



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DOS MATERIAIS

LUIZ ROGÉRIO MONTEIRO LIMA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOCOMPÓSITOS
FIBROSOS À BASE DE BORRACHA NATURAL REFORÇADOS COM
PARTÍCULAS VITROCERÂMICAS BIOATIVAS VISANDO APLICAÇÕES
BIOMÉDICAS**

Ilha Solteira – SP

2023

LUIZ ROGÉRIO MONTEIRO LIMA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOCOMPÓSITOS
FIBROSOS À BASE DE BORRACHA NATURAL REFORÇADOS COM
PARTÍCULAS VITROCERÂMICAS BIOATIVAS VISANDO APLICAÇÕES
BIOMÉDICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências dos Materiais. Área de concentração: Física da Matéria Condensada.

Prof. Dr. MICHAEL JONES DA SILVA
Orientador

Ilha Solteira – SP

2023

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

L732d Lima, Luiz Rogério Monteiro.
Desenvolvimento e caracterização de biocompósitos fibrosos à base de
borracha natural reforçados com partículas vitrocerâmicas bioativas visando
aplicações biomédicas / Luiz Rogério Monteiro Lima. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
88 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia
de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Física da Matéria Condensada, 2023

Orientador: Michael Jones da Silva

Inclui bibliografia

1. Borracha natural. 2. Biosilicato. 3. 45S5-K bioglass. 4. Biocompósito. 5.
Aplicações biomédicas.


Amanda Sertori dos Santos
Bibliotecária - CRB/8-9061
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao
Usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

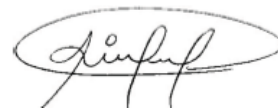
TÍTULO DA TESE: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOCOMPÓSITO FIBROSO À BASE DE BORRACHA NATURAL REFORÇADO COM PARTÍCULAS VITROCERÂMICAS BIOATIVAS VISANDO APLICAÇÕES BIOMÉDICAS

AUTOR: LUIZ ROGÉRIO MONTEIRO LIMA

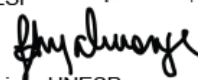
ORIENTADOR: MICHAEL JONES DA SILVA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em CIÊNCIA DOS MATERIAIS, área: Ciência e Engenharia dos Materiais pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MICHAEL JONES DA SILVA (Participação Presencial)
Departamento de Engenharia / Faculdade de Engenharia e Ciências - UNESP



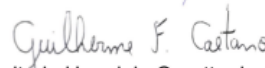
Prof. Dr. JOSE ANTONIO MALMONGE (Participação Presencial)
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP



Profa. Dra. VIVIANE OLIVEIRA SOARES (Participação Virtual)
Departamento de Ciências / Universidade Estadual de Maringá - UEM



Prof. Dr. GUILHERME FERREIRA CAETANO (Participação Virtual)
Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas / Centro Universitário Herminio Ometto de Araras - FHO



Prof. Dr. VINICIUS DIAS SILVA (Participação Presencial)
Instituto de Química / Universidade de São Paulo - USP



Ilha Solteira, 19 de maio de 2023

Dedico este trabalho aos meus familiares e amigos e à minha
companheira Flávia, que sempre estiveram ao meu lado nesta
jornada.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Ao Prof. Dr. Michael Jones da Silva, pela oportunidade de crescimento dentro do Programa, pela orientação, amizade e apoio nos obstáculos que encontramos durante a pesquisa.

Aos Prof. Dr. João Carlos Silos Moraes e Prof. Dr. Keizo Yukimitu do Departamento de Física e Química de Ilha Solteira e Prof. Dr. Bacus Nahime, da Universidade de Rio Verde – UniRV, pela parceria institucional.

Ao Prof. Dr. José Antônio Malmonge, responsável pelo grupo de pesquisa em polímeros, que me acolheu no momento de dificuldades encontradas no Programa de pós-graduação.

Ao Instituto SENAI de Inovação em Biomassa – Três Lagoas/MS, especialmente a Junior Camargo, pela realização das medidas de FTIR.

À Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT da Unesp – Campus Presidente Prudente, pelas medidas de DMTA realizadas no Laboratório de Tecnologia de Borrachas e Aplicações.

À Faculdade de Engenharia e Ciências – Campus Rosana, pela oportunidade de trabalhar nas soluções poliméricas.

À minha companheira Flávia e sua família pela acolhida, carinho, amor e compreensão nas horas mais turbulentas nesta trajetória. Por meio de vocês é que Deus e todos os santos e santas me encorajaram a enfrentar todos os obs do .

Aos meus amigos e irmãos Fábio Vieira Borges e Fábio Elias Freitas, pelo carinho durante esta jornada e incentivo à superação de obstáculos encontrados no programa de pós-graduação

Meu eterno agradecimento à Prof^a e amiga Dr^a Sueli Caixeta, que me orientou psicologicamente durante os momentos de angústia vividos durante este período da pesquisa.

Ariane Maziero, Eder D'Artagnan e José Vilches, pelas contribuições na construção deste trabalho, onde foi enriquecedor cada encontro realizado, um aprendizado conquistado.

À Universidade de Rio Verde – UniRV pelo convênio firmado com a Unesp e por todo o apoio, especialmente ao Reitor Alberto Barella, pela consideração e por acreditar em mim.

À Secretaria Estadual de Educação do Estado de Goiás pelo incentivo financeiro por meio da licença para aprimoramento profissional.

RESUMO

Os biomateriais têm sido investigados para atender a demanda de pacientes que sofrem com lesões e doenças que afetam os tecidos do corpo, à tendência crescente de procedimentos médicos especializados que contribuem para melhoria da a qualidade de vida da população e a necessidade de desenvolver materiais que proporcionam segurança para o uso humano. Este trabalho buscou desenvolver novos biocompósitos baseados em borracha natural (BN) contendo partículas BioS e/ou BL0, com mantas fibrosas produzidas utilizando a técnica *solution blow spinning* e filmes produzidos por meio da total volatização do clorofórmio. As análises morfológicas realizadas nos espécimes fibrosos apresentaram um diâmetro médio $74,47 \pm 24,54\mu\text{m}$ (BN pura) para $78,96 \pm 30,54\mu\text{m}$ (BN/BioS), e $74,47 \pm 24,54\mu\text{m}$ (BN pura) para $84,75 \pm 25,69\mu\text{m}$ (BN/BioS). Segundo os testes TG/DTG, os perfis de decomposição dos biocompósitos fibrosos e filmes de BN/BioS e BN/BL0 foram similares aos da BN, cujo evento principal pôde ser visto na faixa de temperatura $290^{\circ}\text{C} - 450^{\circ}\text{C}$, indicativo da degradação estrutural da BN. A análise de tração dos filmes demonstrou que a adição de BioS ou BL0 ao biocompósito baseado em BN influenciou no módulo elástico e a resistência à tensão na ruptura (σ_{ruptura}) em comparação com a BN. Os testes mecânicos demonstraram que o valor de ruptura nos filmes da matriz BN aumentou de $0,99 \pm 0,06\text{ MPa}$ para $1,84 \pm 0,09$ e $2,29 \pm 0,04\text{ MPa}$ para os espécimes BN/BioS e BN/BL0 com 30 % do peso; a tensão de ruptura das mantas fibrosas na matriz BN aumentou de $1,47 \pm 0,01\text{ MPa}$ para $3,38 \pm 0,31\text{ MPa}$ e $2,11 \pm 0,53\text{ MPa}$ para espécimes BN/BioS e BN/BL0. As análises mecânica e dinâmica mostraram que o módulo de armazenamento, o módulo e o fator de perda das dos espécimes fibrosos BN/BioS (70/30) e BN/BL0 (70/30) apresentaram valores menores em comparação com os espécimes fibrosos BN/BioS (80/20) e BN/BL0 (80/20); esse fato pode ser comprovado na largura do pico na meia altura do gráfico $\tan\delta$ versus temperatura. Os testes indiretos de citotoxicidade revelaram que os filmes e os espécimes fibrosos dos biocompósitos BN, BN/BL0 e BN/BioS promovem a fixação de células MSCs, ou seja, maior que 70% de viabilidade como definido na ISO 10993-5:2009. Os resultados mostram que as partículas BioS e BL0, na forma de manta fibrosa e filme, melhoraram a resposta à tração e as propriedades biológicas da matriz BN, resultando em uma série de potenciais aplicações biomédicas.

Palavras-chave: Borracha natural; biosilicato; 45S5-K bioglass; biocompósito; aplicações biomédicas.

ABSTRACT

Biomaterials are being investigated to respond to the demands of patients suffering from body tissue injuries and diseases, the growing trend of specialized medical procedures that contribute to improving the quality of life of the population, and the need to develop materials that provide safety for human use. This work sought to develop new biocomposites based on natural rubber (BN) containing BioS and/or BL0 particles, in which the fibrous specimens were produced using the solution blow spinning technique and the production of the films were through the total volatilization of chloroform. The morphological analyses were performed on the fibrous specimens, presented an average diameter, $74.47 \pm 24.54 \mu\text{m}$ (pure BN) to $78.96 \pm 30.54 \mu\text{m}$ (/BioS), and $74.47 \pm 24.54 \mu\text{m}$ (pure NR) to $84.75 \pm 25.69 \mu\text{m}$ (BN/BioS). According to TG/DTG tests, the decomposition profiles of fibrous biocomposites and BN/BioS and BN/BL0 films were similar to those of NR, whose main event could be seen in the temperature range $290^\circ\text{C} - 450^\circ\text{C}$, indicative of the structural degradation of BN. Tensile analysis of the films demonstrated that the addition of BioS or BL0 to the BN-based biocomposite improved the elastic modulus and tensile strength at break (σ_{break}) compared to BN. The shear value in the NR matrix films increased from $0.99 \pm 0.06 \text{ MPa}$ to 1.84 ± 0.09 and $2.29 \pm 0.04 \text{ MPa}$ for the NR/BioS and NR/BL0 samples at 30 wt%, for fibrous blankets the tensile strength in the NR matrix increased from $1.47 \pm 0.01 \text{ MPa}$ to $3.38 \pm 0.31 \text{ MPa}$ and $2.11 \pm 0.53 \text{ MPa}$ for NR/BioS and BN/BL0 samples, the modulus and the loss factor of the fibrous specimens NR/BioS (70/30) and NR/BL0 (70/30) presented lower values in comparison to the fibrous samples NR/BioS (80/20) and NR/BL0 (80/20), this fact can be proven in the width of the peak in the half height of the graph $\tan\delta$ versus temperature. The indirect cytotoxicity tests revealed that the BN, BN/BL0 and NR/BioS fibrous biocomposite films and specimens promote MSCs attachment, i.e. greater than 70% viability as defined in ISO 10993-5:2009. The results show that BioS and BL0 particles, in fibrous blanket and film form, improved the tensile response and biological properties of the BN matrix, resulting in a number of potential biomedical applications.

Keywords: Natural Rubber; biosilicate; 45S5-K bioglass; biocomposite; biomedical applications.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estruturas químicas dos poli-isopreno na forma trans e cis	22
Figura 2 – Diagrama ternário SiO ₂ -CaO-Na ₂ O ilustrando a relação entre composição e índice de bioatividade	23
Figura 3 – Representação esquemática de um sistema de eletrofiação	28
Figura 4 – Esquema do aparelho utilizado na técnica “solution blow spinning”. (a) Reservatório do gás, (b) bomba de injeção, (c) matriz de fiação, (d) distância de trabalho e (e) coletor	29
Figura 5 – Esquema da preparação polimérica para utilização da técnica solution blow spinning.....	32
Figura 6 – Esquema de preparação da solução polimérica para formação de filmes biocompósitos	34
Figura 7 – Imagens de MEV e diagrama de diâmetro médio (dm) das partículas vitrocerâmicas 45S5-K (BL0).....	39
Figura 8 – Imagem de MEV e diagrama do tamanho médio (dm) das partículas de biosilicato (BioS)	40
Figura 9 – Viscosidade das soluções BN/BL0, BN/BioS.....	41
Figura 10 – Análise de MEV das secções transversais de (a) BN e BN/BioS biocompósitos com diferentes quantidades de BioS (b) 10%, (c) 20% e (d) 30%.....	43
Figura 11 – Análise MEV das secções transversais de (a) BN e biocompósitos BN/BL0 com diferentes quantidades de massa de BL0 (b) 10%, (c) 20% e (d) 30%.	44
Figura 12 – Espectros FTIR dos espécimes de biocompósitos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas bioativas, com os seguintes intervalos de número de ondas: BN , BN/BioS (A) 4000 – 500 cm ⁻¹ , (B) 2000 – 450 cm ⁻¹ e BN, BN/BL0 (C) 4000 – 500 cm ⁻¹ , (D) 2000 – 450 cm ⁻¹	45
Figura 13 – Curvas de tensão-deformação de (A,B) BN/BioS e (C,D) BN/BL0 dos filmes de biocompósitos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas bioativas. As curvas de ajuste são dadas pela equação 1	47
Figura 14 – Análise TG/DTG de (A,D) BN/BioS e (C,D) BN/BL0 espécimes de biocompósitos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas bioativas.	50

Figura 15 – Avaliação da citotoxicidade do meio de cultura deixado durante 24 h na presença dos biocompósitos com diferentes cargas de partículas de vitrocerâmica bioativa no MSC por MTT durante 72 h.....	52
Figura 16 – Avaliação da proliferação de MSC cultivadas em biocompósito BN, BN/BL0 e BN/BioS com diferentes cargas de partículas bioativas de cerâmica vítrea pelo ensaio CCK-8 durante 72 h.	54
Figura 17 – Imagens de MEV e diagramada do diâmetro médio das mantas fibrosas BN/BL0: (a), (b) BN puro; (c), (d) 90/10; (e), (f) 80/20 e (g), (h) 70/30.....	56
Figura 18 – Imagens de MEV e diagramada do diâmetro médio das mantas fibrosas BN/BioS: (a), (b)BN puro; (c), (d) 90/10; (e), (f) 80/20 e (g), (h) 70/30.....	58
Figura 19 – Espectros FTIR dos espécimes de biocompósitos fibrosos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas bioativas, com os seguintes intervalos de número de ondas: BN , BN/BioS (A) 4000 – 500 cm ⁻¹ , (B) 2000 – 450 cm ⁻¹ e BN, BN/BL0 (C) 4000 – 500 cm ⁻¹ , (D) 2000 – 450 cm ⁻¹ ...	61
Figura 20 – Curvas de tensão-deformação das mantas fibrosas (a,b) BN/BioS e (c,d) BN/BL0 das fibras de biocompósitos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas bioativas. As curvas de ajuste são dadas pela equação 1.....	64
Figura 21 – Análises DMTA, módulo de armazenamento (E') da matriz BN e dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas bioativas.....	67
Figura 22 – Análises DMTA, como módulo de perda (E'') da matriz BN e dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas bioativas.....	68
Figura 23 – Análises DMTA, fator de perda (tan δ) da matriz BN e dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas bioativas	69
Figura 24 – Diagrama Cole-Cole da matriz BN e os biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de partículas vitrocerâmicas bioativas.....	71
Figura 25 – Análise TG/DTG de (a,b) BN/BioS e (c,d) BN/BL0 espécimes de biocompósitos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas bioativas	72
Figura 26 – Avaliação da citotoxicidade do meio de cultura deixado durante 24 h na presença dos biocompósitos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmica bioativas no MSC por MTT durante 72 h.....	74

Figura 27 – Avaliação da proliferação de MSC cultivadas em biocompósito BN, BN/BL0 e BN/BioS com diferentes cargas de partículas bioativas de cerâmica vítrea pelo ensaio CK-8 durante 72 h	75
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentrações de BioS e BL0 para a produção de biocompósitos de base BN	33
Tabela 2 – Parâmetros para obtenção da viscosidade da solução polimérica	35
Tabela 3 – Viscosidade das dispersões poliméricas de borracha natural reforçadas com partículas bioativas de vitrocerâmicas de BioS e 45S5-K (BL0)	42
Tabela 4 – Atribuições das principais bandas de absorção nos espectros FTIR de espécimes de biocompósitos BN, BioS, BL0, BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas bioativas	46
Tabela 5 – Valores da resistência à ruptura a 100% ($\sigma_{100\%}$), 300% ($\sigma_{300\%}$) de deformação; $\sigma_{ruptura}$ e $\epsilon_{ruptura}$ de espécimes de biocompósito BN puro, BN/BioS e BN/BL0 com diferentes cargas de partículas bioativas de vitrocerâmicas	49
Tabela 6 – Parâmetros TG/DTG: T_m , T_{on} , T_{off} e resíduos de espécimes de biocompósito BN pura, BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de partículas bioativas de vitrocerâmica	51
Tabela 7 – Relação entre viscosidade e diâmetro médio das mantas fibrosas BN/BL0 ...	57
Tabela 8 – Relação entre viscosidade e diâmetro médio das fibras BN/BioS	59
Tabela 9 – Atribuições dos principais picos nos espectros FTIR de espécimes de biocompósitos BN, BioS, BL0, BN/BioS e BN/BL0 com diferentes partículas de vitrocerâmicas bioativas	62
Tabela 10 – Valores de resistência a tração em 100% ($\sigma_{100\%}$), 300% ($\sigma_{300\%}$), $\sigma_{ruptura}$, $\epsilon_{ruptura}$ dos espécimes BN puro e os biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas bioativas	65
Tabela 11 – Parâmetros DMTA: T_{ond} , T_{offd} , Tg e FWHM dos espécimes	70
Tabela 12 – Parâmetros TG/DTG: T_m , T_{on} , T_{off} e resíduos de espécimes de biocompósito BN pura, BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de partículas bioativas de vitrocerâmica	73

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Biomaterial	20
1.2 Biopolímeros	21
1.3 Vitrocerâmicas Bioativas.....	22
1.4 Biocompósito.....	25
1.4.1 Biocompósitos para aplicações biomédicas	25
1.5 Desenvolvimento de fibras poliméricas	26
1.5.1 Técnicas de obtenção de fibras poliméricas	27
CAPÍTULO 2 OBJETIVOS DA PESQUISA	30
2.1 Objetivo geral	30
2.1 Objetivos específicos.....	30
CAPÍTULO 3 MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 Borracha natural	31
3.2 Vitrocerâmicas bioativas	31
3.3 Preparação dos biocompósitos à base de Borracha Natural	32
3.4 Caracterização do biocompósito.....	34
3.4.1 Viscosidade	34
3.4.2 Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)	35
3.4.3 Espectroscopia infravermelha com transformada de Fourier	35
3.4.4 Ensaios mecânicos	36
3.4.5 Análise térmica mecânica dinâmica	36
3.4.6 Análise termogravimétrica (TG)	36
3.4.7 Ensaios biológicos	36
3.4.7.1 Análise estatística	38
CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 Caracterização das partículas vitrocerâmicas BioS e BL0.	39
4.2 Caracterização reológica das soluções poliméricas.....	40
4.3 Filmes	42
4.3.1 Análise Morfológica	42
4.3.2 Análises de FTIR	44
4.3.3 Análises mecânicas	46
4.3.4 Análise termogravimétrica (TG/DTG)	49
4.3.5 Avaliação <i>in vitro</i> da citocompatibilidade	51

4.4 Mantas fibrosas.....	55
4.4.1 Análise morfológica	55
4.4.2 Análises de FTIR	59
4.4.3 Análises mecânicas	63
4.4.4 Análises dinâmica mecânica (DMA)	65
4.4.5 Análise termogravimétrica (TG/DTG)	71
4.4.6 Avaliação <i>in vitro</i> da citocompatibilidade	73
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
6. IMPACTO E RELEVÂNCIA ECONÔMICA E SOCIAL	80
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

INTRODUÇÃO

O termo biomateriais refere-se a substâncias ou combinações de substâncias que são farmacologicamente inertes, de origem sintética e natural capazes de serem incorporadas em um sistema por um período curto, médio ou permanente, em vista de aumentar, melhorar ou substituir tecidos, órgãos ou funções em organismos vivos (IGE; UMORU; ARIBO, 2012; PUPPI et al., 2010). Os biomateriais podem ser classificados de acordo com sua atividade biodinâmica, ou seja, bioatividade, bioinércia ou biocompatibilidade quando em contato com sistemas biológicos (BOCCACCINI; GOUGH, 2007; SYKARAS et al., 2000).

Entre os biomateriais utilizados para aplicação biomédica, destacam-se as cerâmicas, os materiais vitrocerâmicos e os vítreos, que ganharam destaque com a descoberta do biovidro desenvolvido por Larry Hench e colaboradores com o nome comercial 45S5 Bioglass® (45S5 BG) (HENCH et al., 1971). Os biovidros com composição de SiO_2 , CaO , Na_2O e P_2O_5 são considerados altamente bioativos, e o 45S5 Bioglass®, com índice de biocompatibilidade de 12,5, é considerado referência para o desenvolvimento de vidros bioativos. Em contato com fluidos corporais, a vitrocerâmica bioativa libera íons que proporcionam a formação de camadas de hidroxicarbonato de apatita (HCA) (ISLAM et al., 2017; TURDEAN-IONESCU et al., 2016). Uma das principais condições para a formação de uma ligação química entre as partículas de vitrocerâmicas e o tecido é a formação da camada de HCA na interface (MABROUK et al., 2018). Quanto à osteocondução, está associada à formação das esponjas de colágeno absorvíveis (ACS). Em comparação com as cerâmicas bioativas, como a hidroxiapatita (HA), a vitrocerâmica bioativa apresenta maior osteocondutividade, e seu aumento deve-se à taxa em que o HCA superficial é formado; quanto maior a taxa de formação de HCA, mais rápido o material se ligará ao osso (FIUME et al., 2018, 2021). Novas formulações de biovidro sem sódio vêm sendo desenvolvidas com excelentes atividades físico-químicas e biológicas (KARAKUZU-İKİZLER et al., 2020; SILVA et al., 2021; YUSOF et al., 2022). Silva e colaboradores desenvolveram e testaram uma composição vitrocerâmica pouco estudada (24,4 K_2O -26,9 CaO -46,1 SiO_2 -2,6 P_2O_5 mol%), com diferentes tamanhos de partícula e em diferentes taxas de aquecimento para produzir um novo material com o baixo módulo de elasticidade e boas propriedades biológicas.(SILVA et al., 2021)

O biosilicato (BioS) é outro material vitrocerâmico altamente bioativo que tem se destacado e mostrado resultados promissores em aplicações biomédicas (CROVACE et al.,

2016). Em termos de bioatividade, osteocondutividade, osteoindutividade, não citotoxicidade e propriedades antibacterianas, o BioS é uma alternativa promissora ao 45S5 Bioglass®, porque possui uma série de propriedades benéficas para a regeneração óssea e apresenta vantagens significativas quando se trata de fabricar componentes de forma complexa (CROVACE et al., 2016a; DOGRUL et al., 2021; ELSAYED et al., 2021).

Embora os biovidros apresentem excelentes propriedades biodinâmicas e biológicas, possuem baixa resistência mecânica e baixa tenacidade, limitando sua aplicação em situações que envolvem estresse mecânico e conformabilidade (GERHARDT; BOCCACCINI, 2010; KOKUBO, 2005; PAIVA et al., 2006). Este problema tem sido superado por meio da combinação de partículas bioativas com outros materiais, especialmente polímeros, para formar compósitos. Entre esses, destacam-se os polímeros naturais visando a aplicações biomédicas, porque são provenientes de fontes renováveis e abundantes, têm baixo custo de produção e apresentam boas biocompatibilidade, biodegradabilidade e propriedades mecânicas (PAWAR et al., 2008). Dentre os polímeros naturais que têm sido utilizados como suportes para partículas bioativas, destacam-se a borracha natural (BN), os *nanowhiskers* de celulose (NWC), a quitosana, o polihidroxibutirato (PHB) e outras (DIAS et al., 2021; GANGULY et al., 2020; GUERRA et al., 2021; KRAVANJA et al., 2019; LUGOLOOBI et al., 2021; PARVIZIFARD; KARBASI, 2020; VUKAJLOVIC et al., 2019; ZANCANELA et al., 2019). Devido às excelentes propriedades mecânicas, estabilidade térmica e propriedades biomédicas, a BN tem sido amplamente estudada como matriz no desenvolvimento de novos compósitos (SOUSA et al., 2019).

No campo biomédico, a BN merece uma atenção especial porque exhibe excelente biocompatibilidade com tecidos vivos e alto potencial angiogênico (indução do surgimento de vasos sanguíneos) (CESAR et al., 2020; DE BARROS et al., 2018; GUERRA et al., 2021). Esse comportamento foi observado por Floriano et al. (2016) e Almeida et al. (2014), que realizaram estudos *in vivo* com membranas obtidas do látex de borracha natural para analisar sua biocompatibilidade com e sem solvente. Os autores observaram que membranas sem amônia – agente químico utilizado para estabilizar o látex – promoveram o crescimento e o reparo do tecido ósseo e pele (FLORIANO et al., 2016; ALMEIDA et al., 2014). Estudo semelhante foi conduzido por Floriano et al. (2016), que observaram maior bioatividade nas membranas de borracha natural em comparação com membranas de politetrafluoretileno (PTFE). Os pesquisadores realizaram ainda uma análise comparativa de membranas obtidas de mangabeira (*Hancornia speciosa*) e látex de BN (*Hevea Brasilienses*) para regeneração

tecidual. A BN também tem sido utilizada como agente de liberação de medicamentos; de acordo com o trabalho realizado por Barros et al. (2015), a membrana obtida do látex da BN com diclofenaco de potássio tem poder de liberação por até 216 h, demonstrando seu potencial para aplicações de entrega de medicamentos. Cavalcante et al. (2018) desenvolveram um compósito a partir de borracha natural e resíduos de couro embebido no cromo para uso nas indústrias de calçado e têxtil; segundo os autores, a avaliação da biocompatibilidade do compósito realizado *in vitro* por meio de testes de aderência celular e genotoxicidade demonstraram que os espécimes não eram tóxicos.

No futuro, o sucesso dos biomateriais para uma determinada aplicação biomédica será definido segundo alguns critérios e pré-requisitos, dos quais se destacam três: 1) materiais que sejam biocompatíveis e capazes de realizar suas funções mecânicas, térmicas, óticas etc., dependendo do local e do tecido, durante o tempo de tratamento dos tecidos com os quais estão em contato; 2) modificação na superfície do biomaterial, com o intuito de melhorar a interface entre biomaterial e tecido biológico; 3) materiais capazes de responder a estímulos do sistema fisiológico no qual estão inseridos. Em síntese, os biomateriais deverão ser capazes de interagir com os sistemas biológicos de modo a conduzir os cursos dos processos inflamatórios e imunológicos no intuito de restabelecer a funcionalidade, a morfologia e saúde dos tecidos afetados (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2000).

Nesse sentido, controlar e modificar a morfologia de um material durante seu processo de obtenção pode influenciar a estrutura final do compósito e, por sua vez, aumentar sua gama de aplicação. A pesquisa de filmes e materiais fibrosos é atraente para muitas aplicações biomédicas, tecnológicas e ambientais devido à sua combinação de alta relação superfície/volume, porosidade, flexibilidade, desempenho mecânico, facilidade de processamento e custo relativamente baixo (JUNIOR; SHIOTA; CHIAVACCI, 2014).

