

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

Cristiane Agra Pimentel

**MEMBRANAS DE POLI(ÉTER-ÉTER-CETONA) SULFONADO COM
INCORPORAÇÃO DE HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÃO COMO
BIOMATERIAL**

Campina Grande – PB

2018

Cristiane Agra Pimentel

**MEMBRANAS DE POLI(ÉTER-ÉTER-CETONA) SULFONADO COM
INCORPORAÇÃO DE HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÃO COMO
BIOMATERIAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito à obtenção do título de **Doutora em Ciência e Engenharia de Materiais.**

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook

Orientador Externo: Prof. Dr. Francisco Kegenaldo Alves de Sousa

Agência Financiadora: CAPES

Campina Grande – PB

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

P644m Pimentel, Cristiane Agra.
Membranas de poli(éter-éter-cetona) sulfonado com incorporação de hidroxiapatita para aplicação como biomaterial / Cristiane Agra Pimentel. - Campina Grande, 2018.
149 f. il. color.

Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2018.

“Orientação: Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook”.

“Orientador externo: Prof. Dr. Francisco Kegenaldo Alves de Sousa”.

Referências.

1. Biomaterial. 2. Membrana. 3. SPEEK. 4. Hidroxiapatita. I. Fook, Marcus Vinicius Lia. II. Sousa, Francisco Kegenaldo Alves de. III. Título.

CDU 62:678.7(043)

VITAE DA CANDIDATA

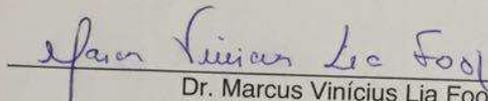
- Engenheira de Materiais pela UFPB (2000).
- Especialização em Administração pela UNIFACS (2005).
- Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais pela UFCG (2016).
- Especialização em Gestão Empreendedora e Inovação pela UFCG (2017).

CRISTIANE AGRA PIMENTEL

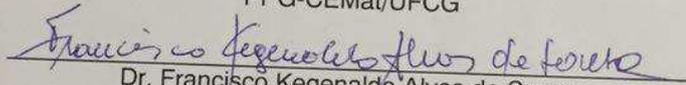
MEMBRANAS DE POLI(ÉTER-ÉTER-CETONA) SULFONADO COM
INCORPORAÇÃO DE HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÃO COMO
BIOMATERIAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Engenharia de
Materiais como requisito parcial à
obtenção do título de **Doutor em Ciência
e Engenharia de Materiais.**

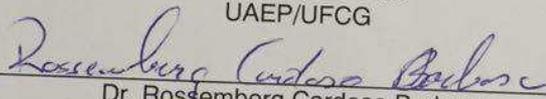
Aprovado em: 27/03/2018



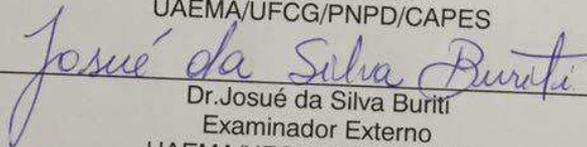
Dr. Marcus Vinícius Lia Fook
Orientador
PPG-CEMat/UFCG



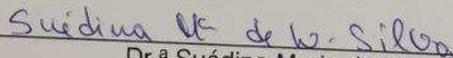
Dr. Francisco Kegenaldo Alves de Sousa
Orientador Externo
UAEP/UFCG



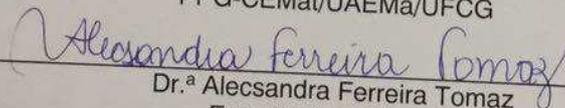
Dr. Rossemberg Cardoso Barbosa
Examinador Externo
UAEMA/UFCG/PNPD/CAPE



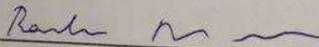
Dr. Josué da Silva Buriti
Examinador Externo
UAEMA/UFCG/PNPD/CAPE



Dr.ª Suédina Maria de Lima Silva
Examinadora Interna
PPG-CEMat/UAEMA/UFCG



Dr.ª Alecsandra Ferreira Tomaz
Examinadora Externa
DF/UEPB



Dr. Romualdo Rodrigues Menezes
Examinador Interno
PPG-CEMat/UAEMA/UFCG

*Aos meus pais, minha irmã e
Germano pela paciência e força
dada a cada instante. DEDIDO.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar o meu agradecimento e reconhecimento especial a todas as pessoas e amigos que colaboraram e contribuíram, de alguma forma, para a concretização deste trabalho:

- ✓ Deus por sua benção e proteção, em todos os 22.860 km percorridos nesses 2 anos entre Campina Grande e Recife;
- ✓ Minha mãe, que mesmo com todas as condições adversas do dia-a-dia, sempre foi minha amiga e alma gêmea para compartilhar todas as alegrias e oportunidades desta caminhada;
- ✓ Meu pai, que com seu jeito calado e observador, sempre sabe me aconselhar com as palavras certas;
- ✓ Germano, meu esposo e companheiro, que me ajuda nas madrugadas a viajar feliz em busca de meus objetivos e apoio incondicional em todas as minhas decisões;
- ✓ Minha irmã que com sua alegria e otimismo, sempre sabe dar conselhos maravilhosos;
- ✓ Professor Dr. Marcus, orientador e amigo, que sempre me aconselhou, impulsionou, apoiou, chamou minha atenção e elogiou nos diversos momentos desta jornada;
- ✓ Dailma pela amizade e conselhos sempre dados nos momentos mais essenciais da minha vida acadêmica;
- ✓ Professor Dr. Kegenaldo, orientador externo, que acreditou e me apoiou no grande sonho de ensinar em engenharia de produção;
- ✓ José William por ter sido meu aluno mais exemplar, amigo e companheiro nas etapas mais diversas deste estudo;
- ✓ Grupo do PEEK, Flávia, Mayelli, Valéria, Rodrigo e Cláudio, que ajudaram a desenvolver as ideias e sanar todas as dúvidas;
- ✓ Edson Montoro pela ajuda nos estudos estatísticos;

- ✓ Wladymyr, Rossemberg e Alecsandra pelo apoio essencial no aprofundamento das ideias e ensaios a serem realizados;
- ✓ Todos os analistas do CERTBIO que disponibilizaram seu tempo para realização dos ensaios, Gislaine, Filipe, William, Willams, Rodolfo, Bianca, Lívia, Mateus, Dayane, Daniel e Silvia;
- ✓ Núcleo de Gestão da Informação (NGI) que apoiaram em toda organização e disponibilização de recursos e registros, Tânia, Francisco Antônio, Dailma, Jaqueline, Suyana, Dayane, Sérgio, Paula, Antônio, Lívia, Pedro, Roberta e Hugo;
- ✓ Grupo de carona e em especial à Renata com sua alegria e fé toda segunda de madrugada;
- ✓ E todos aqueles que por ventura não estejam listados, mas que de alguma forma contribuíram para conclusão deste trabalho.

