o ciclo celular, aumentando a rotatividade dos osteoblastos, que resulta na seleção de uma população de células maduras capazes de produzir tecido miméticos ao osso em um curto período de tempo (BRAGA, 2014, p. 26; HENCH, 2002).

A bioatividade do Biovidro[®] 45S5, assim como a interação química com o osso pode ser explicada, segundo Hench, por meio de 4 etapas que exibem os mecanismos de formação da camada de hidrocarbonato de apatita na superfície do vidro, essas exibidas abaixo:

- I. Troca iônica rápida entre os modificadores da rede vítrea (Na^+ e Ca^{2+}) com H^+ (ou H_3O^+) a partir da solução, leva à hidrólise dos grupos de sílica e da criação de grupos silanol (Si-OH) na superfície do biovidro aumentando o pH da solução devido ao consumo de íons H^+ ;
- II. Dissolução da estrutura amorfa pelo aumento do pH (ou concentração de OH^-) conduzindo ao ataque da rede amorfa de SiO_2 , e à dissolução de sílica sob a forma de ácido silícico ($\text{Si}_{1+x}(\text{OH})_{4-2x}$) para dentro da solução e à formação continuada de grupos Si-OH sobre a superfície do vidro;
- III. Condensação e polimerização de uma camada rica em SiO_2 amorfo sobre a superfície do vidro empobrecido em Na^+ e Ca^{2+} ;
- IV. Dissolução posterior do vidro, juntamente com a migração dos íons Ca^{2+} e $(\text{PO}_4)^{3-}$ a partir do vidro através da camada rica em SiO_2 e a partir da própria solução, levando à formação de uma camada de fosfato de cálcio amorfo (ACP) sobre a superfície da camada rica em SiO_2 ;
Dissolução continua do vidro, conforme a camada de ACP incorpora $(\text{OH})^-$ e $(\text{CO}_3)^{2-}$ da solução e cristaliza-se como uma camada de hidroxiapatita carbonatada ($\text{HAC} = \text{Ca}_{10-x/2}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_2$) (BRAGA, 2014)

Desse modo, a camada formada de hidrocarbonato de apatita na superfície do vidro promove a colonização de osteoblastos, seguido da proliferação e diferenciação celular (HENCH, 2002).

Os *scaffolds* analisados no presente trabalho, apresentam em sua composição a dispersão de biovidro na matriz polimérica de PCL, devido as características destes em formar ligações com o tecido ósseo, quando implantando no corpo humano. Desse modo, nesse trabalho analisou-se a influência do biovidro disperso na matriz sobre o comportamento do processo de cristalização da PCL.

3.10.3 Nanofibras de celulose (NFC)

A celulose é um polímero de cadeia linear, hidrofílico e biodegradável que por apresentar ligações de hidrogênio em sua estrutura dispõem de estabilidade, além de um aumento da rigidez (BRAGA, 2014).

Provavelmente o polímero mais abundante na natureza, a celulose, é oriunda da madeira e é encontrada em forma de fibras. Esse material é classificado como um carboidrato, ou seja, tem sua estrutura química composta por carbono, hidrogênio e oxigênio. Desse modo, a utilização da celulose tem como função principal o reforço, uma vez que a interface entre biovidro e matriz de PCL apresenta fraca interação. Ou seja, as NFC podem ser uma alternativa a essa baixa ligação interfacial, permitindo assim uma maior transferência de carga entre a matriz e o reforço, melhorando as propriedades mecânicas da estrutura (XIONG,2015).

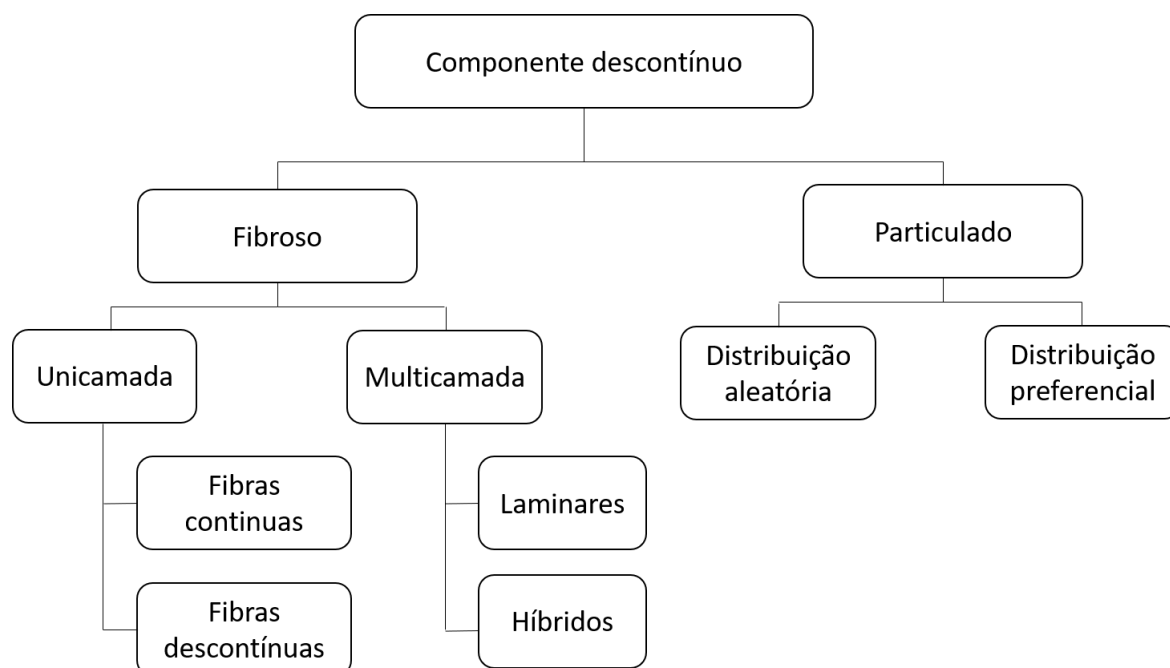
Além disso, no campo biológico as nanofibras de celulose apresentam propriedades de biocompatibilidade, assim sendo uma possível solução para a melhora das propriedades do *scaffolds* compostos de matriz poli(ϵ -caprolactona) e biovidro (BRAGA, 2014).

