



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

FABIANA CARNEIRO SAKAMOTO

**Obtenção e caracterização de filmes de PHB utilizando a  
técnica de *solution blow spinning*.**

**Orientador:** Prof. Dr. José Antônio Malmonge

Ilha Solteira – SP

Julho/2013

FABIANA CARNEIRO SAKAMOTO

Obtenção e caracterização de filmes de PHB utilizando a técnica de  
*solution blow spinning*.

**Orientador:** Prof. Dr. José Antônio Malmonge

Dissertação apresentada á Faculdade de Engenharia  
– UNESP – Campus de Ilha Solteira, para obtenção  
do título de Mestre em Ciências dos Materiais. Área  
de concentração: Ciência e Engenharia de Materiais.

Ilha Solteira – SP

Julho/2013

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

S158o Sakamoto, Fabiana Carneiro.  
Obtenção e caracterização de filmes de PHB utilizando a técnica de solution  
blow spinning / Fabiana Carneiro Sakamoto. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2013  
53 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de  
Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Ciência e Engenharia de  
Materiais, 2013

Orientador: José Antônio Malmonge  
Inclui bibliografia

1. PHB. 2. Membrana. 3. Fiação por sopro em solução.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA

### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO:** Obtenção e caracterização de filmes de PHB utilizando a técnica de solution blow spinning

**AUTORA:** FABIANA CARNEIRO SAKAMOTO

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. JOSÉ ANTONIO MALMONGE

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência dos Materiais ,  
Área: CIÊNCIA E ENGENHARIA DOS MATERIAIS, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. JOSÉ ANTONIO MALMONGE

Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Profa. Dra. ADRIANA CAMPOS PASSANEZI SANT'ANA

Faculdade de Odontologia de Bauru / Departamento de Prótese / Universidade de São Paulo

Profa. Dra. MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA

Embrapa Instrumentação

Data da realização: 15 de julho de 2013.

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais Walter e Mércia pela dedicação e amor, aos meus irmãos Katsumi e Mitsuo pelos incentivos e cumplicidade e minha sobrinha Manuela pelo amor sincero.

## Agradecimentos

Agradeço:

A Deus, Pai e Criador.

Ao Prof. Dr. José Antonio Malmonge pela orientação, confiança, amizade, paciência e conselhos que me fizeram refletir e me trouxeram aprendizado.

Às Prof<sup>as</sup>. Dr<sup>as</sup>. Miriam Cristina dos Santos e Prof<sup>as</sup>. Dr<sup>as</sup>. Márcia Regina de Moura Aouada, pelas sugestões e correções feitas na minha qualificação.

Aos professores do grupo de polímeros.

Aos Ms. Alex Otávio Sanches e Ms. Lincon Zadorosny pelas contribuições, discussões, pela ajuda e amizade.

A todos os colegas da pós-graduação que de alguma forma me influenciaram e ajudaram na conclusão deste trabalho.

As minhas amigas da clínica, Maria Aparecida Vitti, Lorena Souza, Lucimar Merlotto e as secretárias, Juliana e Luana, pela compreensão e apoio.

À minha amiga Teresa Cristina Alves pela amizade da vida toda.

Ao meu namorado Sérgio Carlos de Aquino Faustino, que sempre esteve ao meu lado com seu amor, alegria e paciência, me incentivando muito durante a realização deste trabalho.

## Resumo

Membranas fibrosas de PHB foram obtidas através da técnica de fiação por sopro em solução (*solution blow spinning*) utilizando solução PHB/clorofórmio nas concentrações: 8%, 10% e 12% (m/v) e diferentes pressões do ar de arraste (P) tais como: 120, 140, 160 e 200kPa. As taxas de injeção da solução ( $\beta$ ) foram: 110, 135 e 150 $\mu$ L/min. Pela análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) verificou-se que o diâmetro das fibras aumenta com o aumento da concentração de PHB na solução quando a taxa de injeção da solução e a pressão foram mantidas constantes. Este é o parâmetro que mais influencia a morfologia das fibras. O diâmetro médio dessas fibras variou em um intervalo de 0,5 – 1,7 $\mu$ m. Observou-se através da técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC) que houve um pequeno deslocamento dos picos referentes às temperaturas de fusão do PHB, no segundo aquecimento, para valores menores quando comparados com os picos do primeiro aquecimento em razão da degradação do PHB. Com o aumento da concentração da solução os valores das temperaturas de fusão do PHB são deslocados para valores menores. O grau de cristalinidade das membranas fibrosas aumenta ligeiramente com a diminuição da concentração, mas sem alterar sua estrutura cristalina. A porosidade mostrou ser dependente dos fatores analisados, porém a variável com maior influência é a concentração. A porosidade, também, é um bom indicador para a difusão da glicose através da membrana, mas não é determinante, já que não se pode indicar se existe interconectividade entre esses poros ou se uma manta densa é formada. Com o aumento da concentração, para uma dada pressão e vazão, há um aumento da porosidade e, conseqüentemente, da permeabilidade da glicose através da membrana que está relacionado ao aumento do diâmetro das fibras. A maior permeabilidade observada é de  $2,65 \times 10^{-11}$  m<sup>2</sup>/s na membrana de concentração 10% (m/v), pressão de 140kPa e vazão de 150 $\mu$ L/min.

**Palavras Chave:** PHB. Membrana. Fiação por sopro em solução.

## Abstract

PHB fibrous membranes were obtained by solution blow spinning technique using PHB/Chloroform solution with different concentrations such as; 8%, 10% and 12% (w/v), different air pressure (P) (120,140,160 and 200kPa) and different solution injection rate ( $\beta$ ) (110, 135 and 150  $\mu\text{L}/\text{min}$ ). Evaluating scanning electron microscopy (SEM) images of PHB membranes it can be observed that the diameter of the fibers increases with increasing concentration when air pressure and injection rate were kept constant. Fibers morphology is most affected by concentration. The mean diameter of these fibers obtained were in the range of 0.5 and 1.7  $\mu\text{m}$ . DSC curves showed a displacement of melting temperature peak on second heating in comparison to the first heating peak due to PHB degradation. PHB membranes melting temperature decrease when solution concentration increases. Fibrous membranes crystallinity degree slightly increases when the concentration decrease, but there is no changing in the crystalline structure. All the analyzed factors affect porosity, however the concentration is the most important one. Porosity is also a good indicative of the diffusion of glucose through the membrane, although it is not determinant since it is not possible to conclude if exists interconnectivity between pores. When air pressure and the solution injection rate were kept constant and concentration was increased, porosity was higher and diffusion coefficient was higher as well due to the increasing in fibers diameter. The higher permeability observed was  $2.65 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$  for the membrane with concentration 10% (w/v), air pressure of 140kPa and solution injection rate of 150 $\mu\text{L}/\text{min}$ .

**Keywords:** PHB. Membrane. Solution blow spinning.

## Lista de figuras

- Figura 1** (A) Bactérias produtoras de PHB como reserva de energia. (B) Detalhe da célula bacteriana com presença de PHB 16
- Figura 2** Fórmula estrutural do PHB 17
- Figura 3** Esquema representando a organização do periodonto. 18
- Figura 4** Radiografia intra-oral ilustrando em A e B perda óssea horizontal e em C perda óssea vertical 20
- Figura 5** Esquema representativo da cirurgia de Regeneração Tecidual Guiada (RTG). 21
- Figura 6** **A**, aparência clínica do defeito ósseo; **B**, preenchimento do defeito ósseo com enxerto autógeno; **C**, posicionamento de membrana biorreabsorvível sobre o enxerto ósseo; **D**, radiografia após seis meses do procedimento de ROG mostrando preenchimento do defeito ósseo 22
- Figura 7** (a) Membrana de ePTFE reforçada com titânio. (b) Esquema representando a manutenção do espaço necessário em 1 e o colapso da membrana causado pela força de compressão dos tecidos moles em 2 24
- Figura 8** Diferentes formatos das membranas Inion 27
- Figura 9** Diagrama do mecanismo utilizado na técnica de *electrospinning*. 29
- Figura 10** Detalhe da solução polimérica sendo ejetada da agulha em direção ao coletor. 30
- Figura 11** Esquema do aparato utilizado no *solution blow spinning*. 31
- Figura 12** Diagrama representando o design do bico ejetor 32
- Figura 13** (a) Fotografia do equipamento de “solution blow spinning” localizado no Laboratório do GPOL – Grupo de polímeros/Unesp-Ilha Solteira-SP.. (b) Detalhe do bico ejetor e coletor com membrana. (c) Membrana sendo removida do papel alumínio. (d) Detalhe da membrana destacada. 37
- Figura 14** Esquema representativo do dispositivo de difusão de glicose. 40
- Figura 15** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros:  $D=21\text{cm}$ ,  $P=140\text{kPa}$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , onde (a)  $c=8\%$ ; (c)  $c=10\%$ ; (e)  $c=12\%$ . Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas de 8%, 10% e 12% estão representados em (b), (d) e (f), respectivamente. 42
- Figura 16** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros:  $D=21\text{cm}$ ,  $c=8\%$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , onde (a)  $P=140\text{kPa}$  e (c)  $P=200\text{kPa}$ . Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas para as pressões de 140kPa e 200kPa estão representados em (b) e (d), respectivamente. 44

- Figura 17** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros:  $D= 21\text{cm}$ ,  $c=10\%$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , onde (a)  $P=140\text{kPa}$  e (c)  $P=200\text{kPa}$ . Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas para as pressões de  $140\text{kPa}$  e  $200\text{kPa}$  estão representados em (b) e (d), respectivamente. 45
- Figura 18** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros:  $D= 21\text{cm}$ ,  $c=12\%$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , onde (a)  $P=140\text{kPa}$  e (c)  $P=200\text{kPa}$ . Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas para as pressões de  $140\text{kPa}$  e  $200\text{kPa}$  estão representados em (b) e (d), respectivamente. 46
- Figura 19** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros:  $D= 21\text{cm}$ ,  $c=8\%$  e  $P=140\text{kPa}$ . (a)  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ , (c)  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$  e (e)  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ . Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas para as vazões de  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ ,  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , estão representados em (b), (d) e (f), respectivamente. 48
- Figura 20** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros:  $D= 21\text{cm}$ ,  $c=10\%$  e  $P=140\text{kPa}$ . (a)  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ , (c)  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$  e (e)  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ . Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas para as vazões de  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ ,  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , estão representados em (b), (d) e (f), respectivamente. 49
- Figura 21** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros:  $D= 21\text{cm}$ ,  $c=12\%$  e  $P=140\text{kPa}$ . (a)  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ , (c)  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$  e (e)  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ . Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas para as vazões de  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ ,  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , estão representados em (b), (d) e (f), respectivamente. 50
- Figura 22** Curvas de DSC (taxa  $5^\circ\text{C}/\text{min}$ ) para membranas confeccionadas com pressão de  $140\text{kPa}$  e vazão de  $150\mu\text{L}/\text{min}$  e concentração de PHB de  $8\%$  (m/v) (a);  $10\%$  (m/v) (b) e  $12\%$  (m/v) (c). 51
- Figura 23** Difrátogramas de raio-x de filmes de PHB obtidos com uma mesma vazão ( $\beta$ ) e variando-se a concentração e pressão. 55
- Figura 24** a) Gráfico da quantidade de glicose (mg/dL) em função do tempo (hr), para a membrana de  $8\%$  (m/v) e  $P= 140\text{kPa}$ ;  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$  b) gráfico da quantidade glicose (mg/dL) em função do tempo (hr), para a membrana de  $8\%$  (m/v) e  $P= 200\text{kPa}$ ;  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ . 56
- Figura 25** a) Gráfico da quantidade de glicose (mg/dL) em função do tempo (hr), para a membrana de  $10\%$  (m/v) e  $P= 140\text{kPa}$ ;  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$  b) gráfico da quantidade glicose (mg/dL) em função do tempo (hr), para a membrana de  $10\%$  (m/v) e  $P= 200\text{kPa}$ ;  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ . 57

- Figura 26** a) Gráfico da quantidade de glicose (mg/dL) em função do tempo (hr), para a membrana de 12% (m/v) e  $P=140\text{kPa}$ ;  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$  b) gráfico da quantidade glicose (mg/dL) em função do tempo (hr), para a membrana de 12% (m/v) e  $P=200\text{kPa}$ ;  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ . 58
- Figura 27** Gráfico da permeabilidade da glicose em função da concentração de glicose para a membrana de 08% (m/v), vazão  $\beta = 150\mu\text{L}/\text{min}$  e pressões  $P = 140\text{kPa}$  e  $P=200\text{kPa}$ . 59
- Figura 28** Gráfico da permeabilidade da glicose em função da concentração de glicose para a membrana de 10% (m/v), vazão  $\beta = 150\mu\text{L}/\text{min}$  e pressões  $P = 140\text{kPa}$  e  $P=200\text{kPa}$ . 59
- Figura 29** Gráfico da permeabilidade da glicose em função da concentração de glicose para a membrana de 12% (m/v), vazão  $\beta = 150\mu\text{L}/\text{min}$  e pressões  $P = 140\text{kPa}$  e  $P=200\text{kPa}$ . 60

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1-</b> Comparação entre as propriedades do PP e PHB	17
<b>Tabela 2-</b> Valores normalizados extraídos dos termogramas de DSC para diferentes filmes de PHB.	52
<b>Tabela 3-</b> Valores utilizados para obtenção da porosidade (%) das membranas fibrosas de PHB.	53
<b>Tabela 4-</b> Difusão de glicose através das membranas de PHB ( $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ ), utilizando uma solução de glicose de 500mg/dL.	56

## Lista de abreviaturas e siglas

PHB	Poli (3-hidroxibutirato)
CHCl <sub>3</sub>	Clorofórmio
m/v	Proporção massa por volume
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
RTG	Regeneração tecidual guiada
ROG	Regeneração óssea guiada
PHAs	Polihidroxialcanoatos
PVDF	Polifluoreto de vinilideno
PVA	Polivinil álcool
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
T <sub>g</sub>	Temperatura de transição vítrea
X <sub>c</sub>	Grau de cristalinidade (%)
f	Fração da massa do PHB
ΔH <sub>f</sub>	Entalpia de fusão
ΔH <sub>t</sub>	Entalpia de fusão do PHB 100% cristalino
DRX	Difratometria de raios-x

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	13
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	15
2.1	POLÍMEROS	15
2.1.1	POLÍMEROS BIOCMPATÍVEIS	15
2.1.2	O POLI (3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB)	16
2.2	O TECIDO PERIODONTAL	18
2.2.1	GENGIVA	18
2.2.2	LIGAMENTO PERIODONTAL	19
2.2.3	CEMENTO	19
2.2.4	OSSO ALVEOLAR	19
2.3	DOENÇA PERIODONTAL	20
2.4	REGENERAÇÃO TECIDUAL GUIADA (RTG)	20
2.5	REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA (ROG)	21
2.6	MEMBRANAS	23
2.6.1	MEMBRANAS NÃO-REABSORVÍVEIS	23
2.6.2	MEMBRANAS REABSORVÍVEIS	25
2.6.2.1	MEMBRANAS NATURAIS	25
2.6.2.2	MEMBRANAS REABSORVÍVEIS SINTÉTICAS	26
2.7	TÉCNICAS PARA OBTENÇÃO DE MEMBRANAS FIBROSAS	29
2.7.1	ELECTROSPINNING OU ELETROFIAÇÃO	29
2.7.2	SOLUTION BLOW SPINNING OU FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO	31
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODO</b>	35
3.1	MATERIAIS UTILIZADOS	35
3.1.1	POLÍMERO	35
3.1.2	SOLVENTE	35
3.1.3	GLICOSE	35
3.2	MÉTODO	36
3.2.1	OBTENÇÃO DO FILME	36
3.2.2	CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)	37
3.2.2.1	GRAU DE CRISTALINIDADE	38
3.2.3	DIFRATOMETRIA DE RAIOS-X (DRX)	38
3.2.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	38
3.2.5	ESTIMATIVA DA QUANTIDADE DE POROS	39
3.2.6	TRANSPORTE DE NUTRIENTES	39
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	41
4.1	INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DA SOLUÇÃO POLIMÉRICA NA FORMAÇÃO DE FIBRAS	41
4.2	INFLUÊNCIA DA PRESSÃO	43
4.3	INFLUÊNCIA DA VAZÃO	47
4.4	CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)	51
4.5	DIFRATOMETRIA DE RAIOS-X (DRX)	54
4.6	TRANSPORTE DE NUTRIENTES	54
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	61
	<b>REFERÊNCIAS</b>	62
	<b>GLOSSÁRIO</b>	67

## 1 Introdução

A engenharia de tecidos é a última técnica para tratamento de tecidos lesionados tanto na medicina quanto na odontologia. Esta técnica visa à fabricação de materiais biocompatíveis que podem substituir tecidos danificados ou auxiliar no processo de reparo do organismo afetado. Esses materiais são chamados de biomateriais. Muitos materiais ou compósitos têm sido utilizados para este fim, por exemplo, metais (pinos e placas de titânio para fixação óssea em fraturas e parafusos de titânio para implantes odontológicos), cerâmicas (próteses dentárias e próteses de quadril) e polímeros (resinas dentárias, membranas e sistema de liberação controlada de drogas) [1-4]. Devido a sua facilidade de manipulação e relativo baixo custo muitos polímeros, seus compósitos e blendas estão sendo testados e alguns já existem comercialmente para esse propósito [5,6]. Na área médica essa técnica já substitui músculo cardíaco, nervos, fragmentos ósseos em fraturas e pele [1-3]. Na odontologia, duas técnicas utilizam biomateriais: a regeneração tecidual guiada (RTG) que consiste na colocação de uma barreira (membrana) que separa, temporariamente, o epitélio gengival das estruturas de suporte dos dentes, assim, a área a ser reparada é repovoada por células presentes no ligamento periodontal responsáveis pela regeneração do aparato de sustentação: osso, cemento e ligamento periodontal [5]. E a regeneração óssea guiada (ROG) quando existe a necessidade de enxerto ósseo ao redor de implantes ou rebordo desdentado. Nesta técnica a membrana, também, é colocada com a intenção de excluir o tecido gengival e, ainda, estabilizar o material enxertado [5].