RESUMO

O poli-(éter-éter-cetona) (PEEK) é um polímero termoplástico semicristalino pertencente à classe dos polímeros de engenharia de alta performance e tem propriedades como biocompatibilidade, módulo de elasticidade próximo ao osso e resistência mecânica, tornando-o adequado para uso em biomateriais. Sua aplicação na área médica tem se tornado um atrativo quando modificado quimicamente com ácido sulfúrico e com incorporação de hidroxiapatita, buscando facilitar a trabalhabilidade e a bioatividade. Esse desenvolvimento ainda contribuiu para a redução de custos e possível aplicação no Sistema Único de Saúde (SUS). Sendo assim, este trabalho tem como objetivo desenvolver uma metodologia de fabricação de membranas de PEEK sulfonado com incorporação de hidroxiapatita para aplicação em biomateriais. Foi realizada uma fase exploratória de desenvolvimento das etapas metodológicas para obtenção das membranas, e a seguir foi realizado um planejamento experimental para avaliar a influência das principais variáveis de processo. As amostras foram submetidas a caracterizações de Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR); Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV); Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS); Análise Termogravimétrica (TGA); Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC); Molhabilidade; Citotoxicidade; Adesão Celular. Os resultados na fase exploratória demonstraram que o melhor método testado foi a adição do PEEK durante agitação, membrana liofilizada e, a hidroxiapatita adicionada ainda sob agitação, a lavagem deve ser mais cuidadosa para retirada do ácido residual e a secagem deve ser executada com uma menor temperatura por mais tempo em estufa. Já no planejamento experimental foi demonstrado que as amostras E7 e E15 apresentaram melhor resultado, alcançando maior hidrofiliabilidade com maior sulfonação. Os resultados biológicos demonstraram viabilidade e adesão celular, sendo assim a metodologia desenvolvida foi efetiva para aplicação da membrana de SPEEK com hidroxiapatita como biomaterial. Além disso, esse desenvolvimento apresentou baixo custo, menor tempo de laboratório e maior simplicidade de processamento.

Palavras-chave: SPEEK. Membrana. Hidroxiapatita. Biomaterial.

ABSTRACT

Polyether (ether-ketone) (PEEK) is a semi-crystalline thermoplastic polymer belonging to the high performance engineering polymers and has properties such as biocompatibility, modulus of elasticity close to bone and mechanical strength, making it suitable to use as biomaterials. In biomedicine it has become an attractive when chemically modified with sulfuric acid and incorporating hydroxyapatite, to facilitate workability and bioactivity. This development contributes to reduce costs and possible application in the Unified Health System (UHS). Thus, this work aims to develop a methodology to manufacture sulfonated PEEK membranes with hydroxyapatite to use as biomaterials. An exploratory phase was developed to develop the methodological steps to obtain all membranes, and then an experimental planning was carried out to evaluate the influence of the main process variables. All samples were submitted to Spectroscopy in the Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR); Scanning Electron Microscopy (SEM); Energy Dispersive Spectroscopy (EDS); Thermogravimetric Analysis (TGA); Differential Scanning Calorimetry (DSC); Wettability; Cytotoxicity; Cell Adhesion. The results in the exploratory phase demonstrated that the best method tested was the addition of PEEK during agitation, lyophilized membrane and, the hydroxyapatite added still under stirring, the washing must be more careful to remove the residual acid and the drying must be performed with a lower temperature for longer in the oven. In the experimental design, it was demonstrated that the samples E7 and E15 presented better results, reaching higher hydrophilicity and sulphonation. The biological results demonstrated viability and cell adhesion, thus the methodology developed was effective for the application of SPEEK membrane with hydroxyapatite as biomaterial. In addition, this development presented low cost, shorter laboratory time and simpler processing.

Keywords: SPEEK. Membrane. Hydroxyapatite. Biomaterial.

PUBLICAÇÕES

PIMENTEL, C. A.; SOUZA, J. W. L.; SANTOS, F. S. F.; SÁ, M. D.; FERREIRA, V. P.; BORGES, S. M. P.; LIMA, D. B.; SOUSA, F. K. A.; FOOK, M. V. L. Sulfonated poly(ether ether ketone)/hydroxyapatite membranes as bone graft materials. **Materials Research Innovations**, 2018. Aceito em março de 2018.

PIMENTEL, C. A.; FOOK, M. V. L.; SOUZA, J. W. L.; SOUSA, W. J. B. ; LIMA, D. B.; BARBOSA, R. C. . Processamento e obtenção de membrana de poli(-éter-éter-cetona) sulfonado (SPEEK) para utilização em biomateriais. 2017, Brasil. **Patente: Privilégio de Inovação**. Número do registro: BR10201702662. Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial; UFCG - Universidade Federal de Campina Grande-PB. Depósito: 11/02/2017.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Tipos de ossos.....	21
Figura 2 – Estrutura hierárquica de um osso típico.....	22
Figura 3 – Canais de Haves e de Wolkmann.	23
Figura 4 – Esquema da organização espacial de biomateriais com formato de (a) microesferas e (b) grânulos.....	26
Figura 5 – Estrutura do Poli-(éter-éter-cetona).	29
Figura 6 – Representação esquemática da microestrutura do PEEK.....	29
Figura 7 – Célula unitária do PEEK.	32
Figura 8 – Representação do efeito radiolúcido do PEEK; (A) Esquema da haste implantada; (B) Haste de PEEK e metal; (C) Raios X da haste.	33
Figura 9 – Reação de síntese para obtenção do PEEK.....	34
Figura 10 – (a) Estrutura da hidroxiapatita – célula unitária; (b) Estrutura da hidroxiapatita ao longo do eixo c.	36
Figura 11 – Fluxograma da etapa exploratória.	43
Figura 12 – Reação de sulfonação do PEEK e deposição da Hidroxiapatita.	44
Figura 13 – Etapas de solubilização do PEEK (momento de adição do PEEK) – Etapa 1.....	47
Figura 14 – Etapas para obtenção da membrana – Etapa 2.....	47
Figura 15 – Etapas da metodologia de adição de hidroxiapatita.	49
Figura 16 – Etapas da metodologia de secagem.....	50
Figura 17 – Condições de molhabilidade de uma superfície: (a) superfície superhidrofílica $\theta=0^\circ$; (b) superfície com molhabilidade parcial $180^\circ > \theta > 0^\circ$; (c) superfície superhidrofóbica $\theta=180^\circ$	57
Figura 18 – Goniômetro desenvolvido por pesquisadores do CERTBIO.....	58
Figura 19 – Exemplificação da mudança de coloração na mistura do PEEK com ácido sulfúrico.	61
Figura 20 – Espectros FTIR das amostras: (a) PEEK, (b) SPEEK.	62
Figura 21 – Membranas (a) aquosa (b) liofilizada.	64
Figura 22 – Métodos de adição de hidroxiapatita: (a) após agitação de solubilização; (b) sob agitação de solubilização aguardando 30 min agitando.	65
Figura 23 – Espectros FTIR das amostras: (a) HA, (b) PEEK, (c) SPEEK, (d) SPEEK+HA sem agitação, (e) SPEEK+HA com agitação.	66

Figura 24 – Reação química de sulfonação e incorporação de hidroxiapatita.....	67
Figura 25 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das amostras SPEEK+HA adição sem agitação: (a) superfície inferior; (b) superfície superior; (c) transversal..	68
Figura 26 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das amostras SPEEK+HA adição com agitação: (a) superfície inferior; (b) superfície superior; (c) transversal..	68
Figura 27 – MEV/EDS das amostras: (a) HÁ; (b) SPEEK+HA sem agitação (superfície inferior), (c) SPEEK+HA com agitação (superfície superior).	69
Figura 28 – Membrana de SPEEK seca à 100 °C por 15 min.....	71
Figura 29 – Membrana de SPEEK seca à 50 °C por 3 h.	72
Figura 30 – Gráfico de viabilidade celular para as amostras de SPEEK (A5) e SPEEK+HA (A10).	74
Figura 31 – MEV das amostras: (a) A5 SPEEK sem recobrimento; (b) A5 SPEEK com recobrimento de células; (c) A10 SPEEK+HA sem recobrimento; (d) A10 SPEEK+HA com recobrimento de células.	75
Figura 32 – Membranas a serem analisadas no planejamento fatorial.....	76
Figura 33 – Espectros FTIR das membranas obtidas com base no planejamento fatorial 2 ³ ; Ensaios de 1 a 4.....	76
Figura 34 – Espectros FTIR das membranas obtidas com base no planejamento fatorial 2 ³ ; Ensaios de 9 a 12 (duplicadas dos ensaios de 1 a 4 respectivamente). ..	77
Figura 35 – Espectros FTIR das membranas obtidas com base no planejamento fatorial 2 ³ ; Ensaios de 5 a 8.....	78
Figura 36 – Espectros FTIR das membranas obtidas com base no planejamento fatorial 2 ³ ; Ensaios de 13 a 16 (duplicadas dos ensaios de 5 a 8 respectivamente).	79
Figura 37 – Análise de TGA para os experimentos do planejamento fatorial 2 ³ ; PEEK e Ensaios de 1 a 4.	80
Figura 38 – Análise de TGA para os experimentos do planejamento fatorial 2 ³ ; PEEK e Ensaios de 9 a 12 (duplicadas dos ensaios de 1 a 4 respectivamente).	81
Figura 39 – Análise de TGA para os experimentos do planejamento fatorial 2 ³ ; PEEK e Ensaios de 5 a 8.	82
Figura 40 – Análise de TGA para os experimentos do planejamento fatorial 2 ³ ; PEEK e Ensaios de 13 a 16 (duplicadas dos ensaios de 5 a 8 respectivamente).	83
Figura 41 – Regressão fatorial para o percentual de grau de sulfonação.	87
Figura 42 – Regressão fatorial para o ângulo de contato.	88
Figura 43 – Regressão fatorial para o percentual de massa.....	89
Figura 44 – Otimização de resposta para as variáveis resposta.....	90