Devido ao caráter de reforço apresentado pela NFC quando adicionada à PCL, essas foram utilizadas juntamente com o biovidro no desenvolvimento das diferentes composições dos *scaffolds* analisados nesse trabalho. Desse modo, foi analisado qual a influência da adição das NFC sobre o comportamento do processo de cristalização da matriz de PCL.

3.10.4 Materiais compósitos

Segundo Herakovich (1998), um compósito pode ser definido como sendo um material que apresenta duas ou mais fases distintas, ou seja, um material heterogêneo. Desse modo, um dos componentes desse sistema é um constituinte contínuo, geralmente, mas nem sempre, em maior quantidade denominado matriz, enquanto o outro componente é descontínuo, atuando como componente estrutural ou de reforço (MANO, 1991). Enquanto a matriz pode ser de origem polimérica, metálica ou cerâmica, o componente descontínuo pode ser classificado de acordo com a ilustração da Figura 18 (MATHEWS;RAWLING,1994).

Figura 18: Classificação dos componentes descontínuos utilizados em compósitos



Fonte: Adaptado de Mathews e Rawlings ,1994

No presente trabalho, os *scaffolds* analisados são classificados como materiais compósitos em que a PCL exerce o papel da matriz, ou seja, constituinte contínuo, enquanto o biovidro e/ou NFC atuam como componente descontínuo que visam melhorar tanto as propriedades bioativas dos *scaffolds*, como as propriedades mecânicas. A presença dos dois componentes descontínuos, biovidro e NFC, na matriz polimérica PCL, gera os compósitos híbridos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

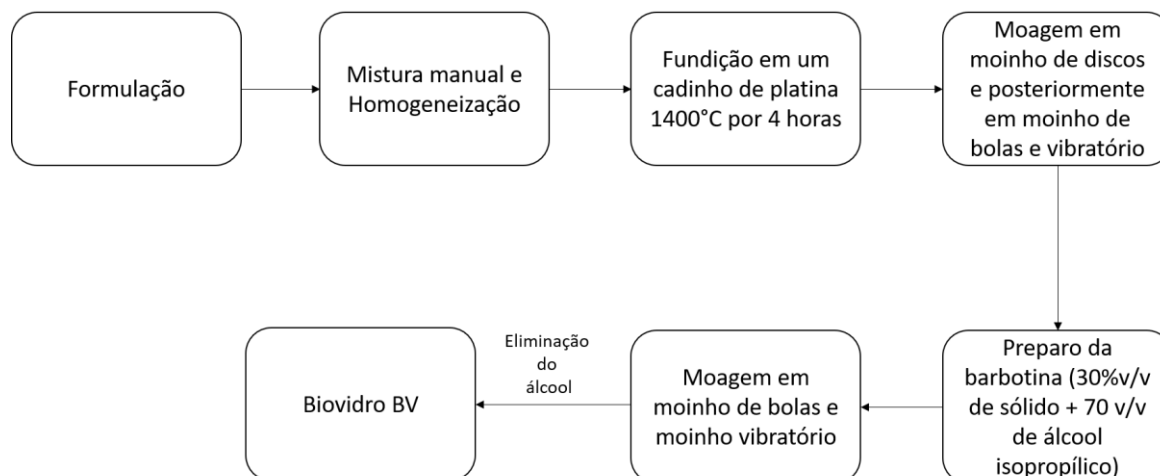
O estudo utilizou os *scaffolds* de diferentes composições desenvolvidos e manufaturados previamente por Barbosa (2018). Desse modo, como matriz polimérica foi utilizado a PCL CAPA®6500, com peso molecular médio (M_w) de $50.000 \text{ g.mol}^{-1}$ e temperatura de fusão entre 58 e $60 \text{ }^\circ\text{C}$, adquirida da Perstorp.

Segundo Barbosa (2018), o biovidro BV foi preparado misturando-se quatro matérias-primas de acordo com a literatura Majhi, Pyare e Singh (2012):

- 142,94 g de carbonato de sódio (Na_2CO_3): grau de pureza 99,5 % da empresa Synth;
- 150,55 g de carbonato de cálcio (Ca_2CO_3): grau de pureza 99,0 % da empresa Panreac;
- 152,33 g de dióxido de silício (SiO_2): grau de pureza 99,9% da empresa Santa Rosa; e
- 100,62 g de fosfato de Amônio bifásico ($(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$): grau de pureza 98% da empresa Synth.

As etapas de processamento do biovidro BV podem ser observadas no fluxograma da Figura 19.

Figura 19: Etapas do processamento para obtenção do biovidro BV



Fonte: Próprio Autor

Barbosa (2018) em sua pesquisa verificou que o biovidro por ela produzido apresentou uma distribuição de partícula entre 300 nm e 1000 nm e que a composição do BV, apresentada na Tabela 1, por ela sintetizado, assemelhou-se com a encontrada na literatura Hench (2006) do Biovidro[®] 45S5, de modo que os teores de óxidos do BV encontram-se dentro da faixa de bioatividade proposta por Hench (2006).

Tabela 1: Comparação entre a composição do BV sintetizado e a do Biovidro® encontrada na literatura

Óxidos	BV sintetizado (% em peso)	Hench (2006) (% em peso)
SiO ₂	44,3	45
Al ₂ O ₃	<0,10	-
Fe ² O ³	<0,10	-
MnO	<0,10	-
MgO	<0,10	-
CaO	23,6	24,5
Na ₂ O	24	24,5
K ₂ O	<0,10	-
TiO ₂	<0,10	-
P ₂ O ₅	6,13	6

Fonte: Barbosa, 2018

As nanofibras de celulose (NFC) utilizadas no estado de suspensão aquosa de 2% em massa apresentam a composição de $84,6 \pm 4,4$ % α -celulose, $6,0 \pm 1,1$ % hemicelulose e $9,4 \pm 0,8$ lignina, apresentando um diâmetro médio de 10 -80 nm e comprimento de alguns milhares de nanômetros (BARBOSA, 2018). A mistura de NFC com o BV na proporção de 0,1 % m/m foi preparada em solução de álcool isopropílico e posteriormente seca a temperatura ambiente.