Este aspecto é importante e necessita ser mais explorado, pois implica mudanças expressivas nas propriedades finais do material. Nesse sentido, diferentes técnicas têm sido desenvolvidas ou aprimoradas, visando à obtenção de biocompósitos com diferentes morfologias para aplicações biomédicas, entre elas a técnica de *electrospinning* (eletrofiação – ES) (MI et al., 2018), *casting* (PODSHIVALOV et al., 2017), extrusão (IYER; TORKELSON, 2015) e *solution blow spinning* (fiação por sopro em solução – SBS) (MEDEIROS et al., 2016). Dentre essas técnicas, o SBS é um método alternativo para produzir fibras poliméricas e espécimes com morfologia fibrosa, que podem substituir a técnica de ES já bem estabelecida. A principal vantagem do SBS é a dispensa de elevado campo elétrico e também maior taxa de

produção de fibra – medida pela injeção da solução – em comparação com a *ES*. Além disso, a *SBS* envolve baixos custos de produção e é fácil de implementar, permitindo a deposição de fibras em qualquer tipo de alvo, incluindo tecido vivo (CENA et al., 2018; MEDEIROS et al., 2016). O potencial do uso da técnica *SBS* no desenvolvimento de fibras bioativas altamente porosas para a engenharia de tecidos foi investigado por Medeiros et al. (2016), que obtiveram fibras compostas de poli(D, L-lactídeo) e carbonato de dimetil em um ambiente criogênico, posteriormente liofilizadas, o que gerou estruturas tridimensionais (*3D scaffolds*) compostas de nanofibras porosas. Sousa et al. (2019) também obtiveram um biocompósito fibroso de BN/Biovidro com morfologia com característica de fitas sobrepostas, observando que tanto a dispersão de biovidro quanto a morfologia fibrosa impactaram positivamente as propriedades finais do biocompósito.

A necessidade de desenvolvimento de biomateriais inovadores tem sido investigada intensamente devido ao aumento da expectativa de vida da população, à tendência crescente de procedimentos médicos especializados que contribuam para melhorar a qualidade de vida da população e à necessidade de desenvolver materiais que ofereçam segurança para o uso humano (BERNARDO et al., 2021; SILVA JUNIOR; ORÉFICE, 2001).

O desenvolvimento da pesquisa é relatado na sequência de capítulos desta tese. O primeiro apresenta a revisão da literatura sobre biomateriais, biopolímeros, vitrocerâmicas bioativas, biocompósitos e a técnica *Solution blow spinning*. O segundo elenca os Objetivos Gerais e Específicos, enquanto o terceiro descreve os materiais e métodos utilizados na pesquisa, bem como as variáveis consideradas nos experimentos com a borracha natural e as vitrocerâmicas. O quarto capítulo discute os resultados dos experimentos e o efeito da dispersão das partículas de BioS e/ou BL0 nas propriedades finais da matriz BN, por meio de testes das propriedades mecânicas, térmicas e biológicas dos espécimes de biocompósitos na forma de manta fibrosa e filme. Por fim, as Considerações finais retomam os objetivos da pesquisa, apresentam os espécimes com características excelentes e apontam as possibilidades de suas aplicações na área biomédica.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

Este capítulo apresenta o estado da arte sobre biomateriais, com um breve histórico da sua utilização e os autores que têm pesquisado o tema, especialmente no que tange a seu uso em aplicações biomédicas. São apresentados os conceitos fundamentais utilizados na pesquisa, tais como biomaterial, biopolímeros, vitrocerâmicas bioativas, biocompósito e biocompósitos para aplicação médica, além da técnica *solution blow spinning*.

1.1 Biomaterial

A utilização de biomateriais não é recente: há registros do uso de suturas de linho e outros tecidos no Egito Antigo, por volta de 2000 a.C.; de intestino de gatos, na Europa, durante a Idade Média; uso de dentes artificiais feitos de conchas, no Império Maia (600 a.C.), de ferros pelos franceses (200 a.C.) e de madeira pelos romanos, chineses e astecas (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). Em tempos recentes, a aplicação de biomateriais ganhou destaque no final da década de 1940, quando o oftalmologista britânico Harold Ridley utilizou o polímero poli(metacrilato de metila) (PMMA) para reparar danos nos olhos dos pilotos de caça da II Guerra Mundial, causados por estilhaços da cabine de pilotagem dos aviões. Ridley verificou que os ferimentos foram curados sem tratamento médico e reações adversas, concluindo que esse polímero poderia ser usado como lentes para implantes oculares, em substituição às lentes naturais. Essa constatação motivou a primeira cirurgia de tratamento de catarata, realizada em 1949. Na década de 1960, pesquisadores das áreas da engenharia, química e biologia e profissionais da medicina iniciaram a formalização dos princípios e estratégias a serem satisfeitos pelos biomateriais (BERNARDO et al., 2021).

O termo biomaterial vem sendo definido por diferentes autores conforme avançam as pesquisas sobre materiais com aplicações biomédicas. Os biomateriais são conceituados como dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos, incluindo fluidos biológicos, com aplicações diagnósticas, cirúrgicas ou terapêuticas, podendo ser constituídos de compostos de origem sintética ou natural, assim como de materiais naturais quimicamente modificados, tanto na forma de sólidos quanto de géis, pastas ou mesmo líquidos, não sendo necessariamente

fabricados, como válvulas cardíacas de porcos e retalhos de pele humana tratados para uso como implantes (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

A escolha de um biomaterial deve satisfazer uma série de requisitos que atendam à necessidade do momento, que pode ser um tratamento de uma doença ou a substituição de um órgão. Para evitar danos ao organismo, algumas propriedades do biomaterial devem ser levadas em consideração, como, por exemplo: (i) o material não tenha uma resposta inflamatória ou tóxica na sua implantação *in vivo*; (ii) o tempo de degradação do material permita a ocorrência do processo de regeneração do organismo comprometido; (iii) o material apresente propriedades mecânicas adequadas à aplicação para as quais foi indicado e que qualquer variação das propriedades mecânicas decorrente da sua degradação *in vivo* seja compatível com o processo de regeneração ou restabelecimento do sítio de implantação (BERNARDO et al., 2021; PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015; SOARES DE ANDRADE FREITAS OLIVEIRA et al., 2010).

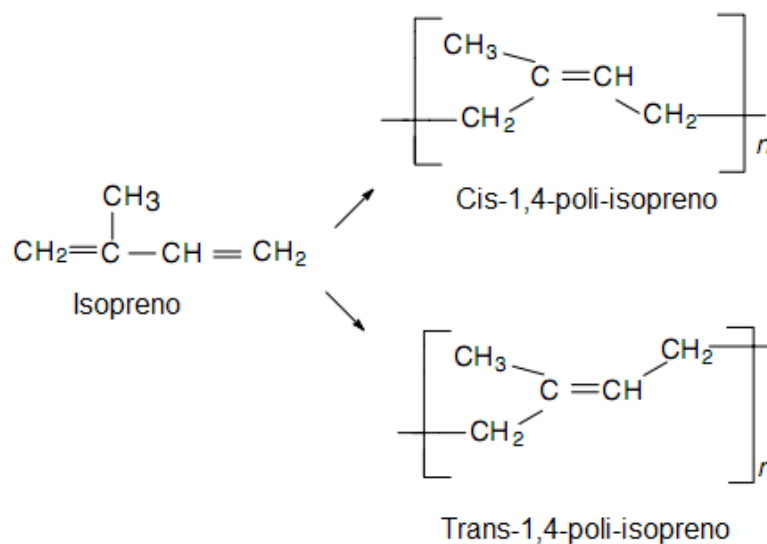
1.2 Biopolímeros

Biopolímeros podem ser definidos como qualquer polímero (proteína, ácido nucléico, polissacarídeo) produzido por organismos vivos e matérias primas de fontes renováveis, e vêm sendo utilizados como biomateriais para aplicações biomédicas graças às suas características físico-químicas e versatilidade estrutural, que permitem adequar suas propriedades a cada aplicação específica (BORSCHIVER; ALMEIDA; ROITMAN, 2008; ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2000).

Dentre os polímeros naturais destaca-se a borracha natural. Características como a elasticidade, a flexibilidade e a resiliência fazem da borracha natural um dos polímeros mais utilizados no mundo (SEENA JOSEPH; MAYA JACOB; SABU THOMAS, 2005; SILVA et al., 2014; ZIMMERMANN et al., 2018). Quanto à aplicação biomédica, apresenta capacidade de incitar a formação de novos vasos sanguíneos e reparar o tecido lesionado, estimulando a reação tecidual, o desbridamento da ferida e a cicatrização. O tratamento de diabetes e úlceras flebopáticas com a biomembrana preparada do látex natural mostrou a presença de um fator de crescimento vascular no látex, que atua sobre o tecido humano. Este biopolímero de alto peso molecular, extraído na forma de látex, principalmente da seringueira (*Hevea brasiliensis*), é composto por unidades isoméricas do tipo isoprênica *cis-1,4* com configuração do tipo cabeça-

cauda, com a estrutura química mostrada na figura 1 (ANDRADE et al., 2022; CABRERA et al., 2013).

Figura 1 – Estruturas químicas dos poli-isopreno na forma trans e cis



Fonte: Seena, Maya e Sabu (2005)

As principais características que fazem a borracha natural ter um grande potencial para aplicações tecnológicas e industriais são a excelente propriedade mecânica, o custo de produção baixo e o fato de sua matéria-prima advir de fontes renováveis. Além disso, as propriedades mecânicas da borracha e seu desempenho podem ser bastante melhorados por processos químicos, como a vulcanização e a introdução de aditivos como o negro de fumo, partículas orgânicas e inorgânicas, sílica, argila, fibra de vidro e outros (AKIBA, 1997). Alguns desses aditivos são utilizados como reforço para melhorar a resistência à tração, ao rasgo e à abrasão e para aumentar o módulo de elasticidade, enquanto outros são utilizados apenas para preenchimento, reduzindo o custo de produção (AKIBA, 1997).

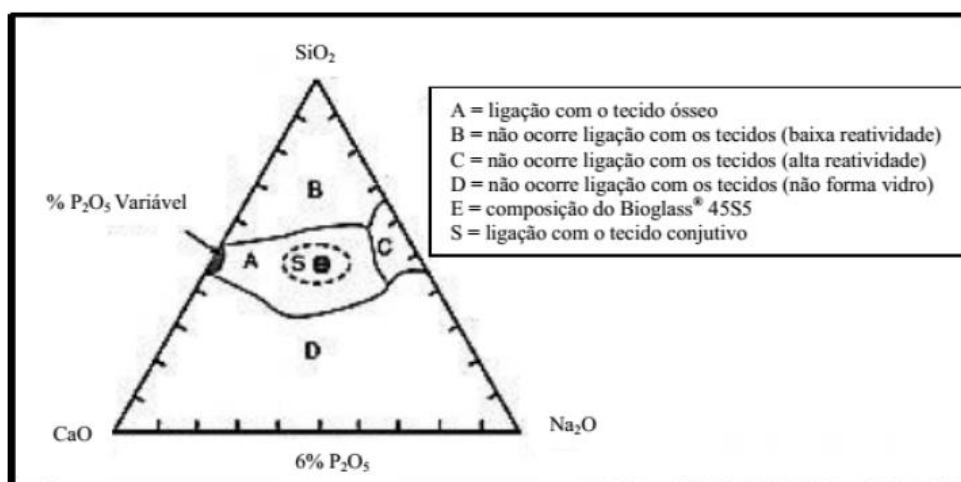
1.3 Vitrocerâmicas Bioativas

O estudo de cerâmicas bioativas teve início no final da década de 1960, com o desenvolvimento de certos vidros silicatos, como o Bioglass®, vidro do sistema quaternário $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$, cujos primeiros resultados foram apresentados por Hench et al (1971). Este material apresenta notáveis propriedades de interação com os tecidos vivos e, na ocasião,

o termo bioatividade foi utilizado para descrever a habilidade do Bioglass® para ligar-se fortemente ao tecido ósseo (HENCH, 1991; SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011).

A relação entre composição e bioatividade para vidros do sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ obtidos pelo processo de fusão/solidificação está ilustrada na Figura 2.

Figura 2 – Diagrama ternário $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O}$ ilustrando a relação entre composição e índice de bioatividade



Fonte: Siqueira e Zanotto (2011)

Neste diagrama, as delineações em cinza indicam o limite cinético e não o de equilíbrio de fases; uma concentração constante de 6% em massa de P_2O_5 é assumida (SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011). Na região central do diagrama (E) encontram-se as composições dos vidros que exibem os maiores índices de bioatividade, inclusive o próprio biovidro 45S5. As composições que contêm de 52 a 60% em massa de SiO_2 apresentam taxas de ligação mais lentas com o tecido ósseo. Já na composição acima de 60% de SiO_2 , ou seja, a região B ilustrada na Figura 4, o material obtido não apresenta formação de ligação com o tecido, que apresenta comportamento bioinerte (HENCH, 2006).

A combinação com materiais mais resistentes e a variação estequiométrica destes óxidos permitiu o desenvolvimento de novos materiais e um aumento em sua gama de aplicações; por exemplo, quando o material se ligar ao tecido ósseo, passar a sofrer biodegradação e formar uma camada apática superficial, que varia em função da sua composição e relação dos seus constituintes (DONARUMA, 1988; GUTIERRES et al., 2006).

O *Bioglass®* 45S5 foi a primeira composição comercial, apresentando porcentagem em massa de 24,5 % de Na_2O ; 24,4% de CaO ; 6% de P_2O_5 e 45% de SiO_2 . O que destaca o biovidro 45S5 é sua capacidade de formar em sua superfície uma camada de hidroxiapatita (HA). A hidroxiapatita pode ser considerada o maior componente natural do osso ou tecido ósseo e, por esse motivo, tem sido usado como material dental, ortopédico etc. A HA também é conhecida por suas propriedades biocompatíveis e bioativas, ou seja, a habilidade de formar uma ligação química direta com tecidos em contato; por ser osteocondutora e osteoindutora, não-tóxica, não inflamatória e apresentar propriedades não imunogênicas, é considerada um dos materiais ideais para as substituições ósseas (SWETHA et al., 2010).

Em meados dos anos 1980, pensava-se que o tecido ósseo era o único capaz de interagir com os materiais bioativos desenvolvidos até então. Porém, o advento do biovidro 45S5 demonstrou que esse tipo de material poderia interagir com o tecido conjuntivo ou tecido conectivo – caracterizado por apresentar células distanciadas entre si, em maior ou menor grau –, desde que a interface entre eles estivesse imóvel. No entanto, apenas os vidros com taxas rápidas de reação superficial são capazes de interagir com o tecido, restringindo de maneira considerável os materiais que apresentam composição semelhante àquelas destacadas na região S do diagrama (HENCH, 2006; HENCH et al., 1971; SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011).

Essa constatação serviu de base para o uso do *Bioglass®* 45S5 em procedimentos cirúrgicos destinados à reconstituição da cadeia ossicular e para a preservação do rebordo alveolar em pacientes submetidos à extração dos dentes e posterior implantes. Peitl e colaboradores demonstraram que, no sistema do biovidro, a parcela de fosfato influencia de maneira positiva a formação de hidroxiapatita ($\text{HA-Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), ou seja, em espécimes com concentração de 6% de P_2O_5 ocorre formação rápida de HA (8 h), enquanto na composição sem P_2O_5 o processo de formação é mais lento (35 h) (PEITL; DUTRA ZANOTTO; HENCH, 2001).

Mostrando propriedades aprimoradas em comparação com o vidro original, este vidro atinge um bom grau de densificação com um fluxo viscoso de duas etapas, que são a abordagem de sinterização e a vitrocerâmica resultante, apresentando uma bioatividade tão alta quanto a do 45S5 *Bioglass®* padrão. Além disso, o módulo de elasticidade da vitrocerâmica (56 GPa) é relativamente baixo, o que minimiza a proteção contra tensões e demonstra grande viabilidade e potencial para regeneração óssea (SILVA et al., 2021).

1.4 Biocompósito

Os compósitos podem ser definidos como materiais formados por dois ou mais componentes com distintas composições, estruturas e propriedades e que estão separados por uma interface (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2000). Geralmente as fases distintas são a matriz e o reforço; a fase do material de reforço confere resistência de suporte de carga, enquanto a fase da matriz liga o material de reforço. Embora existam compósitos metálicos, inorgânicos ou poliméricos. Um biocompósito é um material composto criado usando um material natural como reforço ou matriz composta de um polímero de fontes naturais ou sintéticas. polímero de fontes naturais ou sintéticas, que pode ser utilizado com matriz ou reforço criada por um polímero de fontes naturais ou sintéticas. Enquanto o reforço contribui fortemente para a transferência de tensões e fortalecimento do biocompósito, a matriz fornece processabilidade e protege o material de reforço (MANU et al., 2022). Assim, o reforço e a matriz funcionam de maneira simultânea, oferecendo melhores propriedades do que os componentes naturais individuais.

O desenvolvimento de biocompósitos visa a produzir materiais cujas respostas físico-químicas, mecânicas e biológicas resultantes obtenham materiais completos com funções avançadas. Por exemplo, o tecido ósseo tem suas propriedades baseadas na combinação bem-sucedida de partículas de hidroxiapatita carbonatada com fibras de colágeno. Isso permite uma primeira indicação de que a substituição de tecidos vivos por materiais sintéticos com propriedades comparáveis está ligada ao desenvolvimento de compósitos especiais que possam reproduzir a estrutura dos tecidos vivos (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2000; VIEIRA, 2019).

1.4.1 Biocompósitos para aplicações biomédicas

Com o desenvolvimento de novas tecnologias biomédicas, incluindo a engenharia de tecidos, medicina regenerativa, terapia de genes e liberação de fármacos, novos materiais estão sendo desenvolvidos, pois materiais convencionais – com somente um componente –, como polímeros, metais ou cerâmicas, não são satisfatórios para atender às especificidades requeridas nesses diferentes campos de atuação (DZIADEK; STODOLAK-ZYCH; CHOLEWA-KOWALSKA, 2017; RAMAKRISHNA et al., 2001; SAILAJA et al., 2016). Para atender aos requisitos de biocompatibilidade, biodegradabilidade e propriedades mecânicas adequadas, um material multifuncional para engenharia de tecido ósseo, por exemplo, deve apresentar a

capacidade de induzir a formação do osso sem a adição de fator de crescimento orgânico, como proteína morfogenética do osso; degradar progressivamente de acordo com a taxa de regeneração do novo tecido; induzir a formação de vasos sanguíneos; e, ainda, exibir atividade antibacteriana e anti-inflamatória. Portanto, o suporte ideal será possível por meio do design e desenvolvimento de materiais com multicomponentes, ou seja, os biocompósitos (DZIADEK; STODOLAK-ZYCH; CHOLEWA-KOWALSKA, 2017; RAMAKRISHNA et al., 2001; SAILAJA et al., 2016).

Como grande parte dos tecidos humanos são constituídos por compósitos com propriedades anisotrópicas, que dependem dos papéis e estruturas de vários componentes, como colágeno, elastina e hidroxiapatita, sugere-se que os materiais compostos ofereçam um maior potencial de biocompatibilidade e estrutura do que os homogêneos (DZIADEK; STODOLAK-ZYCH; CHOLEWA-KOWALSKA, 2017; RAMAKRISHNA et al., 2001; SAILAJA et al., 2016). Diferentes técnicas físicas e químicas foram desenvolvidas para a produção de biocompósitos com melhor interação com tecidos vivos. A síntese destes materiais por métodos físicos requer menor quantidade de reagentes químicos, para não levar à formação de coprodutos ou de impurezas (BERNARDO et al., 2021).

1.5 Desenvolvimento de fibras poliméricas

As nanofibras de polímero são um material extremamente atraente devido à ampla gama de aplicações e à sua grande área de superfície em relação ao volume e arquitetura única que constroem. Seu potencial de aplicação inclui scaffolds de engenharia de tecidos, meios de liberação de fármacos, meios filtrantes, tecidos protetores, entre outros. Sabe-se que as propriedades e a estrutura molecular interna dos polímeros são fortemente influenciadas pelas condições de processamento. Entender a relação processamento-estrutura-propriedade é, portanto, de suma importância para o desenvolvimento de nanofibras poliméricas que atendam aos requisitos da aplicação desejada.(INAI; KOTAKI; RAMAKRISHNA, 2005)

Fibras com diâmetros menores que 100 nm são denominadas nanofibras, enquanto fibras com diâmetros no intervalo de 100 nm – 1.000 nm são, por convenção, referidas como fibras ultrafinas, apesar de muitos trabalhos científicos também denominarem estes materiais como nanofibras. Fibras com diâmetros superiores a 1.000 nm são denominadas microfibras. redução do diâmetro dos materiais poliméricos fibrosos da microescala para a nanoescala é

responsável por criar propriedades muito especiais. Entre essas propriedades, destacam-se o aumento da área superficial em relação ao volume, o aumento dos valores de condutividade elétrica para polímeros condutores e a melhoria das propriedades mecânicas.(RODRIGUES et al., 2022).

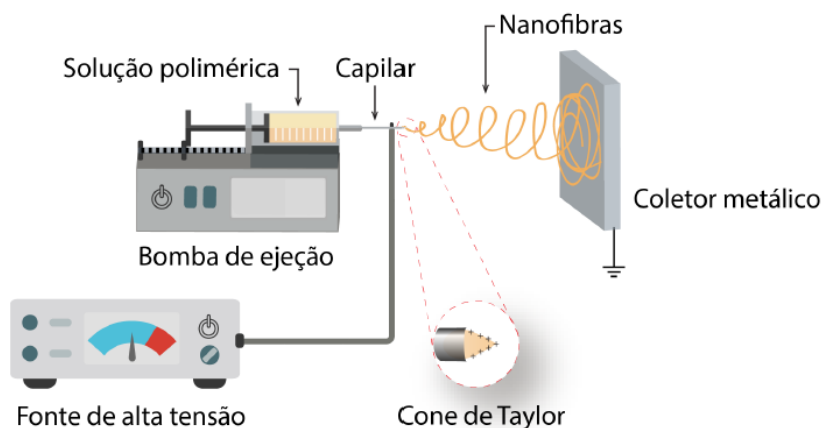
1.5.1 Técnicas de obtenção de fibras poliméricas

A técnica de eletrofiação é conhecida desde a década de 1930, mas somente com o surgimento de novas aplicações da nanotecnologia essa importante técnica foi redescoberta. O potencial das nanofibras variando em tamanho de 50 a 500 nm e com extensão micrométrica tem sido explorado em diversos materiais com resultados promissores em diversas aplicações (COSTA et al., 2012).

A produção de nanofibras e microfibras poliméricas tem sido possível a partir de técnicas como fiação, separação de fases e automontagem, síntese *template*, eletrofiação (do inglês, *electrospinning*), fiação por sopro em solução. A técnicas mencionadas possui particularidades específicas, como a possibilidade de obtenção de fibras individuais longas (por exemplo pelas técnicas de fiação), obtenção de túbulos e fibrilas nanométricas a partir de diversos materiais, como polímeros condutores, metais, semicondutores.(RODRIGUES et al., 2022).

A eletrofiação é um processo eletrohidrodinâmico que resulta no movimento de um fluido por meio da aplicação de um campo eletrostático. Basicamente, o sistema consiste em quatro componentes principais: uma fonte de alta tensão, um reservatório contendo a solução polimérica, um capilar (geralmente uma agulha hipodérmica) e um coletor metálico. O reservatório que contém a solução polimérica pode ser colocado na vertical ou na horizontal: no primeiro caso, a vazão da solução é controlada principalmente pela gravidade, já na segunda configuração a taxa de ejeção é controlada por uma bomba de ejeção como mostra a figura 3 (MERCANTE et al., 2021).

Figura 3 – Representação esquemática de um sistema de eletrofiação

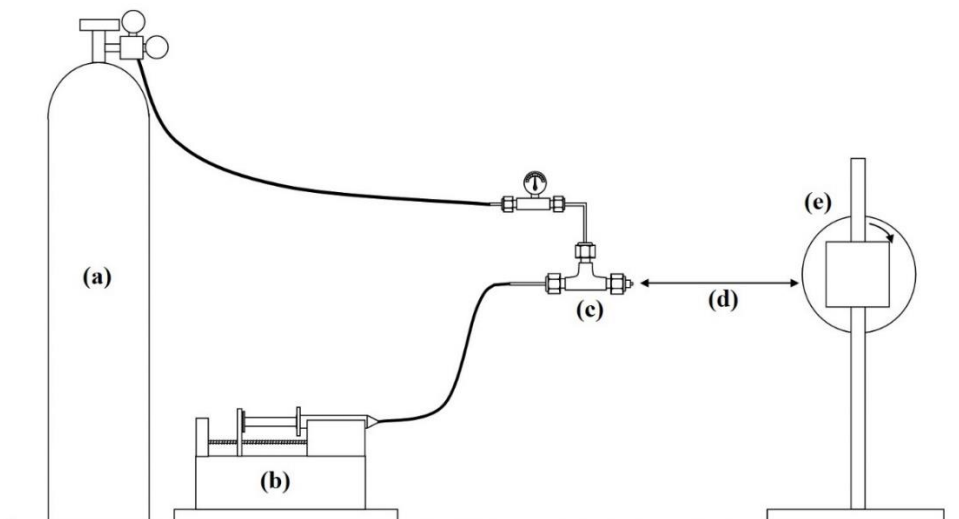


Fonte: (MERCANTE et al., 2021)

Um sistema de eletrofiação pode ser ajustado para aumentar a produção ou facilitar a formação de materiais com propriedades especiais, como nanofibras coaxiais ou mesmo nanofibras alinhadas. Para isso, podem ser aplicados coletores e capilares (agulhas) de diferentes formatos dependendo das propriedades buscadas para as nanofibras (MERCANTE et al., 2021; RODRIGUES et al., 2022).

Outra alternativa para a produção de nanofibras e microfibras poliméricas é a técnica de fiação por sopro em solução (*solution blow spinning*), desenvolvida inicialmente por Medeiros et al. (2009). O sistema operacional consiste em uma fonte de gás comprimido, um regulador de pressão, uma bomba de injeção para controlar a taxa de injeção das soluções, uma matriz de fiação de bicos concêntricos e um coletor com velocidade de rotação controlável, como demonstrado na Figura 4 (SILVA; OLIVEIRA; MEDEIROS, 2015).

Figura 4 – Esquema do aparelho utilizado na técnica “solution blow spinning”. (a) Reservatório do gás, (b) bomba de injeção, (c) matriz de fiação, (d) distância de trabalho e (e) coletor



Fonte: Adaptado de Silva, Oliveira e Medeiros (2009)

A solução polimérica contida em uma seringa é ejetada com auxílio de uma bomba de injeção, por meio de um bico interno em uma corrente de gás pressurizado que passa através do bico externo. O gás pressurizado é responsável pela ejeção do ar a alta pressão, sendo ajustado de acordo com a necessidade do experimento.

Esta técnica é uma alternativa para produção de fibras poliméricas em nano e micro escala principalmente para aplicações na área médica, como recuperação de tecidos, liberação controlada de fármacos e regeneração de tecidos ósseos, apresentando sua principal vantagem a sua taxa de produção de fibras – volume da solução injetado em função do tempo – consideravelmente melhor que a técnica *electrospinning*, sem a necessidade de aplicação de um campo elétrico; essa característica possibilita a deposição de fibras sobre qualquer tipo de superfície, incluindo tecidos vivos (SILVA, 2013).

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS DA PESQUISA

2.1 Objetivo geral

Desenvolver filmes e mantas fibrosas de biocompósitos de borracha natural com dois tipos de vitrocerâmicas bioativas, BioS e 45S5-K (BL0), visando aplicações biomédicas.

2.1 Objetivos específicos

1. Avaliar a dispersão das partículas de vitrocerâmicas bioativas no interior e na superfície do biocompósito, bem como a sinergia entre as fases e sua interação por meio de análises morfológicas;
2. Avaliar a influência das partículas de vitrocerâmicas bioativas nas propriedades mecânicas do biocompósito por meio de ensaios mecânicos;
3. Estudar os efeitos da dispersão das partículas de vitrocerâmicas bioativas nas propriedades térmicas dos espécimes do biocompósito por meio da técnica de TGA;
4. Analisar as propriedades termomecânicas do biocompósito sob ação de uma força mecânica variável durante um intervalo de temperatura determinado;
5. Verificar a biocompatibilidade do biocompósito por meio de testes de citotoxicidade direta e indireta.

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

Este capítulo descreve o material, equipamentos e procedimentos técnicos utilizados na produção dos biocompósitos. Manipulação das variáveis utilizadas na adição de partículas de vitrocerâmicas bioativas, como massa, temperatura, tensão de ruptura e níveis de citotoxicidade; também se analisam os diferentes resultados obtidos a partir das variações na adição das partículas.