Figura 45 – Análise de TGA da amostra E7, (a) antes e (b) depois, de exposta à umidade.	91
Figura 46 – Espectros FTIR da amostra E7; (a) antes e (b) após (resíduo) o ensaio de TGA.	93
Figura 47 – Curva DSC para amostra E7 do planejamento experimental.	94
Figura 48 – Gráfico de viabilidade celular para a melhor amostra E15 do planejamento experimental.....	95
Figura 49 – MEV da amostra de melhor resultado no planejamento experimental E15: (a) SPEEK+HA liofilizada sem recobrimento; (b) SPEEK+HA liofilizada com recobrimento.	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais propriedades do PEEK.	30
Tabela 2 – Resistências químicas do PEEK.....	31
Tabela 3 – Elementos químicos possíveis para as valências das apatitas.	35
Tabela 4 – Principais propriedades do PEEK Vicote 702.	42
Tabela 5 – Quantidades dos materiais da pesquisa.	45
Tabela 6 – Matriz do planejamento experimental 2 ³	51
Tabela 7 – Representação das variáveis e dos parâmetros a serem testados, além das duplicatas para o planejamento fatorial 2 ³	52
Tabela 8 – Variáveis resposta do planejamento fatorial.....	53
Tabela 9 – Valores aproximados da perda de massa, temperatura e massa residual relativos às etapas de decomposição térmica para as membranas de SPEEK+HÁ..	84
Tabela 10 – Ensaio do planejamento fatorial 2 ³ e resultado das variáveis resposta.	86
Tabela 11 – Valores aproximados da perda de massa, temperatura e massa residual relativos às etapas de decomposição térmica para a amostra E7, antes e depois de exposta à umidade.	92

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
ASTM – Sociedade Americana para Testes e Materiais
EDS – Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X
FDA – Administradora de Alimentos e Medicamentos
FTIR – Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier
GS – Grau de sulfonação
HA – Hidroxiapatita
ISO – Organização Internacional para Padronização
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
MEK – Metil-etil-cetona
PAEK – Poli-(aril-éter-cetona)
PEK – Poli-(éter-cetona)
PEEK – Poli-(éter-éter-cetona)
PM (%) – Perda de massa
SBF – Simulador de Fluido corporal
SPEEK – Poli-(éter-éter-cetona) Sulfonado
SUS – Sistema Único de Saúde
TGA – Análise Termogravimétrica
u.a. – Unidade arbitrária

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1	Tecido Ósseo.....	21
2.2	Engenharia de Tecido	23
2.3	Biomateriais	24
2.3.1	Biomateriais Poliméricos.....	27
2.3.1.1	Polímero Poli-(éter-éter-cetona) (PEEK): propriedades e síntese... 28	
2.3.2	Biomateriais Cerâmicos	34
2.3.2.1	Hidroxiapatita (HA)	35
2.3.3	Biomateriais Compósitos	38
2.3.3.1	Membranas de SPEEK com incorporação de HA para biomateriais 39	
3	MATERIAIS E MÉTODOS	42
3.1	Local da Pesquisa.....	42
3.2	Materiais	42
3.3	Metodologia.....	43
3.3.1	Fase Exploratória.....	43
3.3.1.1	Cálculo Teórico da Quantidade de Materiais	43
3.3.1.2	Metodologias.....	45
3.3.2	Planejamento de experimento.....	50
3.3.2.1	Estudo de absorção de água.....	53
3.4	Caracterização das Amostras.....	53
3.4.1	Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	54
3.4.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS)	54
3.4.3	Análise Termogravimétrica (TGA).....	55

3.4.4	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	56
3.4.5	Molhabilidade.....	56
3.4.6	Citotoxicidade	58
3.4.7	Adesão Celular	59
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	60
4.1.1	Fase Exploratória.....	60
4.1.1.1	Metodologias.....	60
4.1.1.2	Metodologia final escolhida para obtenção da membrana de SPEEK com incorporação de HA	72
4.1.1.3	Avaliação Biológica	73
4.1.2	Planejamento experimental.....	75
4.1.2.1	Estudo de absorção de água.....	90
4.1.2.2	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	93
4.1.2.3	Citotoxicidade.....	94
4.1.2.4	Adesão celular	95
5	CONCLUSÃO	97
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	98
	REFERÊNCIAS.....	99
	APÊNDICE.....	113

1 INTRODUÇÃO

A engenharia de tecidos é um campo da pesquisa dos biomateriais que compreende o desenvolvimento de materiais que associado a células, sejam capazes de, no meio biológico, desenvolverem reações em variados níveis que possibilitem, utilizando recursos matemáticos, técnicos e científicos, a criação, aperfeiçoamento e implementação de sistemas biológicos (Fook, 2005; Tabata, 2009). Essa ciência objetiva criar novas terapias e desenvolver biomateriais inovadores que restaurem, melhorem ou impeçam o comprometimento da função tecidual (Kaugler e Mooney, 2001; Marins *et al.*, 2004).

O polímero poli-(éter-éter-cetona) (PEEK) tem atraído grande interesse como um material a partir do qual um dispositivo médico pode ser fabricado. O PEEK tem ganho grande popularidade nos campos da ortopedia, neurocirurgia e traumatologia devido às suas propriedades mecânicas, químicas e tribológicas (Wang *et al.*, 2012). Os benefícios deste material incluem: resistência mecânica e química, além de rigidez, biocompatibilidade e inércia biológica, os quais atendem aos requisitos médicos solicitados (Siddiq e Kennedy, 2015).

Esse material além de possuir uma estrutura e módulo de elasticidade semelhantes à parte óssea, pode ser reesterilizado e reutilizado após um período de repouso, além de ser durável (O'reilly *et al.*, 2015). Além disso, o PEEK é radiolúcido, o que não causa interferência nos exames de raios X e ressonâncias magnéticas durante a vigilância de doenças graves, como é o caso das relacionadas ao crânio (Kurtz, 2012).

Mais recentemente pesquisas estão sendo realizadas para modificação química do PEEK com ácido sulfúrico, com o objetivo de facilitar a sua trabalhabilidade e processamento. Esses estudos iniciaram para o uso em células a combustível que converte energia química em elétrica (Aguilar *et al.*, 2012). Contudo nos últimos anos, despertou o interesse para aplicação na área de biomateriais, como por exemplo os trabalhos de Zhao *et al.* (2013) voltados à aplicação do PEEK sulfonado para implantes ortopédicos. Kalambettu e Dharmalingam (2014) que estudaram a fabricação de membranas e nanofibras de PEEK sulfonado com incorporação de nano hidroxiapatita e, Montero *et al.* (2017) com as pesquisas voltadas a biofilmes.