Os poliésteres têm sido bastante utilizados no desenvolvimento de dispositivos médicos e odontológicos [5,7] dentre eles está a família dos polihidroxialcanoatos (PHAs) em especial o poli (3-hidroxiбутirato) (PHB) que é um polímero termoplástico, semi-cristalino mais comumente produzido no interior de células bacterianas em condições desfavoráveis como reserva de energia [2,3]. O PHB pode ser classificado como um polímero biocompatível porque não produz uma resposta inflamatória crônica no hospedeiro [3] e biodegradável porque houve degradação do polímero in vivo [8]. Modificações na superfície de filmes poliméricos podem aumentar sua bioatividade, ou seja, induzir uma atividade biológica específica [3]. Uma maneira de conseguir essas

modificações é no processo de confecção da membrana através de diferentes técnicas produzindo filmes com características diferentes.

Existem várias maneiras de produzir membranas e um método recente foi desenvolvido para tal fim. Este método é denominado técnica de fiação por sopro em solução ou *solution blow spinning* que consiste em um equipamento em que a solução polimérica é injetada para o interior de uma agulha com taxa definida. Essa agulha está no centro de uma corrente de ar comprimido com pressão regulada que faz com que um jato da solução seja lançado em direção a um coletor cilíndrico rotatório com velocidade controlada. Durante o trajeto entre a ponta da agulha e o coletor a solução passa de líquida para sólida pela evaporação do solvente usado na sua preparação. O resultado são fibras com diâmetro de tamanho reduzido [9,10].

O objetivo do projeto foi confeccionar e caracterizar membranas fibrosas de PHB, através do método de fiação por sopro em solução ou *solution blow spinning*, visando desenvolver uma membrana que futuramente poderá ser utilizada nas técnicas de regeneração tecidual guiada e regeneração óssea guiada.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Polímeros

Polímeros são macromoléculas de elevado peso molecular formados por longas cadeias que apresentam unidades de repetição ou *meros*. Como o próprio nome sugere, os polímeros são substâncias formadas por muitas (poli) partes (meros) [11]. Os polímeros podem ser orgânicos ou inorgânicos, naturais ou sintéticos. Quando um polímero apresenta somente um tipo de monômero são denominados homopolímeros e os copolímeros são aqueles formados por mais de um tipo de monômero. Existem quatro classificações básicas para estes materiais: quanto à obtenção (naturais ou sintéticos), quanto à função química (polihidrocarbonetos, policarbonatos, poliésteres, poliamidas, etc), quanto à resistência mecânica (plásticos, fibras, borrachas e resinas) e quanto à aplicação tecnológica (termoplásticos, termorrígidos e elastômeros) [12].

Devido a sua facilidade de processamento e relativo baixo custo, os polímeros tem uma variedade de aplicações, por exemplo, na indústria de embalagem, na medicina, na odontologia, na indústria farmacêutica, na agricultura, na indústria de tintas e outros [13].

#### 2.1.1 Polímeros biocompatíveis

Na medicina e na odontologia, a engenharia de tecidos é a última técnica para o tratamento de tecidos lesionados. Esta área desenvolve materiais que podem substituir tecidos danificados por materiais biocompatíveis, chamados de biomateriais. A biocompatibilidade de um polímero é a capacidade que o material possui para permitir adesão e proliferação celular ao seu redor ou em seu interior [3]. Alguns testes permitem classificar os polímeros como biocompatíveis, por exemplo, quando o material entra em contato com qualquer tecido biológico esse não deve causar hemólise, ou seja, destruição das células sanguíneas e deve ter baixo nível de citotoxicidade, não causar toxicidade às células [7]. Com o aumento no interesse por biomateriais nos últimos anos, muitos

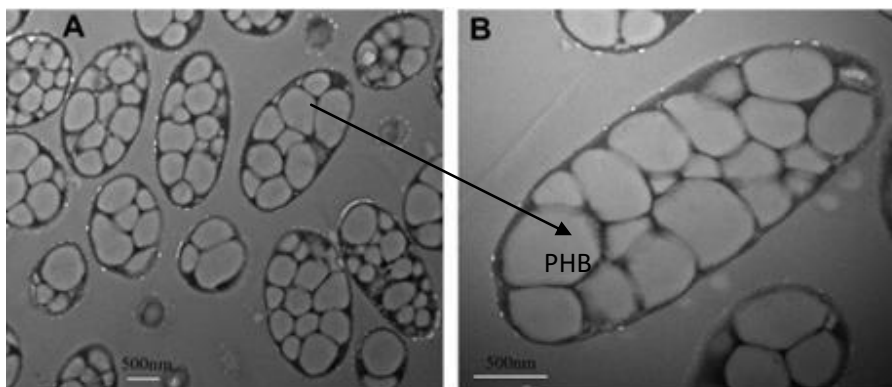
polímeros estão sendo testados e alguns já existem comercialmente para esse propósito [5,6].

Na área médica essa técnica já substitui músculo cardíaco, nervos, fragmentos ósseos em fraturas e pele [1-3]. Na odontologia, duas técnicas que fazem uso dos biomateriais são: a regeneração tecidual guiada que consiste na colocação de uma barreira (membrana) que separa, temporariamente, o epitélio gengival das estruturas de suporte dos dentes e a regeneração óssea guiada quando existe a necessidade de enxerto ósseo ao redor de implantes e rebordo edêntulo e, então, a colocação da barreira para excluir o tecido gengival do osso enxertado[5].

### 2.1.2 O poli (3-hidroxiacetato) (PHA)

Os polihidroxicanoatos (PHAs) são poliésteres classificados como biocompatíveis e biodegradáveis, sintetizados por várias espécies de bactérias como substâncias de reserva de energia e carbono [3]. Eles são produzidos em condições desfavoráveis, onde pelo menos um elemento essencial para o crescimento desses microrganismos esteja limitado e onde haja excesso de carbono [13]. Dentre os polihidroxicanoatos (PHAs), o poli-3-hidroxiacetato (PHA) é o homopolímero mais comumente produzido pelas bactérias (Figura 1A e 1B).

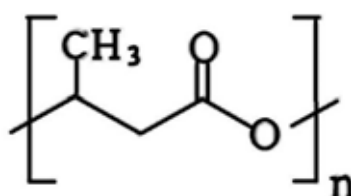
**Figura 1-** (A) Bactérias produtoras de PHA como reserva de energia. (B) Detalhe da célula bacteriana com presença de PHA.



Fonte: Tan et al. (2011)

Na área médica e odontológica o poli-3-hidroxi-butirato (PHB) e copolímeros de PHB e poli-3-hidroxi-valerato (PHBV) são utilizados em muitos dispositivos dentre eles, suturas, pinos ortopédicos, adesivos cardiovasculares, guias para reconstrução de nervos, stents [3], sistema de liberação de drogas [2] e membranas usadas nas técnicas de regeneração tecidual guiada e regeneração óssea guiada [8,15]. A fórmula mínima do PHB é (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>) e sua fórmula estrutural está representada na figura 2.

**Figura 2-** Fórmula estrutural do PHB.



**Fonte:** Nascimento (2008).

A massa molar do PHB varia de acordo com o tipo de bactéria utilizada, das condições de crescimento e forma de purificação do polímero. As propriedades físicas do PHB podem ser comparadas com a do polipropileno (PP) como descrito na tabela 1.

**Tabela 1- Comparação entre as propriedades do PP e PHB**

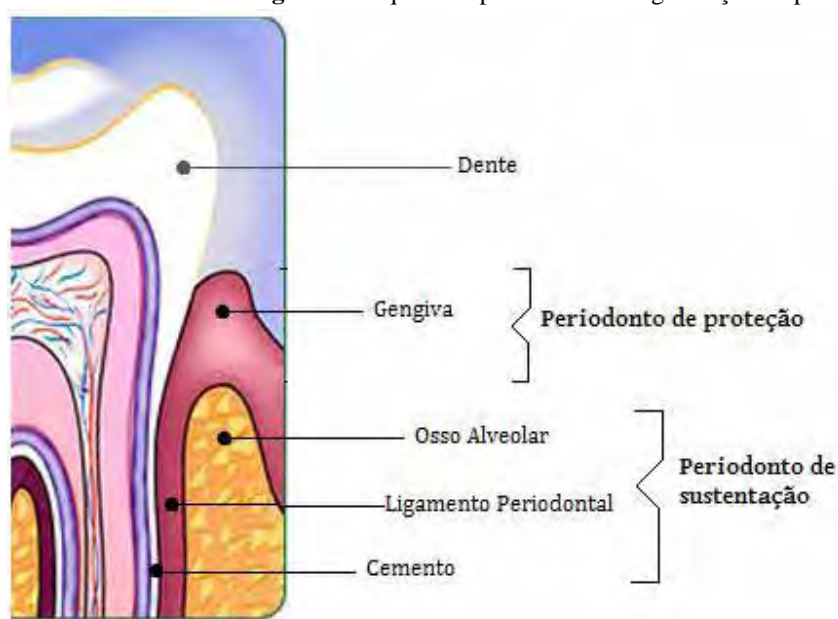
PROPRIEDADES	PP	PHB
Ponto de Fusão cristalino (°C)	176	178
Cristalinidade (%)	70	80
Transição Vítreia Tg (°C)	-10	5-10
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	0,905	1,25
Tensão de Ruptura (MPa)	38	40
Deformação de Ruptura (%)	400	6

**Fonte:** Nascimento e Hahn (2008).

## 2.2 O tecido periodontal

O periodonto compreende a gengiva, o ligamento periodontal, o osso alveolar e o cemento. Ele foi dividido em duas partes: periodonto de proteção, formado pela gengiva e periodonto de sustentação, composto pelo ligamento periodontal, cemento e osso alveolar [18]. A organização básica desses tecidos está representada na figura 3.

**Figura 3-** Esquema representando a organização do periodonto.



**Fonte:** Periodontia – Doenças, Prevenção e Tratamentos (2013).

### 2.2.1 Gengiva

A gengiva é parte da mucosa oral que recobre o osso alveolar e circunda o colo dos dentes. Ela é dividida em gengiva marginal, inserida e área interdental. Apesar das variações na histologia, diferenciação e espessura o principal papel desse tecido é formar uma barreira impedindo a penetração de microrganismos e agentes nocivos em tecidos mais profundos [20].

### 2.2.2 Ligamento periodontal

O ligamento periodontal é um tecido conjuntivo fibroso denso, altamente irrigado e inervado que circunda a raiz e a liga à parede interna do osso alveolar. Tem alta capacidade de renovação por apresentar uma grande população celular. Sua espessura é de aproximadamente 0,2mm e pode sofrer variações. O espaço periodontal pode ser aumentado quando o dente está em hiperfunção ou pode diminuir quando o dente não está em função [21].

### 2.2.3 Cimento

O cimento é um tecido mineralizado avascular que recobre as raízes dos dentes. É nele que as fibras do ligamento periodontal e da gengiva se inserem para manter o dente no alvéolo e para promover a separação do ambiente interno do externo, respectivamente [21].

### 2.2.4 Osso alveolar

É o tecido ósseo que forma o alvéolo dental. Ele é formado na erupção do dente promovendo a inserção óssea para o ligamento periodontal e desaparece gradualmente quando o dente é extraído. Este tecido é dependente da presença dentária, isso significa que, o tamanho, a forma e a localização são determinados pela função dos dentes [21].

## 2.3 A doença periodontal

A doença periodontal modifica as características morfológicas do osso e reduz a altura deste. Quando o osso é reduzido em altura, mas as margens ósseas continuam perpendiculares às superfícies dentárias, disse-se que a perda é horizontal. Quando o defeito acontece de forma inclinada e uma depressão côncava é formada na base do defeito, disse-se que essa perda óssea é vertical [22] (figura 4). Nos casos de perdas

ósseas verticais, pode-se utilizar a terapia de regeneração dos tecidos periodontais para reparar os danos causados pela doença. A regeneração é um processo natural de renovação de uma estrutura por meio do crescimento e diferenciação de novas células e substâncias intercelulares que darão origem ao mesmo tecido que foi destruído ou seu precursor [5].

**Figura 4-** Radiografia intra-oral ilustrando em A e B perda óssea horizontal e em C perda óssea vertical.



**Fonte:** Próprio autor.

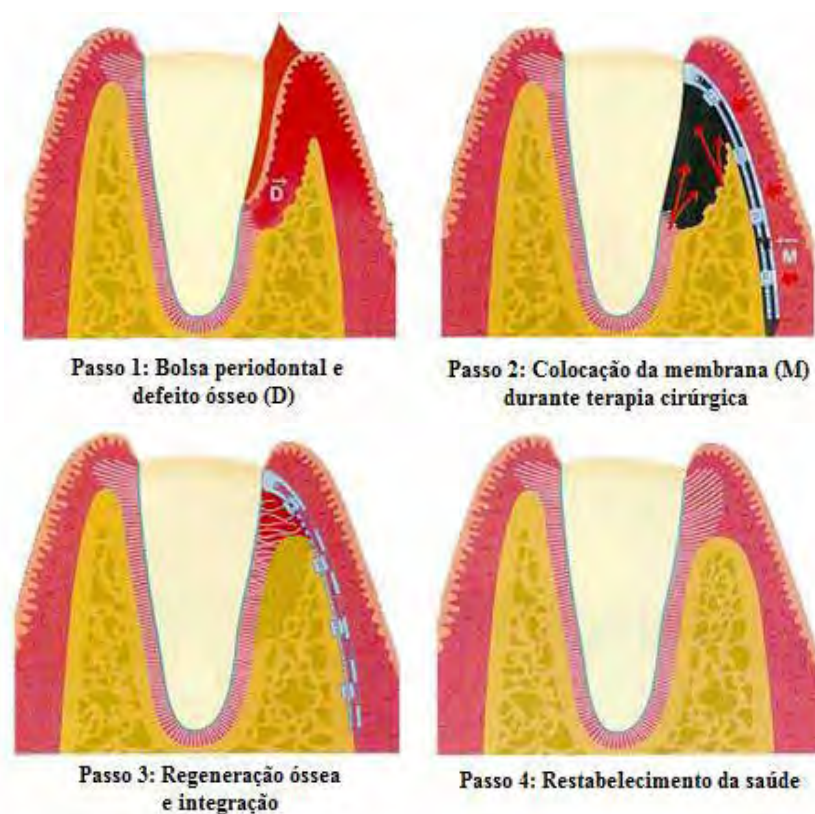
O sucesso da terapia regenerativa está relacionado com a exclusão do epitélio e do tecido conjuntivo gengival da área onde o defeito ósseo está localizado, já que somente as células do ligamento periodontal possuem o potencial de regenerar o periodonto de sustentação [23].

## 2.4 Regeneração Tecidual Guiada (RTG)

Esse método cirúrgico para o tratamento de defeitos ósseos verticais, principalmente, baseia-se no fato de que somente as células do ligamento periodontal possuem o potencial para regenerar o aparato de inserção do dente [23]. A RTG consiste na colocação de uma membrana, esquematizada na figura 5, que irá manter o espaço necessário para a cicatrização, impedindo a migração de células gengivais para a ferida

cirúrgica. Isso garante a repopulação das células progenitoras do osso e do ligamento periodontal, além de estabilizar o coágulo que serve de arcabouço para adesão celular [5].

**Figura 5-** Esquema representativo da cirurgia de Regeneração Tecidual Guiada (RTG).



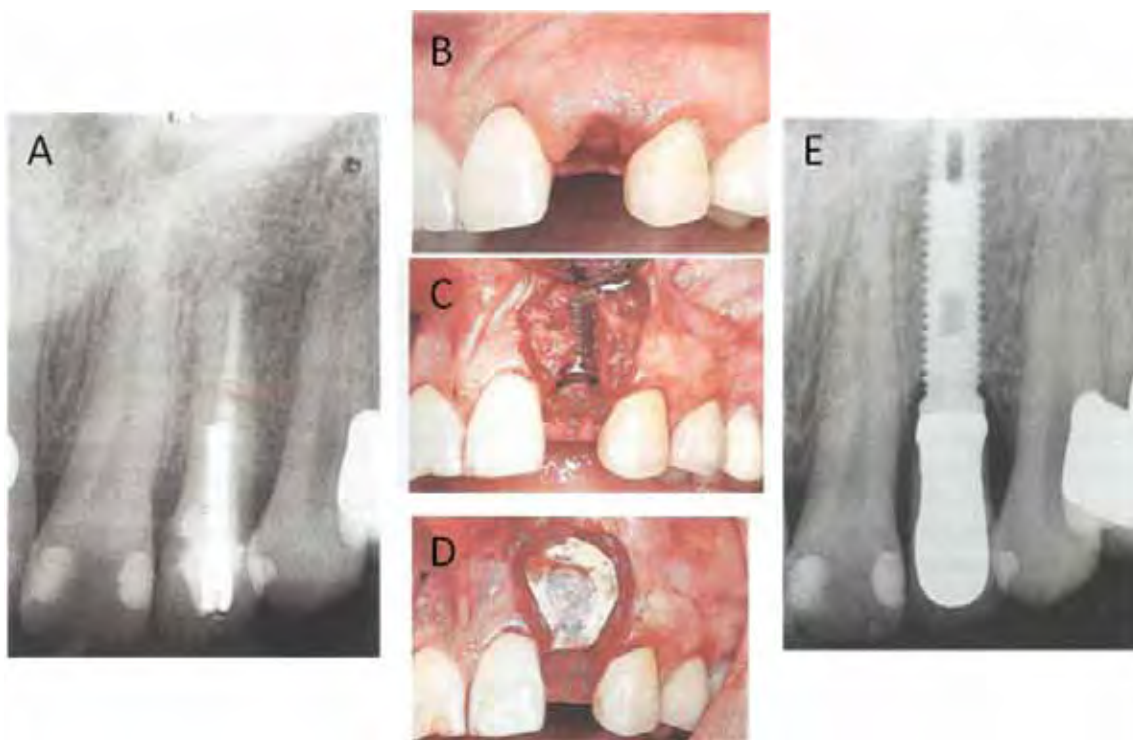
Fonte: Rosen (2011).