3.1 Borracha natural

Da DLP Industries e Comércio de Borracha e Artefatos em Poloni (São Paulo, Brasil), foi adquirido o crepe claro brasileiro de borracha (CBC) com viscosidade de 98 Mooney (medida a 100°C). As seguintes matérias-primas foram utilizadas para a obtenção de 45S5-K (BL0) carbonato de potássio: (Sigma-Aldrich, 99,0%), carbonato de cálcio (J. T. Baker, 99,3%), hidrogenofosfato de potássio (J. T. Baker, 99,5%) e dióxido de silício (Vitrovita 99,9%).

3.2 Vitrocerâmicas bioativas

Para a obtenção do biovidro 45S5-K (BL0) foi utilizada uma composição contendo os componentes: 24,4K₂O-26,9CaO-46,1SiO₂-2,6P₂O₅ (mol%). Um forno elétrico Deltech Inc., DT-33-RS-812C (Denver, Colorado, EUA) foi utilizado para fundir a mistura de reagentes em um cadinho de platina por quatro horas a 1350°C. Para melhorar a homogeneidade química, os componentes foram fundidos e refundidos duas vezes e depois despejados em moldes cilíndricos de grafite (35 mm de altura x 14 mm de diâmetro). A fim de eliminar as tensões residuais e facilitar o corte, os espécimes foram recozidos a 50°C, abaixo da temperatura de transição vítrea (T_g) igual a 560°C. As partículas BL0 de diâmetro inferior a 3 μ m foram obtidas, usando um moinho de bolas planetário Pulverisette 5, Fritsch. As partículas de vidro foram passadas através de uma peneira de 1 mm e depois moídas em um moinho planetário a 500 rpm por 30 min usando 3 esferas de ágata de 30 mm de diâmetro. Posteriormente, o pó foi novamente moído a 500 rpm por 30 min utilizando 10 esferas de ágatas de 20 mm de diâmetro. O pó obtido

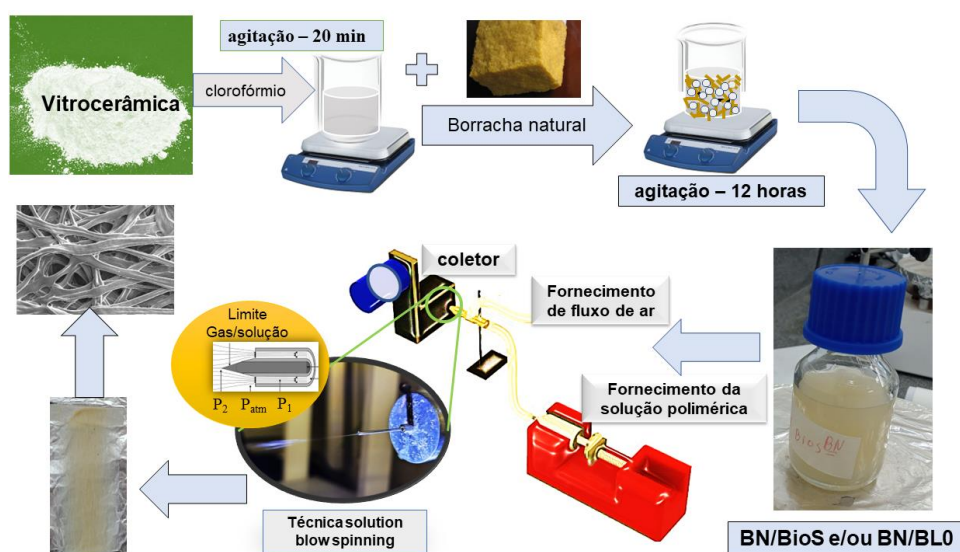
foi moído em moinho planetário a 550 *rpm* por 60 *min*, utilizando 100 *ml* de álcool isopropílico e 50 esferas de ágata de 10 *mm* de diâmetro. Após o resfriamento do jarro de ágata, este procedimento de moagem úmida foi repetido. A suspensão foi então seca a 75°C.

A vitrocerâmica bioativa (biosilicato – BioS) com composição 23,5 Na₂O-26 CaO - 49,6 SiO₂ - 0,9 P₂O₅ (mol%) foi fornecida pelo Laboratório de Materiais Vítreos (LaMaV) do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos, em São Carlos/SP, Brasil (pedido de patente WO 2004/074199) (CROVACE et al., 2016).

3.3 Preparação dos biocompósitos à base de Borracha Natural

Para a realização de uma análise comparativa dos diferentes espécimes, preparou-se uma solução de BN pura para obtenção de filmes e mantas fibrosas. Primeiro foram dissolvidos pequenos pedaços de BN (1,5 *g*) em 30 *ml* de clorofórmio sob agitação constante por 12 *h* até que a solução apresentasse aparência de gel e viscosidade adequada utilizando a técnica *solution blow spinning* para formação de fibras (SOUSA et al., 2019).

Figura 5 – Esquema da preparação polimérica para utilização da técnica solution blow spinning



Fonte: O autor (2023)

Os espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 foram preparados por dispersão de quantidades desejadas pelas razões de massa de BN em relação as vitrocerâmicas bioativas

(biosilicato e bioglass 45S5-K) foram 90/10, 80/20 e 70/30 apresentada na Tabela 1 em 30 ml de clorofórmio por 1 h. Em seguida, foram adicionados pequenos pedaços de BN (1,5 g) na dispersão vitrocerâmica /clorofórmio, mantida sob agitação constante por 12 h. A solução de BioS ou BL0/clorofórmio/BN apareceu em forma de gel após 12 h, demonstrando boa viscosidade para formação de fibras por meio da técnica *solution blow spinning*.

Tabela 1 – Concentrações de BioS e BL0 para a produção de biocompósitos de base BN.

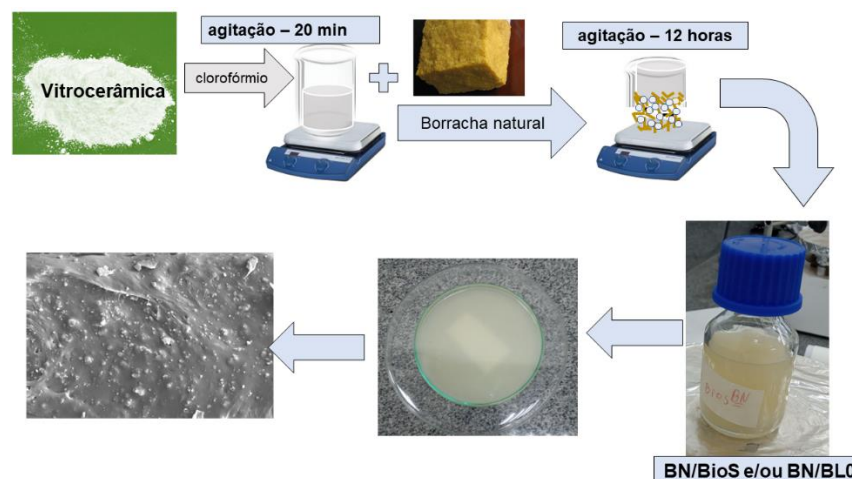
Espécime	BN (g)	BioS (g)	BL0 (g)
BN puro	1,5		
BN/BioS (90/10)	1,5	0,17	
BN/BioS (80/20)	1,5	0,38	
BN/BioS (70/30)	1,5	0,64	
BN/BL0 (90/10)	1,5		0,17
BN/ BL0 (80/20)	1,5		0,38
BN/ BL0 (70/30)	1,5		0,64

Fonte: O autor (2023)

Para a obtenção das mantas fibrosas, as soluções de BN, BN/BioS e BN/BL0 foram colocadas em seringas descartáveis de 10 ml e acopladas ao sistema de injeção. Foi utilizada uma agulha espinal de 18G conectada à seringa para injetar a solução. Os parâmetros experimentais utilizados para a técnica *solution blow spinning* foram: pressão do sistema (400 kPa), rotação do coletor 50 rpm, distância de trabalho 15 cm, taxa de injeção da solução polimérica 26,97 ml/h.

Os filmes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 são formadas quando o clorofórmio é completamente volatilizado. Diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas bioativas descritas na Tabela 1 (SILVA et al., 2018).

Figura 6 – Esquema de preparação da solução polimérica para formação de filmes biocompósitos



Fonte: O autor (2023)

A obtenção dos filmes biocompositos as dispersões BN/BioS e BN/BL0 foram depositadas sobre placas de vidro Petri para secagem durante 24 h em temperatura ambiente para evitar a contaminação, os espécimes foram protegidos com outras placas de vidro de Petri, deixando-o um pequeno espaço para controlar a evaporação do solvente possibilitando a formação de filmes.

3.4 Caracterização do biocompósito

3.4.1 Viscosidade

A viscosidade é uma propriedade importante que afeta a formação de fibra de uma solução polimérica no processo de fiação utilizando a técnica *solution blow spinning*. Soluções poliméricas com baixa viscosidade oferecem fibras mais finas devido à menor resistência entre as cadeias poliméricas, enquanto soluções com alta viscosidade resultam em fibras mais grossas devido à maior resistência ao movimento das cadeias umas em relações às outras. Neste trabalho, o teste de viscosidade foi realizado utilizando-se o viscosímetro DV-II+PRO Digital Viscometer da Brookfield, spindle modelo LV3, com os parâmetros utilizados para as soluções poliméricas com diferentes concentrações, conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros para obtenção da viscosidade da solução polimérica

Soluções	Rotação (rpm)	Torque (%)
BN puro	12,40	97,7
BN/BioS (90/10)	7,60	97,8
BN/BioS (80/20)	7,00	98,8
BN/BioS (70/30)	13,00	98,0
BN/BL0 (90/10)	8,00	97,0
BN/ BL0 (80/20)	8,00	97,0
BN/ BL0 (70/30)	10,00	97,8

Fonte: O autor (2023)

3.4.2 Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

A microestrutura da superfície criofraturada dos filmes e a superfície das mantas fibrosas dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes concentrações de vitrocerâmicas foram estudadas utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV), modelo EVO LS15 da Zeiss. A fratura dos espécimes na forma de filme foi realizada com ajuda de nitrogênio líquido, que em seguida foram secas sob vácuo dinâmico por uma hora. Para as análises uma fina camada (10 nm) de carbono foi depositada na superfície dos espécimes.

A partir das imagens adquiridas, foram estudados os aspectos dos espécimes fibrosas formadas, a homogeneidade das amostras e a média de um total de 100 fibras aleatórias foi medida usando o software IMAGE J (National Institutes of Health, EUA). Dados estatísticos sobre a frequência de ocorrência dos diâmetros foram coletados para cada imagem e cada espécime foi caracterizada em função do seu diâmetro médio (dm), de acordo com cada condição testada para todas as amostras obtidas.

3.4.3 Espectroscopia infravermelha com transformada de Fourier

As análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas usando um espectrômetro da *Bruker*, modelo *Vector 22* operando no modo ATR (reflexão total atenuada) na faixa de 4000–400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras.

3.4.4 Ensaios mecânicos

O comportamento mecânico dos espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 foi estudado à temperatura ambiente utilizando uma máquina de ensaio universal da *Instron* e modelo 3639 seguindo a norma ISO 37:2011. Nas análises utilizou-se uma célula de carga de 100 N e velocidade de cruzeta de 100 mm/min. Os espécimes foram cortados de acordo com a ISO 1286:2006 e os resultados foram calculados em média a partir dos dados de cinco corpos de prova de cada espécime.

3.4.5 Análise térmica mecânica dinâmica

Foram realizadas análises do comportamento mecânica dinâmica para uma ampla faixa de temperatura para as mantas fibrosas dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes concentrações de BioS e BL0. As análises foram realizadas durante o ciclo de tração em frequências constantes. As dimensões dos espécimes retangulares foram de aproximadamente 9 mm × 3 mm (comprimento × largura) usando um instrumento da *Netzsch*, modelo DMTA 242C em modo de tração. Os parâmetros utilizados foram: frequência de 10 Hz, faixa de temperaturas de -100 a 150°C e taxa de aquecimento de 5°C.min⁻¹, amplitude de 240 µm, e força dinâmica máxima de 1,6 N. O módulo de armazenamento (E'), módulo de perda (E''), e $\tan \delta$ (relação entre E' e E'') foram avaliados em função da temperatura.

3.4.6 Análise termogravimétrica (TG)

As análises termogravimétricas foram realizadas por meio de termoanalisador da *Netzsch* TG-209, com testes termogravimétricos (TG/DTG) realizados na faixa de temperatura 30–600°C e taxa de aquecimento de 10°C/min sob atmosfera de nitrogênio com taxa de fluxo de 20 ml.min⁻¹. Para as medições, foram utilizados 7 mg de espécimes de biocompósitos em cadinho Al₂O₃.

3.4.7 Ensaios biológicos

Os testes biológicos foram realizados em células-tronco mesenquimais da medula óssea (MSC). Resumidamente, os fêmures de ratos wistar foram limpos de todos os tecidos moles e deixados em álcool a 70% por 5 min. Em um fluxo laminar, a epífises foram removidas e as

células da medula óssea foram extraídas por lavagem de cada fêmur com 10 *ml* de alfa-MEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (Thermo Fisher Scientific) (CROVACE et al., 2016b). As células foram cultivadas e expandidas a 37°C, sob 5% de CO₂ em meio alfa-MEM suplementado com 10% de soro fetal bovino, 1% de antibiótico-antimicrobiano e 1% de L-Glutamina 200mM (Invitrogen). O meio de cultura era trocada duas vezes por semana. Após atingirem 80–90% de confluência, as células foram descoladas pelo uso de solução de tripsina-EDTA a 0,25% (Invitrogen) e ressuspensas em 10 *ml* de meio de cultura. Passagens de 3 a 5 foram consideradas neste trabalho.

A forma circular (1 *cm* de diâmetro) dos espécimes de biocompósitos (Tabela 1) foi colocada em uma placa de 24 poços com meio de cultura celular (1 *ml*). A placa foi incubada a 37°C, sob 5% de CO₂ por 24 *h*. Após a incubação, o meio foi recuperado e utilizado para cultivar 1,0x10⁴ MSc em outra placa de 24 poços por 72 *h* para avaliar a citotoxicidade do meio em contato com os espécimes de biocompósitos. O ensaio foi realizado em triplicata e a citotoxicidade foi mensurada por MTT (5 *mg/ml* em solução tampão fosfato (PBS), Sigma-Aldrich Co.), diluído em meio DMEM sem vermelho de fenol, seguido de incubação por 3 *h* a 37°C, abaixo de 5% de CO₂. A placa incubada foi então colocada em um leitor de microplacas, a fim de determinar o valor de densidade óptica (OD) no comprimento de onda de 540 *nm* (KUMAR; NAGARAJAN; UCHIL, 2018; MOHAMMADI; VATANPOUR; SHIRAZI, 2015). MSc cultivados em meios frescos alfa-MEM suplementados com 10% de soro fetal bovino foram utilizados como controle (100% de viabilidade celular).

Além do MTT, os MSc também foram cultivados nos espécimes de biocompósitos para avaliar a proliferação celular na sua superfície. Cerca de 1,0 x10⁴ células foram colocadas em forma circular biocompósita em meio alfa-mem, conforme descrito anteriormente. Após 72 *h*, os espécimes foram lavados com PBS e incubadas por 1 *h* com ensaio kit-8 de contagem celular-8 (CCK-8), conforme descrito por Yang et al (YANG et al., 2019) . A placa incubada foi então colocada em um leitor de microplacas a 450 *nm*. MSc cultivado em placa de 24 poços sem espécimes de biocompósitos foi utilizado como controle (100% de proliferação celular) (YANG et al., 2019).

3.4.7.1 Análise estatística

Todos os dados experimentais são apresentados como média e erro padrão da média. Os dados foram analisados no software GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA) e verificados pelo teste de normalidade (Shapiro-Wilk). ANOVA one-way com teste post-hoc de Tukey foi aplicada para dados paramétricos, enquanto o teste de Kruskal-Wallis com post-hoc de Dunn foi aplicado para dados não paramétricos. Os níveis de significância foram fixados em: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; $p < 0,001$.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

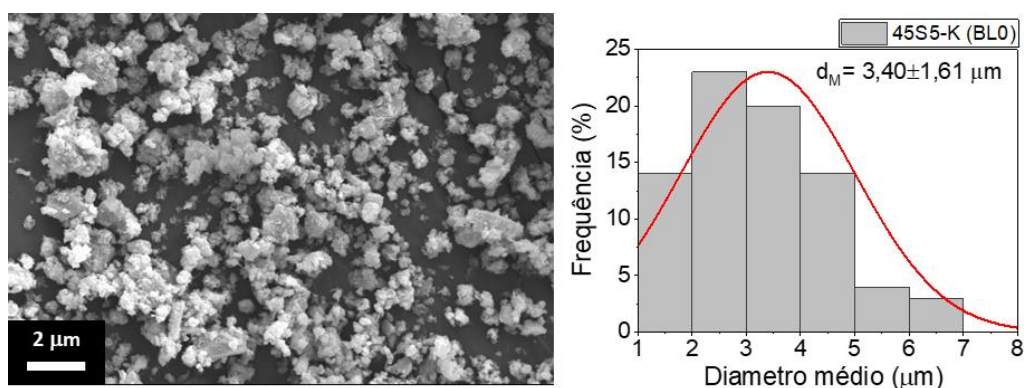
Este capítulo está dividido em quatro subtópicos. O primeiro descreve o estudo realizado para avaliar a morfologia das vitrocerâmicas bioativas utilizadas na obtenção dos biocompósitos. O segundo subtópico relata o estudo da viscosidade das dispersões poliméricas BN/BioS e BN/BL0 realizado com diferentes quantidades de vitrocerâmica. O subtópico terceiro apresenta os resultados e a discussão dos espécimes dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 na forma de filmes e o quarto, por fim, os espécimes na forma de mantas fibrosas.

4.1 Caracterização das partículas vitrocerâmicas BioS e BL0.

A Figura 10 apresenta as imagens de microscopia das partículas da amostra BL0 após o processo de moagem, cuja composição química é $24,4\text{K}_2\text{O}-26,9\text{CaO}-46,1\text{SiO}_2-2,6\text{P}_2\text{O}_5$ (mol%). Como pode ser observado, as partículas de BL0 apresentaram um formato irregular, provavelmente devido ao processo de moagem, no qual as pequenas partículas tendem a se aderir à superfície das maiores (SILVA et al., 2021). De acordo com a distribuição do diâmetro médio das partículas de BL0, os valores foram de aproximadamente $(3,40 \pm 1,61) \mu\text{m}$.

Os resultados obtidos da distribuição do diâmetro médio após o processo de moagem para obter partículas com diâmetro de $3 \mu\text{m}$ estão próximos aos valores obtidos no estudo de Silva e colaboradores (2021).

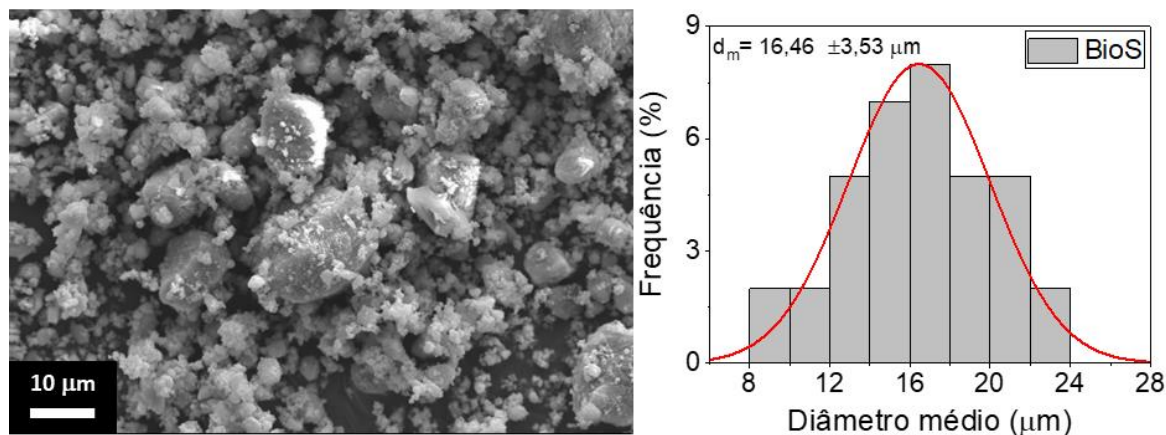
Figura 7 – Imagens de MEV e diagrama de diâmetro médio (dm) das partículas vitrocerâmicas 45S5-K (BL0)



Fonte: O autor (2023)

Para as partículas de BioS, assim como para as partículas de BL0, a morfologia foi irregular como ilustrado na imagem obtida por MEV apresentada na Figura 8.

Figura 8 – Imagem de MEV e diagrama do tamanho médio (dm) das partículas de biosilicato (BioS)



Fonte: O autor (2023)

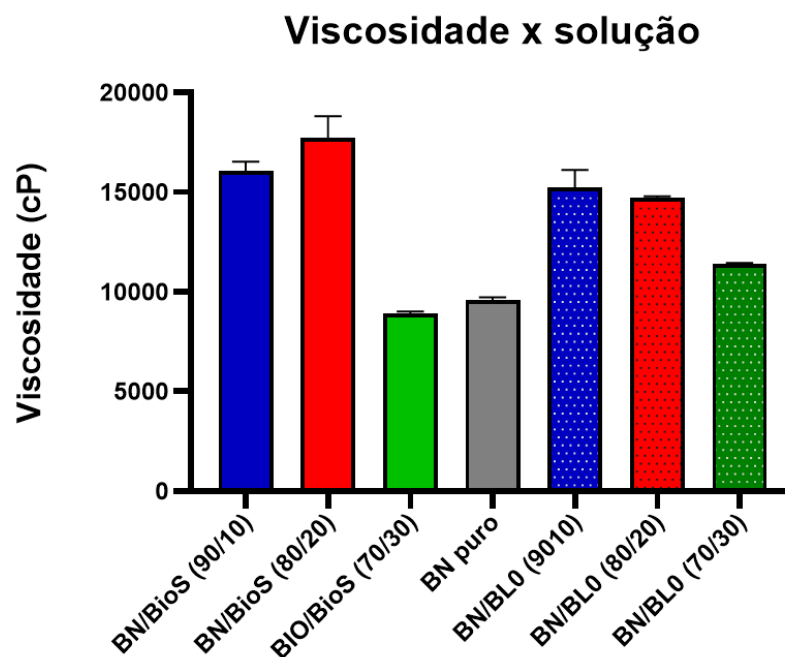
Observa-se, na distribuição do tamanho médio, que o valor foi de aproximadamente $(16,46 \pm 3,53) \mu\text{m}$. O valor do tamanho médio das partículas de BioS é aproximadamente 4 vezes maior do que as partículas de BL0.

4.2 Caracterização reológica das soluções poliméricas

Um dos parâmetros importantes para compreender a solução polimérica é a sua reologia, que está relacionada ao tamanho das moléculas estão em solução e a forma como estão emaranhadas. Conhecer o comportamento da solução possibilita compreender melhor a morfologia das fibras poliméricas e verificar sua influência sobre as propriedades físicas e químicas de filmes e mantas fibrosas, bem como a formação das fibras durante o processo de fiação (ANNELISE, 2008; SASTRY; DAVE; VALAND, 1999).

A Figura 12 compara a viscosidade das soluções BN/BL0e BN/BioS com diferentes concentrações de partículas de BioS e BL0. Por meio dessas simples análises é possível verificar a influência da dispersão de BioS ou BL0 na matriz BN em solução de clorofórmio e, então, verificar sua influência sobre as propriedades físicas e químicas dos filmes e mantas fibrosas.

Figura 9 – Viscosidade das soluções BN/BL0, BN/BioS



Fonte: O autor (2023)

Com os resultados obtidos do viscosímetro, pode-se observar, na Tabela 3, que a adição de partículas vitrocerâmicas de BioS e BL0 na matriz BN provoca um aumento significativo da viscosidade, entre 10% e 20%. Esse comportamento era esperado, uma vez que as partículas de biovidro tendem a atuar como elementos de resistência quando o torque é realizado no sistema, dificultando o movimento das cadeias polimérica da BN em solução. Porém, na solução com 30% de vitrocerâmicas ocorre uma redução significativa na viscosidade da solução BN/BioS e BN/BL0 (70/30). Uma possível hipótese é a diminuição das interações moleculares entre as cadeias de BN e o aumento da quantidade de biovidro, ou seja, o resultado pode ser um indicativo do aumento da mobilidade das partículas de vitrocerâmica na matriz BN (ATKINS; JONES, 2012).

Tabela 3 – Viscosidade das dispersões poliméricas de borracha natural reforçadas com partículas bioativas de vitrocerâmicas de BioS e 45S5-K (BL0)

Espécimes	Viscosidade (cP)
BN PURO	9575 ± 151,2
BN/BioS (90/10)	16078 ± 454,6
BN/BioS (80/20)	17704 ± 1102
BN/BioS (70/30)	8907 ± 96,51
BN/BL0 (90/10)	15326 ± 897,4
BN/BL0 (80/20)	14719 ± 65,27
BN/BL0 (70/30)	11406 ± 36,95

Fonte: O autor (2023)

4.3 Filmes

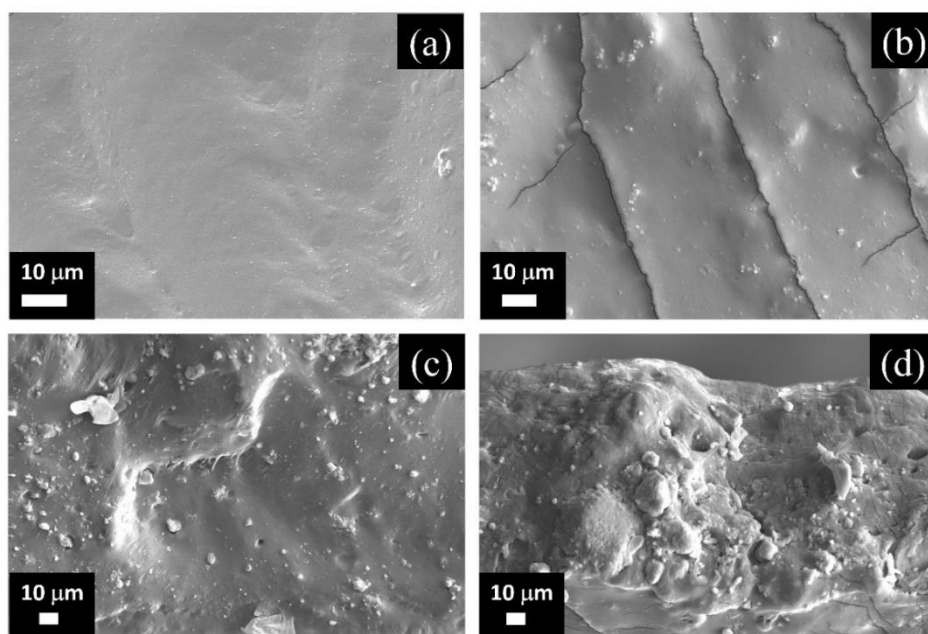
Este subtópico apresenta os resultados publicados no *Journal of Applied Polymer Science* (2023) em artigo intitulado *Evaluation of tensile, thermal, and biological properties of natural rubber-based biocomposite with biosilicate and 45S5-K bioglass*. O estudo foi realizado como primeira parte do trabalho apresentado nesta tese, com a finalidade de comparar os espécimes com morfologia fibrosa e na forma filmes.