Embora, o PEEK sulfonado já seja bastante conhecido para aplicações na área energética, em biomateriais ainda precisa de maior aprofundamento e estudo das possíveis aplicações (Zhao *et al.*, 2013). Outros limitantes são a falta de capacidade de aposição óssea direta, ou seja, dificuldade de fixação ao osso circundante (Kurtz e Devine, 2007) e, uma possível existência de ácido residual na sua estrutura após o processamento, o que o torna inviável para aplicações na área médica (Kalambettu e Dharmalingam, 2014).

O desenvolvimento dos estudos do PEEK sulfonado é de grande relevância na área de biomateriais no tocante às questões econômicas e científicas, pois os produtos desenvolvidos tendem a ter um custo mais acessível pelo processamento mais rápido e que não necessita de equipamentos de alto valor. Além da contribuição para o meio acadêmico, por ser um trabalho ainda pouco explorado. Outro fator relevante é a questão da facilidade na trabalhabilidade do material, pois com a modificação química estrutural na cadeia do polímero tornando-a mais porosa, pode permitir a possível incorporação de fármacos.

Este estudo, portanto, teve como objetivo desenvolver uma metodologia para fabricação de membranas de PEEK sulfonado com incorporação de hidroxiapatita, além da realização de um planejamento de experimento para verificação da influência das principais variáveis de processo na metodologia determinada. Analisando-se ainda as propriedades biológicas para aplicação como biomaterial.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tecido Ósseo

O tecido ósseo consiste em um órgão vascularizado cujas funções principais são a proteção dos órgãos internos, o suporte das forças dinâmicas geradas pela atividade fisiológica, o armazenamento de cálcio e fósforo e a hematopoiese (ou produção de células sanguíneas na medula óssea) (Amini *et al.*, 2012).

Assim, o osso é um tecido altamente diversificado, tanto estruturalmente como funcionalmente. Os mais de duzentos ossos do sistema esquelético humano podem variar em sua estrutura entre longos, curtos, planos e irregulares. Além disso, podem ter um arranjo compacto (osso cortical, com porosidade menor que 10 %) ou trabecular (osso esponjoso, com 50-90% de porosidade), variando em sua arquitetura entre nano, micro e macro estruturas e, conseqüentemente, diferentes propriedades mecânicas, conforme Figura 1 (Benetti, 2014; Gong *et al.*, 2015).

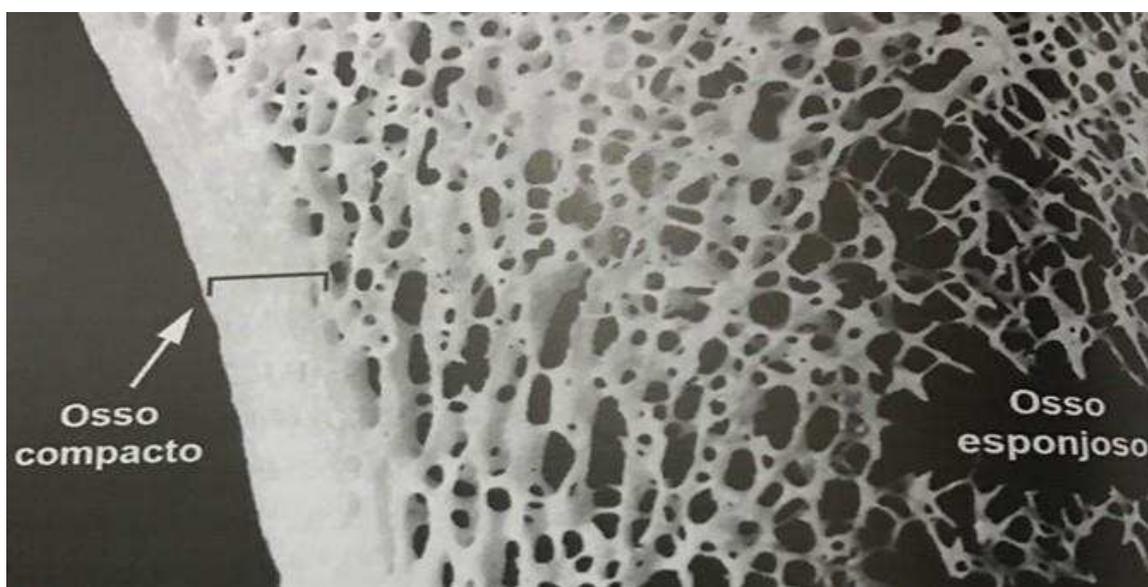


Figura 1 – Tipos de ossos (Junqueira e Carneiro, 2013).

O osso é um nanocompósito orgânico-inorgânico natural, composto por fibras de colágeno resistentes e flexíveis, reforçadas por nanocristais de uma fase apatítica semelhante à hidroxiapatita rica em carbonato. A sua fase orgânica representa aproximadamente 1/4 a 1/3 do peso seco total do osso, enquanto a fase inorgânica constitui-se em cerca de 2/3 a 3/4 do peso seco total do osso. A matriz extracelular

óssea é composta, principalmente, por colágeno tipo-1 e placas nanométricas de minerais apatíticos, conforme Figura 2 (Zhou e Lee, 2011; Xu *et al.*, 2014).

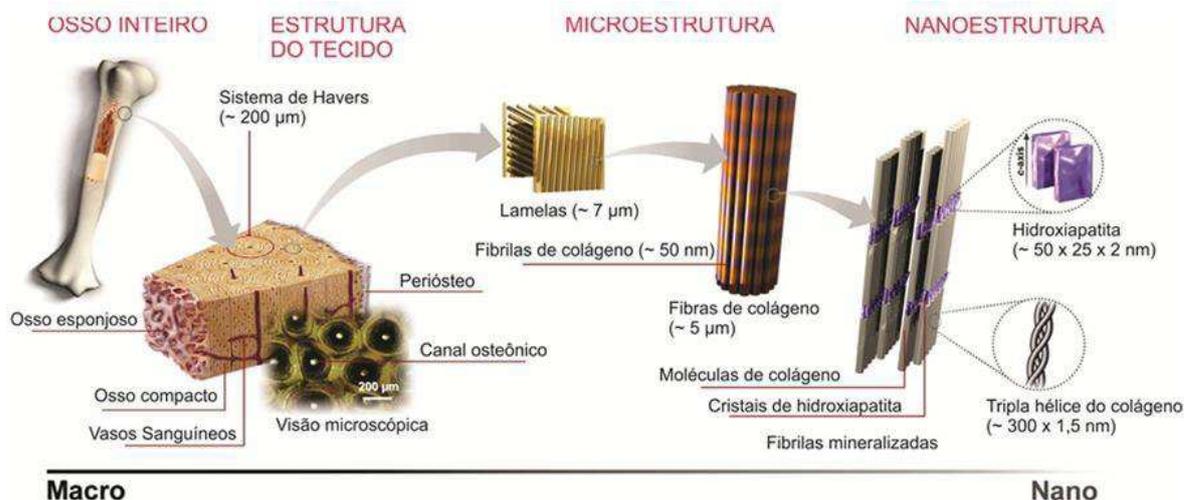


Figura 2 – Estrutura hierárquica de um osso típico (Sadat-Shojai *et al.*, 2013).

Apesar do seu aspeto aparentemente inerte, os ossos são estruturas altamente dinâmicas, crescem, remodelam-se e mantêm-se ativos durante toda a vida do organismo. Esta permanente reorganização do tecido ósseo é levada a cabo por diversas células ósseas, que assumem várias formas e funções e que, no seu conjunto, constituem a série osteoblástica e a série osteoclástica, responsáveis pela constante formação, reabsorção, reparação e manutenção da microarquitetura óssea (Judas *et al.*, 2012).