## 2.5 Regeneração Óssea Guiada (ROG)

O método cirúrgico é o mesmo, porém, o defeito ósseo é maior e, por isso, um material para enxertia faz-se necessário. Como materiais têm-se osso autógeno (osso proveniente do próprio indivíduo), osso alógeno (osso proveniente de indivíduos da mesma espécie) e osso xenógeno (osso proveniente de indivíduos de espécies diferentes) [5]. Na

técnica de ROG os princípios básicos da técnica de regeneração tecidual guiada são mantidos, sendo que a colocação da barreira para excluir as células da gengiva da ferida cirúrgica é essencial. Assim, a membrana além de estabilizar o coágulo, estabiliza, também, o material enxertado no defeito ósseo e permite que a área seja repovoada por células ósseas (osteoblastos), cementoblastos e fibroblastos presentes na porção gengival [5] como ilustrado na figura 6.

**Figura 6-** A, radiografia do defeito ósseo; B, extração do dente; C, colocação do implante na área com defeito ósseo; D, posicionamento da membrana de PTFE-e; E, radiografia final mostrando que a ROG foi conseguida.



**Fonte:** Klokkevold (2007).

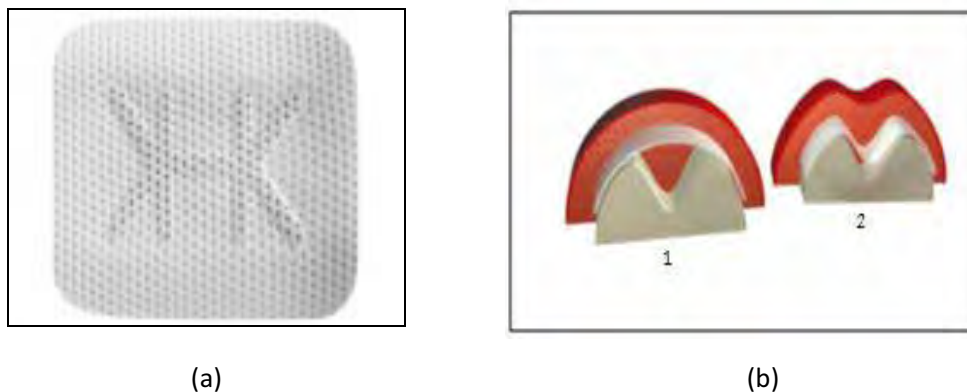
## 2.6 Membranas

Membranas são filmes finos que servem como barreiras para separar dois meios. Na odontologia elas são usadas nos procedimentos de regeneração descritos acima [5]. Elas podem ser densas ou porosas; não-reabsorvíveis ou reabsorvíveis; sintéticas ou naturais [7].

### 2.6.1 Membranas não-reabsorvíveis

A primeira membrana a ter sua utilização aprovada foi a membrana de politetrafluoretileno (PTFE) ou Teflon [5,7]. Esta membrana tem sido usada por mais de vinte anos por apresentar biocompatibilidade adequada para técnica de regeneração tecidual guiada (RTG) devido ao PTFE ser um polímero inerte, ter baixo coeficiente de atrito [12] e ser não-aderente. As membranas de politetrafluoretileno sofreram modificações e em 1984 surgiu no mercado a membrana de politetrafluoretileno expandido (PTFEe) fabricada pela GORE-TEX. Ela apresenta excelente biocompatibilidade [26] devido às características de sua superfície que é formada por múltiplas camadas de Teflon *nodes* com estrutura altamente orientada e as camadas são interconectadas por fibrilas. Este material permite a agregação celular e a troca de fluidos críticos pela presença dos poros. A membrana de PTFEe não causa inflamação e além de ser biocompatível também é osteocondutora, ou seja, serve como guia para o osso recém-formado. É osteoindutora (estimula a formação de novo tecido ósseo), já que segundo Piattelli [26] há crescimento ósseo dentro desta membrana. A membrana de PTFEe recebeu um reforço de titânio para aumentar a resistência à compressão dos tecidos moles e assegurar a manutenção do espaço adequado para a cicatrização do tecido ósseo em casos de perdas ósseas horizontais [7]. A figura 7(a) mostra uma membrana de PTFEe reforçada com titânio [27] e um esquema, figura 7(b), de como ela mantém o espaço adequado para a cicatrização óssea [28].

**Figura 7-** (a) Membrana de PTFEe reforçada com titânio. (b) Esquema representando a manutenção do espaço necessário em 1 e o colapso da membrana causado pela força de compressão dos tecidos moles em 2.



**Fonte:** Osteogenics biomedical (2013). Inion (2006)

Outro material não reabsorvível utilizado na fabricação de membranas biocompatíveis é o polifluoreto de vinilideno (PVDF) comercialmente denominado Millipore [29]. Sua superfície porosa (poros:  $5\mu\text{m}$ ) permite agregação e proliferação celular. Segundo estudos de Leprêtre e colaboradores [29], a incorporação de clorexidina, um agente antibacteriano, na membrana de PVDF é compatível com a técnica de RTG. A membrana modificada é favorável à proliferação, vitalidade e adesão celular, além de liberar grandes quantidades de bactericida por longo período, evitando a contaminação da membrana o que permite que o processo de cicatrização ocorra sem interferências.

A poliuretana derivada do óleo de mamona tem sido bastante usada na produção de dispositivos médicos como, por exemplo, implantes para preenchimento de falhas ósseas devido à sua biocompatibilidade. Este polímero quando acrescido de cálcio torna-se osteogênico e osteocondutor, porém não é osteoindutor [30]. Monteiro e colaboradores<sup>30</sup> utilizaram este material como membrana para uso em procedimentos de regeneração óssea guiada. Neste estudo os autores concluíram que a membrana de poliuretana apesar de apresentar reação inflamatória local moderada é biocompatível. Sua superfície sem poros diminui a retenção de células bacterianas, porém permite a formação de novo osso no interior do defeito e impede a migração de células epiteliais da gengiva para o interior da

ferida cirúrgica. Este polímero não apresentou nenhum sinal de reabsorção ou degradação durante o período estudado [30,31].

Embora essas membranas apresentem boa biocompatibilidade o fato de não serem biodegradáveis faz com que uma segunda etapa cirúrgica seja necessária para a sua remoção tornando seu uso mais dispendioso para o paciente e requerendo maior tempo de tratamento [5,7,26,31].

## 2.6.2 Membranas reabsorvíveis

A membrana ideal deve excluir as células epiteliais, manter o espaço necessário, ser biocompatível, ter facilidade de manuseio, ser bioativa e ser reabsorvível. Para atender este último requisito muitos estudos estão sendo realizados [31-40] e membranas reabsorvíveis naturais ou sintéticas já estão disponíveis no mercado (Gen-Derm; Bio-Gide; Avittene; Collistat; BioMend; Vicryl Periodontal Mesh; Atrisorb; Epi-Guide; Guidor) [5,7,38].

Dentre as membranas reabsorvíveis existe a classe das membranas naturais e a classe das membranas sintéticas. As membranas naturais são principalmente confeccionadas com colágeno [14]. As sintéticas são, geralmente, polímeros termoplásticos alifáticos orgânicos como, por exemplo, polímeros derivados do ácido polilático e do ácido poliglicólico [1,32,36,37,40-43].

### 2.6.2.1 Membranas naturais

A mais usada é a membrana de colágeno, pois exibe citocompatibilidade elevada, atrai e ativa células do ligamento periodontal, durante a cicatrização permite interação com células do tecido conjuntivo [44], é hemostática e o tempo de degradação é muito variável dependendo da origem do colágeno utilizado em seu processamento [7].

Essa variação na decomposição da membrana é um problema quando se trata de RTG, porque é necessário que a membrana permaneça com suas qualidades estruturais por

um determinado período (14 dias) [39]. Uma maneira de contornar este problema é a confecção de compósitos de colágeno com um polímero biocompatível e biodegradável [34,35].

Uma variedade de membranas de colágeno está disponível comercialmente. Membranas de colágeno de origem bovina são as mais conhecidas no mercado, mas existem aquelas de colágeno de origem suína [7].

Uma membrana preparada com quitosana e hidroxiapatita com superfície lisa de um lado e rugosa de outro preveniu a migração apical do epitélio gengival, além disso, promoveu o crescimento de células progenitoras ósseas e do ligamento periodontal no interior do defeito ósseo, ou seja, essa membrana é osteoindutora e osteocondutora [39]. Ademais, a quitosana possui propriedades hemostáticas, antifúngicas, antibacterianas e antitumorais que auxiliam no processo de cicatrização. Suas propriedades mecânicas são compatíveis com a técnica de RTG [39].

#### 2.6.2.2 Membranas reabsorvíveis sintéticas

A maioria dos materiais reabsorvíveis sintéticos são polímeros termoplásticos alifáticos orgânicos derivados dos ácidos polilático e poliglicólico [40,41,43,45]. Porém, a degradação desses polímeros produz ácidos causando inflamação nos tecidos adjacentes à membrana. Com a queda de pH, a regeneração óssea se torna deficiente [7].

A primeira membrana reabsorvível lançada no mercado foi a Guidor que era constituída de ácido polilático e acetil tributílcitrato. Porém esta membrana foi retirada do mercado por razões desconhecidas [5].

A partir daí muitas outras membranas reabsorvíveis foram introduzidas no mercado como a Vicryl Mesh (Ethicon, USA) feita de poliglactina 910, outra constituída de copolímero de ácido glicólico e lático (Resolute, Atrisorb, Epi-Guide, Inion) [5,7,38]. A figura 8 mostra diferentes formatos das membranas Inion [28].

**Figura 8-** Diferentes formatos das membranas Inion



**Fonte:** Inion (2006)

Para reduzir a toxicidade dos produtos formados pela degradação dos polímeros derivados desses ácidos, muitos pesquisadores estão desenvolvendo membranas modificadas com hidroxiapatita, nano-apatita e fosfato beta-tricálcio [32,34,38,40,41,50]. Com a adição de hidroxiapatita notou-se uma compensação na diminuição do pH no sítio do compósito, quando comparado com o polímero sem adição de hidroxiapatita [45]. Já a adição de nano-apatita ou cristais de apatita, além de neutralizar os ácidos formados na degradação dos poliésteres torna a membrana mais bioativa, contribuindo para a proliferação de células osteoblásticas [38,41]. A incorporação de fosfato beta-tricálcio em compósitos derivados dos ácidos polilático e poliglicólico manteve as propriedades mecânicas num grau maior ou igual às dos polímeros puros e resultou num efeito de manutenção de pH [40].

Em vários estudos poli 1,3- carbonato de trimetileno (PTMC), um elastômero amorfo, tem sido uma boa alternativa para a fabricação de membranas devido a sua elasticidade, bom desempenho mecânico combinado com uma degradação lenta em ambientes aquosos e degradação rápida pela via enzimática *in vivo* [1,35]. Dependendo da escolha do polímero que formará um compósito com o PTMC a taxa de degradação e a forma que o compósito se degrada serão alteradas possibilitando, assim, a confecção de arcabouço para variados fins (reconstrução de condutos nervosos, reparo de músculo cardíaco) [35].

Os compósitos de polímeros biodegradáveis sintéticos e naturais têm recebido crescente interesse por suas aplicações na área biomédica [34,39,45,46]. Em estudos *in*

*in vitro* ficou demonstrado que compósitos de polivinil álcool e amido (PVA/Amido), o primeiro sintético e o segundo natural, são biocompatíveis e biodegradáveis. Seu comportamento mecânico foi satisfatório, ou seja, conseguiu manter o espaço necessário para a cicatrização, atendendo os requisitos para RTG [46].

Outra classe de polímeros utilizada na engenharia de materiais é a dos poliésteres produzidos por microorganismos em condições desfavoráveis, os polialcanoatos (PHA). Nos últimos anos, muitos dispositivos incluindo suturas, pinos ortopédicos, adesivos cardiovasculares, guias para reconstrução de nervos, stents, sistema de liberação de drogas e membranas para regeneração tecidual guiada, foram criados usando PHA, em especial o poli 3-hidroxiбутирато (PHB) e copolímeros de poli 3-hidroxiбутирато e poli 3-hidroxiуалерато (PHBV) [2,3,8,15].

Os polialcanoatos são, geralmente, biodegradáveis e possuem boa biocompatibilidade. O PHB e o PHBV demonstraram altos níveis de adesão celular possibilitando sua aplicação como membranas na técnica de RTG e ROG [15]. Nestes polímeros podem ser incorporadas partículas de hidroxiapatita ou fosfato tricálcio para aumentar a bioatividade e a biodegradação da membrana nos procedimentos de regeneração e reconstituição óssea [3], uma vez que essas partículas neutralizam o ácido formado pela degradação dessas membranas [32,40]. Modificações na superfície da membrana podem melhorar a biocompatibilidade e promover melhor adesão e proliferação celular [35,37].

Uma das maneiras de modificar a superfície das membranas é através da técnica de fabricação das mesmas, por exemplo, fabricação de membranas por inversão de fases que produz membranas porosas [35], modificação com antibióticos [29] e confecção de membranas fibrosas [9,10,47-49].

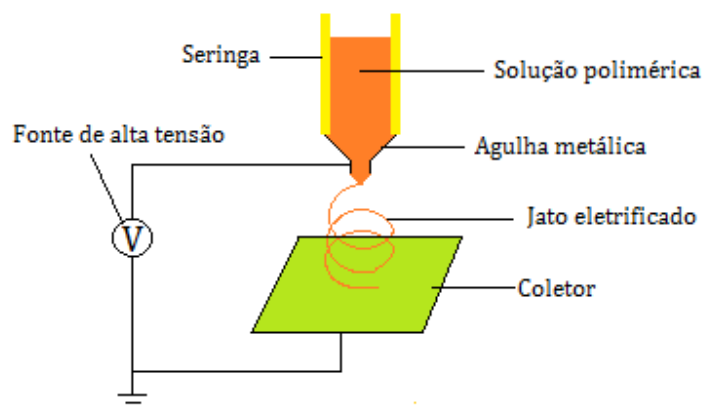
## 2.7 Técnicas para obtenção de membranas fibrosas

Existem várias maneiras para confeccionar membranas fibrosas, por exemplo, os métodos de melt spinning, electrospinning, melt blowing. O mais utilizado é o método por electrospinning [50]. Porém, recentemente, em 2009, uma nova técnica foi desenvolvida para a produção de nanofibras denominada de solution blow spinning ou fiação por sopro em solução [9,10]. A seguir serão discutidas as técnicas de electrospinning e a solution blow spinning.

### 2.7.1 Electrospinnig ou eletrofiação

Este processo, primeiramente, proposto por Formhals [50] em 1934 consiste na fabricação de filamentos artificiais a partir de uma solução contendo algum sólido dissolvido que é gotejada em direção a um campo elétrico formado entre dois eletrodos. Este método voltou a ser explorado, atualmente, devido à sua capacidade de formar nanofibras a partir de diferentes materiais, como por exemplo, os polímeros [32,47-49]. Como mostrado na figura 9 o aparato utilizado para eletrofiação é formado por uma fonte de alta tensão (5 – 50 kV) que gera o campo elétrico entre a agulha e o coletor metálico controlando a deposição das fibras [47].

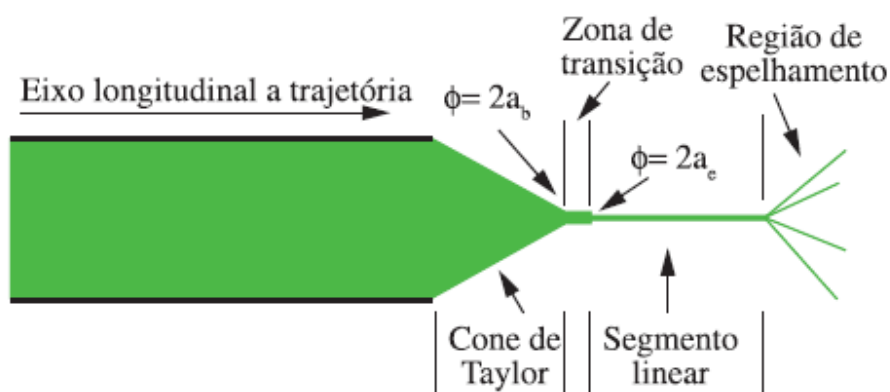
**Figura 9** - Diagrama do mecanismo utilizado na técnica de *electrospinning*.



**Fonte:** Próprio autor.

O cone de Taylor é formado devido à aplicação de um potencial elétrico cada vez maior sobre a gota da solução até esta atingir um formato aproximadamente cônico, então um jato eletrificado sai pela ponta do cone em direção ao coletor [51]. Durante o percurso o jato de solução polimérica é estirado e seu diâmetro diminui. Quando o jato se distancia do cone de Taylor, as tensões geradas pelas forças elétricas na superfície da solução equiparam-se com a força longitudinal gerando instabilidade no jato e formando a zona de espalhamento [52]. Neste processo o solvente utilizado é evaporado e fibras com diâmetros reduzidos são depositadas no coletor [48,49]. A figura 10 ilustra as regiões distintas propostas por Reneker e Yarin [51] para descrever o trajeto do jato polimérico na técnica de eletrofição.