4.3.1 Análise Morfológica

As Figuras 13 e 14 apresentam as análises de MEV da superfície criofraturada de espécimes de BN pura e dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas bioativas. Como esperado, a morfologia da superfície criofraturada da BN mostra uma superfície bastante lisa (Figura 13a e 14a). Por outro lado, a adição das partículas BioS e BL0 à matriz BN alteram sua morfologia, que adquire uma característica rugosa, como observado nas Figuras 13 b-d e 14 b-d, respectivamente. Como se constata nas Figuras 13 e 14, tanto as partículas de BioS quanto as de BL0 demonstram um padrão de distribuição homogênea e boa dispersão na superfície criofraturada dos espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0, respectivamente, com pequenos aglomerados em altas concentrações. Este efeito pode contribuir diretamente nas propriedades mecânicas finais dos espécimes de biocompósitos com uma grande carga de biovitrocerâmicas bioativas. De acordo com Jeyachandran e colaboradores (2020), uma boa dispersão das partículas de biovidro através de uma matriz de

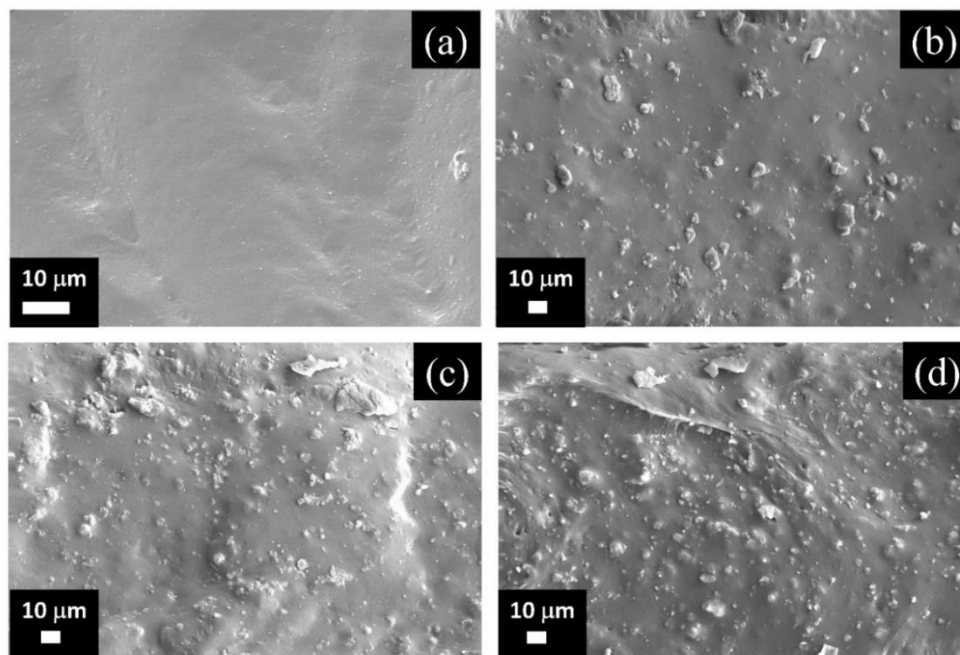
polietileno de alta densidade melhoraram as propriedades mecânicas dos biocompósitos. Uma boa dispersão de partículas de vitrocerâmicas na matriz de poli(aminoácido) (PAA) resultou em uma superfície mais bioativa, o que potencializa de forma significativa as propriedades biomédicas do biocompósito, como relatado por Zheng e colaboradores (2021).

Figura 10 – Análise de MEV das secções transversais de (a) BN e BN/BioS biocompósitos com diferentes quantidades de BioS (b) 10%, (c) 20% e (d) 30%.



Fonte: O autor (2023)

Figura 11 – Análise MEV das secções transversais de (a) BN e biocompósitos BN/BL0 com diferentes quantidades de massa de BL0 (b) 10%, (c) 20% e (d) 30%.

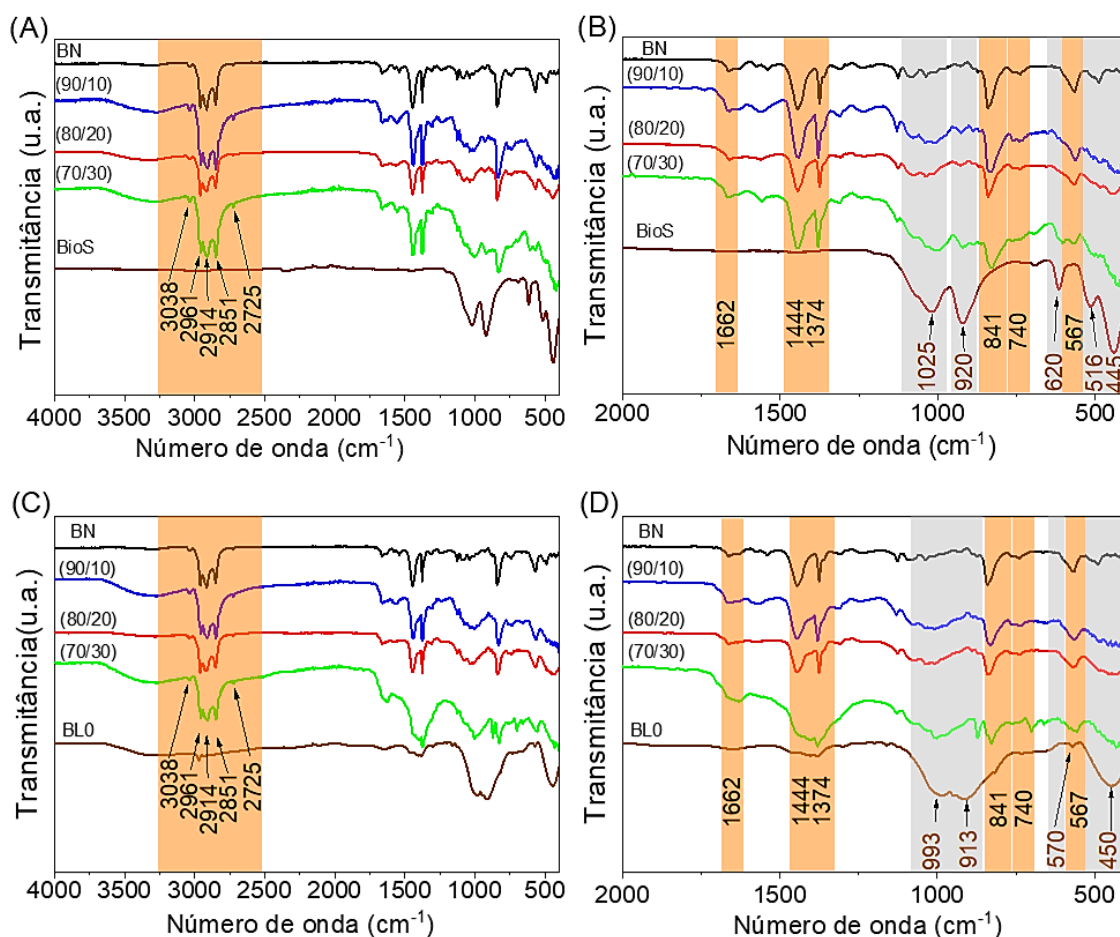


Fonte: O autor (2023)

4.3.2 Análises de FTIR

Os espectros do FTIR de partículas de BioS e de BL0, bem como da BN pura e espécimes de biocompósitos bifásicos, são apresentados na Figura 15 e as atribuições dos picos estão dispostas na Tabela 4. Como se observa nas Figuras 15a e 15b, o espectro BioS demonstrou uma grande banda de absorção entre 1100 e 900 cm^{-1} , que corresponde a SiO_2 e PO_4^{3-} (FERNANDES et al., 2017). As bandas entre 440 e 550 cm^{-1} no espectro do BioS representam as ligações do tipo PO e Si-O-Si (FERNANDES et al., 2017). As Figuras 15c e 15d mostram as bandas de absorção características para BL0 relacionadas à vibração de Si-O-Si em aproximadamente 920 e 1010 cm^{-1} correspondente ao oxigênio sem ligação e estiramento assimétrico do oxigênio com ligação com o tetraedro de silicato (LUCAS-GIROT et al., 2011; VAFA; BAZARGAN-LARI; BAHROLOLOOM, 2021). Outra banda de absorção pode ser observada a 450 cm^{-1} e está relacionada ao modo de flexão simétrica da ligação Si-O-Si (LUCAS-GIROT et al., 2011; VAFA; BAZARGAN-LARI; BAHROLOLOOM, 2021; VYAS et al., 2016). A banda de baixa intensidade em 570 cm^{-1} é atribuída aos grupos P-O (LUCAS-GIROT et al., 2011; VAFA; BAZARGAN-LARI; BAHROLOLOOM, 2021). A banda de absorção entre a faixa 1450 - 1350 cm^{-1} pode ser atribuída ao grupo de carbonato residual de precursores. As bandas características de BioS e BL0 foram observadas somente em espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com concentrações de 30% em massa.

Figura 12 – Espectros FTIR dos espécimes de biocompósitos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas bioativas, com os seguintes intervalos de número de ondas: BN , BN/BioS (A) 4000 – 500 cm^{-1} , (B) 2000 – 450 cm^{-1} e BN, BN/BL0 (C) 4000 – 500 cm^{-1} , (D) 2000 – 450 cm^{-1}



Fonte: O autor (2023)

Por outro lado, as bandas de absorção de FTIR da BN nos espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 são mais evidentes do que as partículas BioS e BL0. Os espectros dos espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 são mostrados na Figura 15. Para espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de biovidro, observam-se as bandas principais de absorção da BN correspondentes aos grupos funcionais do isopreno, entre eles: 3038, 2961, 2914, 2851, 1662, 1444, 1374, e 841 cm^{-1} (CENA; MALMONGE; MALMONGE, 2017; RIPPEL et al., 2003; ROLERE et al., 2015). É possível observar outros picos não relacionados ao isopreno nos espectros de FTIR, como, por exemplo, a banda larga e intensa entre 3200 e 3500 cm^{-1} , que se deve à presença de grupos hidroxila e várias bandas entre 1130 e 1010 cm^{-1} , sugerindo compostos oxigenados (CENA; MALMONGE; MALMONGE, 2017; RIPPEL et al., 2003; ROLERE et al., 2015).

Tabela 4 – Atribuições das principais bandas de absorção nos espectros FTIR de espécimes de biocompósitos BN, BioS, BL0, BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas bioativas.

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição	BN/BioS	BN/BL0	BN	BL0	BioS
445	Si–O–Si estiramento simétrico	X				X
450	Si–O–Si estiramento simétrico		X		X	
488	C–C–C flexão no plano	X	X	X		
516	P–O	X				X
567	C–C–C flexão no plano	X	X	X		
570		X	X	X		
600	P–O flexão (amorfa)	X	X		X	
740	–CH ₂ – rocking	X	X	X		
841	C=CH wagging	X	X	X		
913	Si–O–Si	X	X		X	
920	PO ₄ ³⁻	X				X
1010	Si–O–Si	X	X		X	
1025	SiO ₂	X				X
1080	C–O	X	X	X		
1127	C–H flexão	X	X	X		
1309	–CH ₃ deformação	X	X	X		
1374	C–H flexão em CH ₃	X	X	X		
1431	grupo de carbonato residual				X	
1444	C–H flexão de CH ₂	X	X	X		
1662	C=C estiramento	X	X	X		
2725	–CH ₃ deformação de sobretom assimétrica	X	X	X		
2851	C–H estiramento em CH ₂ e CH ₃	X	X	X		
2914	C–H estiramento em CH ₂	X	X	X		
2961	C–H estiramento em CH ₃	X	X	X		
3038	CH estiramento	X	X	X		

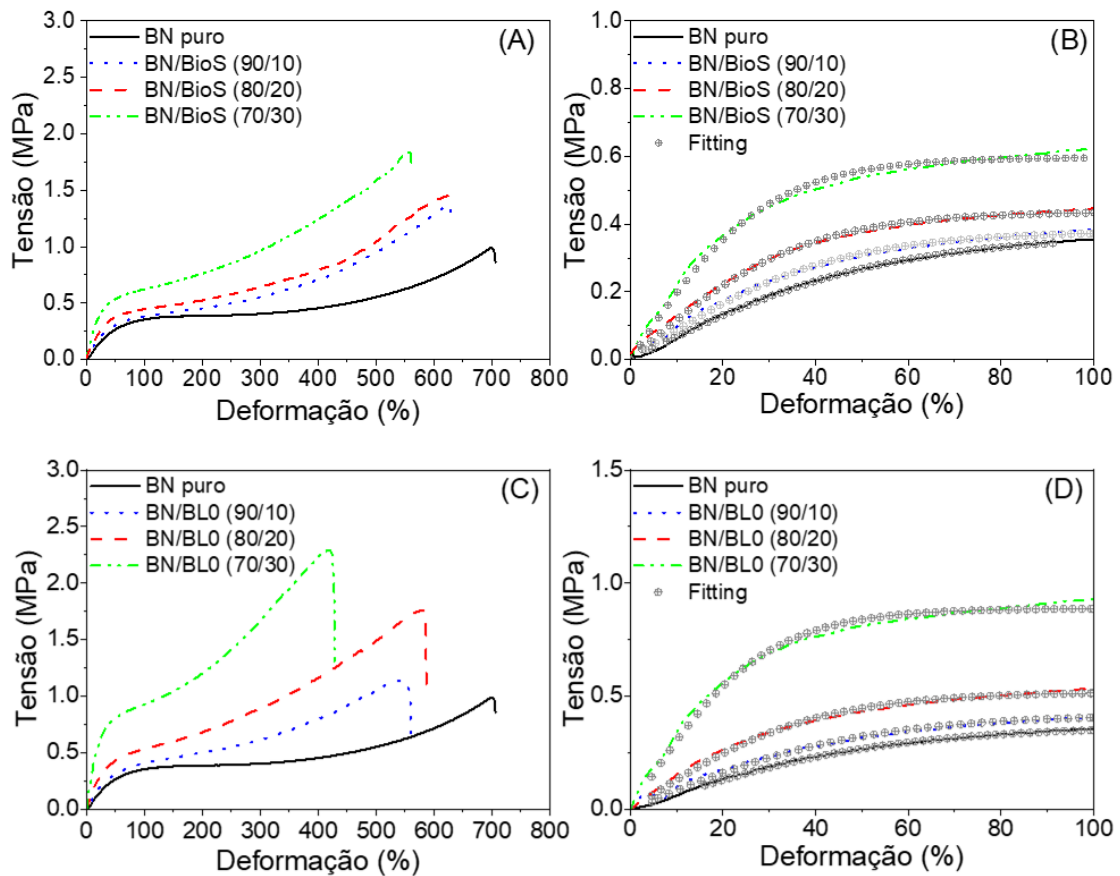
Fonte: O autor (2023)

4.3.3 Análises mecânicas

Os gráficos da Figura 16 mostram curvas de tensão-deformação do teste mecânico em modo tração para a BN pura e os espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de BioS e BL0, respectivamente. Observando as figuras 16 A e 16 D a BN pura apresenta comportamento típico de material elastomérico na curva de tensão-deformação, ou seja, elevada deformação na ruptura ($\epsilon_{ruptura}$) e baixa tensão no momento da ruptura ($\sigma_{ruptura}$). Como esperado, a dispersão de partículas de BioS e BL0 influenciou as propriedades mecânicas da matriz BN. Ainda sobre a curva de tensão-deformação, a Figura 16 demonstra que o aumento da quantidade de BioS e/ou BL0 na matriz BN resulta em diminuição no valor de $\epsilon_{ruptura}$. O valor de $\epsilon_{ruptura}$ da matriz BN foi de (699±32)%, enquanto os espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com 30% de BioS e BL0 apresentaram valores de $\epsilon_{ruptura}$ iguais a (556±14)% e (420±17)%, respectivamente. Por outro lado, quando as concentrações

de BioS e BL0 foram aumentadas na matriz BN, o valor de $\sigma_{ruptura}$ da matriz BN aumentou de $(0,99 \pm 0,06)$ MPa para $(1,84 \pm 0,09)$ MPa e $(2,29 \pm 0,04)$ MPa para os espécimes BN/BioS e BN/BL0 com 30% de cargas bioativas, respectivamente.

Figura 13 – Curvas de tensão-deformação de (A,B) BN/BioS e (C,D) BN/BL0 dos filmes de biocompósitos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas bioativas. As curvas de ajuste são dadas pela equação 1



Fonte: O autor (2023)

A Tabela 5 apresenta os parâmetros mecânicos extraídos dos gráficos de tensão-deformação da Figura 16, tais como: a tensão em 100% ($\sigma_{100\%}$) e 300% ($\sigma_{300\%}$) de deformação, bem como os valores de $\sigma_{ruptura}$ e $\epsilon_{ruptura}$ para a BN pura e para os espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas bioativas. Observa-se que, aumentando a quantidade de BioS e BL0, os valores de $\sigma_{100\%}$ e $\sigma_{300\%}$ também aumentaram seguindo a mesma tendência de $\sigma_{ruptura}$. Esse comportamento se deve ao fato de os

biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 se tornarem mais rígidos à medida que foi aumentada a concentração de BioS e/ou BL0.

Usando a Equação (1), que relaciona o módulo de *Young* (E) e a tensão de escoamento (γ), é possível realizar um ajuste teórico-experimental nas curvas de tensão-deformação da Figura 16 (BAI et al., 2004), no qual o módulo E pode ser definido como a resistência à tração de um material quando sujeito a um estímulo mecânico externo.

$$\sigma = \gamma \tanh\left(\frac{E}{\gamma} \varepsilon\right) \quad (1)$$

Por outro lado, o módulo γ está relacionado ao ponto onde ocorre a transição do estado elástico para o plástico do material. No entanto, as características das partículas, tais como fração de volume, diâmetro médio, distribuição de tamanho, adesão interfacial, etc., podem influenciar os valores dos módulos E e γ . A resistência à tração aumenta devido à forte aderência na interface polímero-partícula, que é promovida pela camada intermediária fina de BN entre as pequenas partículas (BAI et al., 2004). Nesse sentido, de acordo com os valores dos módulos E e γ , os espécimes dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 apresentam maior rigidez à medida que a carga de BioS e BL0 foi aumentada. Como resultado deste comportamento, as vitrocerâmicas de BioS e BL0 atuam como agentes de reforço na matriz BN, ou seja, como um meio ativo que absorve uma porção do estresse mecânico aplicado nos espécimes de biocompósitos.

Tabela 5 – Valores da resistência à ruptura a 100% ($\sigma_{100\%}$), 300% ($\sigma_{300\%}$) de deformação; $\sigma_{ruptura}$ e $\epsilon_{ruptura}$ de espécimes de biocompósito BN puro, BN/BioS e BN/BL0 com diferentes cargas de partículas bioativas de vitrocerâmicas

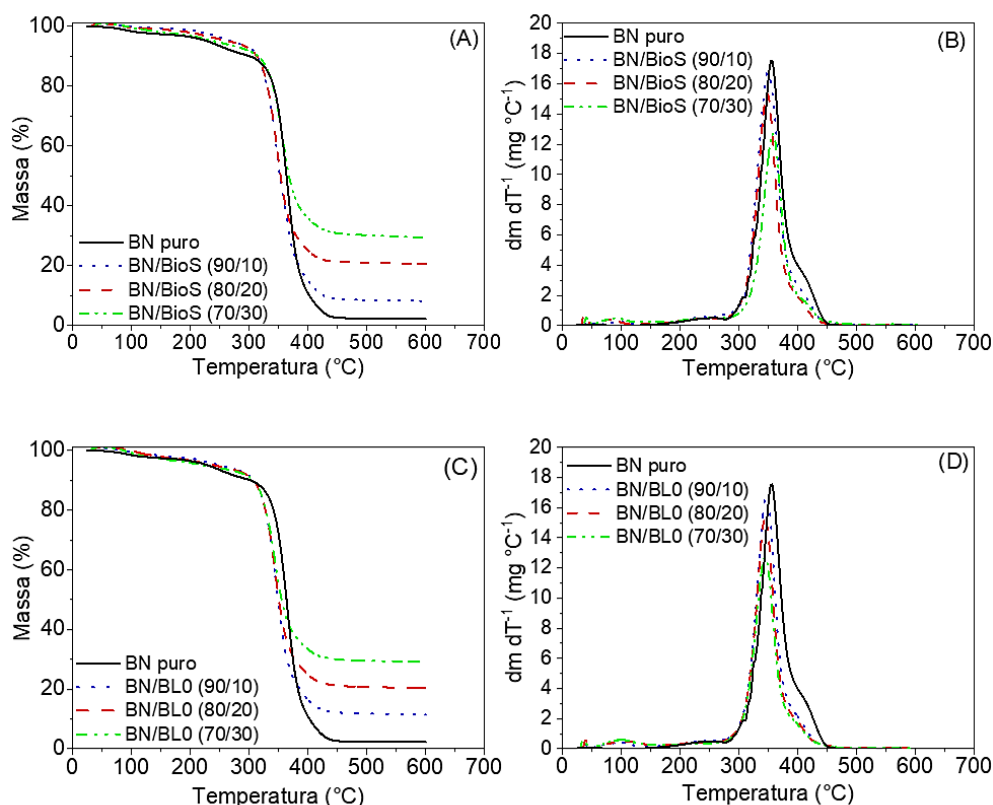
FILMES	$\sigma_{100\%}$ (MPa)	$\sigma_{300\%}$ (MPa)	$\sigma_{at\ break}$ (MPa)	$\epsilon_{at\ break}$ (%)	E (KPa)	γ (MPa)
BN puro	0,35±0,06	0,40±0,02	0,99±0,06	699±32	6,8±0,3	0,36±0,01
BN/BioS 90/10	0,39±0,03	0,56±0,05	1,37±0,08	628±28	8,8±0,2	0,37±0,03
BN/BioS 80/20	0,44±0,03	0,64±0,06	1,46±0,05	629±18	12,1±0,2	0,44±0,02
BN/BioS 70/30	0,62±0,04	0,97±0,07	1,84±0,09	556±14	20,4±0,6	0,60±0,01
BN/BL0 90/10	0,43±0,02	0,69±0,03	1,14±0,08	543±26	8,6±0,2	0,42±0,05
BN/BL0 80/20	0,48±0,05	0,81±0,05	1,75±0,02	580±22	13,5±0,3	0,52±0,03
BN/BL0 70/30	0,55±0,04	0,98±0,06	2,29±0,04	420±17	31,7±0,8	0,89±0,08

Fonte: O autor (2023)

4.3.4 Análise termogravimétrica (TG/DTG)

A Figura 17 ilustra as curvas TG/DTG da BN pura e dos espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com várias quantidades de vitrocerâmicas bioativas. A perda de massa abaixo dos 100°C em todas as curvas da TG pode ser atribuída à evaporação da água. O perfil TG da matriz BN mostra um evento principal de perda de massa, que ocorre na faixa de temperatura de 290°C a 450°C, correspondendo à decomposição estrutural do poli(cis-isopreno) das moléculas BN (AGOSTINI; CONSTANTINO; JOB, 2008; SOUSA et al., 2019). A perda de massa devida a este evento principal foi de cerca de 90,3%. A decomposição de componentes não faz parte da borracha, tais como ácidos graxos, produz um pequeno pico entre 150°C e 280°C, com perda de massa correspondente a 6,5% (SILVA et al., 2018). A 600°C, o resíduo final de BN pura foi de cerca de 2,2%. Como mostrado nas Figuras 17B e 17D, a curva de DTG da BN pura apresenta um pequeno ombro entre as temperaturas de 380°C a 450°C. É possível atribuir este ombro à degradação de componentes de BN menos acessíveis no evento principal e que precisaram de mais energia para se decompor (BELLUCCI et al., 2016).

Figura 14 – Análise TG/DTG de (A, D) BN/BioS e (C, D) BN/BL0 espécimes de biocompósitos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas bioativas



Fonte: O autor (2023)

Os perfis térmicos dos espécimes dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes concentrações de BioS e BL0 apresentam características semelhantes ao perfil térmico da BN pura, ou seja, um evento principal de perda de massa que é característico da decomposição estrutural do poli(cis-isopreno) das moléculas de BN entre a faixa de temperatura 250-450°C. Para os espécimes de biocompósito BN/BioS com 10, 20 e 30% em massa de BioS, a perda de massa durante o evento principal foi de aproximadamente 82,6%, 70,1% e 59,6%, respectivamente. Já nos espécimes do biocompósito BN/BL0 com 10, 20 e 30% em massa de BL0, a perda de massa relacionada ao evento principal foi de aproximadamente 78,7%, 69,8% e 59,7%, respectivamente. Verifica-se que, para as mesmas concentrações de BioS e BL0, ambos os biocompósitos tiveram perdas de massa próximas no evento térmico principal.

A Tabela 6 apresenta os parâmetros térmicos obtidos a partir dos gráficos TG/DTG da Figura 17, tais como a temperatura de decomposição máxima (T_m), a temperatura inicial do pico da T_m (T_{on}), a temperatura final do pico da T_m (T_{off}) e o resíduo em 600°C. Um parâmetro importante apresentado na tabela é o T_m , que pode ser utilizado para avaliar a estabilidade

térmica dos espécimes. Observa-se que o valor de T_m para todas os espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 é deslocado a temperaturas mais baixas em comparação com a matriz BN, demonstrando que o efeito plastificante das partículas vitrocerâmicas diminui a instabilidade dos espécimes de biocompósitos (SANYANG et al., 2015).

Tabela 6 – Parâmetros TG/DTG: T_m , T_{on} , T_{off} e resíduos de espécimes de biocompósito BN pura, BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de partículas bioativas de vitrocerâmica.

Filmes	T_m (°C)	T_{on} (°C)	T_{off} (°C)	Resíduo (%)
BN puro	355,9	277,7	450,8	2,2
BN/BioS (90/10)	347,4	277,4	445,4	8,2
BN/BioS (80/20)	346,5	276,0	444,1	20,6
BN/BioS (70/30)	354,2	282,1	444,6	29,4
BN/BL0 (90/10)	348,0	290,4	445,4	11,5
BN/BL0 (80/20)	345,5	274,0	444,5	20,2
BN/BL0 (70/30)	345,2	276,1	445,6	29,1

Fonte: O autor (2023)

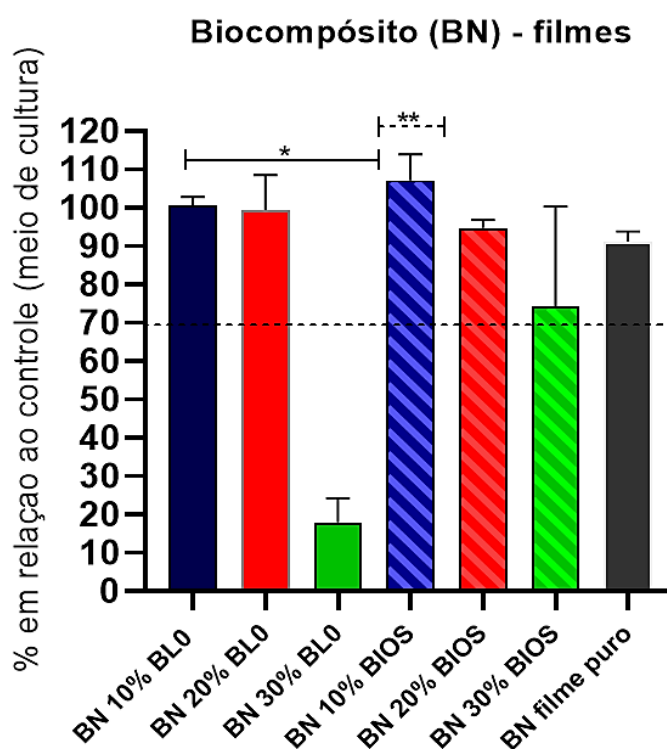
De acordo com a Tabela 6, os valores do resíduo para espécimes dos biocompósitos BN/Bios e BN/BL0 a 600°C foram aumentados conforme aumentaram as concentrações de BioS e/ou BL0 na matriz BN. Os valores dos resíduos podem ser utilizados para estimar a concentração de vitrocerâmica bioativas utilizadas para obter os espécimes. Como esperado, o valor obtido foi próximo àquele utilizado experimentalmente na preparação dos espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0.