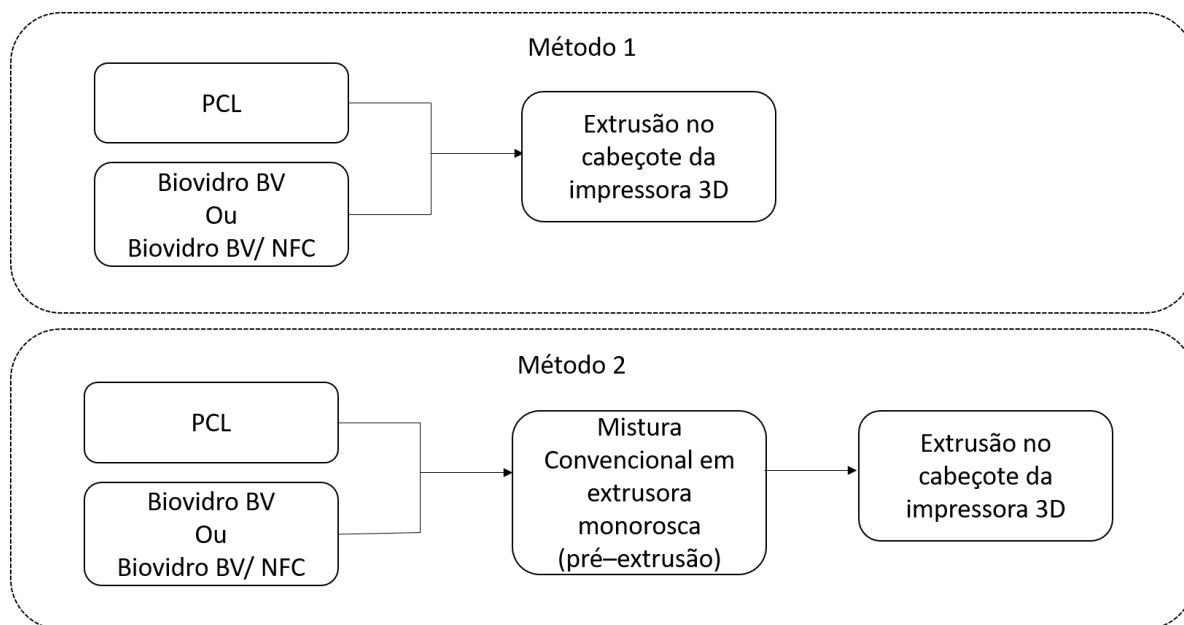
4.2 Métodos

4.2.1 Preparação dos scaffolds

A manufatura dos *scaffolds* foi realizada por meio da manufatura aditiva, no entanto, Barbosa (2018) optou por seguir dois métodos para tal prática. Desse modo, enquanto um dos métodos foi baseado em uma pré-mistura dos componentes em uma extrusora convencional para posteriormente ser processada no cabeçote da impressora 3D, o outro método baseou-se na mistura e extrusão diretamente no cabeçote da impressora, assim eliminando a pré etapa de homogeneização, como pode ser observado no fluxograma da Figura 20. Desse modo, cinco

composições distintas foram manufaturadas para cada método e podem ser observadas na Tabela 2.

Figura 20: Métodos de manufatura utilizados para confecção dos *scaffolds*



Fonte: Próprio Autor

Tabela 2: Composição das amostras obtidas pelos métodos 1 e 2 com a concentração em % m/m

Método 1	Método 2
PCL	EXPCL
PCL + 2,5BV	EXPCL + 2,5BV
PCL + 5,0BV	EXPCL + 5,0BV
PCL + 2,5BV/NFC	EXPCL + 2,5BV/NFC
PCL + 5,0BV/NFC	EXPCL + 5,0BV/NFC

Fonte: Barbosa, 2018.

4.2.2 Calorimetria exploratória diferencial

Os ensaios de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram realizados em equipamento da PerkinElmer modelo DSC8000, para obtenção das temperaturas de fusão, cristalização e entalpia de fusão. Inicialmente foi realizada a calibração do equipamento utilizando uma amostra de padrão de Índio (In) que possui ponto de fusão de 156,6 °C.

As amostras foram pesadas e encapsuladas em painelas de alumínio com massas entre 7 a 8,5 mg. Os ensaios foram realizados sob atmosfera de nitrogênio com fluxo constante de 20 ml/min e uma taxa de aquecimento e resfriamento constante de 10 °C.min⁻¹ ao longo de todo o ciclo:

- Isoterma em 0 °C por 5 minutos;
- Primeiro aquecimento de 0 a 120 °C;
- Isoterma em 120 °C por 5 minutos;
- Resfriamento de 120 a 0 °C;
- Isoterma em 0°C por 5 minutos; e
- Segundo aquecimento de 0 a 120°C;

Utilizando o *software Pyris Data Analysis*® foi possível realizar o tratamento dos dados, assim, podendo obter os valores dos parâmetros termodinâmicos visados, de acordo com a norma ASTM D3418:2015 – “*Standart Test Method for Transition Temperatures and Enthalpies of Fusion and Crystallization of Polymers by Differential Scanning Calorimetry*”.

Para determinação da faixa de fusão e faixa de cristalização do material polimérico foi realizado, inicialmente, um aquecimento completo para eliminação da memória de cristalização da amostra (histórico térmico). Desse modo, os valores de entalpia e temperatura de fusão foram obtidos do segundo aquecimento.