**Figura 10-** Detalhe da solução polimérica sendo ejetada da agulha em direção ao coletor.

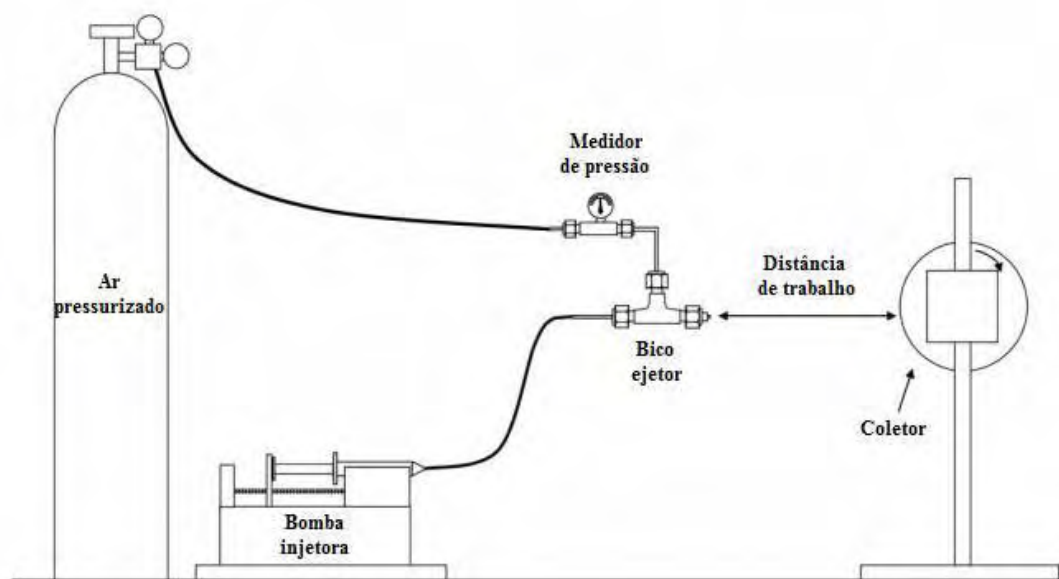


**Fonte:** Costa (2012)

### 2.7.2 Solution blow spinning ou fiação por sopro em solução.

Esta técnica de preparação de fibras consiste na injeção (20-200 $\mu$ L/min) de uma solução polimérica para o interior de uma corrente de ar [9]. O aparato utilizado nesta técnica está esquematizado na figura 11 e contém uma fonte de ar comprimido, uma seringa para bombear a solução polimérica, um bico contendo um orifício central por onde passará a solução polimérica e orifícios concêntricos onde o ar é ejetado e um coletor cilíndrico com velocidade de rotação controlada.

**Figura 11-** Esquema do aparato utilizado no *solution blow spinning*.

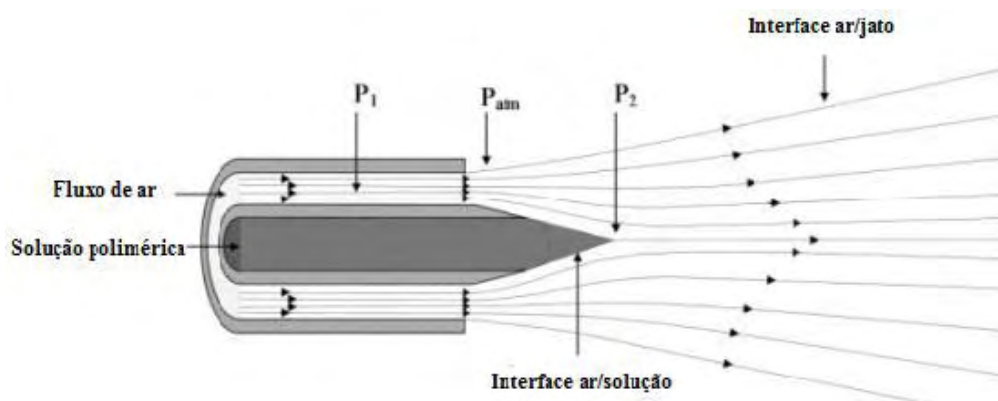


**Fonte:** Medeiros (2009)

A aceleração da solução polimérica é causada pela força de tração criada pela queda na pressão no centro do jato e o aumento na velocidade do ar. Este aumento na velocidade é

ocasionado pelo aumento da energia cinética da corrente de ar que acontece quando o ar pressurizado passa pelo bico externo e ocorre uma diminuição na pressão [9]. Essa alta velocidade também é responsável pela deformação da solução polimérica contida no bico interno para uma forma cônica como demonstrado na figura 12.

**Figura 12-** Diagrama representando o design do bico ejetor.



**Fonte:** Medeiros (2009)

Quando essas forças superam as tensões de superfície, um fino jato de solução polimérica é lançado ao coletor. Durante este trajeto o solvente utilizado na fabricação da solução polimérica evapora e o que é captado no coletor são fibras poliméricas com diâmetros reduzidos [9].

Essa técnica pode ser executada com uma taxa de injeção mais elevada quando comparada com o electrospinning diminuindo, assim, o tempo de trabalho. Ademais, não é necessário equipamento de alta voltagem, nem fica restrito o uso de polímeros resistentes ao calor, além disso, os filmes podem ser facilmente coletados em diversos alvos, incluindo tecidos vivos [9,10].

Alguns parâmetros, assim como na eletrofiação, alteram a morfologia das fibras sintetizadas pela técnica de fiação por sopro em solução.

A concentração da solução polimérica tem um papel importante na formação das fibras porque se a solução for muito diluída as moléculas em excesso do solvente tendem a ficar aglomeradas fazendo com que as fibras não cheguem secas ao coletor formando, assim, um filme contínuo. Quando a concentração é aumentada e as tensões de superfície são baixas as moléculas do solvente tem melhor interação com as cadeias poliméricas diminuindo a aglomeração das moléculas do solvente reduzindo a formação de *beads* ou contas ao longo das fibras [10].

A vazão da solução polimérica quando em valores ideais tendem a baixar o diâmetro das fibras. Porém, quando a taxa de alimentação é muito alta pode acontecer o entupimento da agulha interna do bico ejetor pela solidificação do polímero. Quando essa taxa é muito baixa ocorre instabilidade no jato porque a solução polimérica é arrastada para o coletor com taxa maior do que a taxa de alimentação. Entretanto, esses valores ideais se alteram para cada tipo de polímero e concentração da solução utilizada [10].

Oliveira e colaboradores [10] nos estudos sobre a influência da pressão sobre a formação e morfologia das fibras poliméricas no processo de fiação por sopro em solução encontraram que quando a pressão do ar de arraste é baixa ocorre um aumento na espessura das fibras e na sua distribuição afetando negativamente o processo de fiação devido ao entupimento do bico ejetor acontecer com maior frequência. Quando a pressão do ar é maior, o diâmetro das fibras diminui em consequência da maior taxa de evaporação do solvente.

Esses parâmetros também foram testados nos estudos de Medeiros e colaboradores [9] e resultados semelhantes foram encontrados. Segundo este estudo, a taxa de injeção da solução não afeta significativamente o diâmetro das fibras, porém, acima de 60 $\mu$ l/min houve uma consistência maior na espessura das fibras para taxas de produção maiores. Abaixo de 20 $\mu$ l/min, o fluxo na agulha interna do bico ejetor não foi contínuo. A variação da pressão tem baixa influência no diâmetro da fibra. Para baixa pressão as fibras perdem velocidade e não tem força para atingir o coletor. Houve um aumento na espessura da fibra com o aumento da pressão de 69kPa para 276kPa, porém para pressões mais altas o diâmetro diminui [9]. Como pode ser observado pelos estudos de Medeiros e Oliveira [9,10], o parâmetro que mais influencia a formação e a morfologia das fibras é a

concentração da solução polimérica. Para baixas concentrações existe a formação de finas fibras com presença de contas. Aumentando a concentração a espessura da fibra aumenta e fibras mais lisas são formadas. Entretanto, se a concentração for muito grande pode ocorrer o entupimento do bico ejetor pela solidificação do polímero na ponta da agulha. Resumindo o tipo de polímero e a concentração da solução polimérica são os fatores que mais afetam a morfologia das fibras, porém os parâmetros vazão e pressão precisam estar em equilíbrio para produção de fibras com espessura ideal, ou seja, sem a formação de *beads*.

## 3 Materiais e Método

### 3.1 Materiais utilizados

#### 3.1.1 Polímero

O polímero polihidroxibutirato (PHB) foi fornecido pela PHB Industrial na forma de pó. Este poliéster foi utilizado sem nenhum tratamento prévio.

#### 3.1.2 Solvente

O solvente usado na preparação da solução de PHB foi clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) produzido pela Synth.

#### 3.1.2 Glicose

A glicose utilizada como soluto para preparar a solução em água destilada foi adquirida da Synth (D-glicose anidra).

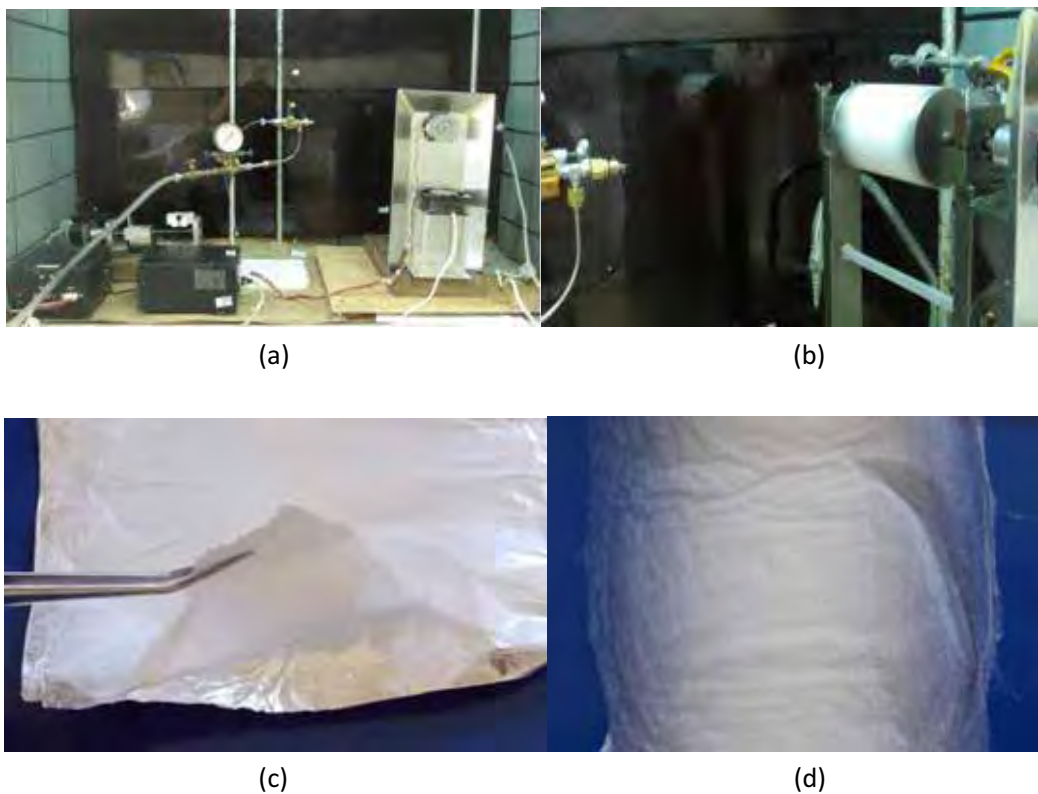
## 3.2 Método

### 3.2.1 Obtenção do filme

Para a confecção do filme (membrana) de PHB, soluções com concentrações de 8%, 10% e 12% (m/v) foram preparadas dissolvendo o pó de PHB em clorofórmio, em agitação constante por 24 horas. Nas primeiras 3 horas, a temperatura foi mantida em 60°C, nas horas seguintes a agitação foi feita em temperatura ambiente.

Com o uso de uma seringa hipodérmica plástica da BD de 3 ml, essa mesma quantidade de solução foi aspirada e colocada no equipamento de “solution blow spinning”, figura 12(a) e 12(b), localizado no Laboratório do GPOL – Grupo de polímeros/Unesp-Ilha Solteira-SP, para a obtenção da membrana. Este sistema contém uma unidade de ar comprimido, uma bomba para controlar a taxa de injeção de solução ( $\beta$ ), um instrumento para regular a pressão do ar de arraste (P) e um coletor metálico cilíndrico que foi revestido com papel alumínio para facilitar a remoção do filme. Todas as membranas foram confeccionadas com 3ml da solução polimérica (PHB e clorofórmio), figura 12(c) e 12 (d). A distância de trabalho foi de 21 centímetros e calibrou-se o equipamento para injetar a solução com uma vazão de 110, 135 e 150  $\mu\text{L}/\text{min}$ , variou-se, também, a pressão do ar: 120kPa, 140kPa, 160kPa e 200kPa. Todas essas variáveis foram aplicadas para cada concentração.

**Figura 13-** (a) Fotografia do equipamento de “solution blow spinning” localizado no Laboratório do GPOL – Grupo de polímeros/Unesp-Ilha Solteira-SP.. (b) Detalhe do bico ejetor e coletor com membrana. (c) Membrana sendo removida do papel alumínio. (d) Detalhe da membrana destacada.



**Fonte:** Próprio autor.

### 3.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As análises foram realizadas num equipamento da TA Instrument modelo MDSC 2920, com uma rampa de temperatura de  $-10$  até  $220^{\circ}\text{C}$ . Primeiro aquecimento de  $-10^{\circ}\text{C}$  a  $190^{\circ}\text{C}$ , isoterma de 2 minutos, resfriamento a  $-10^{\circ}\text{C}$  seguido de isoterma de 2 minutos e segundo aquecimento até  $220^{\circ}\text{C}$ . A razão de aquecimento utilizada foi de  $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$  numa atmosfera de nitrogênio. Aproximadamente, 5,5g de material foram colocados em panelinhas de alumínio para realização desse ensaio. Este ensaio tem como objetivo observar o comportamento térmico do polímero.

### 3.2.2.1 Grau de Cristalinidade

O grau de cristalinidade do polímero é estimado porque polímeros mais cristalinos apresentam maior dureza e maior resistência a tração. Para obter os valores referentes ao grau de cristalinidade do polímero utilizou-se a fórmula representada pela equação 1:

$$X_c = f \frac{\Delta H_f}{\Delta H_t} \times 100\%$$

Eq. 1

Onde,  $X_c$  é o grau de cristalinidade,  $f$  é a fração em massa do PHB que neste caso é igual a 1,  $\Delta H_f$  é o valor da entalpia de fusão obtida e  $\Delta H_t$  é o valor teórico da entalpia de fusão para o PHB 100% cristalino cujo valor é 146J/g [52].

### 3.2.3 Difratomia de Raios-X (DRX)

O equipamento utilizado foi um Shimadzu, modelo XRD-6000, com comprimento de onda de 0,1542 nm, em temperatura ambiente, num intervalo de 10° a 32°, com taxa de 0,5°/min, com o objetivo de observar a estrutura cristalina do polímero.

### 3.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O equipamento utilizado foi o EVO LS15 da ZEISS. As amostras foram fixadas em um porta-amostra através de uma fita de carbono. A metalização das amostras foi feita através da deposição de ouro nas mesmas por 1,5 minutos utilizando a técnica de “sputtering”. Esta técnica visa à observação da morfologia das amostras e medir o diâmetro médio das fibras utilizando o programa ImageJ.

### 3.2.5 Estimativa da quantidade de poros

Para a estimativa da quantidade de poros, quadrados de um centímetro de lado das amostras foram pesadas e suas espessuras foram medidas para cálculo do volume da amostra sem poros e volume da amostra com poros, respectivamente, utilizando as seguintes equações [53].

$$\text{Porosidade}(\%) = \left\{ \frac{[\text{volume com poros}(\text{m}^3) - \text{volume sem poros}(\text{m}^3)]}{\text{volume com poros}(\text{m}^3)} \right\} \times 100 \quad \text{Eq. 2}$$

$$\text{Volume com poros} = \text{largura} \times \text{comprimento} \times \text{espessura} \quad \text{Eq. 3}$$

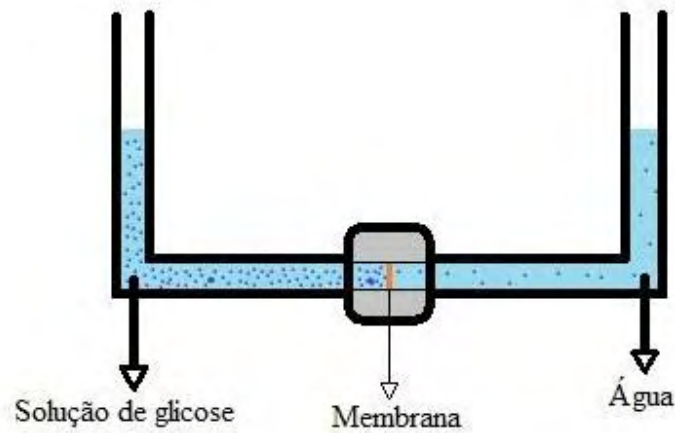
$$\text{Volume sem poros} = \frac{\text{massa}}{\text{densidade}} \quad \text{Eq. 4}$$

Onde: Densidade PHB = 1,25g/cm<sup>3</sup> ou 1,25x10<sup>6</sup>g/m<sup>3</sup>

### 3.2.6 Transporte de nutrientes

Para avaliar a membrana de PHB como material para a engenharia de tecidos, foi utilizado o teste de permeabilidade de glicose. A glicose é um nutriente utilizado pelas células por isso sua difusão através da membrana foi testada [53]. A figura 14 esquematiza o equipamento para identificar a difusão da glicose através da membrana. Para este experimento soluções de 500mg/dL de glicose em água destilada foram preparadas. Em um dos compartimentos (doador) foi colocado 10ml da solução de glicose e no outro (receptor) foi colocado 10ml de água. A membrana foi colocada no meio dos dois compartimentos.

**Figura 14-** Esquema representativo do dispositivo de difusão de glicose.



**Fonte:** Próprio autor.

Antes da colocação da membrana esta foi deixada em álcool etílico e depois lavada com água destilada para garantir que a membrana estivesse completamente molhada [53]. A cada quatro horas uma gota de solução foi retirada do receptor e a concentração de glicose foi determinada utilizando um sistema de controle de diabetes, modelo Optimum Xceed da marca Abbott até completar sessenta horas.

Devido à diferença de concentração entre os compartimentos, a glicose passa através da membrana do compartimento doador para o receptor. A quantidade de glicose que passa através da membrana *versus* tempo está relacionada com a porosidade e a interconectividade dos poros da membrana. A permeabilidade ( $P$ ) pode ser calculada através da equação [54]:

$$P(m^2 s^{-1}) = \frac{m \times l}{\Delta C \times S} \quad \text{Eq.5}$$

onde,  $m$ , é a quantidade de glicose que passou pela membrana após um tempo  $t$ ,  $l$  é a espessura da membrana,  $\Delta C$  é a diferença de concentração entre receptor e doador e  $S$  é a área da membrana.