Microscopicamente é possível detectar quatro tipos de células imersas no material intracelular: osteoblastos, osteócitos, osteoclastos e células mesenquimatosas ósseas indiferenciadas. O osteoblasto é responsável pela elaboração de novo material intercelular na superfície do osso. O osteócito é um osteoblasto que foi envolvido pelo material intercelular. Está alojado numa cavidade denominada lacuna e se comunica com outros osteócitos e com a superfície óssea por meio de prolongamentos citoplasmáticos que atravessam longos canais. Estes se comunicam, por sua vez, com os canais de Havers, nome da estrutura anatômica, conforme Figura 3 (Valle, 2004).

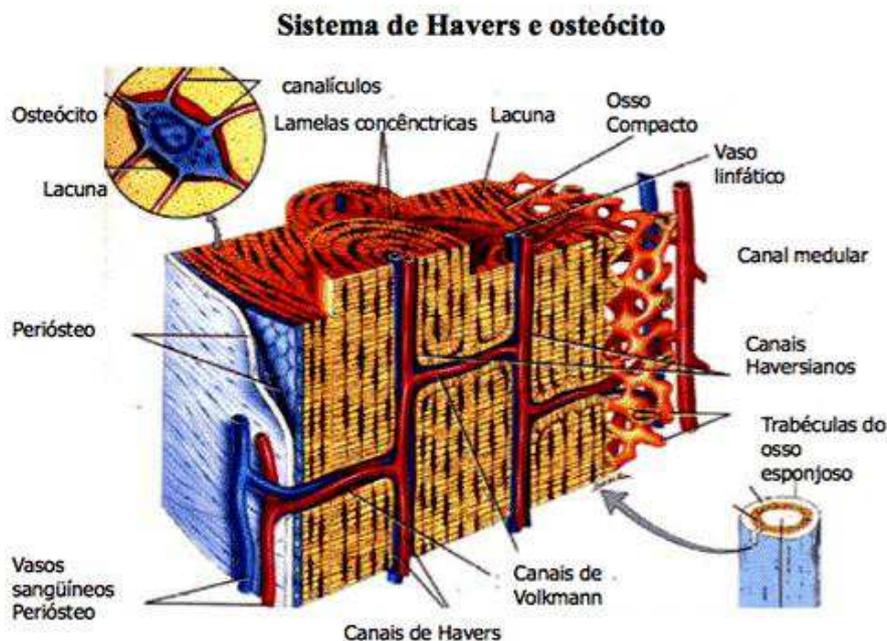


Figura 3 – Canais de Haves e de Wolkmann (Valle, 2004).

Nem todos os danos no sistema esquelético, sejam por acidente, patologia ou envelhecimento, podem ser reparados pelo próprio organismo, sendo necessária a intervenção especializada de tratamentos ou cirurgias. Em se tratando de cirurgias reconstrutoras do tecido ósseo, a reparação e a regeneração de grandes defeitos representam um desafio. Esse contexto têm direcionado os pesquisadores à investigação de substitutos para os enxertos ósseos com base nas novas abordagens apresentadas pela Engenharia de Tecidos (Xu *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015; Moreno *et al.*, 2016).

2.2 Engenharia de Tecido

O conceito de Engenharia de Tecidos teve início na década de 1980, a partir das investigações de Dr. Joseph Vacanti e Dr. Robert Langer, com o surgimento da ideia de projetar dispositivos tridimensionais específicos para o crescimento celular e a formação de tecidos, em substituição às células ou mistura de células semeadas em matrizes 3D de ocorrência natural (Hutmacher *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2014; Moreno *et al.*, 2016). A Engenharia de Tecidos é uma interface da medicina

tradicional de implantes e a revolução biológica. Esta revolução implica conhecimentos de vários níveis, visto que um tecido é uma estrutura complexa (Vacanti *et al.*, 2001; Williams, 2010).

Dessa forma, essa área visa a criação ou formação induzida de um tecido específico, numa localização específica, por meio da seleção e manipulação de células, biomateriais estruturados tridimensionalmente, e estímulos biológicos. Os tecidos vivos construídos, por sua vez, devem exibir histoquímica, propriedades químicas e biomecânicas semelhantes às do tecido que se pretende substituir (Lanza *et al.*, 2011; Raghavendra *et al.*, 2015).

A Engenharia de Tecidos pode trabalhar *in vivo* e *in vitro*, ambas as situações podem levar ao sucesso do implante, na reparação e regeneração de tecidos. A escolha deve ser feita com base no tipo de tecido e no tipo de implante. A introdução de células *in vivo* vai levar a uma reparação, aumento do tecido, substituição de células antigas e à preservação da função fisiológica *in situ*. Ou seja, as células são inseridas diretamente no organismo numa matriz com fatores de diferenciação que vão fazer com que as células se desenvolvam corretamente, ou ainda as células sejam inseridas já com diferenciação para se desenvolverem no local. Em relação ao processo *in vitro* o processamento é feito em arcabouços para que as células formem um tecido que será posteriormente implantado *in vivo* (Kamil *et al.*, 2007; Lanza *et al.*, 2011).

Neste contexto o campo da Engenharia de Tecidos surgiu para minimizar o problema da demanda insuficiente de doadores, através da produção de materiais de reposição (Williams, 2010). A seleção de um biomaterial desempenha um importante papel no design e desenvolvimento de materiais aplicados na Engenharia de Tecidos (Armentano *et al.*, 2010; Huang e Fu, 2010).

2.3 Biomateriais

O desenvolvimento dos biomateriais no século XX surge como resultado da necessidade de oferecer tratamentos alternativos a muitas pessoas com problemas clínicos graves relacionados a acidentes ocorridos nas grandes guerras mundiais, principalmente na segunda guerra mundial. A ciência relacionada a esses materiais ganhou notoriedade no Simpósio de Biomateriais da Universidade de Clemson no

final da década de 1960. O sucesso científico deste evento e as ideias inovadoras levaram à formação da “*Society of Biomaterials*” em 1975, o que refletiu no fortalecimento das Ciências de Biomateriais (Ratner *et al.*, 2004; Park e Lakes, 2007). Por isso, essa ciência é responsável por grande parte das inovações tecnológicas atuais nas áreas biomédicas e biotecnológicas para aplicações em saúde (Borelli, 2011).

Diante dessa evolução na obtenção de biomateriais cada vez mais inovadores com relação à aplicação, as definições relacionadas à ciência dos biomateriais foram sendo aprimoradas.

Na definição de Park (1979), “biomaterial é todo material que entra em contato com fluídos corporais, de modo contínuo ou intermitente, mesmo que esteja localizado fora do corpo”. No entanto, Williams (1987) cita que biomaterial seria “qualquer substância, ou combinação dessas, que não uma droga, de origem sintética ou natural, que possa ser usada por um tempo não determinado, completa ou como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo”.

Complementando, Fook (2005) diz que o desenvolvimento desses materiais partiu das aplicações clínicas, motivadas por traumas, cirurgias ou outro processo com o propósito de auxiliar ou restaurar funções do corpo humano. Portanto, pode-se enfatizar a interação entre materiais sintéticos e o meio biológico compreende o campo de estudo e aplicação da ciência dos biomateriais (Fook, 2005).

Desta forma, evidencia-se que a evolução dos procedimentos médicos e dos diferentes materiais propiciou a aplicação dos biomateriais nos componentes das próteses ou implantes, que em contato direto com o organismo, visa cumprir ou auxiliar na realização de determinadas funções (Adrião, 2011).