5 RESULTADOS

Os “*scaffolds*” com diferentes composições desenvolvidos por Barbosa (2018) foram caracterizados por meio da técnica de calorimetria exploratória diferencial tendo como foco a análise da influência das partículas de biovidro e das nanofibras de celulose sobre o comportamento do processo de cristalização da matriz polimérica de poli (ε- caprolactona). Foram comparadas amostras puras, sem a presença de BV e NFC, com as amostras das diferentes composições preparadas por meio dos diferentes métodos de processamento (Tabela 2).

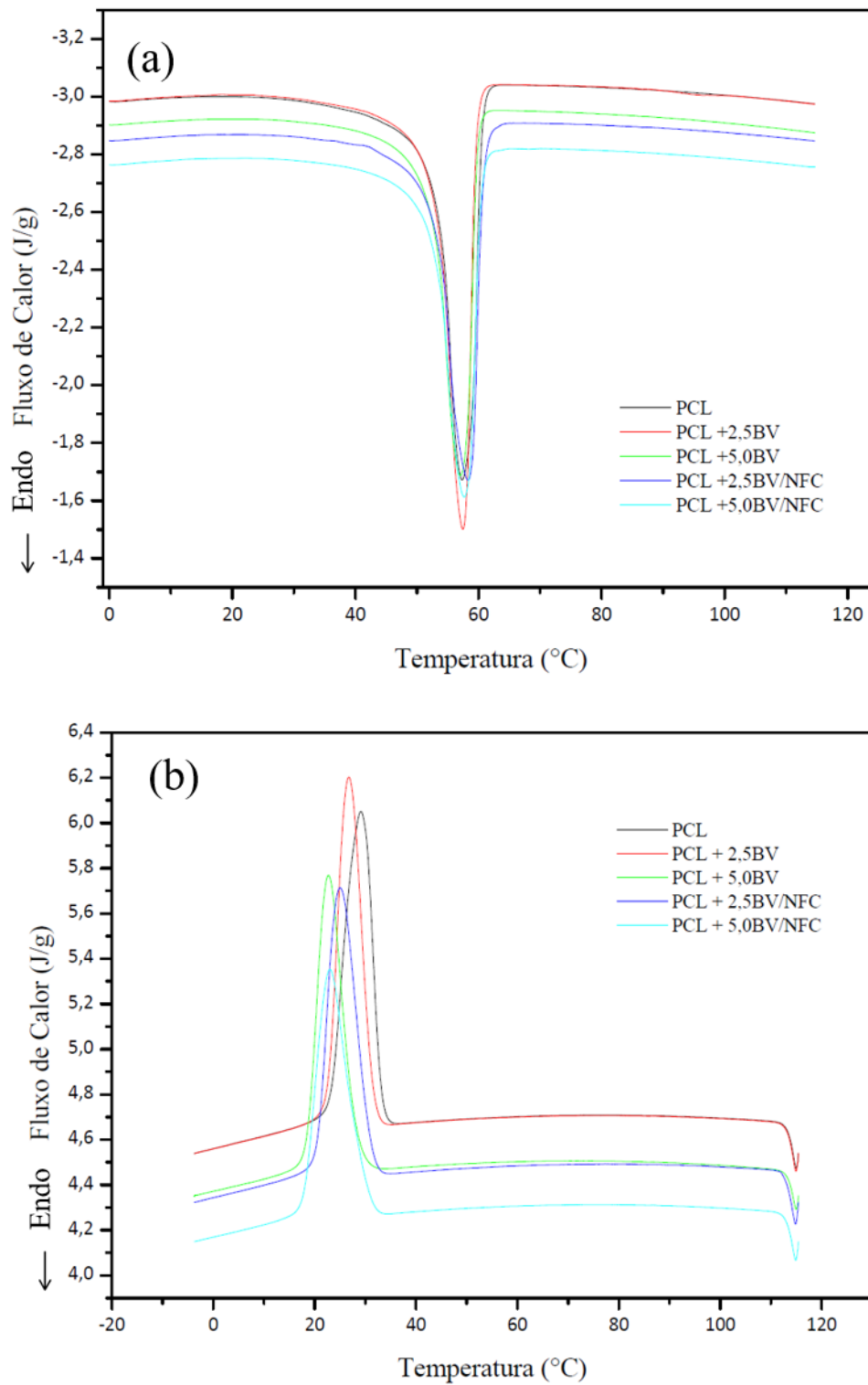
5.1 Amostras extrudadas diretamente no cabeçote (Método 1)

A Figura 21 apresenta as curvas de DSC, (a) segundo aquecimento e (b) resfriamento, para as amostras processadas pelo método 1. Nota-se que o pico da temperatura de fusão, Figura 21(a), foi deslocado, suavemente, para valores inferiores ao do material puro na presença de biovidro e para valores maiores nas amostras com nanofibras de celulose. A temperatura de cristalização, Figura 21(b), com a adição de biovidro e nanofibra de celulose, teve seu pico deslocado para valores menores quando comparada com a matriz polimérica pura.

A Tabela 3 apresenta um resumo das propriedades térmicas, temperatura de cristalização (T_c), temperatura de fusão (T_m), entalpia de fusão (ΔH_m) e grau de cristalinidade (X_c), calculadas por meio das curvas de segundo aquecimento e resfriamento das amostras.

Analisando as propriedades das amostras, observa-se que a entalpia de fusão (ΔH_m) e, conseqüentemente, a cristalinidade (X_c) diminuíram com a adição de biovidro, assim como, de modo mais brusco, com a introdução de biovidro e nanocelulose, quando comparadas com a amostra pura. Esse comportamento pode ser observado nas curvas de aquecimento apresentadas na Figura 21(a), ao analisar a área do pico endotérmico (Tabela 3), verificando que à medida que a concentração da fase dispersa aumenta essa torna-se menor, devido a uma diminuição e/ou achatamento do pico.

Figura 21: (a) Curvas do segundo aquecimento e (b) curvas do resfriamento das amostras processadas pelo método 1.