## 4 Resultados e Discussão

Os resultados apresentados foram obtidos a partir dos experimentos realizados neste projeto com o objetivo de encontrar as melhores condições para a obtenção da membrana fibrosa de PHB. Foi necessário o estudo de vários parâmetros de fabricação das membranas que será discutido a seguir.

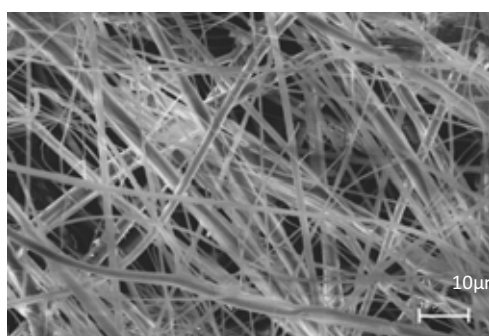
### 4.1 Influência da concentração da solução polimérica na formação de fibras.

Micrografias (magnitude de 3000 vezes) das membranas obtidas com concentrações de 8%, 10% e 12% (m/v) de PHB estão representadas nas figuras 15a, 15c e 15e, respectivamente. Observa-se nas figuras 15b, 15d e 15f que o diâmetro das fibras diminui quando se mantêm fixos a pressão, a distância de trabalho e a vazão (140kPa, 21cm e 150 $\mu$ l/min, respectivamente) e há redução na concentração de polímero na solução.

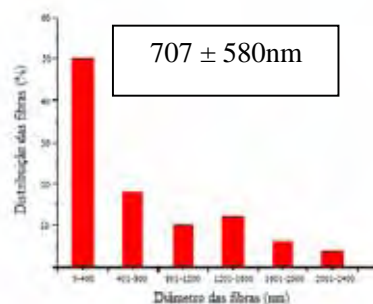
Para a concentração de 8% (m/v) nota-se que a relação polímero-solvente está adequada para os parâmetros que se mantiveram constante, pois as fibras formadas não apresentam contos e aproximadamente 50% delas possuem diâmetro na faixa de 0 a 400nm. O diâmetro médio, para esses parâmetros foi de 707nm e o desvio padrão foi de 580nm. A figura 15c ilustra as fibras obtidas para a concentração de 10% (m/v). Observa-se grande quantidade de fibras lisas e que nestas condições para a fabricação do filme houve maior variação no diâmetro das fibras (figura 15d). Além disso, o diâmetro médio encontrado foi de 1043nm e o desvio padrão foi de 504nm o que representa um aumento de 48% em relação à condição anterior. Aumentando ainda mais a concentração 12% (m/v) aparecem gotas (aglomerados de polímero) em meio as fibras de maior calibre quando comparadas com as fibras formadas na fabricação dos filmes com concentrações de 8% e 10% (m/v). O surgimento dessas gotas é consequência da solidificação do polímero logo na saída do bico ejetor devido à evaporação da pequena quantidade de solvente presente na solução. O diâmetro médio das fibras para esta condição é 48% maior que o valor do diâmetro médio das fibras encontrado nas membranas confeccionadas com concentração de 10% (m/v).

Experimentos realizados com concentrações de 5% e 15% (m/v) e mantendo-se a pressão a 140kPa, vazão 150 $\mu$ L/min e distância de trabalho em 21cm mostraram que nessas concentrações não se obtém êxito na formação de filmes fibrosos. Com a concentração de 5% existe muito solvente na solução e esta não apresenta viscosidade suficiente para a formação das fibras. Com concentração de 15% de PHB, não se obtém membrana, porque ocorre o entupimento da agulha interna do bico ejetor.

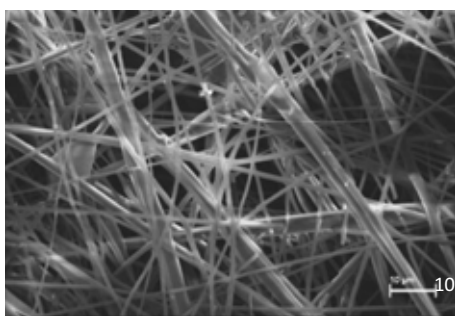
**Figura 15-** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros: D= 21cm, P=140kPa e  $\beta$ =150 $\mu$ L/min, onde (a) c=8%; (c) c=10%; (e) c=12%. Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas de 8%, 10% e 12% estão representados em (b), (d) e (f), respectivamente.



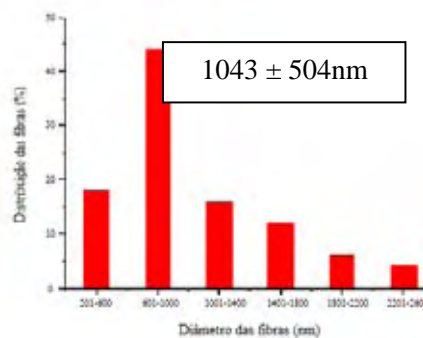
(a)



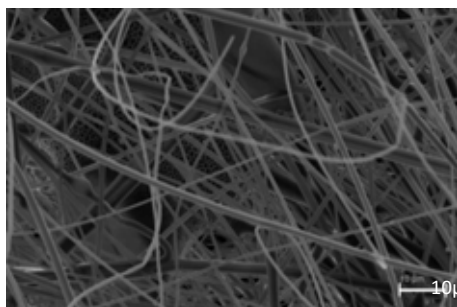
(b)



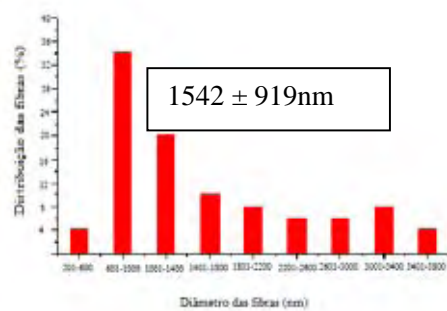
(c)



(d)



(e)



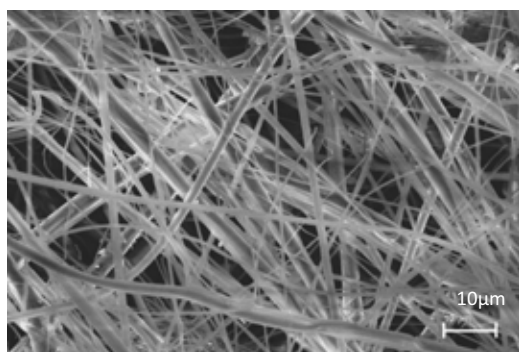
(f)

Fonte: Próprio autor.

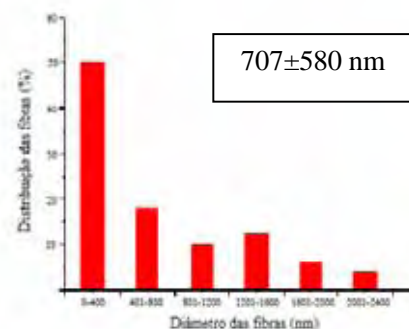
## 4.2 Influência da pressão

O efeito da pressão na morfologia das fibras poliméricas foi estudado variando-se a concentração da solução e mantendo fixos os parâmetros distância de trabalho,  $D=21\text{cm}$ , taxa de vazão,  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ . Nas figuras 16a e 16c estão as micrografias obtidas por MEV para a concentração de 8% (m/v) e pressão 140kPa e 200kPa, respectivamente. Como relatado por Oliveira [10] a pressão exerce pouca influência no diâmetro das fibras, porém, com o aumento da pressão houve um decréscimo no valor do diâmetro médio de  $707\pm 580\text{nm}$  para  $587\pm 425\text{nm}$  para esta concentração. Para a pressão de 200kPa observa-se um aumento na quantidade de fibras formadas e uma redução na variação da espessura das fibras.

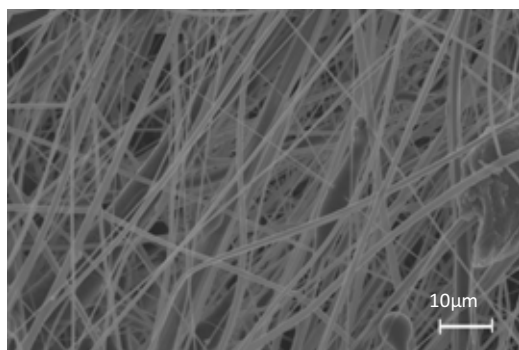
**Figura 16-** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros:  $D=21\text{cm}$ ,  $c=8\%$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , onde (a)  $P=140\text{kPa}$  e (c)  $P=200\text{kPa}$ . Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas para as pressões de  $140\text{kPa}$  e  $200\text{kPa}$  estão representados em (b) e (d), respectivamente.



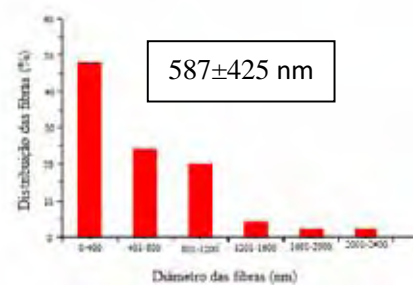
(a)



(b)



(c)

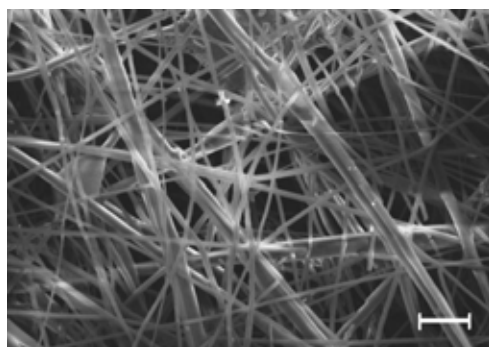


(d)

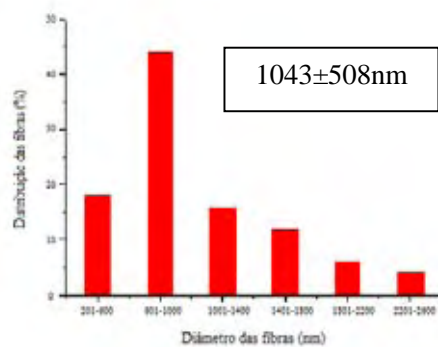
**Fonte:** Próprio autor.

A figura 17, representa a membrana com  $c=10\%$  (m/v),  $D=21\text{cm}$ , vazão  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$  e pressões  $P=140\text{kPa}$  (17a) e  $P=200\text{kPa}$  (17c). A obtenção de fibras lisas foi alcançada, entretanto para essa concentração o aumento de pressão causou um aumento de aproximadamente, 12% no diâmetro médio das fibras como ilustrado pelas figuras 17b e 17d,  $P=140\text{kPa}$  e  $P=200\text{kPa}$ , respectivamente.

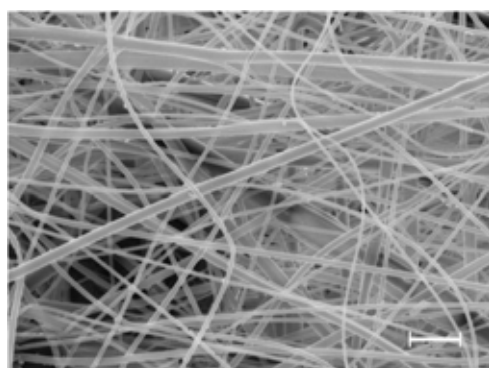
**Figura 17:** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros:  $D=21\text{cm}$ ,  $c=10\%$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , onde (a)  $P=140\text{kPa}$  e (c)  $P=200\text{kPa}$ . Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas para as pressões de  $140\text{kPa}$  e  $200\text{kPa}$  estão representados em (b) e (d), respectivamente.



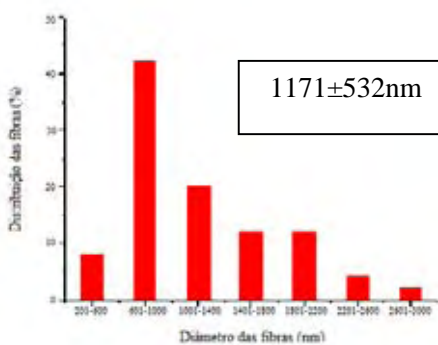
(a)



(b)



(c)



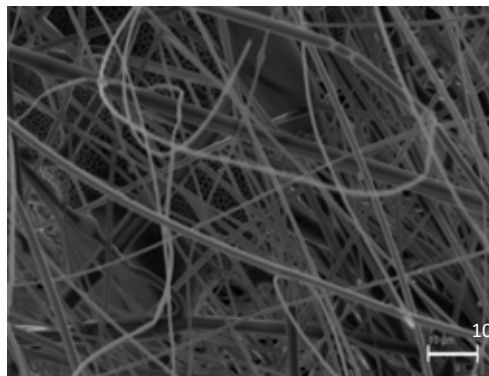
(d)

**Fonte:** Próprio autor.

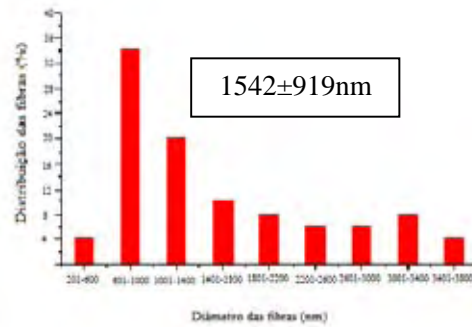
Para a concentração de  $12\%$  (m/v) e os outros parâmetros mantidos fixos, pode-se observar o mesmo comportamento que para a concentração de  $10\%$  (m/v), elevando a pressão de  $140\text{kPa}$  para  $200\text{kPa}$  o valor médio do diâmetro das fibras aumenta ilustrado pelos gráficos das figuras 18b e 18d, respectivamente. Com o aumento da concentração aumenta a viscosidade da solução e consequentemente diminui a taxa de cisalhamento. Aumentando a pressão a evaporação do solvente, é mais rápida e consequentemente as

fibras tendem a ser mais grossa. As figuras 18a (P=140kPa) e 18c (P=200kPa), mostram fibras sem a formação de *beads*.

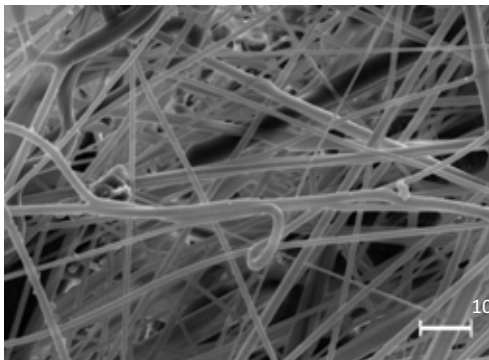
**Figura 18-** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros:  $D=21\text{cm}$ ,  $c=12\%$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , onde (a)  $P=140\text{kPa}$  e (c)  $P=200\text{kPa}$ . Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas para as pressões de 140kPa e 200kPa estão representados em (b) e (d), respectivamente.



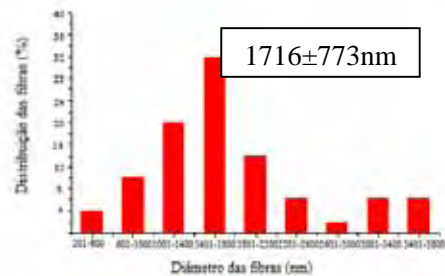
(a)



(b)



(c)



(d)

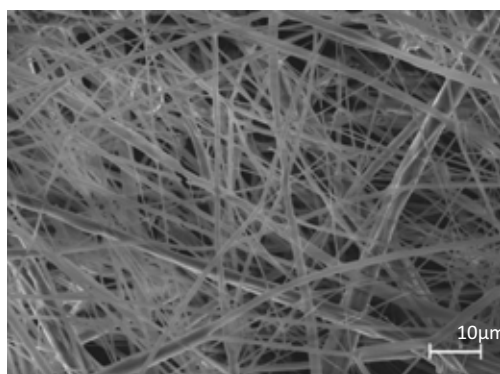
Fonte: Próprio autor

### 4.3 Influência da vazão

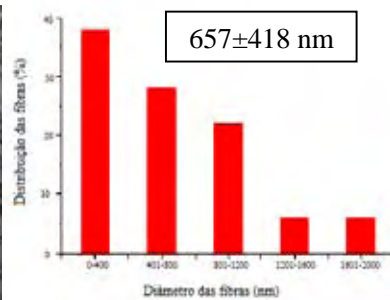
A vazão é um parâmetro que interfere no diâmetro e na distribuição das fibras no filme. Para avaliar esta dependência foram aplicadas diferentes vazões para a fabricação das membranas mantendo constante a distância de trabalho,  $D=21\text{cm}$  e a pressão,  $P=140\text{kPa}$ .

As figuras 19a, 19c e 19e, representam as micrografias das membranas de PHB obtidas mantendo-se fixos os parâmetros já mencionados, concentração de 8% (m/v) e variando as vazões,  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ ,  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , respectivamente. As figuras 19b ( $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ ), 19d ( $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$ ) e 19f ( $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ ) mostram os histogramas de distribuição de fibras e nos *insets* os respectivos valores de diâmetro médio das fibras. Observa-se que para as vazões  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$  e  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$ , houve um aumento no diâmetro das fibras e menor heterogeneidade em comparação com a vazão  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ . Aumentando a concentração observa-se que há um aumento no diâmetro das fibras e também de defeitos, como ilustra as figuras 20 e 21. Para uma dada concentração a melhor vazão é aquela que produz fibras com menor distribuição de diâmetro. Nesta condição há um equilíbrio entre a vazão e o fluxo de ar que arrasta as fibras fazendo que o cone seja bastante estável, ou seja, não ocorre o entupimento do bico ejetor nem a solução polimérica é arrastada para o coletor com taxa maior do que a taxa de alimentação. Estes resultados estão em concordância com os obtidos por Oliveira *et al* [10] onde ele avaliou os parâmetros de vazão, pressão e concentração na formação de fibras de *Poly(D,L-Lactide)* pela técnica de “solution blow spinning”.