4.3.5 Avaliação *in vitro* da citocompatibilidade

A Figura 15 mostra a viabilidade dos EMc cultivados em meios de cultura previamente em contato (24 h) indireto com os espécimes dos biocompósitos BN/BL0 e BN/BioS com diferentes concentrações de vitrocerâmicas bioativas. Diferentes das demais, a espécime BN/BL0 (70/30) foi a única que apresentou viabilidade celular reduzida, isto é, inferior a 70%, o que não é recomendado para testes de viabilidade celular *in vitro*. A baixa viabilidade celular após o cultivo do EMc em meios de cultura de BN/BL0 (70/30) mostrou que essa concentração foi tóxica para as células, tal comportamento pode ser devido ao fato da amostra BN/BL0

(70/30) estar liberando compostos não adequados para o crescimento celular. Todos outros espécimes de biocompósitos BN/BioS apresentaram viabilidade celular superior a 70% no contato indireto. Os biocompósitos BN/BL0 (90/10), BN/BL0 (80/20), BN/BioS (90/10), BN/BioS (80/20) e BN pura demonstraram a viabilidade celular em torno dos 100%, semelhante ao grupo-controle.

Figura 15 – Avaliação da citotoxicidade do meio de cultura deixado durante 24 h na presença dos biocompósitos com diferentes cargas de partículas de vitrocerâmica bioativa no MSC por MTT durante 72 h



Fonte: O autor (2023)

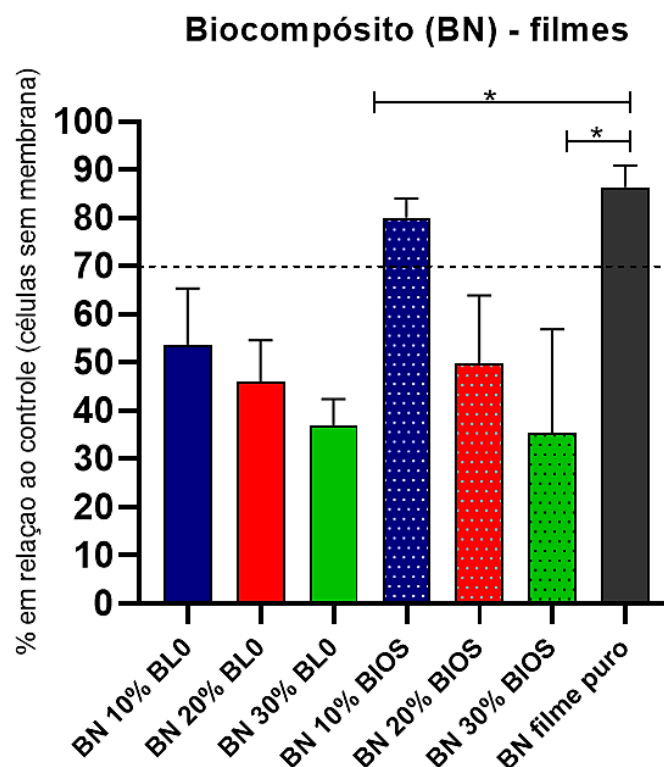
A biocompatibilidade de qualquer material para uso em dispositivos biomédicos é avaliada por meio do ensaio de citotoxicidade *in vitro* (DA SILVA BURITI et al., 2021; LIVERANI et al., 2018). Com base nos resultados da análise de citotoxicidade *in vitro*, todas os espécimes – exceto BN/BL0 (70/30) – mostraram uma viabilidade celular superior a 70%, conforme definido pela ISO 10993-5:2009. Resultado semelhante foi observado em um estudo da citotoxicidade de espécimes de biocompósitos quitosan/45S5-Ag, no qual os autores realizaram testes indiretos utilizando fibroblastos L929, obtendo espécimes com viabilidade das células superior a 70% (DA SILVA BURITI et al., 2021). Em outro estudo investigando os efeitos do conteúdo de Bioglass-58S (58S-BGs) sobre as propriedades estruturais e biológicas

dos compósitos de poli(-caprolactona)-chitosan-58S-BGs, foi observado que a viabilidade celular dos espécimes aumentaram em mais de 90% à medida que a quantidade de 58S-BGs aumentou de 0 para 5% em massa, com os melhores resultados observados com 3 % de 58S-BGs (HADDADI et al., 2022).

A Figura 19 ilustra os resultados das análises de citotoxicidade das células MSc semeadas diretamente sobre os biocompósitos. Observa-se uma diminuição na proliferação celular à medida que aumenta a quantidade de partículas vitrocerâmicas (BL0 e/ou BioS) na matriz BN. Diferentemente do teste indireto, no qual todas os espécimes apresentaram resultados superiores a 70%, os testes de contato direto obtiveram bons resultados apenas com os espécimes de BN/BioS (90/10) e BN puro. Nas demais espécimes, observa-se redução da proliferação celular em comparação com o grupo-controle (como 100% da proliferação celular, células cultivadas na placa de 24 poços sem amostra de biocompósito). A BN pura apresentou uma proliferação celular estatisticamente maior do que BN/BL0 (70/30) e BN/BioS (70/30), enquanto a BN/BioS (90/10) apresentou uma proliferação celular maior do que a BN/BioS (70/30). Os resultados sugeriram BN/BioS (90/10) e BN pura como os melhores candidatos para serem usados *in vivo*, pois ambos apresentaram maior proliferação de células.

Chraniuk e colaboradores (2022) observaram comportamentos similares no estudo da avaliação preliminar de novos biomateriais. Os autores realizaram uma comparação entre as metodologias de citotoxicidade direta e indireta por meio de um estudo biológico com compósitos de quitosana e vitrocerâmicas de diferentes tipos (P_5 , P_5Sr_2 , P_5Zn_2) nas proporções de 1:0,5; 1:1; 1:2. Os resultados da proliferação celular obtidos após a incubação com extratos (método indireto) e compósitos (método direto) indicaram diferenças estatisticamente significativas entre os dois métodos para cada compósito; ou seja, no teste de contato direto, os espécimes com as maiores quantidades de biovidros apresentaram a menor proliferação celular (menos de 50%). Vergnol e colaboradores (2016) avaliaram a capacidade de um composto de poli(l,dl-lactida)-BG (P(l,dl)LA-BG 45S5) ser usado como dispositivo de fixação óssea. De acordo com os autores, a aparente citotoxicidade dos espécimes pode ser explicada pela grande quantidade de íons liberados das partículas de vidro (principalmente íons de silício) durante o teste de citotoxicidade direta, o que compromete a proliferação celular.

Figura 16 – Avaliação da proliferação de MSC cultivadas em biocompósito BN, BN/BL0 e BN/BioS com diferentes cargas de partículas bioativas de cerâmica vítrea pelo ensaio CCK-8 durante 72 h



Fonte: O autor (2023)

Os métodos diretos envolvem a semeadura de células diretamente na superfície de um material e são especialmente importantes em materiais e produtos destinados a serem usados em um contato mais longo com tecidos (CHRANIUK et al., 2022; SRIVASTAVA et al., 2018). Este método é usado para examinar tanto a influência das substâncias indesejadas no produto quanto a interação das células com a superfície do material. O teste indireto de citotoxicidade envolve a preparação de extratos dos materiais testados e é particularmente recomendado quando o material não possui superfícies planas nas quais as células podem ser depositadas ou apresenta outras características que impedem a viabilidade do método direto, como uma densidade menor que o meio de cultura (CHRANIUK et al., 2022; SRIVASTAVA et al., 2018). No método direto, as células são expostas ao material por um período prolongado em um esforço para simular condições *in vivo*; entretanto, os testes *in vitro* são limitados pelo fato de envolverem células monocamadas. Por outro lado, o contato direto com o material pode afetar a resposta imunológica do corpo *in vivo*, uma vez que o dispositivo interage com tecidos multicamadas. Os métodos diretos também consideram concentrações localmente aumentadas

de substâncias liberadas do material, que podem afetar a citotoxicidade e a proliferação celular (AL HEGY et al., 2020; CHRANIUK et al., 2022).

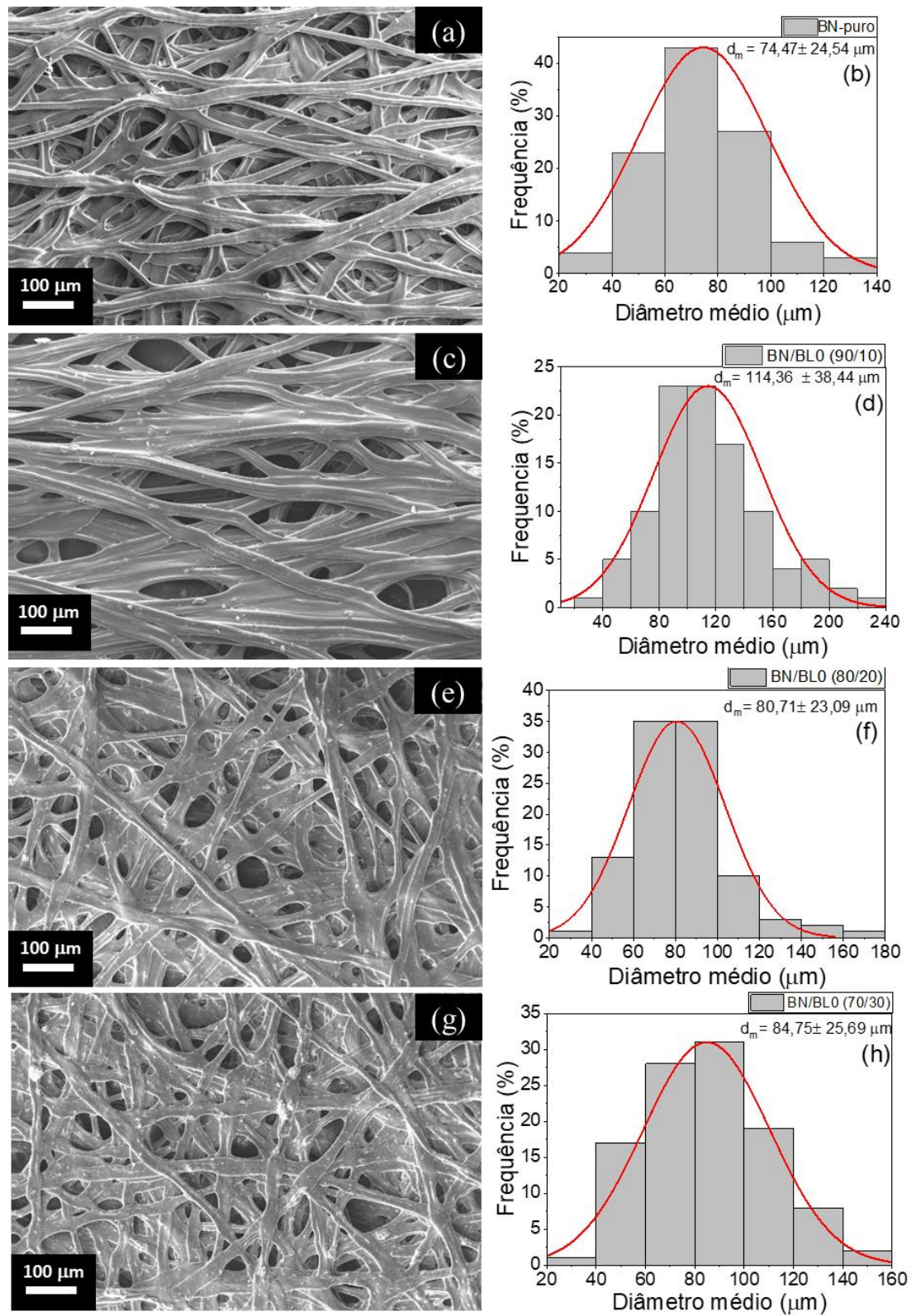
4.4 Mantas fibrosas

4.4.1 Análise morfológica

A técnica *solution blow spinning* possibilitou a produção das mantas fibrosas de BN puro e os biocompósitos BN/BioS, BN/BL0 com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmica, que exibiram morfologia de fita (SOUSA et al., 2019). As dimensões dessas estruturas são governadas por uma série de variáveis relacionadas às propriedades da solução polimérica, principalmente sua viscosidade e a volatilidade do solvente, além dos parâmetros de processo, tais como a taxa de injeção e a pressão do gás etc. (CASPER et al., 2004; DHANALAKSHMI; JOG, 2008; KOSKI; YIM; SHIVKUMAR, 2004). As mantas fibrosas obtidas resultaram no colapso das microfibras cilíndricas devido à alta quantidade de solvente interno. As microfibras secam de fora para dentro; como resultado, a solução encapsulada tende a migrar para a região da borda devido às forças centrífugas do coletor e, posteriormente, colapsa, formando microfibras planas como aquelas observadas nas Figuras 20 e 21 (SOUSA et al., 2019).

A Figura 20 mostra o aumento da concentração das partículas de vitrocerâmicas na superfície das microfibras de BN a partir de 10% BL0; no entanto, observa-se um aumento do diâmetro das fitas em relação à manta fibrosa de BN pura. Tal fato corrobora as análises de viscosidade, cujos maiores valores foram apresentados em espécimes com 10% de BL0. Assim, a concentração das partículas em 30% resulta em um aumento significativo no diâmetro das fitas nos espécimes BN/BL0 – $84,75 \pm 25,69 \mu\text{m}$ –, mas a concentração em 20% resulta no valor $80,71 \pm 23,09 \mu\text{m}$, que não representa uma diferença significativa. Esse comportamento está relacionado ao decréscimo da viscosidade da solução dos espécimes BN/BL0 (80/20) e (70/30) em relação ao espécime (90/10). Outro ponto importante notado nas imagens de MEV da Figura 17 é o surgimento de defeitos nas fitas à medida que aumenta a quantidade de partículas vitrocerâmicas BN/BL0; tais defeitos podem atuar como ponto de ruptura quando uma força externa for imposta sobre a amostra (SOUSA et al., 2019).

Figura 17 – Imagens de MEV e diagramada do diâmetro médio das mantas fibrosas BN/BL0: (a), (b) BN puro; (c), (d) 90/10; (e), (f) 80/20 e (g), (h) 70/30



Fonte: O autor (2023)

Na Tabela 7 estão dispostos os valores da viscosidade da solução e o diâmetro médio das fitas nos espécimes dos biocompósitos BN/BL0. Com a adição de 10% de BL0 na matriz BN, observa-se um aumento significativo na viscosidade, influenciando na morfologia e na formação das fibras na amostra. Porém, com 20% de BL0 houve uma redução da viscosidade e do diâmetro da amostra; o mesmo comportamento foi observado para a amostra com 30% de BL0.

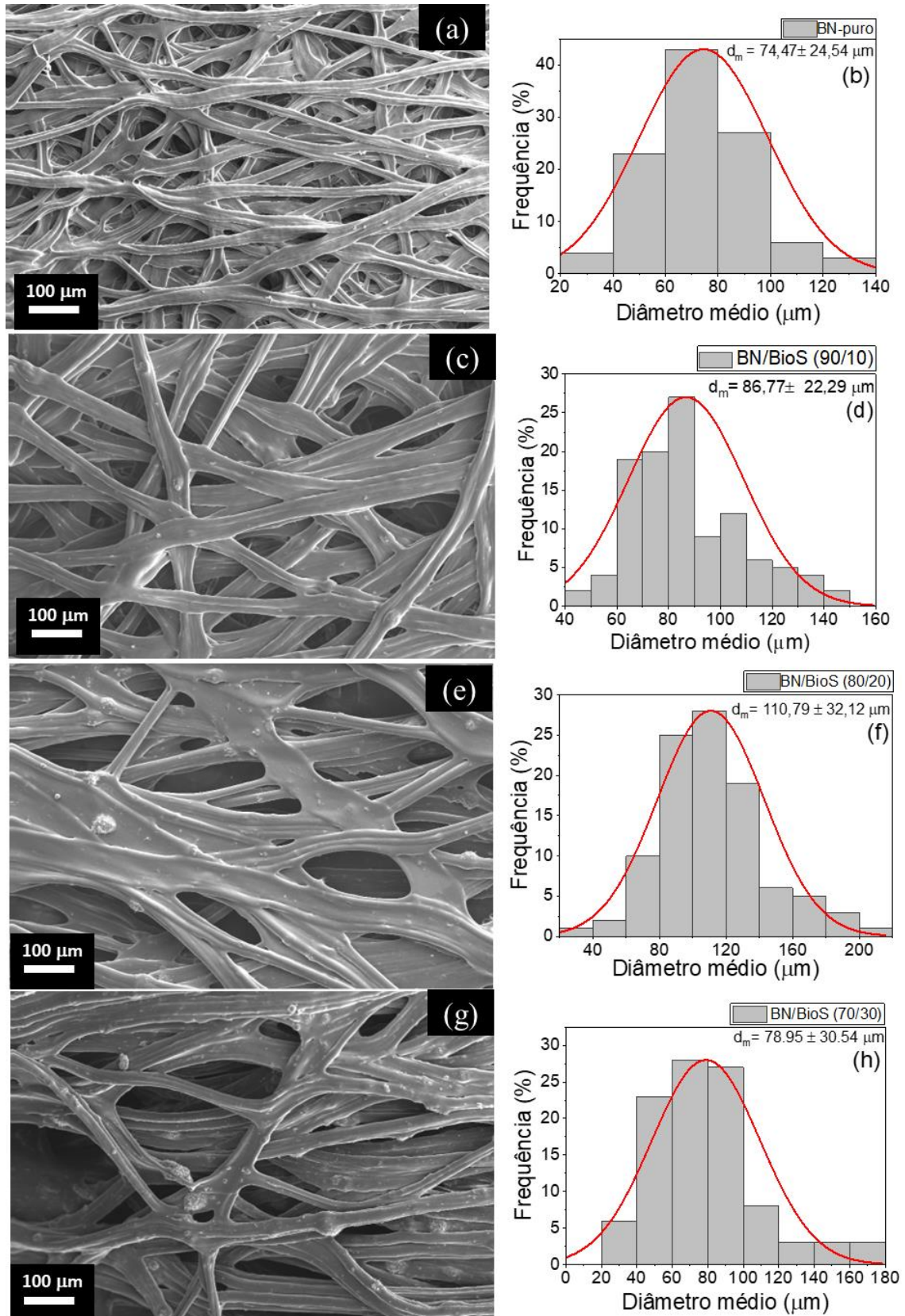
Tabela 7 – Relação entre viscosidade e diâmetro médio das mantas fibrosas BN/BL0

Espécime	Viscosidade (cP)	Diâmetro médio (μm)
BN PURO	9575 $\pm$ 151,2	74,47 $\pm$ 24,54
BN/BL0 (90/10)	15326 $\pm$ 897,4	114,36 $\pm$ 38,44
BN/BL0 (80/20)	14719 $\pm$ 65,27	80,71 $\pm$ 23,09
BN/BL0 (70/30)	11406 $\pm$ 36,95	84,75 $\pm$ 25,69

Fonte: O autor (2023)

As micrografias dos espécimes de biocompósito BN/BioS apresentam morfologia semelhante à dos espécimes BN/BL0, nas quais se constata uma boa dispersão das vitrocerâmicas bioativas nas fitas de BN. A Figura 18 também demonstra que houve um aumento do diâmetro médio das fitas nos biocompósitos fibrosos BN/BioS (90/10), passando de (86,77 $\pm$ 22,29) μm para (110,79 $\pm$ 32,12) μm no espécime BN/BioS (80/20). No entanto, o espécime fibroso BN/BL0 (70/30) apresentou diâmetro da fita com valor 78,95 $\pm$ 25,69 μm , ou seja, uma diferença não significativa estatisticamente. A observação das microimagens de MEV demonstra o surgimento de defeitos nas fitas à medida que a quantidade de vitrocerâmicas bioativas foi aumentada no biocompósito BN/BL0 (SOUSA et al., 2019).

Figura 18 – Imagens de MEV e diagramada do diâmetro médio das mantas fibrosas BN/BioS: (a), (b) BN puro; (c), (d) 90/10; (e), (f) 80/20 e (g), (h) 70/30



Fonte: O autor (2023)

Fazendo a relação entre a viscosidade da solução e o diâmetro médio das fitas nos espécimes do biocompósito fibroso BN/BioS, observa-se aumento significativo na viscosidade, influenciando a morfologia da amostra; com 30% de BioS, porém, houve uma redução da viscosidade e do diâmetro das fitas.

Tabela 8 – Relação entre viscosidade e diâmetro médio das fibras BN/BioS

Espécimes	Viscosidade (cP)	Diâmetro médio (μm)
BN PURO	9575 $\pm$ 151,2	74,47 $\pm$ 24,54
BN/BioS (90/10)	16078 $\pm$ 454,6	86,77 $\pm$ 22,29
BN/BioS (80/20)	17704 $\pm$ 1102	110,79 $\pm$ 32,12
BN/BioS (70/30)	8907 $\pm$ 96,51	78,95 $\pm$ 25,69

Fonte: O autor (2023)

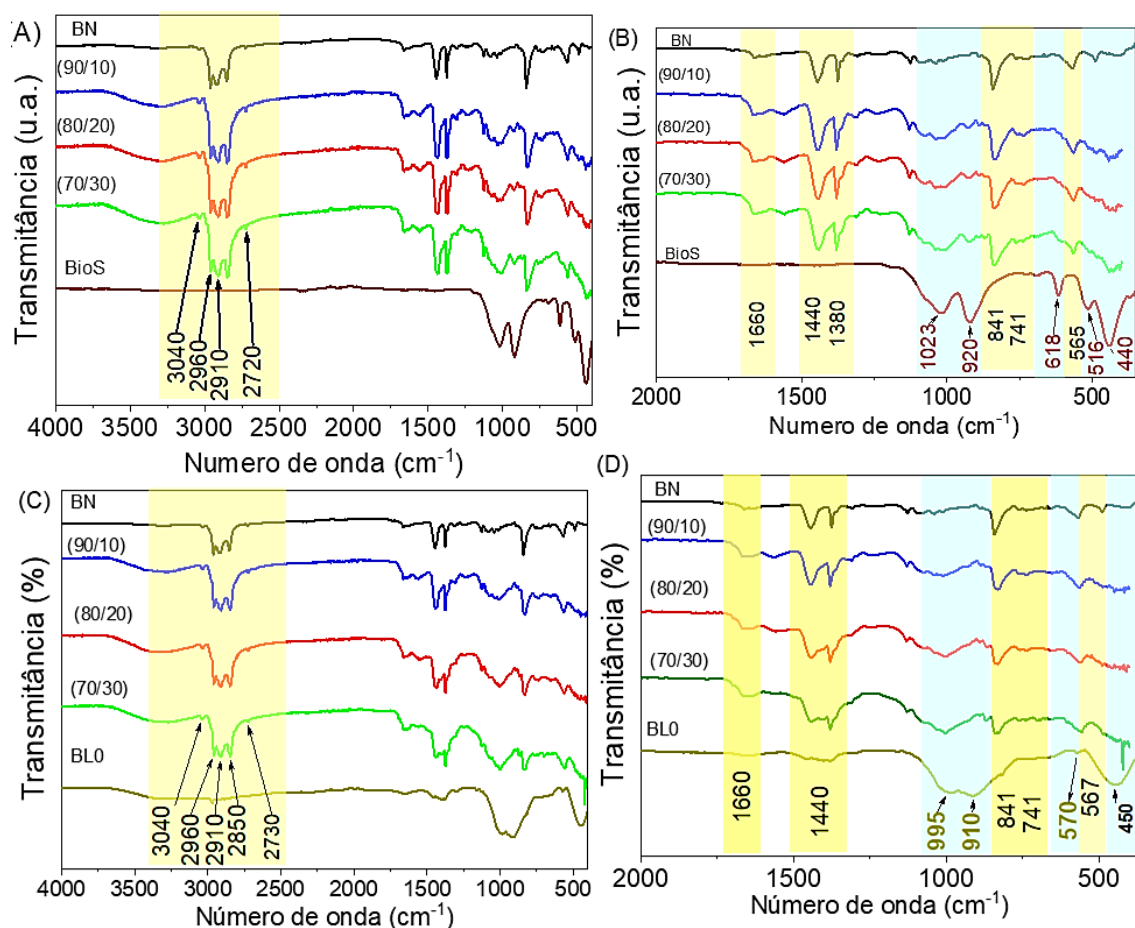
Observa-se, nos espécimes BN/BioS e BN/BL0, que a viscosidade está relacionada ao diâmetro médio das mantas fibrosas. Assim, a adição de 10% e 20% de BL0 à matriz BN provoca um aumento significativo na viscosidade e no diâmetro, mas esse aumento não ocorre com a adição de 30% de BL0. Proporção semelhante se encontra nos espécimes BN/BioS, conforme a Tabela 7. Observa-se, portanto, que as variações dos diâmetros influem na interação entre as cadeias poliméricas e a vitrocerâmica somente na proporção entre (90/10) e (80/20).

4.4.2 Análises de FTIR

As mudanças nas composições químicas do biocompósito antes e depois da adição das partículas de vitrocerâmicas na matriz BN podem ser observadas nos espectros de FTIR mostrados na Figura 19; são apresentadas mantas fibrosas BN pura e de partículas BioS e BL0. A atribuição das bandas de absorção está disposta na Tabela 9. Nas figuras 19a e 19b, o espectro BioS mostrou uma faixa entre 1100 e 900 cm^{-1} , que é característica das ligações SiO_2 e PO_4^{3-} , respectivamente (FERNANDES et al., 2017). Observa-se que as bandas de absorção na faixa entre 440 e 550 cm^{-1} no espectro BioS apresentam ligações de PO e Si-O-Si (idem). Nas Figuras 19c e 19d, observam-se as bandas de absorção características para BL0 relacionadas à vibração do Si-O-Si em aproximadamente 920 e 1010 cm^{-1} ; tais valores são atribuídos ao oxigênio não

passante e ao alongamento assimétrico do oxigênio passante com tetraedro de silicato (FERNANDES et al., 2017; LUCAS-GIROT et al., 2011; VAFA; BAZARGAN-LARI; BAHROLOLOOM, 2021). Outras bandas de absorção foram observadas na faixa entre 400 e 490 cm^{-1} , que estão relacionadas a ligações de silicato para o modo de flexão simétrica Si-O-Si (LUCAS-GIROT et al., 2011; SILVA et al., 2021; VAFA; BAZARGAN-LARI; BAHROLOLOOM, 2021; VYAS et al., 2016). A banda de absorção menos intensa a 570 cm^{-1} é atribuída à ligação P-O (LUCAS-GIROT et al., 2011; VAFA; BAZARGAN-LARI; BAHROLOLOOM, 2021). A faixa entre 1450 e 1350 cm^{-1} pode ser atribuída ao grupo de carbonato residual de precursores, que estão presentes apenas no espectro da BN. As bandas de absorção características das partículas de BioS e BL0 foram observados apenas nos espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com concentrações mais altas de vitrocerâmicas, como 30% em massa.

Figura 19 – Espectros FTIR dos espécimes de biocompósitos fibrosos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas bioativas, com os seguintes intervalos de número de ondas: BN, BN/BioS (A) 4000 – 500 cm^{-1} , (B) 2000 – 450 cm^{-1} e BN, BN/BL0 (C) 4000 – 500 cm^{-1} , (D) 2000 – 450 cm^{-1}



Fonte: O autor (2023)

No entanto, as bandas de absorção da BN nos espectros FTIR dos espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 são mais intensos do que as partículas BioS e BL0. Os espectros dos espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 são mostrados na Figura 22 A-B e 22 C-D, respectivamente. Para espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas, as bandas de absorção principais correspondem aos grupos funcionais do isopreno BN, entre eles: 3041, 2960, 2910, 2850, 1660, 1440, 1380, e 841 cm^{-1} (CENA; MALMONGE; MALMONGE, 2017; RIPPEL et al., 2003; ROLERE et al., 2015).

Tabela 9 – Atribuições dos principais picos nos espectros FTIR de espécimes de biocompósitos BN, BioS, BL0, BN/BioS e BN/BL0 com diferentes partículas de vitrocerâmicas bioativas.