Fonte: Próprio Autor

Tabela 3: Temperatura de cristalização (T_c), temperatura de fusão (T_m), entalpia de fusão (ΔH_m) e grau de cristalinidade (X_c) das amostras processadas pelo método 1.

Amostra	T_c (°C)	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	X_c (%)
PCL	29,13	57,35	53,95	38,37
PCL + 2,5BV	26,75	57,47	51,45	36,60
PCL + 5,0BV	22,72	57,08	47,77	33,98
PCL + 2,5BV/NFC	25,03	58,32	50,48	35,90
PCL + 5,0BV/NFC	22,99	57,70	47,76	33,97

Fonte: Próprio Autor

5.2 Amostras previamente extrudadas (Método 2)

A Figura 22 apresenta as curvas de DSC, (a) segundo aquecimento e (b) resfriamento, para as amostras processadas pelo método 2. Observa-se que na presença de biovidro, o pico da temperatura de fusão foi sucintamente deslocado para valores menores, em relação ao material puro. Enquanto na presença de biovidro e nanofibras de celulose, essa propriedade apresentou valores próximo ou superior à amostra pura.

Analisando a temperatura de cristalização do pico observado na Figura 22(b), observa-se que a adição de biovidro na matriz polimérica resulta em uma diminuição dessa propriedade quando comparada com a do polímero puro. Ademais, esse comportamento é observado, de modo mais severo nas amostras que apresentam nanofibra de celulose. Essa tendência pode ser visualmente observada nas curvas de resfriamento apresentadas na Figura 22(b), com o deslocamento dos picos de cristalização para a esquerda.

A Tabela 4 apresenta um resumo das propriedades térmicas calculadas por meio das curvas de segundo aquecimento e resfriamento das amostras. Desse modo, ao analisar a entalpia de fusão (ΔH_m) e simultaneamente a cristalinidade (X_c) das amostras, observa-se, que essas propriedades apresentaram a mesma tendência da temperatura de cristalização, ou seja, a introdução de biovidro a matriz polimérica resultou em uma diminuição da cristalinidade, que foi mais significativa nas amostras que apresentam nanofibras de celulose.

Figura 22: (a) Curvas do segundo aquecimento e (b) curvas do resfriamento das amostras processadas pelo método 2.

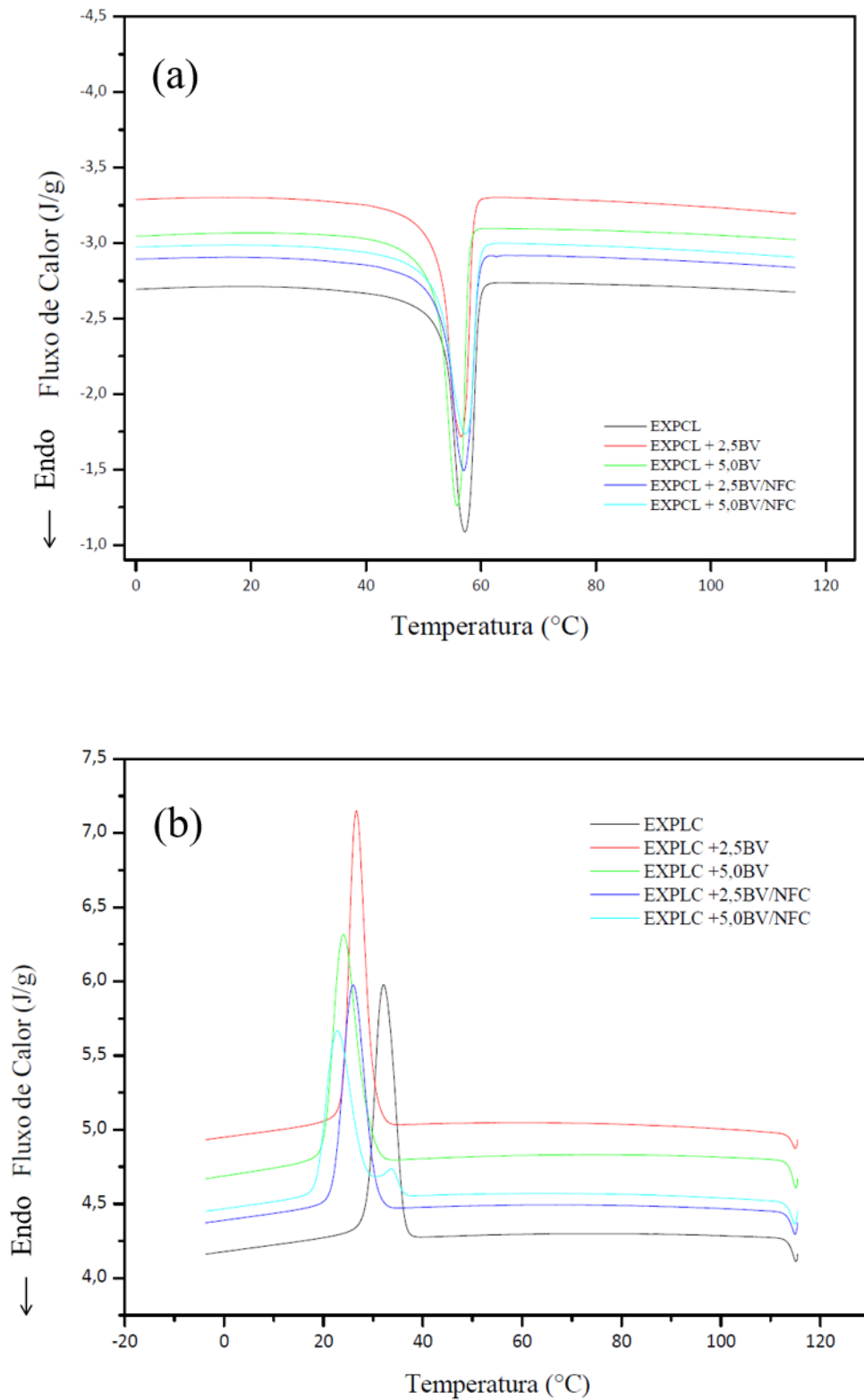


Tabela 4: Temperatura de cristalização (T_c), temperatura de fusão (T_m), entalpia de fusão (ΔH_m) e grau de cristalinidade (X_c) das amostras processadas pelo método 2.