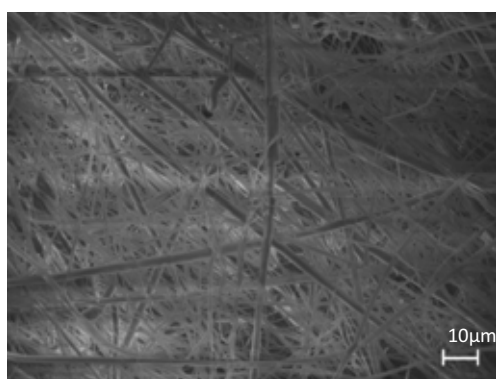
**Figura 19-** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros:  $D=21\text{cm}$ ,  $c=8\%$  e  $P=140\text{kPa}$ . (a)  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ , (c)  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$  e (e)  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ . Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas para as vazões de  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ ,  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , estão representados em (b), (d) e (f), respectivamente.



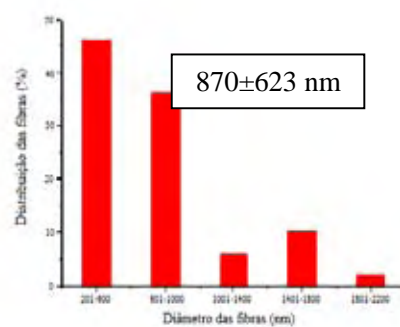
(a)



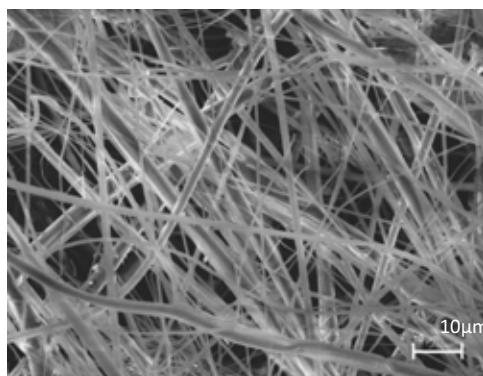
(b)



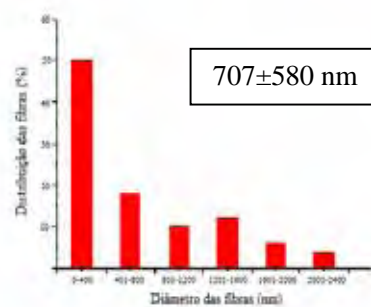
(c)



(d)



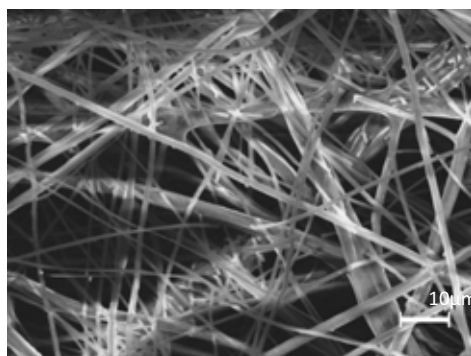
(e)



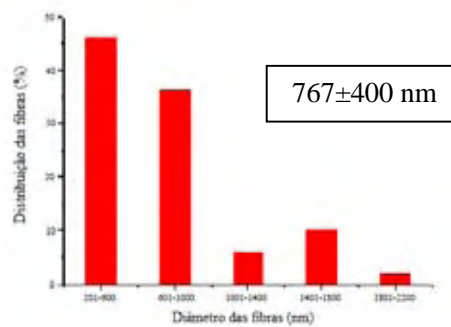
(f)

Fonte: Próprio autor.

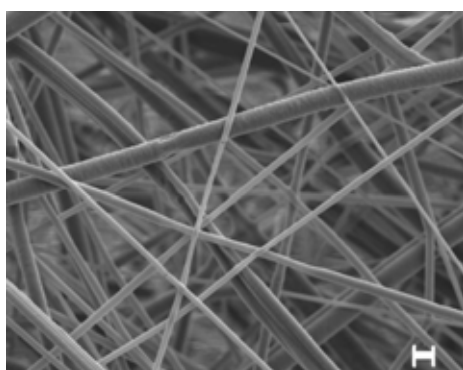
**Figura 20:** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros:  $D=21\text{cm}$ ,  $c=10\%$  e  $P=140\text{kPa}$ . (a)  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ , (c)  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$  e (e)  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ . Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas para as vazões de  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ ,  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , estão representados em (b), (d) e (f), respectivamente.



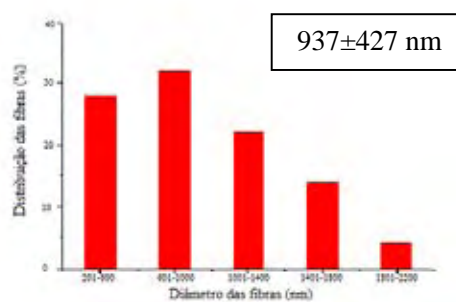
(a)



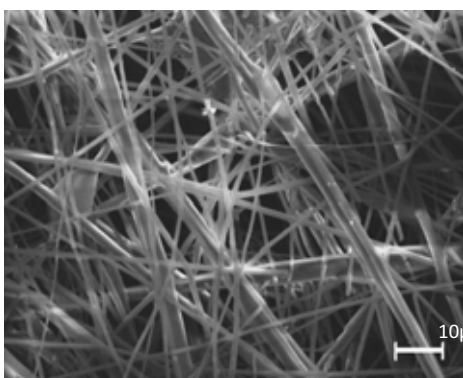
(b)



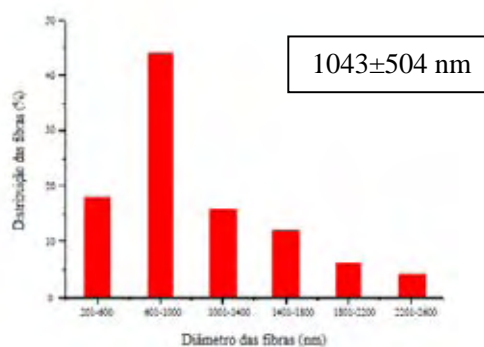
(c)



(d)



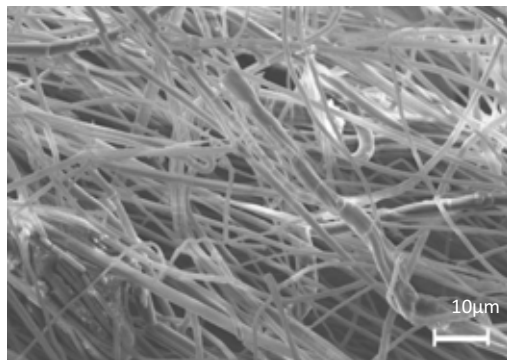
(e)



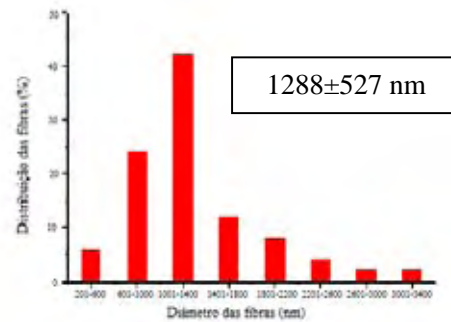
(f)

Fonte: Próprio autor.

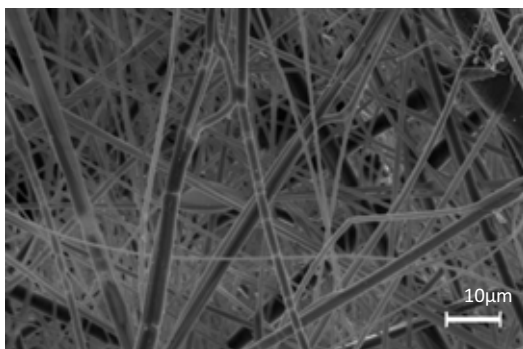
**Figura 21-** Micrografias dos filmes de PHB obtidos através de “solution blow spinning” mantendo-se fixos os parâmetros:  $D=21\text{cm}$ ,  $c=12\%$  e  $P=140\text{kPa}$ . (a)  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ , (c)  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$  e (e)  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ . Os gráficos de distribuição dos diâmetros das fibras e seus valores médios nas membranas para as vazões de  $\beta=110\mu\text{L}/\text{min}$ ,  $\beta=135\mu\text{L}/\text{min}$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ , estão representados em (b), (d) e (f), respectivamente.



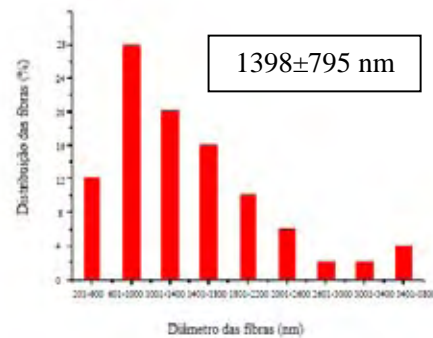
(a)



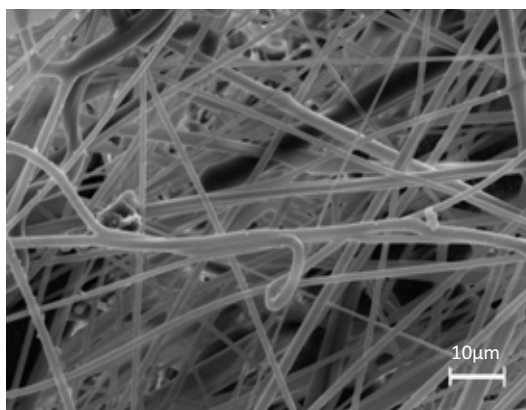
(b)



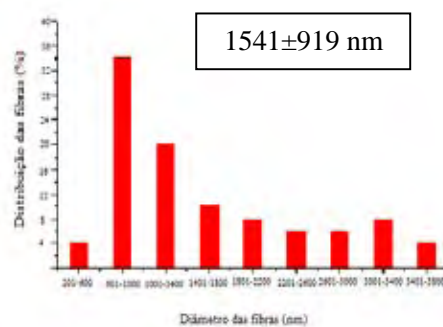
(c)



(d)



(e)



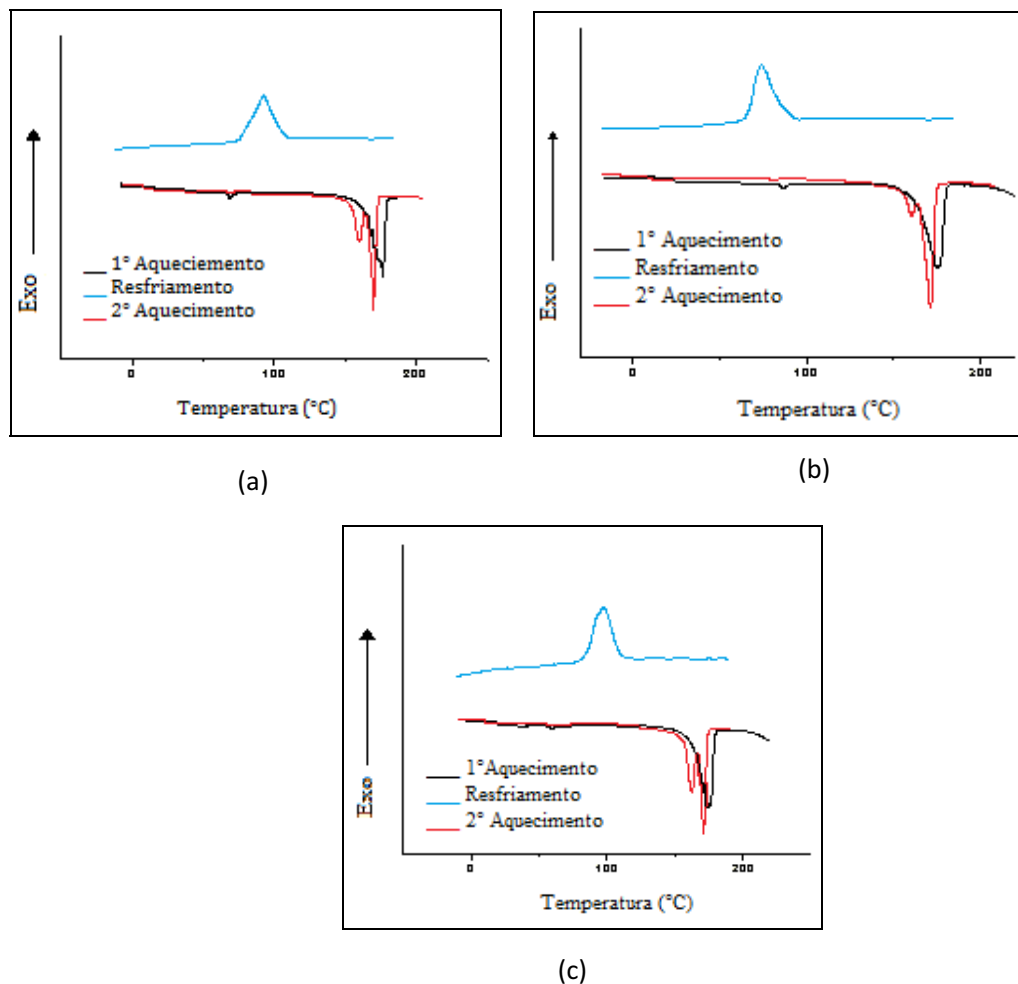
(f)

Fonte: Próprio autor.

#### 4.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Na figura 22 tem-se as curvas de DSC para os filmes de PHB confeccionados com concentrações de 8%, 10% e 12% (m/v), com vazão de 150 $\mu$ L/min e pressão 140kPa. Pode-se observar que todas as curvas apresentam o mesmo perfil independente da concentração. No segundo aquecimento observa-se a presença de dois picos. Isto ocorre devido à cisão aleatória das cadeias poliméricas devido ao tratamento térmico realizado, alterando assim a distribuição do peso molecular do polímero. Essa diferença de peso molecular resulta na formação de cristais de tamanhos diferentes que no segundo aquecimento eles se fundem aparecendo no termograma como dois picos de fusão distintos [55].

**Figura 22-** Curvas de DSC (taxa 5°C/min) para membranas confeccionadas com pressão de 140kPa e vazão de 150 $\mu$ L/min e concentração de PHB de 8% (a); 10% (b) e 12% (c).



**Fonte:** Próprio autor.

A temperatura de transição vítrea do PHB não foi possível detectar nas medidas de DSC, porém seu valor, segundo a literatura, está entre 3°C e 5°C [55]. Houve um pequeno aumento na temperatura de fusão do PHB com a diminuição da concentração como ilustra a tabela 2. Notou-se que os picos relacionados às temperaturas de fusão no segundo aquecimento deslocaram-se para menores valores em relação aos picos relativos à temperatura de fusão do PHB no primeiro aquecimento como mostra a tabela 2. Isso ocorre devido à degradação do PHB pois sua janela de processabilidade é pequena [56].

**Tabela 2- Valores normalizados extraídos dos termogramas de DSC para diferentes filmes de PHB.**

Filme fibroso de PHB	T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>f1</sub> (°C)	T <sub>f2</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	ΔH <sub>f1</sub> (J/g)	ΔH <sub>f2</sub> (J/g)	ΔH <sub>c</sub> (J/g)	X <sub>c1</sub> (%)	X <sub>c2</sub> (%)
140KPa/150μL/min/8%	---	176	170	92	96	95	88	66	65
140KPa/150μL/min/10%	---	175	171	74	88	85	53	60	58
140kPa/150μL/min/12%	---	173	171	97	93	92	89	64	63

\*Temperatura de transição vítrea (T<sub>g</sub>); Temperatura de fusão no primeiro aquecimento (T<sub>f1</sub>); Temperatura de fusão no segundo aquecimento (T<sub>f2</sub>); Temperatura de cristalização (T<sub>c</sub>); entalpia de fusão referente ao primeiro aquecimento (ΔH<sub>f1</sub>); entalpia de fusão referente ao segundo aquecimento (ΔH<sub>f2</sub>); entalpia de cristalização (ΔH<sub>c</sub>); grau de cristalinidade referente à entalpia de fusão do primeiro aquecimento (X<sub>c1</sub>) e do segundo aquecimento (X<sub>c2</sub>). O grau de cristalinidade foi calculado considerando a entalpia de fusão teórica do PHB 100% cristalino que corresponde a 146 J/g.

**Fonte:** Próprio autor.

Para calcular o grau de cristalinidade (X<sub>c</sub>) é preciso o uso dos parâmetros entalpia de fusão (ΔH<sub>f</sub>) como mostrado na equação 1. O grau de cristalinidade das amostras indica se o material é mais amorfo ou mais cristalino [12]. Observou-se que não houve significativa variação entre o primeiro aquecimento e o segundo aquecimento para nenhuma das membranas analisadas, ou seja, o processo de fabricação e o tratamento térmico não modificaram o grau de cristalinidade da membrana que está em torno de 60%. Quanto maior o grau de cristalinidade maior a resistência à tração, maior dureza e menor solubilidade do polímero [12].

A porcentagem de porosidade para as membranas fibrosas foram estimadas para diferentes parâmetros de confecção das amostras como ilustra a tabela 3. Analisando os

dados verifica-se que as três grandezas, pressão, vazão e concentração influenciam na porosidade do filme. A maior variação foi encontrada para a concentração de 8% (m/v) onde se obteve o valor de porosidade de 61,10% para a relação 200kPa e 150 $\mu$ L/min e no outro extremo o valor de 70,70% para a relação 140kPa e 150 $\mu$ L/min. De uma maneira geral verifica-se que a porosidade aumenta com o aumento da concentração. Verifica-se que para a concentração de 8%, 10% e 12% (m/v) a porosidade variou de 61,10% a 70,70%; 68,90% a 72,00%; 71,20% a 73,50%, respectivamente. Solução polimérica mais diluída produz, de uma maneira geral, fibras de diâmetro menores e, portanto sendo mais compactadas diminuindo assim a porosidade da membrana.