Número de onda (cm^{-1})	Atribuição	BN/BioS	BN/BL0	BN	BL0	BioS
440	Si–O–Si estiramento simétrico	X				X
450	Si–O–Si estiramento simétrico		X		X	
488	C–C–C flexão no plano	X	X	X		
516	P–O	X				X
565	C–C–C flexão no plano	X	X	X		
570		X	X	X		
600	P–O flexão (amorfo)	X	X		X	
744	–CH ₂ – rocking	X	X	X		
841	C=CH wagging	X	X	X		
913	Si–O–Si	X	X		X	
920	PO ₄ ³⁻	X				X
1010	Si–O–Si	X	X		X	
1023	SiO ₂	X				X
1080	C–O	X	X	X		
1127	C–H deflexão	X	X	X		
1309	–CH ₃ deformação	X	X	X		
1370	C–H flexão em CH ₃	X	X	X		
1431	Grupo carbonato residual				X	
1440	C–H bending of CH ₂	X	X	X		
1660	C=C estiramento	X	X	X		
2720	–CH ₃ deformação assimétrica	X	X	X		
2850	C–H estiramento em CH ₂ e CH ₃	X	X	X		
2910	C–H estiramento em CH ₂	X	X	X		
2960	C–H estiramento em CH ₃	X	X	X		
3040	CH estiramento	X	X	X		

Fonte: O autor (2023)

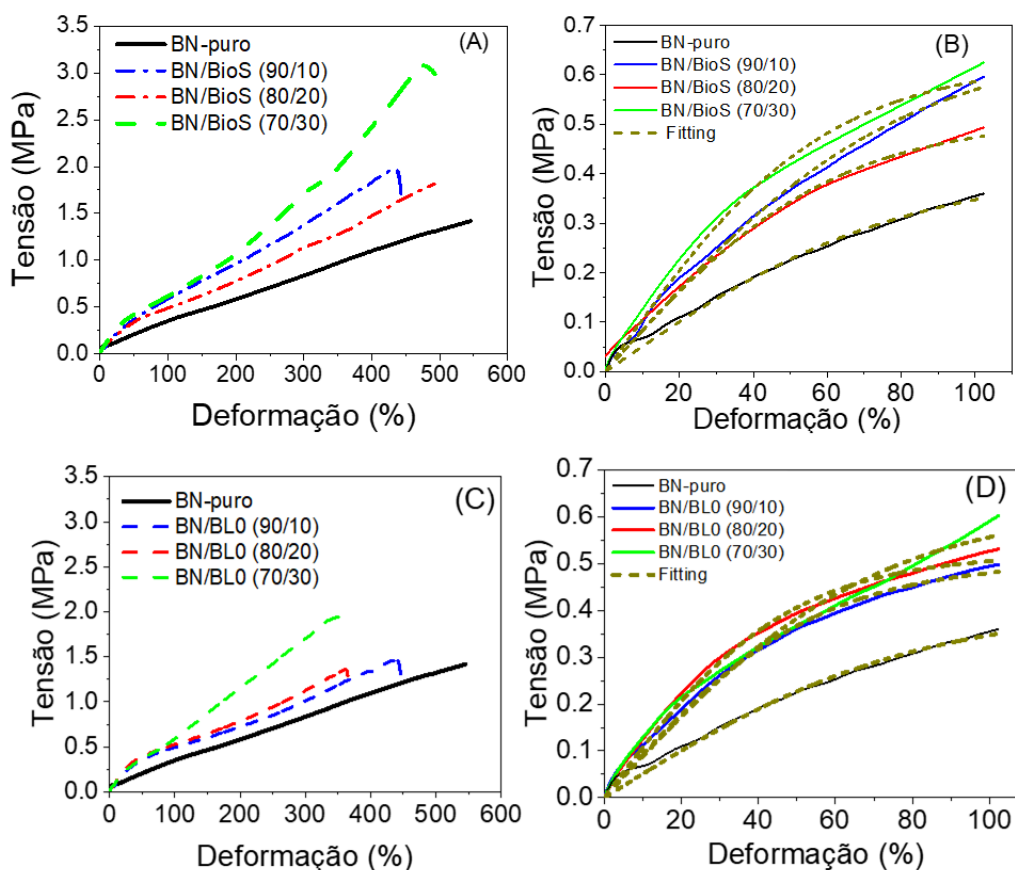
É possível observar outras bandas de absorção não relacionados ao isopreno nos espectros do FTIR. Por exemplo, a banda larga intensa entre 3200 e 3500 cm^{-1} deve-se à presença de grupos de hidroxila e várias bandas de absorção entre 1130 e 1010 cm^{-1} , sugerindo compostos oxigenados (RIPPEL et al., 2003; ROLERE et al., 2015). Observando a mudança no espectro na matriz BN ao adicionar diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas, as bandas de absorção se tornam mais acentuadas, indicando a presença de sílica, indicando que as bandas de absorção apresentam alongamento da ligação Si–O–Si, como apresentado na Tabela 9 (CROVACE et al., 2016).

4.4.3 Análises mecânicas

A Figura 20 ilustra as curvas de tensão-deformação da matriz BN e dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com quantidades diferentes de partículas de vitrocerâmicas bioativas. Semelhante à BN na forma de filme, a BN com morfologia fibrosa também apresenta comportamento típico do elastômero na curva de tensão-deformação, com alto valor de deformação e baixa tensão na ruptura, conforme apresentado na Tabela 10. Assim como as amostras do biocompósito na forma de filme apresentaram maior rigidez devido à adição das vitrocerâmicas bioativas, o mesmo foi observado para os espécimes de biocompósitos fibrosos BN/BioS e BN/BL0. A Figura 20 demonstra que o aumento da quantidade de BioS e/ou BL0 na matriz BN provoca uma diminuição do valor da $\epsilon_{ruptura}$ e aumento no valor da $\sigma_{ruptura}$ do espécime BN/BioS (70/30).

Para a matriz BN fibrosa, o valor de $\epsilon_{ruptura}$ e $\sigma_{ruptura}$ foram de $(552 \pm 60) \%$ e $(2,10 \pm 0,24)$ MPa, respectivamente, enquanto que os espécimes BN/BL0 com adição de 10% e 20% mostraram uma redução no valor de $\epsilon_{ruptura}$ e $\sigma_{ruptura}$, como apresentado na Tabela 9, em comparação com a BN. Já no espécime de biocompósito com 30% de BL0 os valores de $\epsilon_{ruptura}$ e $\sigma_{ruptura}$ foram iguais a $(400,64 \pm 47,15) \%$ e $1,97 \pm 0,53$ MPa, respectivamente. Esses resultados demonstram que BN/BL0 (70/30) apresentou melhores resultados nos testes mecânicos, demonstrando bons valores $\sigma_{ruptura}$ e $\epsilon_{ruptura}$.

Figura 20 – Curvas de tensão-deformação das mantas fibrosas (a,b) BN/BioS e (c,d) BN/BL0 das fibras de biocompósitos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas bioativas. As curvas de ajuste são dadas pela equação 1



Fonte: O autor (2023)

A Tabela 10 mostra parâmetros mecânicos tais como $\sigma_{100\%}$ e $\sigma_{300\%}$, $\sigma_{ruptura}$ e $\epsilon_{ruptura}$ para espécimes de biocompósitos BN, BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas bioativas. Observa-se que, aumentando a quantidade de BioS e BL0, aumentam também os valores de ruptura de 100% e 300%, bem como a tensão de ruptura. Isto deve-se ao fato de os biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 tornarem-se mais rígidos e mais frágeis quando são adicionadas as partículas de BioS e BL0.

Os espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 apresentam uma maior rigidez à medida que a carga de BioS e BL0 aumenta, resultando em um maior módulo de E. Como resultado deste comportamento, as partículas de BioS e BL0 atuam como agentes de reforço na matriz BN, ou seja, como um meio ativo que absorve uma porção da energia mecânica aplicada nos espécimes de biocompósitos.

Tabela 10 – Valores de resistência a tração em 100% ($\sigma_{100\%}$), 300%(300%), $\sigma_{ruptura}$, $\epsilon_{ruptura}$ dos espécimes BN puro e os biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas bioativas.

Fibras	$\sigma_{100\%}$ (MPa)	$\sigma_{300\%}$ (MPa)	$\sigma_{ruptura}$ (MPa)	$\epsilon_{ruptura}$ (%)	E (KPa)	γ (MPa)
BN-puro	0,35±0,05	0,84±0,11	1,44±0,08	539,47±30,84	5,12 ±0,1	0,41±0,01
BN/BioS 90/10	0,59±0,08	1,38±0,15	1,93±0,11	458,5±47,06	8,51±0,2	0,65±0,01
BN/BioS 80/20	0,50±0,08	1,69±0,33	1,86±0,16	540,00±38,00	8,35±0,2	0,51±0,01
BN/BioS 70/30	0,61±0,06	2,35±0,84	3,38±1,31	597,30±94,04	10,77±0,3	0,61±0,02
BN/BL0 90/10	0,49±0,04	1,02±0,09	1,51±0,15	471,03±41,72	9,39±0,2	0,50±0,01
BN/BL0 80/20	0,53±0,03	1,13±0,09	1,26±0,28	414,22±43,90	11,00±0,2	0,51±0,01
BN/BL0 70/30	0,59±0,11	1,70±0,24	1,97±0,53	400,64±47,15	9,09±0,3	0,66±0,02

Fonte: O autor (2023)

Comparando os espécimes fibrosas e os filmes da tabela 5 e 10, observou-se que o filme de BN puro, BN/BioS e BN/BL0 apresentaram $\epsilon_{ruptura}$ superiores à do espécime fibroso, mas estas apresentaram um módulo de E e $\sigma_{ruptura}$ com valores superiores ao do filme. Este fato indica a utilização de um mecanismo de deformação do revestimento fibroso baseado no alinhamento axial e na formação de vigas nas microfibras por tração. Além disso, a adesão ocorrida nos pontos de contato entre as microfibras atuou como pontos de solda que contribuíram para esse comportamento. Assim, as soldas por pontos são o resultado da ligação entre as microfibras devido à secagem incompleta do solvente à medida que ele se move ao longo da distância de trabalho até o coletor.

4.4.4 Análises dinâmica mecânica (DMA)

A técnica de DMA é uma ferramenta importante para analisar o comportamento mecânico de um material quando submetido a uma tensão mecânica, que varia com uma frequência fixa em um intervalo de temperatura pré-definido. Com essa técnica é possível obter o módulo de armazenamento (que é a energia armazenada no sistema) e o módulo de perda (que é a energia perdida) do material estudado em função da temperatura. Outro parâmetro importante que pode ser obtido é a $\tan \delta$, que é a razão entre o módulo de perda e o módulo de

armazenamento. Por meio da $\tan \delta$ é possível determinar os processos de relaxação do material ao longo do intervalo de temperatura e também de forma precisa a T_g (temperatura de transição vítrea) do material. Nesse sentido, o DMA é uma técnica importante para avaliar se a dispersão de partículas de vitrocerâmicas bioativas na matriz BN impactam na T_g do material, bem como analisar o comportamento mecânico quando uma tensão mecânica e temperatura variável agem sobre o material (MENARD, 2015). O módulo de armazenamento E^* pode ser escrito como:

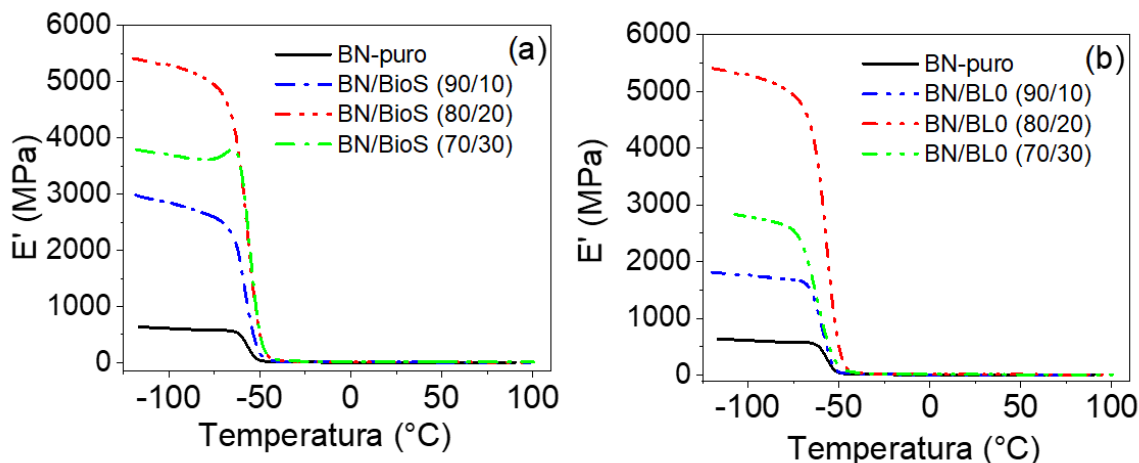
$$E^* = E' + iE'' \quad (2)$$

Além disso, o $\tan \delta$ pode ser calculado usando a equação:

$$\tan \delta = \frac{E''}{E'} \quad (3)$$

Os biocompósitos estão sujeitos a deformações e/ou tensões dinâmicas durante seus ciclos de vida; portanto, é importante investigar as propriedades mecânicas dinâmicas destes materiais, bem como os processos de relaxação das cadeias poliméricas quando submetidos a essas variações mecânicas cíclicas (MENARD, 2015). A Figura 21 ilustra o comportamento do E' em função da temperatura dos espécimes BN pura, e dos espécimes fibrosos de BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas. Observa-se que houve um aumento no módulo E' tanto com a adição de partículas BioS quanto de BL0 na matriz BN, indicando que as propriedades mecânicas dinâmicas foram consideravelmente influenciadas. O aumento do E' na região vítrea indica um aumento na rigidez e restrição do movimento das cadeias, induzindo um aumento da energia armazenada nestes materiais (BHATTACHARYA; BHOWMICK, 2010; RAJASHEKARAIH et al., 2014).

Figura 21 – Análises DMTA, módulo de armazenamento (E') da matriz BN e dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas bioativas



Fonte: O autor (2023)

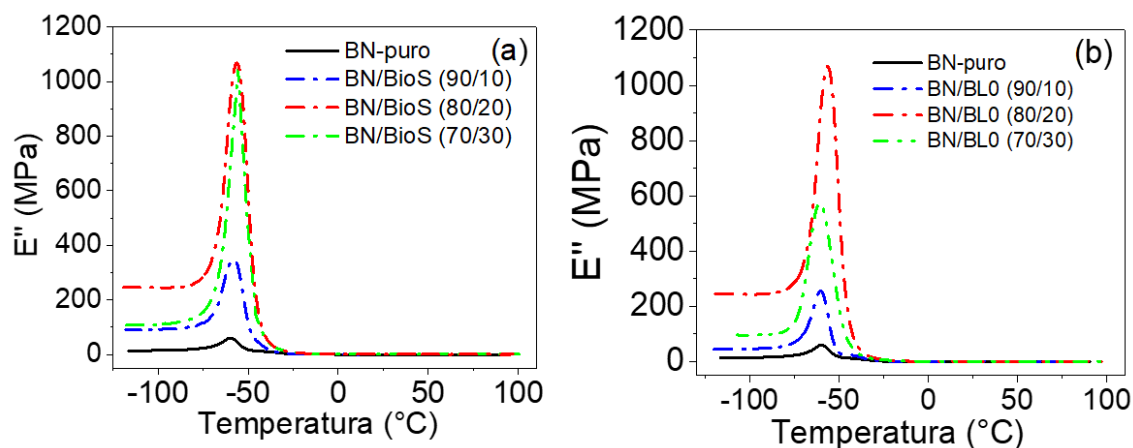
O módulo E' dos espécimes fibrosos BN/BioS (70/30) e BN/BL0 (70/30) apresentou valores menores em comparação com os espécimes fibrosos BN/BioS (80/20) e BN/BL0 (80/20) como ilustrou a figura 22. Este comportamento pode ser devido à maior quantidade de defeitos na superfície das microfibras causados pela maior quantidade de vitrocerâmicas bioativas (BioS e BL0), que podem atuar como ponto de ruptura durante o ciclo de deformação.

Para todos os espécimes fibrosos estudados, o valor de E' tendeu ao valor mínimo à medida que a temperatura foi aumentada, indicando que as cadeias poliméricas da BN nas fibras ganham maior mobilidade molecular e por sua vez dissipam a energia mecânica que estava armazenada. Nesse sentido, em torno da região da T_g (entre -90°C e -50°C) o valor E' tende a valores mais baixos, indicando que pouca energia foi armazenada a temperaturas superiores a T_g (BHATTACHARYA; BHOWMICK, 2010). Abaixo de T_g , o aumento da concentração de BioS e BL0 também impactou no valor de E' , e os espécimes fibrosos com maiores concentrações de vitrocerâmicas bioativas apresentaram maiores valores do módulo E' . Ao contrário do que foi observado para $T < T_g$, os valores de E' para os espécimes 80/20 foram menores do que os observados para os espécimes 70/30, e esse comportamento pode ser atribuído ao aumento da viscoelasticidade dos espécimes conforme a temperatura aumentou acima da T_g .

A resposta viscoelástica de um material, ou sua capacidade de dissipar energia durante a deformação cíclica, principalmente como calor, é determinada pelo valor do módulo E''

(BHATTACHARYA; BHOWMICK, 2010). As Figuras 22a e 22b mostram o gráfico de E'' em função da temperatura para os espécimes fibrosos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes concentrações de BL0 e BioS, respectivamente. Observa-se que a incorporação das vitrocerâmicas bioativas BL0 e/ou BioS na matriz fibrosa BN causou um aumento na intensidade do pico do E'' , indicando maior liberação de energia mecânica nas cadeias da BN na região da transição vítreo para borrachoso. Podemos observar também que a amostra BN/BioS e BN/BL0 (80/20) apresentou o valor de E'' maior do que os outros espécimes fibrosos; isso era esperado, uma vez que os espécimes com 20% de BioS e BL0 apresentaram maiores valores do módulo E'' . Tal comportamento do módulo E'' está relacionado, principalmente, à perda de energia causada pelo aumento do atrito interno entre as cadeias de BN à medida que a temperatura aumenta, promovendo a dissipação da energia mecânica armazenada (BHATTACHARYA; BHOWMICK, 2010).

Figura 22 – Análises DMTA, como módulo de perda (E'') da matriz BN e dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas bioativas

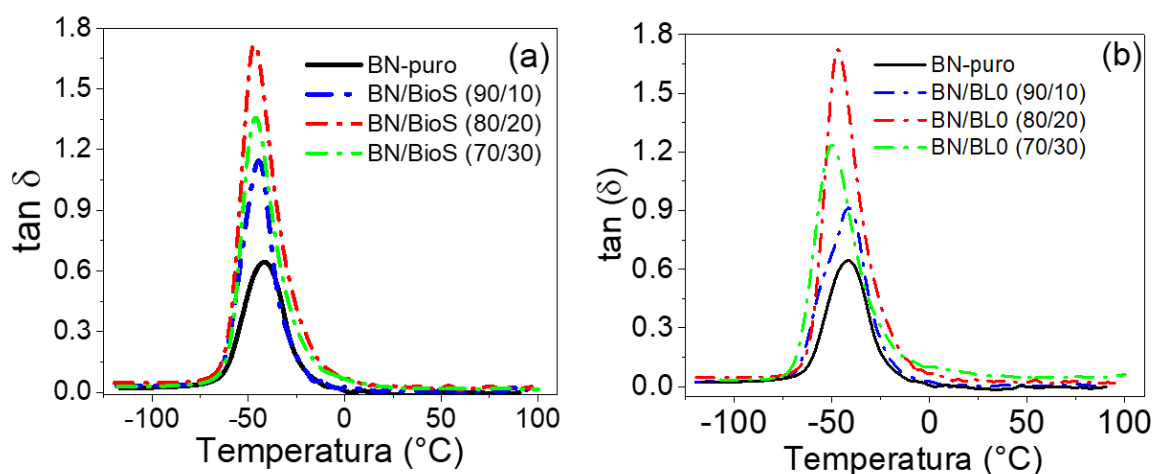


Fonte: O autor (2023)

O fator de perda mecânica ou $\tan \delta$ representa as propriedades de amortecimento do material, indicando o equilíbrio entre o comportamento elástico e viscoelástico na estrutura do material polimérico (JAYANARAYANAN; THOMAS; JOSEPH, 2008; MANOHARAN et al., 2014). Por outro lado, nos biocompósitos fibrosos este comportamento é influenciado pelo tipo, distribuição e quantidade das vitrocerâmicas bioativas, bem como pela interação entre as fases que formam o biocompósito. O processo de relaxação representado pelo pico no gráfico da $\tan \delta$ versus temperatura (Figura 26) está relacionado à transição da matriz BN, também

denotado por relaxação α , e envolve os movimentos cooperativos das cadeias de polímeros. A Figura 26 ilustra o aumento do valor de pico do $\tan \delta$ à medida que aumenta a quantidade de vitrocerâmica na matriz BN. Isso ocorre porque a introdução de vitrocerâmicas bioativas na matriz BN restringe o movimento das cadeias poliméricas devido à adesão interfacial entre polímeros e a superfície das vitrocerâmicas.

Figura 23 – Análises DMTA, fator de perda ($\tan \delta$) da matriz BN e dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de vitrocerâmicas bioativas



Fonte: O autor (2023)

O deslocamento do pico da $\tan \delta$ para espécimes BN/BioS e BN/BL0 a temperaturas menores a T_g da BN pura pode ser atribuído ao efeito plastificante das vitrocerâmicas bioativas BioS e BL0, que ocorre em temperatura negativas (RAJASHEKARAIH et al., 2014). Já a intensidade do pico $\tan \delta$ da amostra BN/BioS e BN/BL0 com concentrações de 20% de vitrocerâmicas bioativas foi maior em relação aos outros espécimes fibrosos, indicando que estas tendem a dissipar maior energia durante a deformação devido à maior quantidade armazenada durante o ciclo de deformação.

A Tabela 11 apresenta as temperaturas final e inicial (T_{offd} e T_{ond} , respectivamente) do pico da T_g para todos os espécimes. Os valores de todos os parâmetros dos espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 foram sofrendo variações de acordo com o aumento da concentração de vitrocerâmicas na matriz BN.

Tabela 11 – Parâmetros DMTA: T_{ond}, T_{offd}, T_g e FWHM dos espécimes

Mantas fibrosas	T_{ond}(°C)	T_{offd} (°C)	T_g (°C)	FWHM
BN-PURA	-66,52	-10,86	-40,21	24,12
BN/BioS 90/10	-65,20	-21,30	-45,44	19,31
BN/BioS 80/20	-62,88	-7,94	-48,44	22,30
BN/BioS 70/30	-63,10	-6,67	-45,77	21,19
BN/BL0 90/10	-70,25	-6,32	-41,46	25,60
BN/BL0 80/20	-65,49	-18,63	-48,44	22,01
BN/BL0 70/30	-70,65	-5,90	-49,49	25,15

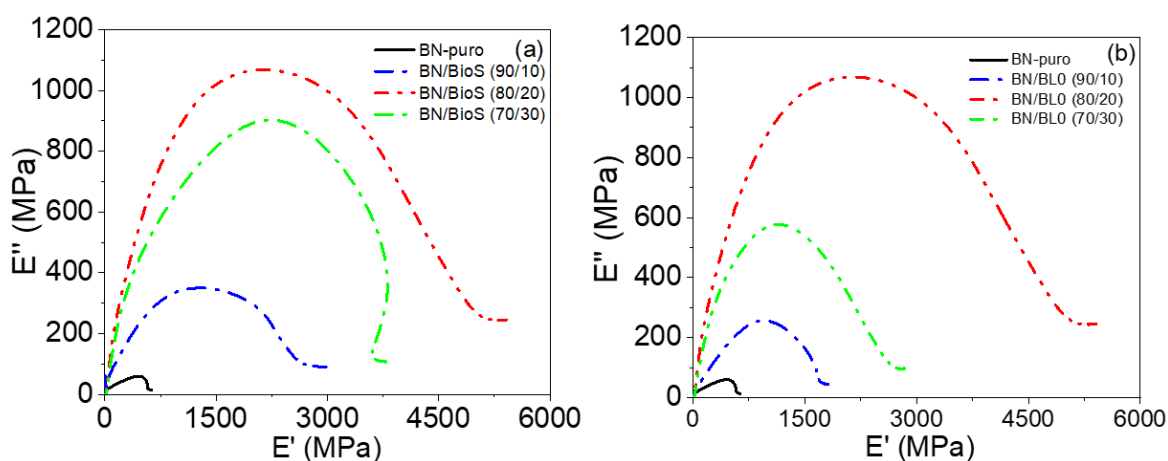
Fonte: O autor (2023)

Outro parâmetro importante analisado no gráfico da $\tan \delta$ versus temperatura é a largura do pico na meia altura (FWHM) (RAJASHEKARAI AH et al., 2014). Este parâmetro representa o processo de relaxamento em materiais compósitos e tende a aumentar com o aumento da quantidade de carga (RAJASHEKARAI AH et al., 2014). A largura do pico varia de acordo com a homogeneidade do sistema, em que uma largura maior reflete uma maior diferença no tempo de relaxação e uma largura de pico mais estreita significa uma diferença menor no tempo de relaxação da cadeia polimérica. Os valores de FWHM de todos os espécimes obtidos do gráfico $\tan \delta$ são mostrados na Tabela 11. O maior valor de FWHM foi encontrado na BN/BL0 90/10, indicando que a adição de partículas vitrocerâmica na matriz BN provoca o aumento do processo de relaxação devido à resistência surgida entre as cadeias poliméricas da BN decorrente da dispersão das vitrocerâmicas bioativas.

Outro método importante para descrever o comportamento dinâmico mecânico dos espécimes fibrosos é o método de análise Cole-Cole; embora desenvolvido originalmente para estudar o comportamento dielétrico de materiais, também pode ser utilizado como boa ferramenta para determinar mudanças nas características viscoelásticas dos polímeros e materiais compósitos (RAJASHEKARAI AH et al., 2014). Este método utiliza o módulo complexo E^* , no qual é obtido o gráfico de E'' versus E' no plano complexo, como ilustrado na Figura 24, e pode ser usado para estimar o grau de homogeneidade do compósito (idem). Segundo os autores, no diagrama de Cole-Cole os sistemas homogêneos são caracterizados por um semicírculo, enquanto os sistemas heterogêneos devem apresentar semicírculos imperfeitos. A Figura 24 ilustra os semicírculos dos espécimes BN pura, bem como dos espécimes fibrosos dos biocompósitos BN/BL0 e BN/BioS. O formato semicircular imperfeito do gráfico indica a heterogeneidade do sistema e a boa interação das vitrocerâmicas bioativas com as microfibras BN. Também se observa que o semicírculo se tornou maior conforme aumentou a quantidade

de BioS e/ou BL0; esse comportamento é um indicativo de que os espécimes se tornaram mais rígidos em comparação com a BN fibrosa pura.