Quando se objetiva a sua aplicação, os biomateriais devem possuir algumas características, tais como biofuncionalidade, biocompatibilidade, além de serem bioativos ou bioinertes (Martín, 2005; Meyers *et al.*, 2009). A biofuncionalidade é o conjunto de propriedades que permite ao material desempenhar a função desejada, já a biocompatibilidade descreve a resposta do sistema vivo ao material introduzido no corpo (Thomazini, 2009). O conceito de bioatividade está relacionado com a interação entre o implante e o tecido ósseo. No geral, tecidos naturais, provocam reações que favoreçam o desenvolvimento de processos como: fixação de implantes,

regeneração de tecidos ou biodegradação do material. Quando essa interação não acontece, o biomaterial é dito bioinerte (Pereira *et al.*, 1999; Rego, 2012).

Além disso, identificar a composição, porosidade, densidade, nível de entrelaçamento dos cristais, formato e tamanho das partículas dos biomateriais é de extrema importância, uma vez que estas características afetam a capacidade de dissolução desses biomateriais e sua atividade nos tecidos (Da Costa *et al.*, 2003; Rosengren *et al.*, 2003; Amini *et al.*, 2012).

Os biomateriais podem ser produzidos em diversos formatos e isto irá direcionar a sua aplicação *in vivo*. Este fator influi sobre a resposta tecidual ao biomaterial e, quando relacionado ao tamanho da partícula, torna-se crucial para o seu potencial osteogênico. O formato e o tamanho da partícula têm relação direta com a área de superfície disponível para reagir com células e fluido biológico (Oonishi *et al.*, 1999).

O formato de microesferas apresenta grande vantagem de aplicação, já que podem ser implantadas por meio de técnicas cirúrgicas minimamente invasivas. Além do que, ao serem implantadas *in vivo*, as microesferas favorecem a formação de um interstício que possibilita a difusão de micronutrientes e fatores de crescimento, migração, proliferação e diferenciação celular, além de angiogênese, como apresentado na Figura 4a (Barrias *et al.*, 2005). Entretanto, isto pode ocorrer em menor ou maior grau quando relacionado à distribuição de tamanho da partícula, ou seja, defeitos ósseos preenchidos com microesferas, com grande variação na distribuição de tamanho, terão menor área intersticial, já que as partículas menores ocuparão os intervalos entre as partículas maiores (Vogel *et al.*, 2001).

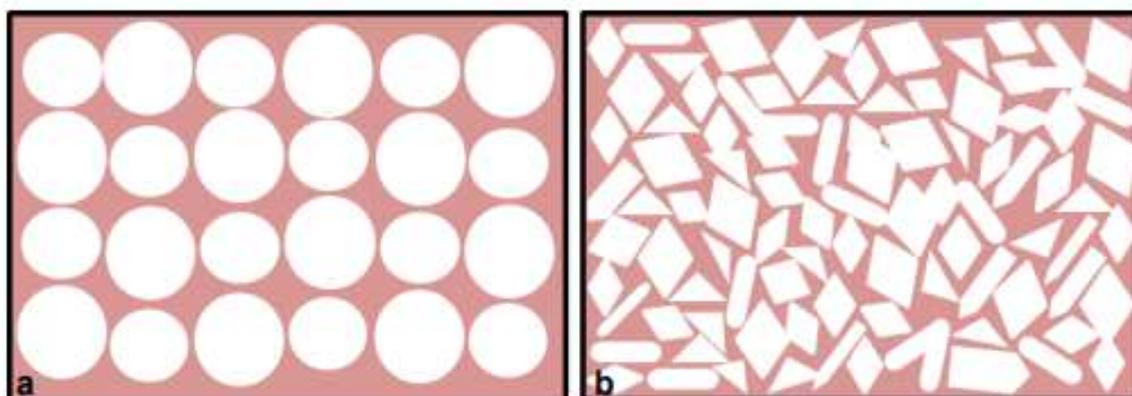


Figura 4 – Esquema da organização espacial de biomateriais com formato de (a) microesferas e (b) grânulos (Ribeiro, 2014).

Quando os biomateriais possuem formato de grânulos, a organização das partículas no local de implante é bem diferente, uma vez que elas irão se agrupar em um arranjo espacial semelhante a um mosaico e, assim, diminuir quase que por completo o interstício entre elas. A redução quase completa do interstício é fator determinante na resposta ao biomaterial, pois interfere na migração celular observada durante o reparo. Contudo, o arranjo dos grânulos aumenta a área de superfície do interstício, o que garante maior superfície para atividades celulares, como apresentado na Figura 4b (Vogel *et al.*, 2001; Barrias *et al.*, 2005).

Em relação ao tamanho da partícula, as considerações são semelhantes àquelas descritas para as microesferas. A grande variação de tamanho entre as partículas faz com que os grânulos menores ocupem os espaços entre as partículas maiores. Isto reduz o interstício e o potencial regenerativo, devido à obstrução do espaço necessário para a migração celular e formação vascular (Vogel *et al.*, 2001).

Quanto à natureza química, os biomateriais podem ser de natureza metálica, cerâmica, polimérica, ou se tratarem de compósitos, os quais devem possuir uma série de propriedades específicas (Black e Hastings, 2013).

2.3.1 Biomateriais Poliméricos

Os polímeros podem ser de origem natural ou sintética, o uso destes como biomateriais é devido às várias características que apresentam e que os tornam muitas vezes essenciais para desempenhar funções específicas no organismo, dentre suas características importantes, podemos destacar as propriedades físico-químicas, sua versatilidade estrutural (que permite adequá-los a cada aplicação específica), diversidade e a relativa simplicidade de obtenção (Bispo, 2009).

Alguns polímeros têm sido empregados como biomateriais devido às várias características que apresentam e que os tornam muitas vezes essenciais para desempenhar funções específicas. O diferencial dos biomateriais poliméricos em relação aos metálicos ou cerâmicos é a facilidade de fabricação e produção de formas variadas, facilidade de processamento e custo razoável (Peterson e Bronzino, 2007).

Dentre suas características destacam-se as propriedades físico-químicas, a biocompatibilidade, a estabilidade térmica em alguns casos, as propriedades

mecânicas e físicas adequadas para uso em meio biológico; sendo estas de grande importância para as aplicações médicas (Ratner *et al.*, 2004; Jalili *et al.*, 2009).

Dentre os biomateriais que apresentam essas características, destaca-se o poli-(éter-éter-cetona) (PEEK).

2.3.1.1 Polímero Poli-(éter-éter-cetona) (PEEK): propriedades e síntese

A classe dos polímeros de cetona ou policetonas, que o PEEK faz parte, foi originalmente desenvolvida no final de 1970 pela indústria aeroespacial nos Estados Unidos da América (EUA). Historicamente, a disponibilidade do PEEK chegou em um momento em que havia um interesse crescente no desenvolvimento de hastes e placas de fixação de fratura, com rigidez comparáveis ao osso. No final de 1990, o PEEK de elevado grau de pureza e implantabilidade conhecido como PEEK-OPTIMA® Invibio, foi comercializado e, posteriormente aceito pela indústria de dispositivos médicos como o principal candidato termoplástico de alto desempenho para substituir os componentes de implantes de metal, especialmente em ortopedia e traumatologia (Kurtz, 2012).

No final da década de 1990, os pesquisadores caracterizaram a biocompatibilidade e estabilidade *in vivo* de vários materiais Poli-(aril-éter-cetona) (PAEK), assim como de outros polímeros de engenharia de alto desempenho, tais como polissulfonas e tereftalato de polibutileno. O PEEK pertence à família maior desses polímeros PAEK, por vezes referidos como poli-(éter-cetonas) (PEKs) ou mais simplesmente como policetonas (Han *et al.*, 2010; Kurtz, 2012).