**Tabela 3- Valores utilizados para obtenção da porosidade (%) das membranas fibrosas de PHB.**

Amostra	Largura (m)	Comprimento (m)	Espessura (m)	Massa (g)	Volume com poros (m <sup>3</sup> )	Volume sem poros (m <sup>3</sup> )	Porosidade (%)
200kPa/150 $\mu$ L/min (12%)	0,01	0,01	150x10 <sup>-6</sup>	5,1x10 <sup>-3</sup>	1,50 x10 <sup>-8</sup>	4,08 x10 <sup>-9</sup>	72,80
200kPa/110 $\mu$ L/min (12%)	0,01	0,01	160 x10 <sup>-6</sup>	5,3 x10 <sup>-3</sup>	1,60 x10 <sup>-8</sup>	4,24 x10 <sup>-9</sup>	73,50
200kPa/135 $\mu$ L/min (12%)	0,01	0,01	150 x10 <sup>-6</sup>	5,0 x10 <sup>-3</sup>	1,50 x10 <sup>-8</sup>	4,00 x10 <sup>-9</sup>	73,30
140kPa/135 $\mu$ L/min (12%)	0,01	0,01	110 x10 <sup>-6</sup>	3,7 x10 <sup>-3</sup>	1,10 x10 <sup>-8</sup>	2,96 x10 <sup>-9</sup>	73,10
140kPa/110 $\mu$ L/min (12%)	0,01	0,01	100 x10 <sup>-6</sup>	3,6 x10 <sup>-3</sup>	1,00 x10 <sup>-8</sup>	2,88 x10 <sup>-9</sup>	71,20
140kPa/150 $\mu$ L/min (12%)	0,01	0,01	110 x10 <sup>-6</sup>	3,9 x10 <sup>-3</sup>	1,10 x10 <sup>-8</sup>	3,12 x10 <sup>-9</sup>	71,60
200kPa/135 $\mu$ L/min (8%)	0,01	0,01	50 x10 <sup>-6</sup>	2,1 x10 <sup>-3</sup>	5,00 x10 <sup>-9</sup>	1,68 x10 <sup>-9</sup>	66,40
200kPa/110 $\mu$ L/min (8%)	0,01	0,01	50 x10 <sup>-6</sup>	2,3 x10 <sup>-3</sup>	5,00 x10 <sup>-9</sup>	1,84 x10 <sup>-9</sup>	63,20
200kPa/150 $\mu$ L/min (8%)	0,01	0,01	35 x10 <sup>-6</sup>	1,7 x10 <sup>-3</sup>	3,5 x10 <sup>-9</sup>	1,36 x10 <sup>-9</sup>	61,10
140kPa/135 $\mu$ L/min (8%)	0,01	0,01	60 x10 <sup>-6</sup>	2,3 x10 <sup>-3</sup>	6,00 x10 <sup>-9</sup>	1,84 x10 <sup>-9</sup>	69,30
140kPa/110 $\mu$ L/min (8%)	0,01	0,01	50 x10 <sup>-6</sup>	2,1 x10 <sup>-3</sup>	5,00 x10 <sup>-9</sup>	1,68 x10 <sup>-9</sup>	66,40

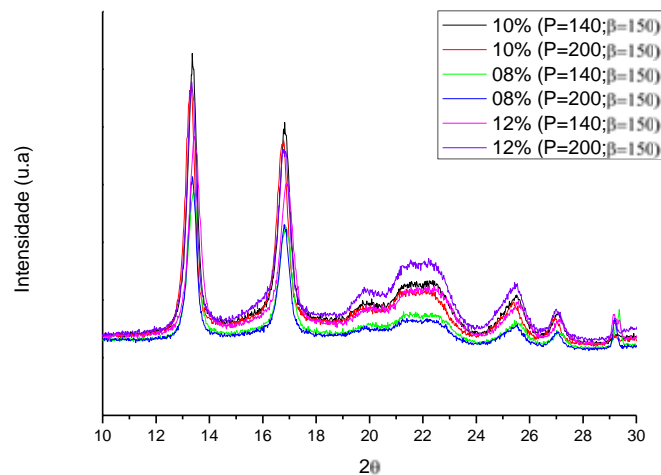
140kPa/150 μL/min (8%)	0,01	0,01	$60 \times 10^{-6}$	$2,2 \times 10^{-3}$	$6,00 \times 10^{-9}$	$1,76 \times 10^{-9}$	70,70
200kPa/135 μL/min (10%)	0,01	0,01	$100 \times 10^{-6}$	$3,5 \times 10^{-3}$	$1,00 \times 10^{-8}$	$2,80 \times 10^{-9}$	72,00
200kPa/110 μL/min (10%)	0,01	0,01	$90 \times 10^{-6}$	$3,5 \times 10^{-3}$	$9,00 \times 10^{-9}$	$2,80 \times 10^{-9}$	68,90
200kPa/150 μL/min (10%)	0,01	0,01	$100 \times 10^{-6}$	$3,6 \times 10^{-3}$	$1,00 \times 10^{-8}$	$2,88 \times 10^{-9}$	71,20
140kPa/135 μL/min (10%)	0,01	0,01	$100 \times 10^{-6}$	$3,7 \times 10^{-3}$	$1,00 \times 10^{-8}$	$2,96 \times 10^{-9}$	70,40
140kPa/110 μL/min (10%)	0,01	0,01	$100 \times 10^{-6}$	$3,7 \times 10^{-3}$	$1,00 \times 10^{-8}$	$2,96 \times 10^{-9}$	70,40
140kPa/150 μL/min (10%)	0,01	0,01	$110 \times 10^{-6}$	$3,9 \times 10^{-3}$	$1,10 \times 10^{-8}$	$3,12 \times 10^{-9}$	71,60

Fonte: Próprio autor.

#### 4.5 Difractometria de Raios-X (DRX)

Como mencionado, anteriormente, o PHB é um polímero semi-cristalino. Fato este que pode ser demonstrado por difratometria de raios-x (DRX). A figura 23 apresenta os difratogramas obtidos das membranas de PHB fixando-se a vazão ( $\beta$ ) e variando a concentração (c) e a pressão (P). Pode-se observar dois picos bem definidos de cristalinidade em  $2\theta=13,5^\circ$  e  $2\theta= 16,9^\circ$ . Outros picos característicos do PHB estão em  $2\theta= 22,4^\circ$ ,  $2\theta= 25,6^\circ$  e  $2\theta= 27,2^\circ$  [56] porém estes aparecem com menos intensidade. Nota-se que não existe deslocamento desses picos o que afirma que não existe variação na estrutura cristalina independente dos parâmetros usados para a fabricação dos filmes.

**Figura 23-** Difratomogramas de raio-x de filmes de PHB obtidos com uma mesma vazão ( $\beta$ ) e variando-se a concentração e pressão.

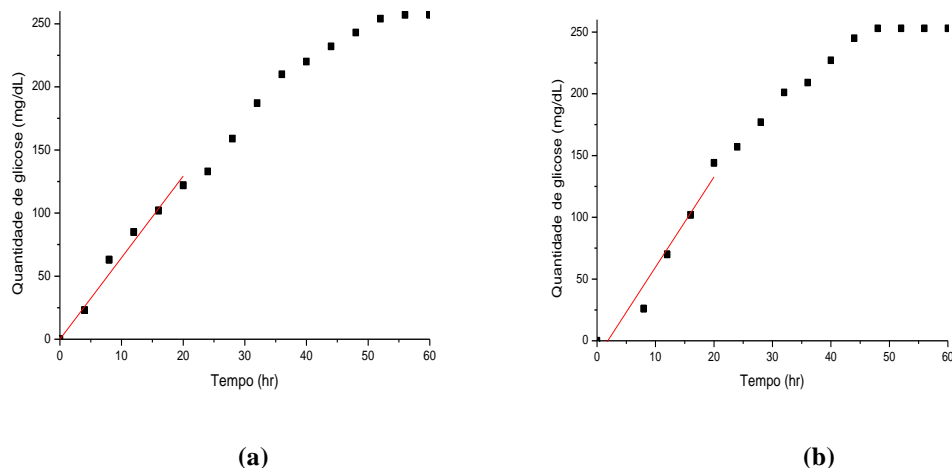


**Fonte:** Próprio autor.

#### 4.6 – Transporte de nutrientes

A figura 24a e 24b mostram os gráficos da quantidade de glicose em função do tempo para a membrana de 8% (m/v) e P=140kPa e 200kPa, respectivamente, onde a vazão foi mantida constante ( $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ ). Como se pode observar na figura 24b, o uso da membrana de 8% (P=200kPa) fez com que o tempo para começar a se detectar glicose no compartimento receptor fosse maior quando comparado com a membrana de 8% (P=140kPa), figura 24a. Isto ocorre devido à variação na porcentagem de poros de 70,70% para 61,10% quando se mantém constante a concentração e a vazão e com variação de pressão de 140kPa para 200kPa, respectivamente. A estimativa da quantidade de poros é um bom indicativo para a difusão, porém não é determinante. Ela não indica se existe interconectividade entre os poros que é o fator mais influente na difusão da glicose pela membrana [53].

**Figura 24-a)** Gráfico da quantidade de glicose (mg/dL) em função do tempo (hr), para a membrana de 8% (m/v) e P= 140kPa;  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ ; **b)** gráfico da quantidade glicose (mg/dL) em função do tempo (hr), para a membrana de 8% (m/v) e P= 200kPa;  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ .



**Fonte:** Próprio autor.

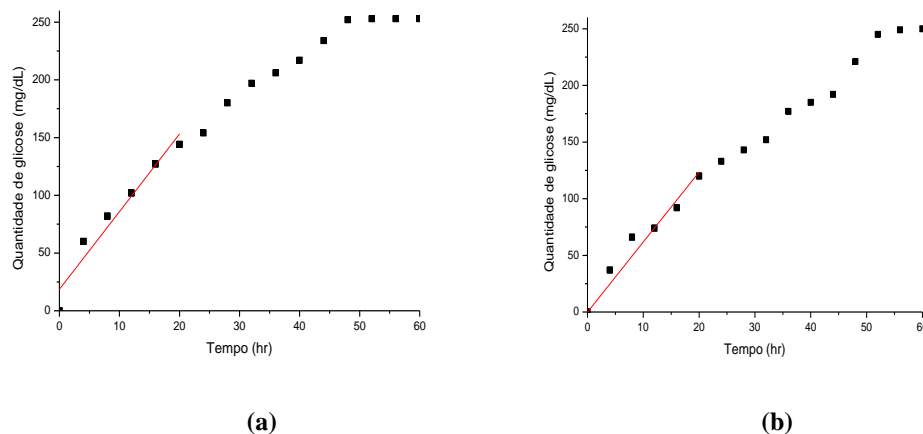
A tabela 4 mostra a permeabilidade da glicose através das membranas. Nota-se que as membranas de 8% possuem os menores coeficientes de difusão. E de modo geral as membranas de 12% possuem os maiores. A exceção ocorre com a membrana de 10% (P=140kPa e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ ) que apresenta a maior difusão de glicose.

**Tabela 4-** Difusão de glicose através das membranas de PHB ( $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ ), utilizando uma solução de glicose de 500mg/dL.

Membrana	Porosidade	Permeabilidade ( $\text{m}^2/\text{s}$ )
C=08%, P=140kPa	70,7%	$1,14 \times 10^{-11}$
C=08%, P=200kPa	61,1%	$6,92 \times 10^{-12}$
C=10%, P=140kPa	71,6%	$2,65 \times 10^{-11}$
C=10%, P=200kPa	71,2%	$1,79 \times 10^{-11}$
C=12%, P=140kPa	71,2%	$2,36 \times 10^{-11}$
C=12%, P=200kPa	72,8%	$2,37 \times 10^{-11}$

**Fonte:** Próprio autor.

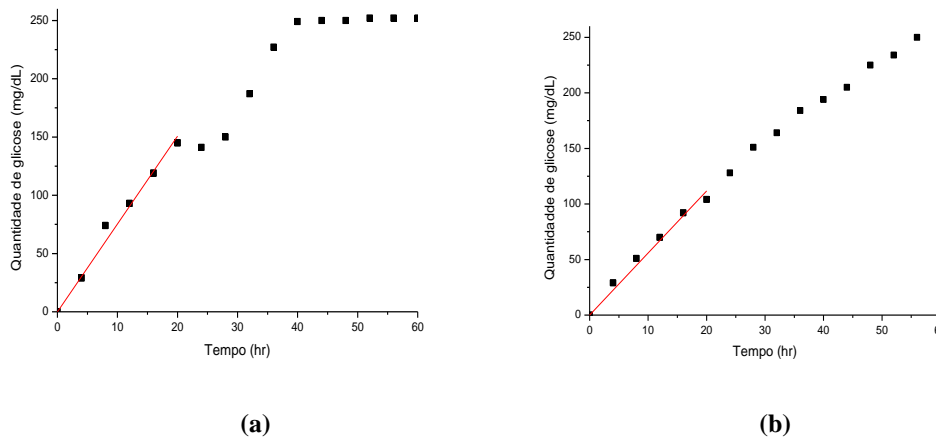
**Figura 25-** a) Gráfico da quantidade de glicose (mg/dL) em função do tempo (hr), para a membrana de 10% (m/v) e  $P=140\text{kPa}$ ;  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$  b) gráfico da quantidade glicose (mg/dL) em função do tempo (hr), para a membrana de 10% (m/v) e  $P=200\text{kPa}$ ;  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ .



**Fonte:** Próprio autor.

A figura 25a mostra que a difusão da glicose ocorre mais rapidamente do que na figura 25b. O coeficiente de difusão da glicose através da membrana de 10% ( $P=140\text{kPa}$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ ) é, aproximadamente, uma vez e meia maior que o coeficiente de difusão através da membrana de 10% ( $P=200\text{kPa}$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ ). Esta diferença não está relacionada com a estimativa da porcentagem de poros já que a porcentagem varia de 71,60% para 71,20% da membrana de 10% ( $P=140\text{kPa}$  e  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ ) para a membrana 10% ( $P=200\text{kPa}$  e ;  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ ), respectivamente. Então, esta diferença na difusão da glicose deve estar relacionada com a interconectividade dos poros.

**Figura 26-** **a)** Gráfico da quantidade de glicose (mg/dL) em função do tempo (hr), para a membrana de 12% (m/v) e P= 140kPa; **b)** gráfico da quantidade glicose (mg/dL) em função do tempo (hr), para a membrana de 12% (m/v) e P= 200kPa.

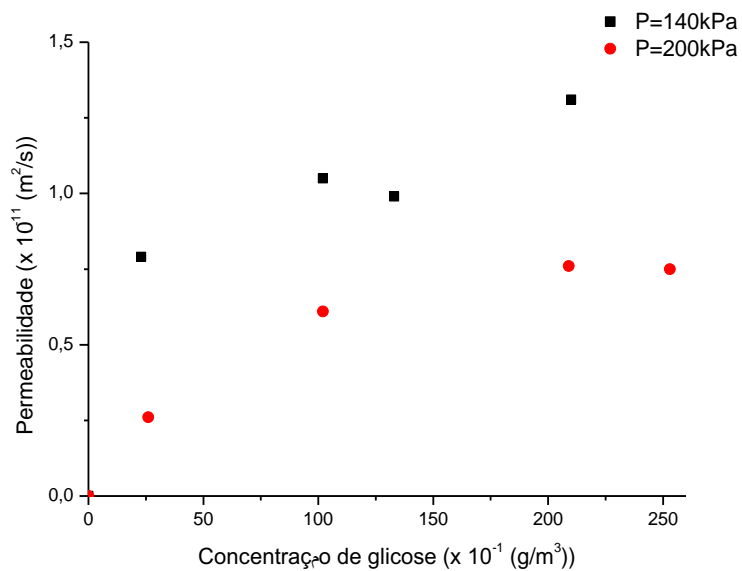


**Fonte:** Próprio autor.

A figura 26a mostra que o equilíbrio é atingido mais rapidamente utilizando a membrana de 12% (P=140kPa;  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ ) do que quando se utiliza a membrana de 12% (P=200kPa;  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$ ), representada pelo gráfico da figura 26b que apresenta uma difusão mais linear. Como apresentado na tabela 4, as membranas de 12% (m/v) apresentam, de maneira geral, os maiores coeficientes de difusão da glicose. Este fato é explicado pela presença de fibras de maior diâmetro e, conseqüentemente, a formação de maior quantidade de poros. Estes resultados são promissores porque como essas membranas podem ser usadas como barreira nas técnicas de RTG e ROG, quanto maior a permeabilidade, maior é o suprimento de nutrientes para as células.

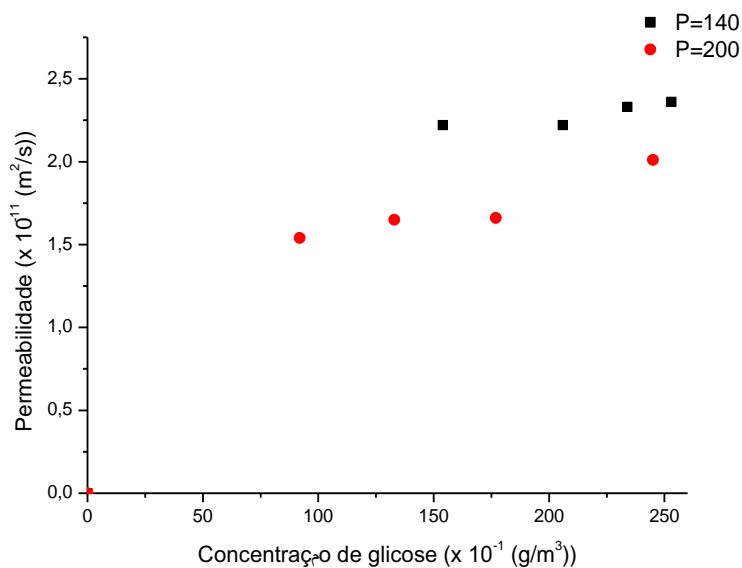
As figuras 27, 28 e 29 mostram o comportamento da permeabilidade em função da concentração de glicose para as membranas confeccionadas com vazão  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$  e concentração de 8% (m/v), 10% (m/v) e 12% (m/v), respectivamente. Nota-se que para todas as membranas a permeabilidade aumenta com o aumento da concentração de glicose.