Amostra	$T_c(^{\circ}\text{C})$	$T_m(^{\circ}\text{C})$	$\Delta H_m(\text{J/g})$	$X_c(\%)$
EXPCL	32,10	57,18	51,34	36,52
EXPCL + 2,5BV	26,62	56,53	50,24	35,73
EXPCL + 5,0BV	24,01	55,82	49,57	35,26
EXPCL + 2,5BV/NFC	25,97	57,01	49,86	35,46
EXPCL + 5,0BV/NFC	22,80	57,27	46,95	33,39

Fonte: Próprio Autor

Por fim, a Figura 23 apresenta o gráfico que compara os resultados de cristalinidade (X_c) para as amostras processadas pelos diferentes métodos. Desse modo, a presença das partículas de BV e das NFC na matriz polimérica de poli (ϵ - caprolactona) resulta em uma influência desfavorável a cristalização do material, assim, com o aumento da concentração destes, maior é a queda na cristalinidade do material em relação a composição pura.

Figura 23: Gráfico comparativo da cristalinidade das amostras processadas pelos métodos 1 e 2



Fonte: Próprio Autor

6 DISCUSSÃO

A equivalência encontrada nos comportamentos das propriedades térmicas e termodinâmicas entre as amostras processadas pelas diferentes metodologias sugere que o método de processamento, assim como os parâmetros utilizados tiveram baixa ou nenhuma influência nas propriedades estudadas no presente trabalho. Haja vista que, devido a configuração definida para o programa térmico dos ensaios, as influências herdadas do histórico térmico, oriundo do processamento, foram apagadas para uma análise focada no material e suas composições desenvolvidos. Portanto, a presente análise abrange todas as dez amostras ensaiadas.

De acordo com a teoria clássica de cristalização, o decréscimo da temperatura de cristalização observado com a adição de biovidro, e mais severamente nas que contém nanofibras de celulose, sugere que o particulado não atuou como um agente nucleante. Ou seja, a presença de partículas diferentes à matriz polimérica não correspondeu a existência de sítios preferenciais de cristalização, assim, não possibilitando um menor super resfriamento e conseqüentemente uma menor barreira energética termodinâmica de cristalização. De maneira oposta, o aumento do super resfriamento necessário para a cristalização sugere que o biovidro BV atuou como um agente desfavorável a cristalização, de modo a impedir e dificultar o empacotamento das cadeias poliméricas.

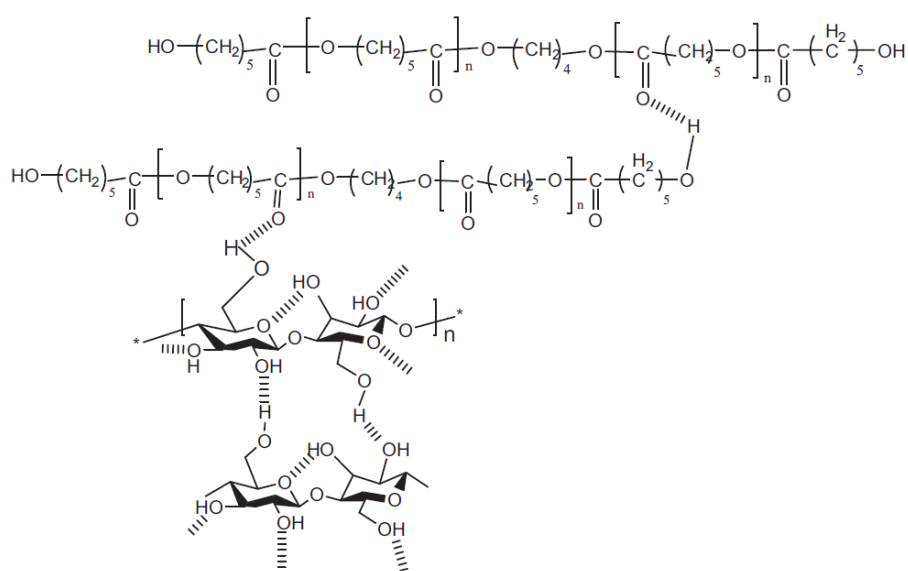
O efeito inibidor da cristalização na presença de biovidro foi anteriormente relatado nas pesquisas de Lam et al. (2008) e Dziadeket al. (2015) e pode estar correlacionado com o tamanho médio da partícula (maior que 60 μm). Esses estudos indicam que a incorporação do biovidro à massa polimérica pode dificultar a cristalização devido à limitação da mobilidade das cadeias de PCL imposta pela presença das partículas cerâmicas. Ou seja, o empacotamento das macromoléculas é dificultado, assim, causando um aumento na barreira energética necessária para cristalizar, necessitando um maior super resfriamento e conseqüentemente temperaturas inferiores, como observado nas amostras. Portanto, uma vez que empacotamento é prejudicado pela presença do particulado, a cristalinidade final do material é diretamente afetada, tendo um decaimento com o aumento da concentração do biovidro.

As amostras que apresentam nanocelulose, embora tenham apresentado um comportamento similar as que contém apenas biovidro no quesito temperatura de cristalização, entalpia de fusão e cristalinidade, observou-se que nessas o efeito é mais

significativo, além de provocar uma tendência contrária na propriedade de temperatura de fusão, enquanto nas amostras somente com biovidro há um decréscimo, nas com nanofibras de celulose a temperatura do pico de fusão aumenta consideravelmente. Esse fenômeno, como observado também nas pesquisas de Morouço et al. (2016) e Xionget et al. (2015), deve-se ao comportamento antagônico que a nanocelulose pode exercer durante a cristalização da PCL. A NFC pode agir como um agente nucleante promovendo a cristalização do polímero; ou o empacotamento pode ser restringido pela incorporação, causando uma diminuição da cristalinidade.