Figura 24 – Diagrama Cole-Cole da matriz BN e os biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de partículas vitrocerâmicas bioativas

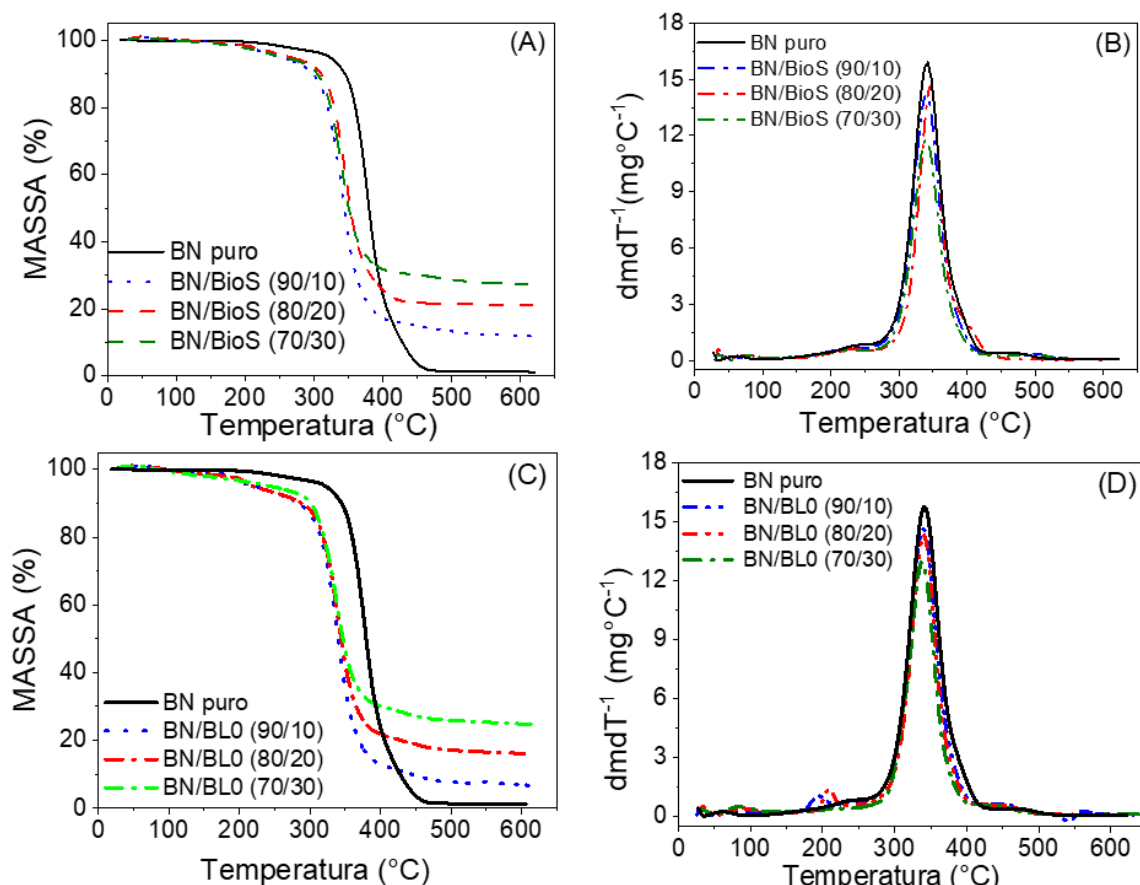


Fonte: O autor (2023)

4.4.5 Análise termogravimétrica (TG/DTG)

As figuras 25 A-D mostram as curvas TG/DTG do biocompósito BN pura e BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas. A perda de massa abaixo dos 100°C indica a evaporação da água. O perfil TG da matriz BN apresenta um evento principal de perda de massa que ocorre entre as temperaturas de 290°C a 500°C; este intervalo atribuído a decomposição estrutural do (poli(cis-isopreno)) das moléculas da borracha natural (AGOSTINI; CONSTANTINO; JOB, 2008; SOUSA et al., 2019) e a perda de massa em cerca de 92,5%. A decomposição de componentes não-borracha, tais como ácidos graxos, produz um pequeno pico entre 190°C e 270°C, no qual 6,0% da massa foi perdida (SILVA et al., 2018). A 688°C, o resíduo final de BN pura era de cerca de 1,1%. Como ilustra as Figuras 28 B-D, a BN pura apresenta um pequeno ombro entre 420°C e 520°C. É possível atribuir este ombro a diferentes temperaturas de degradação entre os outros constituintes de BN (BELLUCCI et al., 2016).

Figura 25 – Análise TG/DTG de (a,b) BN/BioS e (c,d) BN/BL0 espécimes de biocompósitos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmicas bioativas



Fonte: O autor (2023)

Os perfis térmicos dos espécimes biocompósitas BN/BioS e BN/BL0 com diferentes cargas BioS e BL0 apresentam características semelhantes de BN pura, tais como a decomposição estrutural de poli(cis-isopreno) que ocorrem no intervalo de 200°C a 450°C. Para os espécimes de biocompósito BN/BioS com 10, 20 e 30% de BioS, a perda de massa durante o evento principal foi de 80,3%, 72,1% e 65,4%, respectivamente. Foi encontrada uma perda de massa de 83,4%, 75,3% e 34,7% para os espécimes de biocompósito BN/BL0 com 10%, 20% e 30% de BL0, respectivamente. Verifica-se que, para as mesmas concentrações de BioS e BL0, ambos os biocompósitos tiveram perdas de massa próximas no evento térmico principal.

A Tabela 12 apresenta os parâmetros térmicos obtidos da Figura 28, tais como a temperatura à taxa máxima de decomposição (T_m), a temperatura de início (T_{on}), a temperatura de offset (T_{off}) e o resíduo. Um parâmetro importante apresentado na tabela é o T_m , que pode ser utilizado para avaliar a estabilidade térmica dos espécimes. Observa-se que o valor de T_m para todos os espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 é deslocado a temperaturas mais

baixas em comparação com a matriz BN, demonstrando que o efeito plastificante das partículas vitrocerâmicas diminui a instabilidade dos espécimes de biocompósitos (SANYANG et al., 2015).

Tabela 12 – Parâmetros TG/DTG: T_m , T_{on} , T_{off} e resíduos de espécimes de biocompósito BN pura, BN/BioS e BN/BL0 com diferentes quantidades de partículas bioativas de vitrocerâmica

Fibras	$T_m(^{\circ}C)$	$T_{on}(^{\circ}C)$	$T_{off}(^{\circ}C)$	Resíduo (%)
BN puro	342,4	272,4	422,4	1,1
BN/BioS (90/10)	339,7	267,2	422,2	11,95
BN/BioS (80/20)	345,9	276,4	443,4	21,11
BN/BioS (70/30)	340,6	273,1	418,1	27,33
BN/BL0 (90/10)	338,3	260,8	420,8	6,90
BN/BL0 (80/20)	340,4	270,4	417,9	16,13
BN/BL0 (70/30)	337,9	272,9	408,2	27,33

Fonte: o autor (2023)

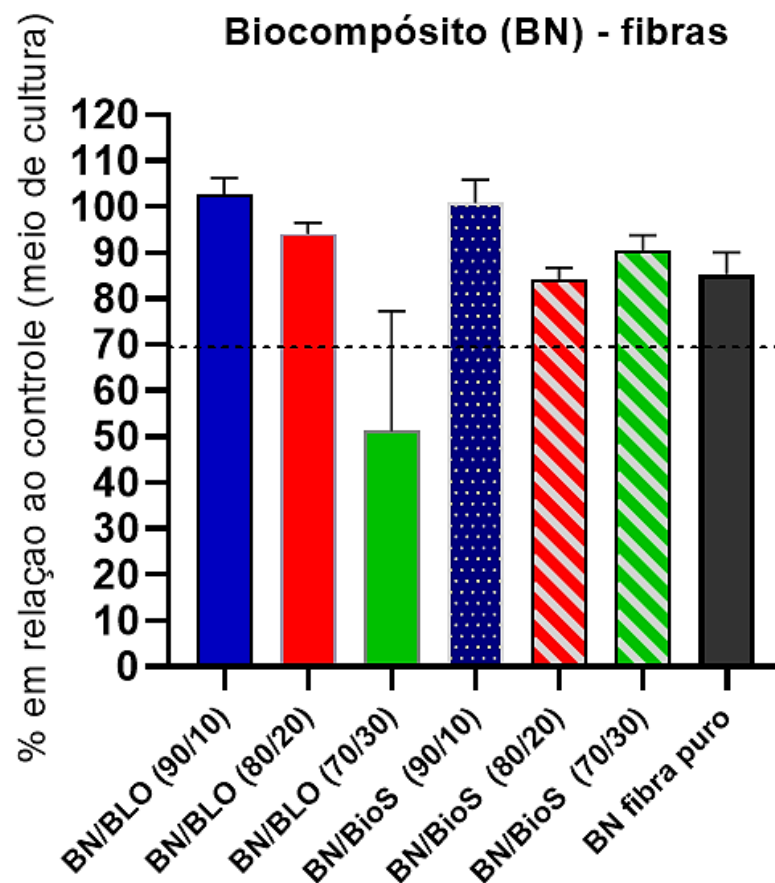
De acordo com a Tabela 12, o valor de resíduos dos biocompósitos BN/Bios e BN/BL0 a 600°C foi aumentado quando as quantidades de BioS e BL0 também aumentaram na matriz BN. Os valores de resíduos podem ser utilizados para estimar a concentração de partículas de vitrocerâmicas utilizadas para obter os espécimes. Como esperado, o valor obtido foi próximo do utilizado para preparar os espécimes de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0.

4.4.6 Avaliação *in vitro* da citocompatibilidade

A Figura 29 ilustra os testes de citotoxicidade indiretos para avaliar a viabilidade do MSc cultivado em meios de cultura (24 h) com os espécimes fibrosos dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes concentrações de vitrocerâmicas. De todos os espécimes estudados, apenas o BN/BL0 (70/30) revelou uma viabilidade celular reduzida e inferior a 70%, o que não é recomendada no teste *in vitro*. Resultado semelhante foi observado na mesma amostra em forma de filme.

Por outro lado, comparando a viabilidade celular dos demais espécimes fibrosos dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0, pode-se observar uma porcentagem superior a 70%, como mostra a Figura 29.

Figura 26 – Avaliação da citotoxicidade do meio de cultura deixado durante 24 h na presença dos biocompósitos com diferentes quantidades de partículas de vitrocerâmica bioativas no MSC por MTT durante 72 h

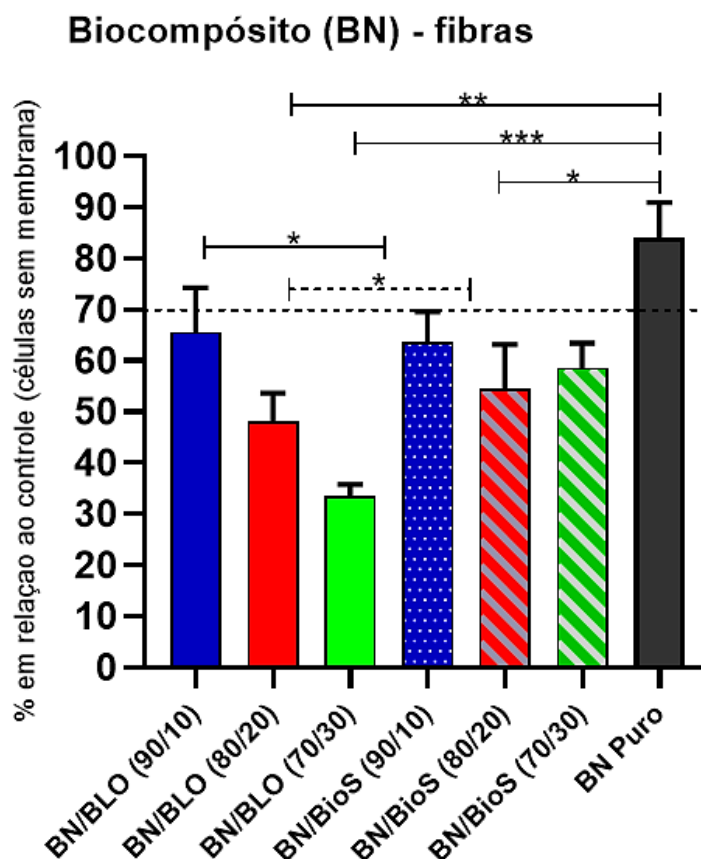


Fonte: O autor (2003)

Os resultados da análise de citotoxicidade *in vitro* de todos os espécimes fibrosos – exceto BN/BL0 (70/30) – confirma que a viabilidade celular está em acordo com a norma ISO 10993-5:2009. A viabilidade celular inferior a 70% do espécime BN/BL0 (70/30), como já descrito, pode estar relacionada à liberação de íons, principalmente do SiO₂, durante a realização dos testes, tornando o sistema não propício para a proliferação celular.

A Figura 30 ilustra os resultados das medições de células MSc semeadas diretamente sobre os espécimes fibrosos dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes concentrações de vitrocerâmicas bioativas.

Figura 27 – Avaliação da proliferação de MSC cultivadas em biocompósito BN, BN/BL0 e BN/BioS com diferentes cargas de partículas bioativas de cerâmica vítrea pelo ensaio CK-8 durante 72 h



Fonte: O autor (2023)

Observa-se uma diminuição da proliferação celular no biocompósito com o aumento do teor de partículas BL0 e BioS na matriz fibrosa de BN. Diferentemente dos espécimes em forma de filme, cujos melhores resultados de proliferação celular foram apresentados apenas nos espécimes BN/BioS (90/10) e BN pura, somente o espécime fibroso de BN apresentou índice de proliferação celular superior a 70%. Uma explicação possível para esse comportamento é a morfologia fibrosa dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0, cujas vitrocerâmicas bioativas estão mais expostas às células, devido à maior área superficial, diferentemente dos espécimes na forma de filmes. De acordo com Uo et al. (1998), a citotoxicidade dos vidros está relacionada à sua taxa de dissolução. Se o material for muito solúvel, pode liberar íons que lesam as células e tornam o material citotóxico. A incorporação de íons metálicos com um grande raio iônico e uma baixa carga elétrica aumenta a solubilidade do vidro e pode aumentar a toxicidade do material. Para efeito de comparação, o raio iônico do potássio é bem maior do que o do sódio. Daí a diferença entre as vitrocerâmicas utilizadas: no vidro BioS, todo o sódio foi substituído

por Potássio. Os gráficos de proliferação de MSC mostram claramente que o BL0, por apresentar altíssima solubilidade, eleva o pH no ambiente da célula e, por isso, é mais citotóxico que o BioS.

Além disso, como mencionado anteriormente, no método direto os testes *in vitro* tentam simular os sistemas biológicos reais, mas, enquanto nestes a proliferação celular ocorre em múltiplas camadas, no teste *in vitro* a proliferação se dá em monocamadas, de modo que as células estão mais suscetíveis à liberação de componentes nocivos às células pela vitrocerâmica (CHRANIUK et al., 2022; HADDADI et al., 2022; LIVERANI et al., 2018).

Por mais que os espécimes fibrosos de biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 com diferentes concentrações de vitrocerâmicas bioativas apresentem certo grau de citotoxicidade, apresentam também excelentes propriedades mecânicas e térmicas. Assim, a avaliação da potencialidade de aplicação dos biocompósitos deve incluir testes biológicos *in vivo*, que podem mensurar a real funcionalidade dos espécimes, principalmente quanto à sua aplicação em engenharia de tecido mole e duro.

É preciso ainda ressaltar que efeitos tóxicos *in vitro* não significam, necessariamente, toxicidade *in vivo*. No sistema *in vitro*, as células estão expostas diretamente ao agente agressor ou a seus produtos e o meio não se renova por cerca de 2 a 3 dias, concentrando possíveis componentes tóxicos. No sistema *in vivo*, a homeostase proporcionada pelos fluidos pode agir protegendo o organismo, removendo a toxina do sítio de implantação. Além disso, deve-se lembrar que os estudos de citotoxicidade não devem ser os únicos determinantes na avaliação da biocompatibilidade *in vitro* de um material. O ensaio de citotoxicidade é o primeiro ensaio *in vitro* de biocompatibilidade e pode ser utilizado para o acompanhamento e correção de processos de obtenção de biomateriais. Outros estudos como, por exemplo, a interação célula-material, são muito importantes para avaliar a adesão e a proliferação das células sobre o material, isto é, citocompatibilidade do material. Quando o material apresenta leve toxicidade ou não toxicidade, os testes de biocompatibilidade devem ser continuados com ensaios *in vivo* e os materiais extremamente tóxico devem ser descartados. (MUNDSTOCK et al., 2012, p. 669)

A combinação de vitrocerâmicas bioativas com polímeros naturais na forma de filmes e fibras possibilita atender às demandas mecânicas e fisiológicas do tecido hospedeiro. A bioatividade e não citotoxicidade desses biocompósitos foram amplamente demonstradas por estudos *in vivo* (LACAMBRA-ANDREU et al., 2021; MARQUES et al., 2020), principalmente quando se utiliza como matriz polimérica a borracha natural, que possui propriedades mecânicas adequadas para o uso como membrana oclusiva em procedimentos de regeneração óssea guiada (LACAMBRA-ANDREU et al., 2021; MARQUES et al., 2020). Balabanian et al (2006) verificaram a biocompatibilidade desse biomaterial em experiências com implante ósseo intra-alveolar em ratos. Ferreira et al (2009) e Mendonça et al (2010) sugerem a capacidade do

látex em induzir a angiogênese. Ereno et al (2010) e Moura et al (2014) estudaram a membrana de látex como uma membrana oclusiva em procedimentos de regeneração óssea guiada para tratar defeitos críticos em modelos animais, com resultados positivos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta pesquisa testou a combinação de biosilicato e 45S5-K (BL0, sem sódio) com BN em vista da utilização das vitrocerâmicas bioativas em diversos campos biomédicos, tais como a engenharia de tecidos duros e moles, flexíveis e ecologicamente corretos. Utilizando a borracha natural como matriz polimérica, foram obtidos biocompósitos usando massas diferentes de vitrocerâmicas bioativas (BioS e BL0). De acordo com a análise MEV, BioS e BL0 revelam distribuições homogêneas nos espécimes de filmes enquanto pequenos aglomerados foram observados em concentrações de 30% de vitrocerâmicas bioativas e a formação de fibras utilizando a técnica *solution blow spinning*.

Quando as cargas são distribuídas e homogeneizadas na matriz polimérica, elas absorvem de forma mais eficaz as tensões das forças de tração que atuam na matriz. Em outras palavras, as cargas melhoram a resistência à tração da matriz e aumentam seu módulo de elasticidade. No entanto, quando grandes aglomerados se formam na matriz, são criados locais de fratura e defeitos, resultando em um compósito mais frágil. Além disso, os aglomerados tendem a reduzir as interações interfaciais entre as cargas e os polímeros, resultando em uma redução nas propriedades mecânicas do compósito.

A análise térmica revelou que os espécimes dos biocompósitos BN/BioS e BN/BL0 foram menos estáveis termicamente do que a matriz BN, provavelmente devido aos efeitos plastificantes causados pela vitrocerâmica bioativa. Por outro lado, eles demonstraram aproximadamente o mesmo perfil térmico de BN em curvas TG/DTG, ou seja, decomposição estrutural de poli(cis-isopreno) entre 250°C e 450°C. Os valores de resíduos medidos também podem ser usados para estimar as concentrações de BioS e BL0 que foram usadas para preparar os biocompósitos BN/BioS e BN/BL0, e o valor obtido foi realmente próximo ao da preparação da amostra original. Em comparação com a BN, os dois tipos de partículas bioativas de vitrocerâmica melhoraram a resposta à tração dos biocompósitos. Os resultados do teste de tensão-deformação mostraram que os espécimes de biocompósitos apresentaram maior módulo de elasticidade e maior resistência à tração e resistência final do que os espécimes BN correspondentes.

Quanto ao efeito da temperatura sobre as propriedades mecânicas dinâmicas dos espécimes fibrosos, como módulo de armazenamento, módulo de perda e fator de perda

mecânica, as análises indicam armazenamento de energia em temperaturas superiores a T_g e inibição do processo de relaxamento das cadeias BN com a adição de partículas vitrocerâmicas. Verificou-se o processo de relaxação representado pelo gráfico $\tan \delta$ em função da temperatura, mostrando que o pico de maior intensidade atribui a alta elasticidade e sua tendência a dissipar energia durante a deformação.

Como demonstrado na avaliação biológica *in vitro* usando o teste indireto de citotoxicidade, dos filmes e dos espécimes fibrosos BN pura, BN/BL0, e os espécimes de biocompósitos NR/BioS foram capazes de promover a fixação dos MSCs, revelando assim uma viabilidade superior a 70%, conforme definido na ISO 10993-5:2009.

Conforme demonstrado em uma avaliação biológica *in vitro* usando um ensaio de citotoxicidade indireta, espécimes puros de biocompósitos BN, BN/BL0 e BN/BioS foram capazes de suportar a adesão de MSC, revelando assim uma viabilidade superior a 70%, conforme definido na ISO 10993-5:2009. De acordo com esses resultados, as partículas de BioS e BL0 afetaram positivamente as propriedades térmicas, mecânicas e biológicas da matriz BN, tornando os biocompósito na forma de manta fibrosa e filme um potencial candidato para uso em aplicações biomédicas, como engenharia de tecidos duros e moles.

Os resultados sugerem BN/BioS (90/10), BN/BL0 (90/10) e BN pura como os melhores candidatos ao uso *in vivo*, pois ambos apresentaram maior proliferação de células. Por isso, os resultados de citocompatibilidade indicam que os filmes e os espécimes fibrosos possuem um grande potencial de aplicação em engenharia de tecidos, como andares de cultivo celular para a regeneração de tecidos. Outra possibilidade seria a introdução de uma terceira fase de experimentação com propriedades bactericidas, como nanopartículas de prata, visando ao aumento da gama de aplicação dos biocompósitos.

6. IMPACTO E RELEVÂNCIA ECONÔMICA E SOCIAL

Nas últimas décadas, o setor de biomateriais feitos de metais, cerâmicas, polímeros, híbridos e compósitos não apenas ampliou a quantidade de produtos disponíveis e em vias de desenvolvimento, mas também fez progressos econômicos significativos. Sua contribuição na melhoria da qualidade de vida humana é inegável. No entanto, apesar da ampla disponibilidade de biomateriais hoje, ainda há necessidade de expandir a pesquisa nessa área porque muitos dos dispositivos tecnologicamente avançados são utilizados por apenas uma pequena fração da população. Espera-se que este uso seja numericamente mais alto, no futuro, devido à tendência de envelhecimento da população. Embora o uso de biomateriais esteja bem estabelecido nas mais diversas aplicações, o desenvolvimento de biomateriais está mudando rapidamente e abarcando outras áreas, como engenharia de tecidos, cultura de células-tronco e dispositivos customizados, que podem ser adaptados às necessidades dos indivíduos em crescimento. Portanto, as novas tecnologias para a produção e caracterização dos biomateriais continuam a desempenhar um papel muito importante nesta área e exigem esforços e investimentos em novas pesquisas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTINI, D. L. S.; CONSTANTINO, C. J. L.; JOB, A. E. Thermal degradation of both latex and latex cast films forming membranes. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 91, n. 3, p. 703–707, 2008.
- AKIBA, M. Vulcanization and crosslinking in elastomers. **Progress in Polymer Science**, [s. l.], v. 22, n. 3, p. 475–521, 1997.
- AL HEGY, A.; SMITH, R.; GAUTHIER, E. R.; GRAY-MUNRO, J. E. Investigation of a cyanine dye assay for the evaluation of the biocompatibility of magnesium alloys by direct and indirect methods. **Bioactive Materials**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 26–33, 2020.
- ANDRADE, K. L.; RAMLOW, H.; FLORIANO, J. F.; ACOSTA, E. D.; FAITA, F. L.; MACHADO, R. A. F. Latex and natural rubber: recent advances for biomedical applications. **Polímeros**, [s. l.], v. 32, n. 2, 2022.
- ANNELISE, A. **Obtenção de micro e nanofibras de TiO₂ por electrospinning: caracterização de propriedades e atividade fotocatalítica**. 2008. Tese de doutorado - UFRGS, Porto Alegre, 2008. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/13513>>. Acesso em: 13 jan. 2023.
- ATKINS, P.; JONES, L. **Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2012.
- BAI, S.-L.; WANG, G.-T.; HIVER, J.-M.; G'SELL, C. Microstructures and mechanical properties of polypropylene/polyamide 6/polyethylene-octene elastomer blends. **Polymer**, [s. l.], v. 45, n. 9, p. 3063–3071, 2004.
- BALABANIAN, C. A. C. A.; COUTINHO-NETTO, J.; LAMANO-CARVALHO, T. L.; LACERDA, S. A.; BRENTAGANI, L. G. Biocompatibility of natural latex implanted into dental alveolus of rats. **Journal of Oral Science**, [s. l.], v. 48, n. 4, p. 201–205, 2006.
- BARROS, N. R. De; CHAGAS, P. A. M.; BORGES, F. A.; GEMEINDER, J. L. P.; MIRANDA, M. C. R.; GARMS, B. C.; HERCULANO, R. D. Diclofenac Potassium Transdermal Patches Using Natural Rubber Latex Biomembranes as Carrier. **Journal of Materials**, [s. l.], v. 2015, p. 1–7, 2015.
- BELLUCCI, F. S.; ALMEIDA, F. C. L.; DA SILVA AGOSTINI, D. L.; NOBRE, M. A. L.; PASCHOALINI, A. T.; JOB, A. E. Evolution of thermal properties of natural rubber nanocomposites functionalized by nickel–zinc ferrite and potassium strontium niobate nanopowders. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 126, n. 3, p. 1397–1406, 2016.
- BERNARDO, M. P.; PASCHOALIN, R. T.; DOS SANTOS, D. M.; BILATTO, S.; FARINAS, C. S.; CORREA, D. S.; OLIVEIRA, O. N.; MATTOSO, L. H. C. **Processamento e aplicação de biomateriais poliméricos: avanços recentes e perspectivas**, Sociedade Brasileira de Química, 2021.

BHATTACHARYA, M.; BHOWMICK, A. K. Synergy in carbon black-filled natural rubber nanocomposites. Part I: Mechanical, dynamic mechanical properties, and morphology. **Journal of Materials Science**, [s. l.], v. 45, n. 22, p. 6126–6138, 2010.

BOCCACCINI, A. R.; GOUGH, J. E. **Tissue engineering using ceramics and polymers**. [s.l.] : Woodhead Publishing Limited, 2007.

BORSCHIVER, S.; ALMEIDA, L. F. M.; ROITMAN, T. Monitoramento tecnológico e mercadológico de biopolímeros. **Polímeros**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 256–261, 2008.

CABRERA, F. C.; AGOSTINI, D. L. S.; DOS SANTOS, R. J.; TEIXEIRA, S. R.; RODRÍGUEZ-PÉREZ, M. A.; JOB, A. E. Characterization of natural rubber/gold nanoparticles SERS-active substrate. **Journal of Applied Polymer Science**, [s. l.], v. 130, n. 1, p. 186–192, 2013.

CASPER, C. L.; STEPHENS, J. S.; TASSI, N. G.; CHASE, D. B.; RABOLT, J. F. Controlling Surface Morphology of Electrospun Polystyrene Fibers: Effect of Humidity and Molecular Weight in the Electrospinning Process. **Macromolecules**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 573–578, 2004.

CAVALCANTE, D. G. S. M.; GOMES, A. S.; SANTOS, R. J.; KERCHE-SILVA, L. E.; DANNA, C. S.; YOSHIHARA, E.; JOB, A. E. Composites Produced from Natural Rubber and Chrome-Tanned Leather Wastes: Evaluation of their In Vitro Toxicological Effects for Application in Footwear and Textile Industries. **Journal of Polymers and the Environment**, [s. l.], v. 26, n. 3, p. 980–988, 2018.

CENA, C. R.; MALMONGE, L. F.; MALMONGE, J. A. Layer-by-layer thin films of polyaniline alternated with natural rubber and their potential application as a chemical sensor. **Journal of Polymer Research**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 9, 2017.

CENA, C. R.; SILVA, M. J.; MALMONGE, L. F.; MALMONGE, J. A. Poly(vinyl pyrrolidone) sub-microfibers produced by solution blow spinning. **Journal of Polymer Research**, [s. l.], v. 25, n. 11, p. 238, 2018.

CESAR, M. B.; BORGES, F. A.; BILCK, A. P.; YAMASHITA, F.; PAULINO, C. G.; HERCULANO, R. D. Development and Characterization of Natural Rubber Latex and Polylactic Acid Membranes for Biomedical Application. **Journal of Polymers and the Environment**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 220–230, 2020.

CHRANIUK, M.; PANASIUK, M.; HOVHANNISYAN, L.; ŻOŁĘDOWSKA, S.; NIDZWORSKI, D.; CIOŁEK, L.; WOŹNIAK, A.; JAEGERMANN, Z.; BIERNAT, M.; GROMADZKA, B. The Preliminary Assessment of New Biomaterials Necessitates a Comparison of Direct and Indirect Cytotoxicity Methodological Approaches. **Polymers**, [s. l.], v. 14, n. 21, p. 4522, 2022.

COSTA, R. G. F.; OLIVEIRA, J. E. De; PAULA, G. F. De; PICCIANI, P. H. de S.; MEDEIROS, E. S. De; RIBEIRO, C.; MATTOSO, L. H. C. Eletrofição de Polímeros em Solução: parte I: fundamentação Teórica. **Polímeros**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 170–177, 2012.