Os polímeros podem ser lineares ou ramificados. A tendência para ramificação em um homopolímero depende fortemente das suas condições de síntese. O PEEK é classificado como um homopolímero linear, possuindo em sua molécula uma cadeia de 100 unidades monoméricas com uma massa molar média de 80.000 e 120.000 g/mol. (Kurtz, 2012; Victrex, 2015; Isolaplast, 2016). Sua fórmula química é apresentada na Figura 5 (Mazur *et al.*, 2008).

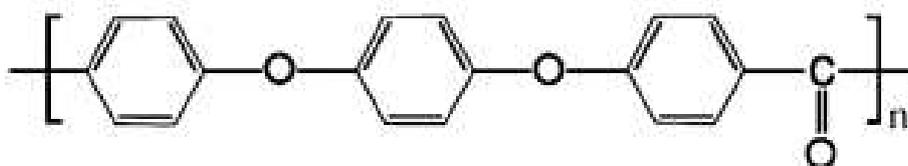


Figura 5 – Estrutura do Poli-(éter-éter-cetona) (Mazur *et al.*, 2008).

O PEEK é um polímero termoplástico semicristalino pertencente à classe dos polímeros de engenharia de alta performance. Apresenta elevada temperatura de transição vítrea ($T_g = 143\text{ °C}$) e de fusão ($T_m = 343\text{ °C}$) sendo conhecido na literatura desde a década de 80 (Lai *et al.*, 2007). O PEEK também apresenta a temperatura de recristalização ($T_c = 150\text{ °C}$), dependendo de como foi fabricado (Fan *et al.*, 2004; Victrex, 2015).

A molécula de PEEK é relativamente rígida devido à presença dos anéis aromáticos (benzeno) ao longo da cadeia (Figura 5). A cadeia molecular não é estática, mas vibra e gira devido à energia térmica ou em resposta a uma deformação aplicada externamente. Quando aquecida lentamente a partir do seu estado fundido, a cadeia molecular pode rodar sobre si mesma para formar dobras de cadeia e organizar-se em domínios ordenados, conhecidos como cristais. Estes por sua vez, são incorporados às regiões amorfas do PEEK formando duas fases na microestrutura. Assim, forma um polímero semicristalino com uma fase amorfa e outra cristalina apresentada na Figura 6 (Kurtz, 2012; Najeeb *et al.*, 2016; Phan *et al.*, 2016).

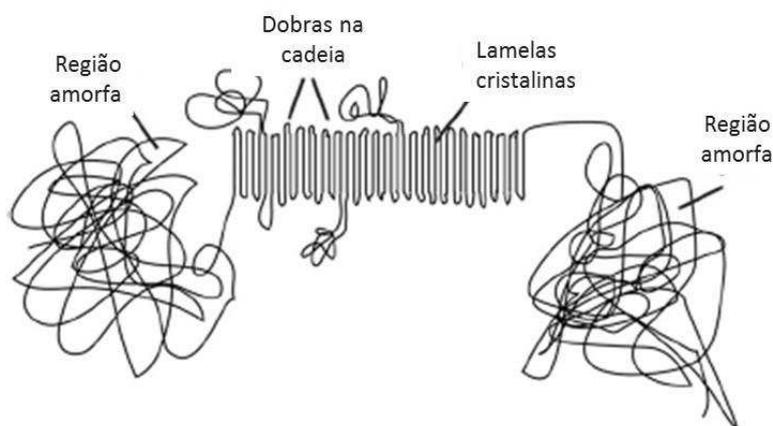


Figura 6 – Representação esquemática da microestrutura do PEEK (Kurtz, 2012).

A rigidez da cadeia provocada pela presença do anel aromático ocasiona uma alta temperatura de transição vítrea (T_g). A presença dos grupos cetona é evidenciado no PEEK e a flexibilidade e a capacidade de cristalização são fornecidas pela ligação do par de éter (-O-) (Lima, 2012; Kettermann, 2016).

O PEEK é produzido a partir da resina de poli(éter-éter-cetona) e destaca-se por sua alta cristalinidade e excelente resistência mecânica (Isoloplast, 2016). A cristalinidade é altamente afetada pela forma de processamento, sendo que peças moldadas por injeção para aplicação em implantes possuem valores típicos em volta de 30 a 35% de cristalinidade (Kurtz, 2012; Phan *et al.*, 2016).

Devido a essa alta resistência a produtos químicos e à hidrólise até 260 °C, assim como suas boas propriedades tribológicas e elétricas, este material é aplicado em quase todos os ramos da indústria. Na tecnologia médica ou na indústria alimentícia o PEEK é utilizado devido à possibilidade de repetidas esterilizações sem formar rasgos por tensões, e ainda, possui uma alta resistência a radiações de energia intensiva (Kurtz e Devine, 2007; Lima, 2012; Isoloplast, 2016).

Considerando-se que o ambiente térmico esperado no corpo humano é de 37 °C, tem-se que o comportamento elástico do PEEK se torna relativamente indiferente à temperatura (Kurtz e Devine, 2007). Na Tabela 1 são apresentadas as principais propriedades do PEEK.

Tabela 1 – Principais propriedades do PEEK.

Propriedades	Unidade	Valor
Densidade (ASTM D792)	Kg/m ³	1320
Modulo de Young (E)	GPa	3,7
Força de Tensão (σ_t)	MPa	90-100
Elongação da Ruptura	%	50
Resistência a Compressão	MPa	130
Temperatura de Transição Vítrea (T_g)	°C	143-160
Temperatura de Fusão (T_m)	°C	335-441
Condutividade Térmica (ASTM C177)	W/m.K	0,25
Absorção de água (ASTM D570)	%	0,50

Fonte: Kurtz (2012).

Na Tabela 2 são apresentadas algumas resistências químicas do PEEK.

Tabela 2 – Resistências químicas do PEEK.

Alta Resistência	Baixa Resistência
Água, Vapor d'água superaquecido – excelente resistência hidrólise; bases e soluções alcalinas	Ácido Trifluorometil Sulfônico
Álcoois	Ácido Sulfúrico > 40%
Ésteres	Ácido Nítrico > 50%
Óleos	Água Régia
Gorduras	MEK – Metil Etil Cetona à temperatura elevada.
Combustíveis	Ácido Bromídrico
Hidrocarbonetos e Halogenados	

Fonte: Victrex (2015).

A organização do PEEK se desenvolve a partir de cadeias que se alinham em uma forma de repetição simétrica, vistas através da célula unitária do cristal. Essas se dobram em forma de lamelas, que crescem em três dimensões. O número e tamanho das esferulitos dependem dos processos de nucleação e crescimento que afetam as propriedades físicas do material. Estudos demonstraram que a cristalização do material se dá em uma célula unitária ortorrômbica e está ligada às condições de processamento, especialmente às relacionadas às condições térmicas (Kasemo e Lausmaa, 1994; Kurtz, 2012; Rego, 2012). A célula unitária de PEEK é representada esquematicamente na Figura 7 (Kurtz, 2012).

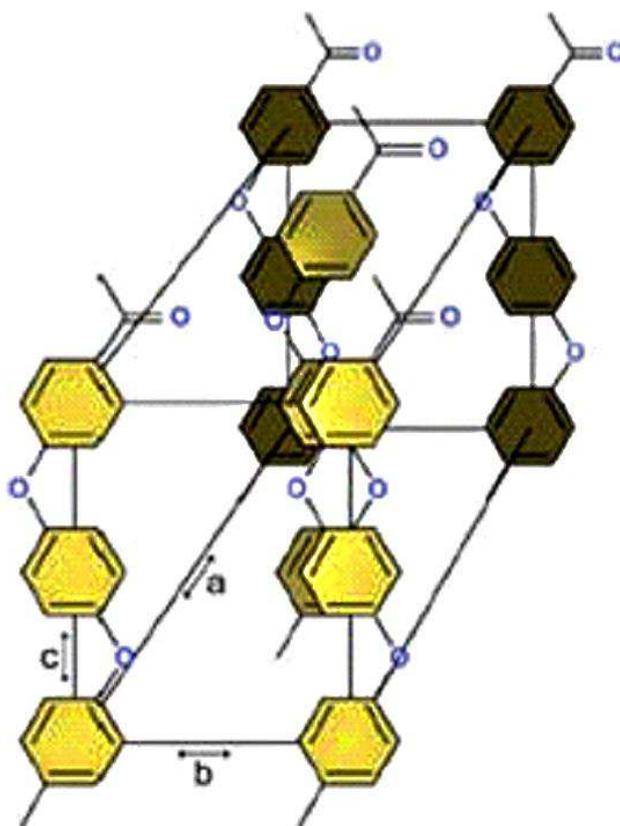


Figura 7 – Célula unitária do PEEK (Kurtz, 2012).