**Figura 27-** Gráfico da permeabilidade da glicose em função da concentração de glicose para a membrana de 8% (m/v), vazão  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$  e pressões  $P=140\text{kPa}$  e  $P=200\text{kPa}$ .



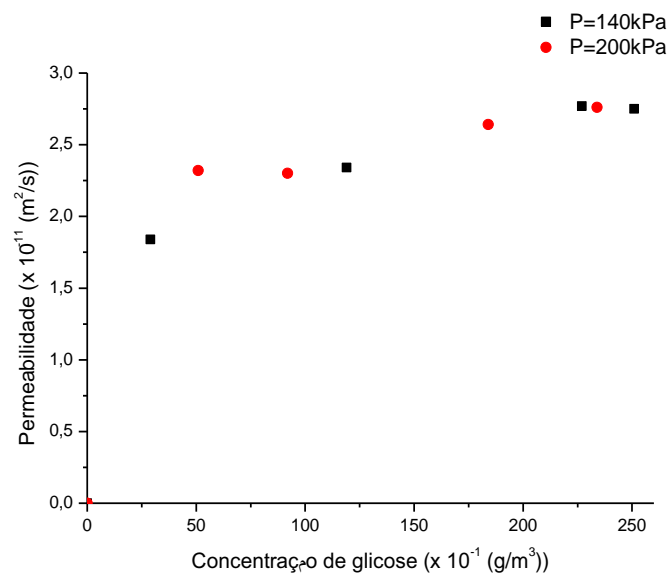
Fonte: Próprio autor.

**Figura 28-** Gráfico da permeabilidade da glicose em função da concentração de glicose para a membrana de 10% (m/v), vazão  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$  e pressões  $P=140\text{kPa}$  e  $P=200\text{kPa}$ .



Fonte: Próprio autor.

**Figura 29-** Gráfico da permeabilidade da glicose em função da concentração de glicose para a membrana de 12% (m/v), vazão  $\beta=150\mu\text{L}/\text{min}$  e pressões  $P=140\text{kPa}$  e  $P=200\text{kPa}$ .



**Fonte:** Próprio autor.

## 5 Conclusão

Membranas fibrosas de PHB foram obtidas através da técnica de fiação por sopro de solução (*solution blow spinning*) utilizando diferentes concentrações de solução PHB/clorofórmio, pressão do ar de arraste e taxa de injeção da solução demonstradas pelas análises de MEV. O diâmetro médio dessas fibras variou entre 0,5 – 1,7 $\mu$ m, aproximadamente. Verificou-se que o diâmetro das fibras aumenta com o aumento da concentração de PHB na solução quando a taxa de injeção da solução e a pressão foram mantidas constantes. Este é o parâmetro que mais influencia a morfologia das fibras. A técnica de DSC mostrou que independentemente dos parâmetros adotados aparecem picos múltiplos de fusão no segundo aquecimento resultado da fusão de cristais com tamanhos diferentes que são formados devido à diferença de peso molecular ocasionada pela cisão randômica das cadeias poliméricas. Foi observado um deslocamento para menores valores das temperaturas de fusão do PHB em função do aumento da concentração da solução. Verificou-se também que houve um pequeno deslocamento dos picos referentes às temperaturas de fusão do PHB, no segundo aquecimento, para valores menores quando comparados com os picos do primeiro aquecimento em razão da degradação do PHB. O grau de cristalinidade das membranas fibrosas teve um ligeiro aumento com a diminuição da concentração, mas sem alterar sua estrutura cristalina. A porosidade mostrou ser dependente dos parâmetros concentração, vazão e pressão, sendo a concentração a responsável pela maior variação. A porosidade, também, é um bom indicador para a difusão da glicose através da membrana, mas não é determinante, já que não se pode indicar se existe interconectividade entre esses poros ou se uma manta densa é formada. Com o aumento da concentração, para uma dada pressão e vazão, há um aumento da porosidade que está relacionado ao aumento do diâmetro das fibras aumentando a permeabilidade da membrana. A maior permeabilidade observada é de  $2,65 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$  na membrana de concentração 10% (m/v), pressão de 140kPa e vazão de 150 $\mu$ L/min.

## Referências

1. PÊGO, A. P. et al. In vivo behavior of poly (1,3-trimethylene carbonate) and copolymers of 1,3-trimethylene carbonate with D,L-lactide or  $\epsilon$ -caprolactone: Degradation and tissue response. **Journal of Biomedical Material Research**, Hoboken, 67A, p.1044-1054, 2003.
2. YILDIRMAZ, G. et al. Polyhydroxyethylmethacrylate/Polyhydroxybutyrate Composite membranes for fluoride release. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 87, n. 6, p. 976-981, 2003.
3. CHEN, G.Q.; WU, Q. The application of polyhydroxyalcanoates as tissue engineering material. **Biomaterials**, Amsterdam, v. 26, n. 33, p. 6565-6578, 2005.
4. SOBALLE, K. Hydroxyapatite ceramic coating for bone implant fixation. Mechanical and histological studies in dogs. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, Estocolmo, v. 64, n. 255, p. 5, 1993. Supplementum.
5. CARRANZA, F. A.; TAKEI, H. H; COCHRAN, D. L. Cirurgia periodontal reconstrutiva. In: NEWMAN, M. G. et al. **Carranza, periodontia clínica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 969-990.
6. KIM, E. J. et al. Preparation of biodegradable PLA/PLGA membranes with PGA mesh and their application for periodontal guided tissue regeneration. **Biomedical Material**, Bristol, v. 4, n. 5, p. 1-7, 2009.
7. AURER, A.; JORGIĆ-SRDJAK, K. Membranes for Periodontal Regeneration. **Acta Stomatologica Croatica**, Zagreb, v. 39, n.1, p. 107-112, 2005.
8. QU, X. H. et al. In vivo studies of poly (3-hydroxybutyrate-co-hydroxyhexanoate) based polymers: Biodegradation and tissue reactions. **Biomaterials**, Amsterdam, v. 27, p. 3540-3548, 2006.
9. MEDEIROS, E S. et al. Solution blow spinning: a new method to produce micro and nanofibers from polymer solutions. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 113, p. 2322-2330, 2009.
10. OLIVEIRA, J. E. et al. Nano and submicrometric fibers of poly (D,L – lactide) obtained by solution blow spinning: process and solution variables. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 122, n. 5, p. 3396-3405, 2011.
11. CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Ciência dos polímeros**: um texto básico para tecnólogos e engenheiros. 2. ed. São Paulo: Artliber, 2006. p. 21-25.
12. MARINHO, J. R. D. **Macromoléculas e polímeros**. Barueri: Manole, 2005. p. 3-4.

13. VALAPPIL, S. P. et al. Large-scale production and efficient recovery of PHB with desirable material properties, from the newly characterized *Bacillus cereus* SPV. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 132, n. 3, p. 251-258, 2007.
14. TAN, D. et al. Unsterile and continuous production of polyhydroxybutyrate by *Halomonas* TD01. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 102, n. 17, p. 8130-8136, 2011.
15. LUCCHESI, C. et al. Increased response of Vero cells to PHBV matrices treated by plasma. **Journal of Material Science: Materials in Medicine**, Cham, v. 19, n. 2, p. 635-643, 2008.
16. NASCIMENTO, J.F. apud FUZARI JR, Gilberto de Campos. **Obtenção e caracterização de filmes de PHB e de blendas de PHB com borracha natural**. 2008. 71 f. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2008.
17. HAHN, S.K. et al. apud FUZARI JR, Gilberto de Campos. **Obtenção e caracterização de filmes de PHB e de blendas de PHB com borracha natural**. 2008. 71 f. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2008.
18. NEWMAN, M.G. O periodonto normal. In: NEWMAN, M.G. et al. **Carranza, periodontia clínica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 45.
19. PERIODONTIA: doenças, prevenção e tratamentos. [S.l.: s.n., 200-]. Disponível em: <<http://oqueeh.com.br/periodontia-doencas-prevencao-e-tratamentos>> Acesso em: 23 fev.2013.
20. FIORELLINI, J.P, KIM, D.M, ISHIKAWA, S.O. A gengiva. In: NEWMAN, M.G. et al. **Carranza, periodontia clínica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 46-49.
21. FIORELLINI, J.P, KIM, D.M, ISHIKAWA, S.O. As estruturas de suporte do dente. In: NEWMAN, M. G. et al. **Carranza, periodontia clínica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 68-92.
22. CARRANZA, F.A., TAKEI, H.H. Perda óssea e padrões de destruição óssea. In: NEWMAN, M.G. et al. **Carranza, periodontia clínica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 452-466.
23. NYMAN, S. et al. The regenerative potencial of the periodontal ligament: an experimental study in the monkey. **Journal of Clinical Periodontology**, Hoboken, v. 9, n. 3, p. 257, 1982.

24. PRACTICE limited to periodontics, dental implants & sleep disordered breathing (sleep apnea & snoring). [S.l.: s.n., 200-]. Disponível em <<http://www.periodont.com/bone.htm>> Acesso em: 20 jul 2011.
25. KLOKKEVOLD, P. R. Enxerto ósseo localizado e desenvolvimento do sítio do implante. In: NEWMAN, M.G. et al. **Carranza, periodontia clínica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 1133-1147.
26. PIATTELLI, A.; SCARANO, A.; PAOLANTONIO, M. Bone formation inside the material interstices of e-PTFE membranes: a light microscopical and histochemical study in man. **Biomaterials**, Amsterdam, v. 17, n. 17, p. 1725-1731, 1996.
27. OSTEOGENICS Biomedical. . [S.l.: s.n., 200-]. Disponível em: <<http://www.osteogenics.com/v/product-family/cytoplast-barrier-membranes/v8/>> Acesso em: 12 set 2013.
28. PACIENT information dental.pdf. . [S.l.: s.n., 200-]. Disponível em: <<http://www.inion.com/patienteducation/dental>> Acesso em: 12 set 2013.
29. LEPRÊTRE, S. et al. Guided tissue regeneration membranes with controlled delivery properties of clorexidine by their functionalization with cyclodextrins. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, London, v. 57, n. 1-4, p. 297-302, 2007.
30. DEL CARLO, R. J. et al. Polímero derivado de mamona acrescido de cálcio, associado ou não à medula óssea autógena na reparação de falhas ósseas. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 33, n. 6, p. 1081-1088, 2003.
31. MONTEIRO, A. S. F. et al. Polyurethane and PTFE membranes for guided bone regeneration: histopathological and ultrastructural evaluation. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirurgia Bucal**, Valência, v. 15, n. 2, p. 401-406, 2010.
32. WANG, G. et al. Electrospun poly(1-lactide-co-ε-caprolactone)/polyethylene oxide/hydroxyapatite nanofibrous membrane for guided bone regeneration. **Journal of Nanomaterials**, Berlim, v. 2010, pt. 9. p. 1-8, 2010.
33. KIM, E.J. et al. Preparation of biodegradable PLA/PLGA membranes with PGA mesh and their application for periodontal guided tissue regeneration. **Biomedical Materials**, Bristol, v. 4, n. 5, p. 1-7, 2009.
34. LIAO, S. et al. A three-layered nano-carbonated hydroxyapatite/collagen/PLGA composite membrane for guided tissue regeneration. **Biomaterials**, Amsterdam, v. 26, n. 36, p. 7564-7571, 2005.
35. PAPPENBURG, B. J. et al. Designing porosity and topography of poly(1,3-trimethylene carbonate) scaffolds. **Acta Biomaterialia**, Amsterdam, v. 5, n. 9, p. 3281-3294, 2009.

36. OWEN, G. R. et al. A PLGA membrane controlling cell behavior for promoting tissue regeneration. **Biomaterials**, Amsterdam, v. 26, n. 35, p. 7447-7456, 2005.
37. LEE, S. B. et al. Surface modification of a guided tissue regeneration membrane using tetracycline-containing biodegradable polymers. **Surface and Interface Analysis**, Hoboken, v. 40, n. 4, p. 192-197, 2008.
38. YANG, F. et al. Development of an electrospun nano-apatite/PCL composite membrane for GTR/GBR application. **Acta Biomaterialia**, Amsterdam, v. 5, n. 9, p. 3295-3304, 2009.
39. ZHANG, K. et al. Preparation of chitosan/hydroxyapatite guided membrane used for periodontal tissue regeneration. **Chinese Journal of Polymer Science**, Berlin, v. 28, n. 4, p. 555-561, 2010.
40. KIKUCHI, M. et al. Development of guided bone regeneration membrane composed of  $\beta$ -tricalcium phosphate and poly (l-lactide-co-glycolide-co- $\epsilon$ -caprolactone) composites. **Biomaterials**, Amsterdam, v. 25, n. 28, p. 5979-5986, 2004.
41. BAN, S. et al. Development of biodegradable composite membrane containing oriented needle-like apatites. **Journal of Oral Tissue Engineering**, Okayama, v. 2, n. 1, p. 1-13, 2004.
42. ZHAO, P.; LIU, W.; WU, Q.; REN, J. Preparation, mechanical, and thermal properties of biodegradable polyesters/ poly(lactic acid) blends. **Journal of Nanomaterials**, Berlin, v. 2010. n. 4, p. 1-8, 2010.
43. HUHTALA, A. et al. In vitro biocompatibility of degradable biopolymers in cell line cultures from various ocular tissues: extraction studies. **Journal of Material Science: Materials in Medicine**, Cham, v. 19, n. 2, p. 645-649, 2008.
44. ALPAR, B. et al. Compatibility of resorbable and nonresorbable guided tissue regeneration membranes in cultures of primary human periodontal ligament fibroblasts and human osteoblastic-like cells. **Clinical Oral Investigations**, Berlin, v. 4, n. 4, p. 219-225, 2000.
45. LIAO, S. et al. The degradation of the three layered nano-carbonated hydroxyapatite/ collagen/ PLGA composite membrane in vitro. **Dental Materials**, Amsterdam, v. 23, n. 9, p. 1120-1128, 2007.
46. SHI, R. et al. In vitro degradation of Starch/PVA films and biocompatibility evaluation. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 115, n. 1, p. 346-357, 2009.

47. ASHAMMAKHI, N. et al. Nanofiber-base scaffolds for tissue engineering. **European Journal of Plastic Surgery**, Heidelberg, v. 35, n. 2, p. 135-149, 2012.
48. ITO, Y. et al. A composite of hydroxyapatite with electrospun biodegradable nanofibers as a tissue engineering material. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Amsterdam, v. 100, n. 1, p. 43-49, 2005.
49. FANG, J. et al. Application of electrospun nanofibers. **Chinese Science Bulletin**, Berlim, v. 53, n. 15, p. 2265-86, 2008.
50. FORMHALS, A. **Process and apparatus for preparing artificial threads**. U.S. Patent 1,975,504,1934.
51. RENEKER, D.H., YARIN, A.L. Electrospinning jets and polymer nanofibers. **Polymer**, Oxford, v. 49, n. 10, p.2387-2425, 2008.
52. COSTA, R.G.F. et al. Eletrofiação de polímeros em solução. Parte I: Fundamentação teórica. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 170-177, 2012.
53. PAPPENBURG, B.J. et al. One-step fabrication of porous micropatterned scaffolds for control cell behavior. **Biomaterials**, Amsterdam, v.28, n. 11, p. 1998-2009, 2007.
54. NAEIME, M; KARKHANEH,A; BARZIN, J; KHORASANI,M.T;GHAFFARIEH,A. Novel PDMS-based membranes: Sodium Chloride and Glucose Permeability. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 127, n. 5, p. 3940-3947, 2013.
55. JANIGOVÁ, I., LACÍK, I., CHODÁK,I. Thermal degradation of plasticized poly (3-hydroxybutyrate) investigated by DSC. **Polymer Degradation and Stability**, London, v. 77, p. 35-41, 2002.
56. FUZARI JUNIOR, G. C. **Obtenção e caracterização de filmes de PHB e de blendas de PHB com borracha natural**. 2008. 71 f. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Engenharia,Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2008.

## Glossário

*Tecido*: conjunto de células que apresentam a mesma estrutura e desempenham uma mesma função.

*Biocompatibilidade*: a habilidade de um material executar uma tarefa, em uma aplicação específica, com uma resposta apropriada do hospedeiro.

*Resposta do hospedeiro*: reação de um sistema vivo à presença de um material.

*Biodegradação*: degradação gradual de um material por uma atividade biológica específica.

*Epitélio*: tecido formado por uma ou várias camadas de células que recobrem o corpo e as cavidades internas.

*Enxerto*: qualquer material que é retirado de seu local de origem e colocado no lugar onde se pretende reparar.

*Aparato de sustentação*: conjunto de estruturas que tem a função de sustentar o dente no alvéolo dentário.

*Cemento*: substância mineralizada que recobre a raiz do dente.

*Hemólise*: destruição dos glóbulos vermelhos do sangue (hemácias).

*Citotóxico*: algo que apresenta toxicidade às células.

*Ossó autógeno*: osso retirado a partir de uma fonte do próprio organismo que irá recebê-lo.

*Ossó alógeno*: o osso é retirado de indivíduos da mesma espécie do indivíduo receptor.

*Ossó xenógeno*: o doador é de espécie diferente do indivíduo que receberá o osso.

*Osteoblastos*: células que fabricam e secretam matriz óssea.

*Cementoblastos*: células que fabricam e secretam cimento

*Fibroblastos*: células do tecido conjuntivo responsável pela fabricação de substância intercelular e proteína colágena.

*Reabsorção*: processo de remoção de um material por atividade celular e/ou dissolução num meio biológico.

*Osteocondutor*: material com a capacidade para guiar as células ósseas existentes no tecido a depositar matriz óssea naquele local.

*Osteoindutor*: material capaz de transformar células indiferenciadas em células ósseas fazendo com que haja deposição de matriz óssea.

*Bactericida*: substância capaz de destruir células bacterianas.

*Bioatividade*: capacidade de um material induzir uma atividade biológica específica.

*Citocompatibilidade*: habilidade de ser compatível com as células.

*Hemostática*: capacidade de interromper o fluxo sanguíneo.

*Antitumoral*: capacidade de um material de não formar tumores.