Nas amostras de *scaffolds* analisadas, a incorporação de NFC resultou em um efeito desfavorável a cristalização, de maneira, aumentando a barreira energética necessária para o empacotamento, aumentando o super resfriamento necessário e causando a queda da temperatura de cristalização, da entalpia de fusão e da cristalinidade. Esse fenômeno pode ser oriundo da possibilidade de formação de pontes de hidrogênio entre as moléculas da nanocelulose e da PCL, como ilustrada na Figura 24 (XIONG;HAMEED;GUO, 2015). Desse modo, assim como demonstrado por Xiong et al. (2015), a presença dessas interações, tende a dificultar o empacotamento das cadeias poliméricas por meio de impedimento estérico.

Figura 24: Esquematização das pontes de hidrogênio entra a matriz polimérica PCL e a nanocelulose



Fonte: Xiong; Hameed; Guo, 2015

Relação da cristalinidade com as demais propriedades

Embora a cristalinidade esteja intrinsicamente correlacionada com as propriedades mecânicas do material, não pode se correlacionar com comportamento analisado por Barbosa (2018), haja vista que o ensaio por ela realizado foi na estrutura do *scaffold*, desse modo, os valores obtidos possuem contribuições externas as propriedades intrínsecas do material, como adesão entre camadas, geometria e posicionamento do *scaffolds*, além dos parâmetros de processamento (histórico térmico).

O ensaio de citotoxicidade e viabilidade celular é projetado para determinar a resposta biológica de células mamíferas, *in vitro*, quando em um meio com um material. Esse método pode avaliar qualitativamente e quantitativamente a presença de células vivas no meio de cultura (INTERNACIONAL ORGANIZATION FOR STANTARDIZATION, 2009). Desse modo, a viabilidade celular está correlacionada com a cristalinidade (X_c) dos *scaffolds* a base de PCL por meio da propriedade de degradação que dá origem a subprodutos intermediários do metabolismo celular e assim promovem o desenvolvimento de novas células. No caso do PCL, uma vez que sua degradação se inicia e ocorre por meio da cisão hidrolítica das ligações ésteres, o grau de cristalinidade (X_c), devido a sua influência na absorção de água, é um dos principais parâmetros que afetam a viabilidade celular. Ou seja, *scaffolds* menos cristalinos por absorverem mais água, apresentam taxas de degradação maiores, e assim, uma maior e mais rápida liberação de compostos que promovem o crescimento da cultura de células como observado no estudo de Christopher et al. (2008).

Barbosa (2018) constatou que embora todas as amostras apresentassem boa resposta biológica (caráter não citotóxico), os compósitos com NFC e/ou biovidro BV apresentaram viabilidade celular igual ou superior aos de polímero puro apenas nos dias iniciais de incubação (ensaio). Assim, no decorrer do ensaio, a quantidade de células novas e presentes na cultura diminuiu nos compósitos.

Esse comportamento pode ser relacionado com a cristalinidade das amostras por meio da taxa de degradação, e assim, com a quantidade de subprodutos, que favorecem o desenvolvimento e formação de células, liberados para o meio. Desse modo, por apresentar uma menor cristalinidade, os compósitos podem ter apresentado uma maior taxa de degradação devido a maior permeabilidade de água para sua estrutura, o que em um momento inicial até favoreceu a proliferação de celular, em função da maior liberação de substâncias atuam ciclo metabólico celular. Porém em um período maior de incubação, devido a característica da PCL em ter sua cristalinidade aumentada ao longo da degradação (resultante

da reorganização das macromoléculas de menor massa molar), a taxa de formação de produtos intermediários do metabolismo celular pode ter apresentado um decréscimo, resultando em uma menor formação de novas células, diminuindo a viabilidade celular.

Por outro lado, nas amostras de polímero puro, uma vez que contêm uma maior cristalinidade, a absorção de água e conseqüentemente a taxa de degradação apresentam valores menores, assim, o desprendimento de produtos que favorecem a proliferação celular ocorre de modo mais lento e gradativamente, possibilitando uma maior e prolongada proliferação celular.

7 CONCLUSÕES

Este trabalho de conclusão de curso apresentou o estudo dos efeitos na cristalização de *scaffolds* à base de PCL com a adição de biovidro BV e de nanofibras de celulose, por meio da técnica experimental de calorimetria exploratória diferencial.

A análise sugere que a adição do particulado cerâmico de biovidro atuou de forma desfavorável à cristalização, independentemente da rota de processamento, ou seja, resultou em uma diminuição do índice de cristalinidade em relação ao material puro. Esse fenômeno pode ser observado nas curvas de aquecimento do DSC com a diminuição da temperatura de cristalização, assim, mostrando que foi necessário um maior resfriamento da amostra para iniciar o processo de cristalização, maior barreira energética. Esse resultado sugere que a presença do biovidro BV impôs limitações à mobilidade das cadeias de PLC, assim, dificultando o empacotamento e diminuindo a cristalinidade.

Ademais, verificou-se que a amostra que contém nanofibras de celulose apresentaram diminuição mais expressiva do índice de cristalinidade do que as com somente biovidro. Desse modo, a barreira termodinâmica para o processo de cristalização apresentou um aumento, sugerindo que a presença das nanofibras de celulose ao dificultar o empacotamento das cadeias poliméricas, desfavorecem a cristalização. Esse comportamento pode estar associado com a possível formação de pontes de hidrogênio entre as macromoléculas de PCL e as da NFC, assim corroborando com a queda mais expressiva da cristalinidade.