CROVACE, M. C.; SOUZA, M. T.; CHINAGLIA, C. R.; PEITL, O.; ZANOTTO, E. D. Biosilicate® — A multipurpose, highly bioactive glass-ceramic. In vitro, in vivo and clinical trials. **Journal of Non-Crystalline Solids**, [s. l.], v. 432, p. 90–110, 2016. a.

CROVACE, M. C.; SOUZA, M. T.; CHINAGLIA, C. R.; PEITL, O.; ZANOTTO, E. D. Biosilicate® — A multipurpose, highly bioactive glass-ceramic. In vitro, in vivo and clinical trials. **Journal of Non-Crystalline Solids**, [s. l.], v. 432, p. 90–110, 2016. b.

DA SILVA BURITI, J.; BARRETO, M. E. V.; BARBOSA, F. C.; DE BRITO BURITI, B. M. A.; DE LIMA SOUZA, J. W.; DE VASCONCELOS PINA, H.; DE LUNA RODRIGUES, P.; FOOK, M. V. L. Synthesis and characterization of Ag-doped 45S5 bioglass and chitosan/45S5-Ag biocomposites for biomedical applications. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 145, n. 1, p. 39–50, 2021.

DE BARROS, N. R.; HEREDIA-VIEIRA, S. C.; BORGES, F. A.; BENITES, N. M.; DOS REIS, C. E.; MIRANDA, M. C. R.; CARDOSO, C. A. L.; HERCULANO, R. D. Natural rubber latex biodevice as controlled release system for chronic wounds healing. **Biomedical Physics & Engineering Express**, [s. l.], v. 4, n. 3, p. 035026, 2018.

DHANALAKSHMI, M.; JOG, J. P. Preparation and characterization of electrospun fibers of Nylon 11. **Express Polymer Letters**, [s. l.], v. 2, n. 8, p. 540–545, 2008.

DIAS, Y. J.; ROBLES, J. R.; SINHA-RAY, S.; ABIADE, J.; POURDEYHIMI, B.; NIEMCZYK-SOCZYNSKA, B.; KOLBUK, D.; SAJKIEWICZ, P.; YARIN, A. L. Solution-Blown Poly(hydroxybutyrate) and ϵ -Poly-L-lysine Submicro- and Microfiber-Based Sustainable Nonwovens with Antimicrobial Activity for Single-Use Applications. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, [s. l.], v. 7, n. 8, p. 3980–3992, 2021.

DOGRUL, F.; BORTOLIN, S.; DEL COL, D.; DENG, N.; PEDRON, D.; MICHALEK, M.; ELSAYED, H.; GALUSEK, D.; BERNARDO, E. Polymer-derived Biosilicate-C composite foams: Phase development and photothermal effect. **Journal of the European Ceramic Society**, [s. l.], v. 41, n. 16, p. 380–388, 2021.

DONARUMA, L. G. Definitions in biomaterials, D. F. Williams, Ed., Elsevier, Amsterdam, 1987, 72 pp. **Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition**, [s. l.], v. 26, n. 9, p. 414–414, 1988.

DZIADEK, M.; STODOLAK-ZYCH, E.; CHOLEWA-KOWALSKA, K. Biodegradable ceramic-polymer composites for biomedical applications: A review. **Materials Science and Engineering: C**, [s. l.], v. 71, p. 1175–1191, 2017.

ELSAIED, H.; COLOMBO, P.; CROVACE, M. C.; ZANOTTO, E. D.; BERNARDO, E. Suitability of Biosilicate® glass-ceramic powder for additive manufacturing of highly porous scaffolds. **Ceramics International**, [s. l.], v. 47, n. 6, p. 8200–8207, 2021.

ERENO, C.; GUIMARÃES, S. A. C.; PASETTO, S.; HERCULANO, R. D.; SILVA, C. P.; GRAEFF, C. F. O.; TAVANO, O.; BAFFA, O.; KINOSHITA, A. Latex use as an occlusive membrane for guided bone regeneration. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, [s. l.], v. 95A, n. 3, p. 932–939, 2010.

FERNANDES, K. R.; MAGRI, A. M. P.; KIDO, H. W.; PARISI, J. R.; ASSIS, L.; FERNANDES, K. P. S.; MESQUITA-FERRARI, R. A.; MARTINS, V. C.; PLEPIS, A. M.; ZANOTTO, E. D.; PEITL, O.; RENNO, A. C. M. Biosilicate/PLGA osteogenic effects modulated by laser therapy: In vitro and in vivo studies. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [s. l.], v. 173, p. 258–265, 2017.

FERREIRA, M.; MENDONÇA, R. J.; COUTINHO-NETTO, J.; MULATO, M. Angiogenic properties of natural rubber latex biomembranes and the serum fraction of *Hevea brasiliensis*. **Brazilian Journal of Physics**, [s. l.], v. 39, n. 3, p. 564–569, 2009.

FIUME, E.; BARBERI, J.; VERNÉ, E.; BAINO, F. Bioactive Glasses: From Parent 45S5 Composition to Scaffold-Assisted Tissue-Healing Therapies. **Journal of Functional Biomaterials**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 24, 2018.

FIUME, E.; MAGNATERRA, G.; RAHDAR, A.; VERNÉ, E.; BAINO, F. Hydroxyapatite for Biomedical Applications: A Short Overview. **Ceramics**, [s. l.], v. 4, n. 4, p. 542–563, 2021.

FLORIANO, J. F.; NETO, F. C.; DA MOTA, L. S. L. S.; FURTADO, E. L.; FERREIRA, R. S.; BARRAVIERA, B.; GONÇALVES, P. J.; DE ALMEIDA, L. M.; BORGES, F. A.; HERCULANO, R. D.; DE OLIVEIRA GRAEFF, C. F. Comparative study of bone tissue accelerated regeneration by latex membranes from *Hevea brasiliensis* and *Hancornia speciosa*. **Biomedical Physics & Engineering Express**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 045007, 2016.

GANGULY, K.; PATEL, D. K.; DUTTA, S. D.; SHIN, W.-C.; LIM, K.-T. Stimuli-responsive self-assembly of cellulose nanocrystals (CNCs): Structures, functions, and biomedical applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 155, p. 456–469, 2020.

GERHARDT, L.-C.; BOCCACCINI, A. R. Bioactive Glass and Glass-Ceramic Scaffolds for Bone Tissue Engineering. **Materials**, [s. l.], v. 3, n. 7, p. 3867–3910, 2010.

GUERRA, N. B.; SANT'ANA PEGORIN, G.; BORATTO, M. H.; DE BARROS, N. R.; DE OLIVEIRA GRAEFF, C. F.; HERCULANO, R. D. Biomedical applications of natural rubber latex from the rubber tree *Hevea brasiliensis*. **Materials Science and Engineering: C**, [s. l.], v. 126, p. 112126, 2021.

GUTIERRES, M.; LOPES, M. A.; SOORAJ HUSSAIN, N.; CABRAL, A. T.; ALMEIDA, L.; SANTOS, D. Substitutos Ósseos Conceitos Gerais e Estado Actual. [s. l.], p. 01–10, 2006.

HADDADI, M. H.; KARAMIAN, E.; BAKHSHESHI-RAD, H. R.; KASIRI-ASGARANI, M. Investigation of the effect of Bioglass-58S content on structural and biological properties of PCL-chitosan-58S-bioactive glass composite coating for bone tissue engineering application. **Ceramics International**, [s. l.], 2022.

HENCH, L. L. Bioceramics: From Concept to Clinic. **Journal of the American Ceramic Society**, [s. l.], v. 74, n. 7, p. 1487–1510, 1991.

HENCH, L. L. The story of Bioglass®. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, [s. l.], v. 17, n. 11, p. 967–978, 2006.

HENCH, L. L.; SPLINTER, R. J.; ALLEN, W. C.; GREENLEE, T. K. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. **Journal of Biomedical Materials Research**, [s. l.], v. 5, n. 6, p. 117–141, 1971.

IGE, O. O.; UMORU, L. E.; ARIBO, S. Natural Products: A Minefield of Biomaterials. **ISRN Materials Science**, [s. l.], v. 2012, p. 1–20, 2012.

INAI, R.; KOTAKI, M.; RAMAKRISHNA, S. Structure and properties of electrospun PLLA single nanofibres. **Nanotechnology**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 208–213, 2005.

ISLAM, M. T.; FEFEL, R. M.; ABOU NEEL, E. A.; GRANT, D. M.; AHMED, I.; HOSSAIN, K. M. Z. Bioactive calcium phosphate-based glasses and ceramics and their biomedical applications: A review. **Journal of Tissue Engineering**, [s. l.], v. 8, p. 204173141771917, 2017.

IYER, K. A.; TORKELESON, J. M. Dispersion and Property Enhancements in Polyolefin/Soy Flour Biocomposites Prepared via Melt Extrusion Followed by Solid-State Shear Pulverization. **Macromolecular Materials and Engineering**, [s. l.], v. 300, n. 8, p. 772–784, 2015.

JAYANARAYANAN, K.; THOMAS, S.; JOSEPH, K. Morphology, static and dynamic mechanical properties of in situ microfibrillar composites based on polypropylene/poly (ethylene terephthalate) blends. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, [s. l.], v. 39, n. 2, p. 164–175, 2008.

JUNIOR, J. A. O.; SHIOTA, L. M.; CHIAVACCI, L. A. Desenvolvimento de formadores de filmes poliméricos orgânico-inorgânico para liberação controlada de fármacos e tratamento de feridas. **Matéria (Rio de Janeiro)**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 24–32, 2014.

KARAKUZU-İKİZLER, B.; TERZIOĞLU, P.; ODUNCU-TEKEREK, B. S.; YÜCEL, S. Effect of selenium incorporation on the structure and in vitro bioactivity of 45S5 bioglass. **Journal of the Australian Ceramic Society**, [s. l.], v. 56, n. 2, p. 697–709, 2020.

KOKUBO, T. Design of bioactive bone substitutes based on biomineralization process. **Materials Science and Engineering: C**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 97–104, 2005.

KOSKI, A.; YIM, K.; SHIVKUMAR, S. Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning. **Materials Letters**, [s. l.], v. 58, n. 3–4, p. 493–497, 2004.

KRAVANJA, G.; PRIMOŽIČ, M.; KNEZ, Ž.; LEITGEB, M. Chitosan-Based (Nano)Materials for Novel Biomedical Applications. **Molecules**, [s. l.], v. 24, n. 10, p. 1960, 2019.

KUMAR, P.; NAGARAJAN, A.; UCHIL, P. D. Analysis of Cell Viability by the alamarBlue Assay. **Cold Spring Harbor Protocols**, [s. l.], v. 2018, n. 6, p. pdb.prot095489, 2018.

LACAMBRA-ANDREU, X.; DERGHAM, N.; MAGALLANES-PERDOMO, M.; MEILLE, S.; CHEVALIER, J.; CHENAL, J.-M.; MAAZOUZ, A.; LAMNAWAR, K. Model Composites Based on Poly(lactic acid) and Bioactive Glass Fillers for Bone Regeneration. **Polymers**, [s. l.], v. 13, n. 17, p. 2991, 2021.

LIMA, L. R. M.; CAETANO, G. F.; SOARES, V. O.; SANTOS, R. J.; MALMONGE, J. A.; SILVA, M. J.; YARIN, A. L. Evaluation of tensile, thermal, and biological properties of natural rubber-based biocomposite with biosilicate and 45S5-K bioglass. **Journal of Applied Polymer Science**, [s. l.], v. 140, n. 22, 2023.

LIVERANI, L.; LACINA, J.; ROETHER, J. A.; BOCCARDI, E.; KILLIAN, M. S.; SCHMUKI, P.; SCHUBERT, D. W.; BOCCACCINI, A. R. Incorporation of bioactive glass nanoparticles in electrospun PCL/chitosan fibers by using benign solvents. **Bioactive Materials**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 55–63, 2018.

LUCAS-GIROT, A.; MEZAH, F. Z.; MAMI, M.; OUDADESSE, H.; HARABI, A.; LE FLOCH, M. Sol–gel synthesis of a new composition of bioactive glass in the quaternary system

SiO₂–CaO–Na₂O–P₂O₅. **Journal of Non-Crystalline Solids**, [s. l.], v. 357, n. 18, p. 3322–3327, 2011.

LUGOLOOBI, I.; MANIRIHO, H.; JIA, L.; NAMULINDA, T.; SHI, X.; ZHAO, Y. Cellulose nanocrystals in cancer diagnostics and treatment. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 336, p. 207–232, 2021.

MABROUK, A.; BACHAR, A.; ATBIR, A.; FOLLET, C.; MERCIER, C.; TRICOTEAUX, A.; LERICHE, A.; HAMPSHIRE, S. Mechanical properties, structure, bioactivity and cytotoxicity of bioactive Na-Ca-Si-P-O-(N) glasses. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, [s. l.], v. 86, p. 284–293, 2018.

MANOHARAN, S.; SURESHA, B.; RAMADOSS, G.; BHARATH, B. Effect of Short Fiber Reinforcement on Mechanical Properties of Hybrid Phenolic Composites. **Journal of Materials**, [s. l.], v. 2014, p. 1–9, 2014.

MANU, T.; NAZMI, A. R.; SHAHRI, B.; EMERSON, N.; HUBER, T. Biocomposites: A review of materials and perception. **Materials Today Communications**, [s. l.], v. 31, p. 103308, 2022.

MARQUES, L.; MARTINEZ, G.; GUIDELLI, É.; TAMASHIRO, J.; SEGATO, R.; PAYÃO, S. L. M.; BAFFA, O.; KINOSHITA, A. Performance on Bone Regeneration of a Silver Nanoparticle Delivery System Based on Natural Rubber Membrane NRL-AgNP. **Coatings**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 323, 2020.

MEDEIROS, E. L. G.; BRAZ, A. L.; PORTO, I. J.; MENNER, A.; BISMARCK, A.; BOCCACCINI, A. R.; LEPRY, W. C.; NAZHAT, S. N.; MEDEIROS, E. S.; BLAKER, J. J. Porous Bioactive Nanofibers via Cryogenic Solution Blow Spinning and Their Formation into 3D Macroporous Scaffolds. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, [s. l.], v. 2, n. 9, p. 1442–1449, 2016.

MENARD, K. P.; MENARD, N. R. Dynamic Mechanical Analysis in the Analysis of Polymers and Rubbers. Em: **Encyclopedia of Polymer Science and Technology**. [s.l.] : Wiley, 2015. p. 1–33.

MENDONÇA, R. J.; MAURÍCIO, V. B.; DE BORTOLLI TEIXEIRA, L.; LACHAT, J. J.; COUTINHO-NETTO, J. Increased vascular permeability, angiogenesis and wound healing induced by the serum of natural latex of the rubber tree *Hevea brasiliensis*. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 24, n. 5, p. 764–768, 2010.

MERCANTE, L.; ANDRE, R.; MACEDO, J.; PAVINATTO, A.; CORREA, D. NANOFIBRAS ELETROFIADAS E SUAS APLICAÇÕES: AVANÇOS NA ÚLTIMA DÉCADA. **Química Nova**, [s. l.], 2021.

MI, H.-Y.; JING, X.; YU, E.; WANG, X.; LI, Q.; TURNG, L.-S. Manipulating the structure and mechanical properties of thermoplastic polyurethane/polycaprolactone hybrid small diameter vascular scaffolds fabricated via electrospinning using an assembled rotating collector. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, [s. l.], v. 78, p. 433–441, 2018.

MOHAMMADI, E.; VATANPOUR, H.; SHIRAZI, F. H. **Immunomodulatory Effects of Bee Venom in Human Synovial Fibroblast Cell Line** Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services Iranian Journal of Pharmaceutical Research. [s.l.: s.n.].

MOURA, J. M. L.; FERREIRA, J. F.; MARQUES, L.; HOLGADO, L.; GRAEFF, C. F. O.; KINOSHITA, A. Comparison of the performance of natural latex membranes prepared with different procedures and PTFE membrane in guided bone regeneration (GBR) in rabbits. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, [s. l.], v. 25, n. 9, p. 2111–2120, 2014.

MUNDSTOCK, K. B.; OLIVEIRA, A. P. N. De; HOTZA, D.; ROGERO, S. O. Avaliação da biocompatibilidade de vidro e vitrocerâmica do sistema SNCP ($\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$). **Química Nova**, [s. l.], v. 35, n. 4, p. 665–670, 2012.

ORÉFICE, R.; PEREIRA, M.; MANSUR, H. **Biomateriais: fundamentos e aplicações**. Guanabara Koogan ed. Rio de Janeiro.

PAIVA, A. O.; DUARTE, M. G.; FERNANDES, M. H. V.; GIL, M. H.; COSTA, N. G. In Vitro studies of bioactive glass/polyhydroxybutyrate composites. **Materials Research**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 417–423, 2006.

PARVIZIFARD, M.; KARBASI, S. Physical, mechanical and biological performance of PHB-Chitosan/MWCNTs nanocomposite coating deposited on bioglass based scaffold: Potential application in bone tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 152, p. 645–662, 2020.

PAWAR, R.; JADHAV, W.; BHUSARE, S.; BORADE, R.; FARBER, S.; ITZKOWITZ, D.; DOMB, A. Polysaccharides as carriers of bioactive agents for medical applications. Em: **Natural-Based Polymers for Biomedical Applications**. [s.l.] : Elsevier, 2008. p. 3–53.

PEITL, O.; DUTRA ZANOTTO, E.; HENCH, L. L. Highly bioactive $\text{P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO-SiO}_2$ glass-ceramics. **Journal of Non-Crystalline Solids**, [s. l.], v. 292, n. 1–3, p. 115–126, 2001.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, [s. l.], 2015. a.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. BIOMATERIALS: TYPES, APPLICATIONS, AND MARKET. **Química Nova**, [s. l.], 2015. b.

PODSHIVALOV, A.; ZAKHAROVA, M.; GLAZACHEVA, E.; USPENSKAYA, M. Gelatin/potato starch edible biocomposite films: Correlation between morphology and physical properties. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 157, p. 1162–1172, 2017.

PUPPI, D.; CHIELLINI, F.; PIRAS, A. M.; CHIELLINI, E. Polymeric materials for bone and cartilage repair. **Progress in Polymer Science**, [s. l.], v. 35, n. 4, p. 403–440, 2010.

RAJASHEKARAIAH, H.; MOHAN, S.; PALLATHADKA, P. K.; BHIMAPPA, S. Dynamic mechanical analysis and three-body abrasive wear behaviour of thermoplastic copolyester elastomer composites. **Advances in Tribology**, [s. l.], v. 2014, 2014.

RAMAKRISHNA, S.; MAYER, J.; WINTERMANTEL, E.; LEONG, K. W. Biomedical applications of polymer-composite materials: a review. **Composites Science and Technology**, [s. l.], v. 61, n. 9, p. 1189–1224, 2001.

RIPPEL, M. M.; LEE, L.-T.; LEITE, C. A. P.; GALEMBECK, F. Skim and cream natural rubber particles: colloidal properties, coalescence and film formation. **Journal of Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 268, n. 2, p. 330–340, 2003.

RODRIGUES, B.; ANDRE, R.; MERCANTE, L.; CORREA, D. Nanofibras poliméricas eletrofiadas. Em: SILVA, A.; CONSOLO, C.; MORAES, D.; NASCIMENTO, J.; CORTES, L.; CREMASCO, M.; LERNER, R. (Eds.). **Nanotecnologia aplicada a polímeros**. São Paulo - SP: Edgard Blücher Ltda, 2022. p. 01–614.

ROLERE, S.; LIENGPRAYOON, S.; VAYSSE, L.; SAINTE-BEUVE, J.; BONFILS, F. Investigating natural rubber composition with Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy: A rapid and non-destructive method to determine both protein and lipid contents simultaneously. **Polymer Testing**, [s. l.], v. 43, p. 83–93, 2015.

SAILAJA, G. S.; RAMESH, P.; VELLAPPALLY, S.; ANIL, S.; VARMA, H. K. Biomimetic approaches with smart interfaces for bone regeneration. **Journal of Biomedical Science**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 77, 2016.

SANYANG, M.; SAPUAN, S.; JAWAID, M.; ISHAK, M.; SAHARI, J. Effect of Plasticizer Type and Concentration on Tensile, Thermal and Barrier Properties of Biodegradable Films Based on Sugar Palm (Arenga pinnata) Starch. **Polymers**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. 1106–1124, 2015.

SASTRY, N. V.; DAVE, P. N.; VALAND, M. K. Dilute solution behaviour of polyacrylamides in aqueous media. **European Polymer Journal**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 517–525, 1999.

SEENA JOSEPH; MAYA JACOB; SABU THOMAS. **Natural Fibers, Biopolymers, and Biocomposites: Natural Fiber-Rubber Composites and Their Applications**. [s.l.] : CRC Press, 2005.

SILVA, C. **Obtenção e caracterização de fibras poliméricas e cerâmicas pela técnica de “Blow-spinning”**. Ilha Solteira.

SILVA JUNIOR, P. E.; ORÉFICE, R. L. Compósitos Bioativos Obtidos a Partir da Inserção de Vidro Bioativo em Matriz de Poli(Metacrilato de Metila). **Polímeros**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 109–115, 2001.

SILVA, L. D.; PUOSSO, F. C.; SOARES, V. O.; PEITL FILHO, O.; SABINO, S. do R. F.; SERBENA, F. C.; CROVACE, M. C.; ZANOTTO, E. D. Two-step sinter-crystallization of K₂O–CaO–P₂O₅–SiO₂ (45S5-K) bioactive glass. **Ceramics International**, [s. l.], v. 47, n. 13, p. 18720–18731, 2021.

SILVA, M. J.; SANCHES, A. O.; MEDEIROS, E. S.; MATTOSO, L. H. C.; MCMAHAN, C. M.; MALMONGE, J. A. Nanocomposites of natural rubber and polyaniline-modified cellulose nanofibrils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 117, n. 1, p. 387–392, 2014.

SILVA, M. J.; SOARES, V. O.; DIAS, G. C.; SANTOS, R. J.; JOB, A. E.; SANCHES, A. O.; MALMONGE, J. A. Study of thermal and mechanical properties of a biocomposite based on natural rubber and 45S5 Bioglass® particles. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 131, n. 1, p. 735–742, 2018.

SILVA, T. H.; OLIVEIRA, J. E. De; MEDEIROS, E. S. De. Obtenção de micro e nanofibras de PVC pela técnica de Fiação por Sopros em Solução. **Polímeros**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 229–235, 2015.

SIQUEIRA, R. L.; ZANOTTO, E. D. Biosilicato®: histórico de uma vitrocerâmica brasileira de elevada bioatividade. **Química Nova**, [s. l.], v. 34, n. 7, p. 1231–1241, 2011.

SOARES DE ANDRADE FREITAS OLIVEIRA, L.; SILVA OLIVEIRA, C.; PAULA LOBO MACHADO, A.; PAIM ROSA, F. Biomateriais com aplicação na regeneração óssea - método de análise e perspectivas futuras. **méd. biol.**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 37–44, 2010.

SOUSA, E. A.; SILVA, M. J.; SANCHES, A. O.; SOARES, V. O.; JOB, A. E.; MALMONGE, J. A. Mechanical, thermal, and morphological properties of natural rubber/45S5 Bioglass® fibrous mat with ribbon-like morphology produced by solution blow spinning. **European Polymer Journal**, [s. l.], v. 119, p. 1–7, 2019.

SRIVASTAVA, G. K.; ALONSO-ALONSO, M. L.; FERNANDEZ-BUENO, I.; GARCIA-GUTIERREZ, M. T.; RULL, F.; MEDINA, J.; COCO, R. M.; PASTOR, J. C. Comparison between direct contact and extract exposure methods for PFO cytotoxicity evaluation. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 1425, 2018.

SWETHA, M.; SAHITHI, K.; MOORTHY, A.; SRINIVASAN, N.; RAMASAMY, K.; SELVAMURUGAN, N. Biocomposites containing natural polymers and hydroxyapatite for bone tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 1–4, 2010.

SYKARAS, N.; IACOPINO, A. M.; MARKER, V. A.; TRIPLETT, R. G.; WOODY, R. D. Implant materials, designs, and surface topographies: their effect on osseointegration. A literature review. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 675–90, 2000.

TURDEAN-IONESCU, C.; STEVENSSON, B.; IZQUIERDO-BARBA, I.; GARCÍA, A.; ARCOS, D.; VALLET-REGÍ, M.; EDÉN, M. Surface Reactions of Mesoporous Bioactive Glasses Monitored by Solid-State NMR: Concentration Effects in Simulated Body Fluid. **The Journal of Physical Chemistry C**, [s. l.], v. 120, n. 9, p. 4961–4974, 2016.

UO, M.; MIZUNO, M.; KUBOKI, Y.; MAKISHIMA, A.; WATARI, F. Properties and cytotoxicity of water soluble Na₂O–CaO–P₂O₅ glasses. **Biomaterials**, [s. l.], v. 19, n. 24, p. 2277–2284, 1998.

VAFA, E.; BAZARGAN-LARI, R.; BAHROLOLOOM, M. E. Synthesis of 45S5 bioactive glass-ceramic using the sol-gel method, catalyzed by low concentration acetic acid extracted from homemade vinegar. **Journal of Materials Research and Technology**, [s. l.], v. 10, p. 1427–1436, 2021.

VIEIRA, D. **Obtenção e caracterização de biocompósitos formados a partir de hidroxiapatita sintética e fibroína de seda na forma de blocos para enxerto ósseo**. 2019. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

VUKAJLOVIC, D.; PARKER, J.; BRETCANU, O.; NOVAKOVIC, K. Chitosan based polymer/bioglass composites for tissue engineering applications. **Materials Science and Engineering: C**, [s. l.], v. 96, p. 955–967, 2019.

VYAS, V. K.; KUMAR, A. S.; ALI, A.; PRASAD, S.; SRIVASTAVA, P.; MALLICK, S. P.; ERSHAD, M.; SINGH, S. P.; PYARE, R. Assessment of nickel oxide substituted bioactive glass-ceramic on in vitro bioactivity and mechanical properties. **Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio**, [s. l.], v. 55, n. 6, p. 228–238, 2016.

YANG, X.; YANG, J.; LEI, P.; WEN, T. LncRNA MALAT1 shuttled by bone marrow-derived mesenchymal stem cells-secreted exosomes alleviates osteoporosis through mediating microRNA-34c/SATB2 axis. **Aging**, [s. l.], v. 11, n. 20, p. 8777–8791, 2019. a.

YANG, X.; YANG, J.; LEI, P.; WEN, T. LncRNA MALAT1 shuttled by bone marrow-derived mesenchymal stem cells-secreted exosomes alleviates osteoporosis through mediating microRNA-34c/SATB2 axis. **Aging**, [s. l.], v. 11, n. 20, p. 8777–8791, 2019. b.

YUSOF, N. N.; AZIZ, S. M.; NOOR, F. M.; YAACOB, S. N. S.; HASHIM, S. A novel borate-based 45S5 Bioglass®: In vitro assessment in phosphate-buffered saline solution. **Journal of Non-Crystalline Solids**, [s. l.], v. 596, p. 121843, 2022.

ZANCANELA, D. C.; FUNARI, C. S.; HERCULANO, R. D.; MELLO, V. M.; RODRIGUES, C. M.; BORGES, F. A.; DE BARROS, N. R.; MARCOS, C. M.; ALMEIDA, A. M. F.; GUASTALDI, A. C. Natural rubber latex membranes incorporated with three different types of propolis: Physical-chemistry and antimicrobial behaviours. **Materials Science and Engineering: C**, [s. l.], v. 97, p. 576–582, 2019.

ZIMMERMANN, M.; MENDES, F. F.; RODRIGUES, D. F.; FALEIRO, M. R.; CAMPOS, G. S.; ARAÚJO, E. G. Membrana de látex natural de *Hevea brasiliensis* auxilia no processo de reparação tecidual em bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 70, n. 3, p. 741–748, 2018.