Portanto, por meio da análise da cristalinidade das amostras, foi possível correlacionar essa propriedade com os resultados de viabilidade celular anteriormente obtidos por Barbosa (2018). Desse modo, os resultados de Barbosa (2018), que mostram o polímero puro como o mais promissor a viabilidade celular em um maior período, podem estar associados ao fato de

que esse possui maior cristalinidade, assim, apresentando uma taxa de degradação menor do que as demais composições por apresentarem uma menor permeabilidade de água na estrutura. Ou seja, a taxa de liberação de produtos, oriundos da degradação, que promovem o a formação e desenvolvimento de novas células ocorre de modo mais lento e gradativo, porém de modo mais contínuo e prolongado do que as amostras de compósito.

8 REFERÊNCIAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, **ASTMD3418-15**, Standard Test Method for Transition Temperatures and Enthalpies of Fusion and Crystallization of Polymers by Differential Scanning Calorimetry, West Conshohocken, PA, 2015,

BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C.A.C.; DUEK, E. A. R. Polímeros bioreabsorvíveis na Engenharia de Tecidos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.15, n.1, p13-21,2005

BARBOSA, T. V. **Fabricação de scaffolds de polímero reforçado para aplicação em bioengenharia tecidual**. São Carlos: USP,2018

BRAGA, F. J. C. **Materiais aplicados à medicina e odontologia**. 1. ed. São Paulo: Artliber, 2015

BROWN, M. E. **Introduction to Thermal Analysis: Techniques and Applications**. 2th. ed. South Africa: Springer Netherlands,2001

BURGT, F. P. T. **Crystallization of isotactic polypropylene**: The influence of stereo-defects. Eindhoven, Technische Universiteit Eindhoven ,2002.

CALLISTER, W. D.; RETHWISCH, D. G. **Material Science – An Introduction**. 9 ed. John Wiley & Sons, 2013

CANEVAROLO, S. **Ciência dos Polímeros**: um texto básico para tecnólogos e engenheiros. 2. ed. São Paulo: Artliber,2006

CHRISTOPHER X. F. L et. al. Dynamics of in vitro polymer degradation of polycaprolactone-based scaffolds: accelerated versus simulated physiological conditions. **Biomedical Materials**, v.3, n.3, 2008.

CUI, H.; SINKO, P.J. The role of crystallinity on differential attachment/proliferation of osteoblast and fibroblasts on poly(caprolactone-co-glycolide) polymeric surfaces. **Material Science**, v.6, n.1, p47-59, 2012

DIADEK, M. et. Al. Effect of preparation methods on architecture, crystallinity, hydrolytic degradation, bioactivity, and biocompatibility of PCL/bioglass composite scaffolds. **Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials**, v.1, 2015

FLORY, P. J. **Principles of Polymer Chemistry**. 1st. ed. Cornell University Press, 1954.

HENCH, L. L. Third-Generation Biomedical Materials. **Science**, v. 295, n. 5557, p. 1014–1017, 2002.

HERAKOVICH, C. T. **Mechanics of fibrous composites**. New York, 1998

HERMAN, K., GERNGROSS, O. and ABITZ, W. Z. Macromolecular Physics and Chemistry. **Canadian International Paper Company**, v. B10 p371.Ontaro, 1930.

INTERNACIONAL ORGANIZATION FOR STANTARDIZATION, **ISO10993-5**,
Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity, 2009

KARAGEORGIUS, V.; KAPLAN, D. Porosity of 3D scaffolds and osteogenesis.
Biomaterials, v 26, n.27, p5474-5491, 2005.

KELLER, A. Organization of the Macromolecules in the condensed Phase. **Faraday
Discussions of the Royal Society of Chemistry**, v.1, n.68, p145, 1979.

LAM, C. X. et al. Dynamics of in vitro polymer degradation of polycaprolactone-based
scaffolds: Accelerated versus simulated physiological conditions. **Biomedical Materials**, v.3,
n.3, ago.2008. DOI: 10.1088/1748-6041/3/3/034108. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18689929/>. Acesso em: 20 ago. 2020.

MAJHI, M. R.; PYARE, R.; SINGH, S. P. Studies on preparation and characterizations of
CaO-Na₂O-SiO₂-P₂O₅ bioglass ceramics substituted with Li₂O, K₂O, ZnO, MgO and
B₂O₃. **Journal od Biomaterials and Tissue Engineering**, v.2, n.2, p. 154-169, 2012.

MANDELKERN, L. **Crystallization of Polymers: Kinects and Mechanisms**. 2th. ed.
Florida: Cambridge University Press, 2004.

MANO, E. B. **Polímeros como materiais de engenharia**. São Paulo: Edgar Blucher, 1991.

MANRICH, S.; ZANOTTO, E. D.; HAGE, E. J. Aplicabilidade da Teoria de Nucleação
Modificada (CD-CNT) à Cristalização de Polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.2,
n.1, p15-20, jan.1992

MATTEWS, F. L.; RAWLINGS, R. D. **Composite materials: engineering and science**. New
York: CRC, 1994.

MORONI, L.; ELISSEEFF, J. H. Biomaterials engineering for integration. **Materials Today**,
v.11, n.5, p.44-51, 2008.

MOROUÇO, P. et. al. Fabrication of Poly(ϵ -caprolactone) scaffolds reinforced with cellulose
Nanofibers, with and without the Addition of Hydroxyapatite Nanoparticles. **Biomed
Research International**, v.2016, p10,2016.

O' BRIEN, F. J. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. **Materials Today**, v.14, n.3,
p88-95, 2011

RABELLO, M. **Aditivação de Polímeros**. 1. Ed. Brasil: Artliber, 2000

SUPAPHOL, P., SPRUIELL, J. E. Crystalline Memory Effects in Isothermal Crystallization
of Syndiotactic Polypropylene. **Journal of Applied Polymer Science**, 2000

XIONG, R.; HAMEED, N.; GUO, Q. Cellulose/polycaprolactone blends regenerated from
ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium chloride author links open overlay
panel. **Elsevier**, Australia, v.00, n.11, p.111-222, jan. 2015.

ZHANG, M. C.; GUO, B.; XU, J. A Review on Polymer Crystallization Theories. **Crystals**, v.7, n.4, p1-37, abr. 2017.