Outra importante característica é que o uso do PEEK causa menos interferência na qualidade das imagens obtidas por tomografia computadorizada e ressonância magnética em comparação com titânio, além de permitir a visualização de fusão óssea de qualquer articulação do corpo (Kersten *et al.*, 2015; Mohan *et al.*, 2016). Esse efeito radiolúcido pode ser visualizado na Figura 8, que apresenta um exemplo de uma haste com PEEK para implante na região lombar, em que na Figura 8A é apresentado o diagrama esquemático da haste aplicada na coluna, na Figura 8B é apresentada apenas a haste com PEEK na região central e metálica nas extremidades e na Figura 8C um raio X demonstrando o efeito radiolúcido das hastes de PEEK (não visíveis) e visíveis apenas as partes metálicas (Kurtz, 2012).

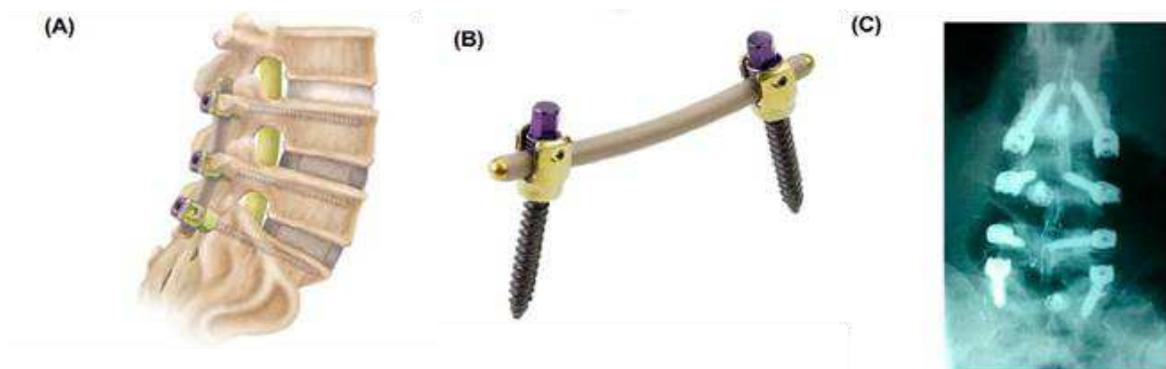


Figura 8 – Representação do efeito radiolúcido do PEEK; (A) Esquema da haste implantada; (B) Haste de PEEK e metal; (C) Raios X da haste (Kurtz, 2012).

A inércia e a insolubilidade são propriedades desejáveis para um biomaterial, contudo esses atributos restringem sua síntese e fabricação (Jones *et al.*, 1985; Kettermann, 2016).

Muitas informações sobre a síntese e processamento de PEEK ainda são propriedades intelectuais dos fornecedores, pelo fato de o material ter sua descoberta considerada recente.

A polimerização do PEEK é um processo complexo e desafiador, devido à insolubilidade em solventes típicos. Além disso, devido às altas temperaturas são necessárias instalações com rigorosos procedimentos de segurança. As reações são tipicamente realizadas em lotes, em oposição a um processo contínuo. Dessa forma, com todos esses requisitos a serem seguidos, o processo de produção se torna altamente custoso quando comparado com outros termoplásticos (Mark *et al.*, 1989; Kurtz, 2012).

O PEEK é obtido através de uma reação de deslocamento nucleofílica, sendo um dos pontos primordiais a escolha do solvente da síntese devido à fraca solubilidade deste. Os solventes devem ser termicamente estáveis e inertes ao fenóxido, sendo os mais utilizados benzofenona e difenilsulfona (Albuquerque, 2001; Lu *et al.*, 2009; Kurtz, 2012).

Sua síntese ocorre pela policondensação de dialquilação de sais bifenólicos. Um exemplo típico é a reação de 4,4' - difluorobenzofenona com o sal dipotássico de hidroquinona, que é gerado *in situ* por desprotonação com carbonato de sódio. A reação é conduzida a cerca de 300 °C em solventes polares apróticos, tais como sulfona – difenil. Essa reação pode ser verificada na Figura 9 (Lu *et al.*, 2009).

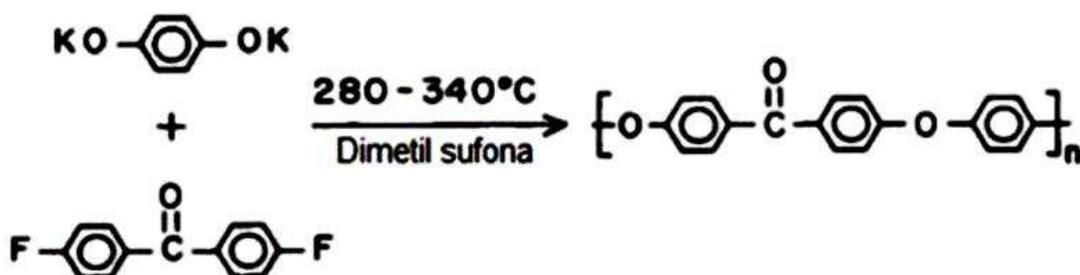


Figura 9 – Reação de síntese para obtenção do PEEK (Lu *et al.*, 2009).

2.3.2 Biomateriais Cerâmicos

Os biomateriais cerâmicos podem ser classificados de acordo com a sua interação com o tecido hospedeiro como bioinertes, bioativas e bioreabsorvíveis. As bioinertes, como a alumina e a zircônia, mantêm suas propriedades físicas e mecânicas enquanto implantadas, são bem toleradas pelo organismo e não provocam resposta dos tecidos. As cerâmicas bioativas interagem com o tecido circundante, estimulam a cura e o sistema tissular a responder ao material como se este fosse um tecido natural. Como exemplos desta classe, destacam-se a hidroxiapatita, os biovidros e as vitrocerâmicas. Os materiais bioreabsorvíveis participam do processo metabólico do organismo e apresentam a característica de sofrerem degradação por ações químicas ou biológicas, sendo lentamente substituídos por células em crescimento. São também estáveis a longo prazo e minimizam a possibilidade de liberação do implante. O fosfato tricálcico e o gesso estão incluídos nesta classe de cerâmicas (Kawachi *et al.*, 2000; Carter e Norton, 2007; Ratner *et al.*, 2013).

Os biomateriais cerâmicos de fosfato de cálcio têm sido bastante utilizados devido a sua semelhança estrutural, química e física com a matriz mineral óssea, não

induzindo reação imunológica ou tóxica (Dalapicula *et al.*, 2006; Arcos e Vallet-Regí, 2013). Esses materiais satisfazem necessidades tão diversas como: baixos coeficientes de atrito para a lubrificação de próteses articulares, superfícies de válvulas de coração que evitam coagulação do sangue, materiais que estimulem o crescimento ósseo e aqueles que podem prender espécies radioativas para tratamentos terapêuticos. Estes materiais podem ser encontrados na forma de microesferas, camadas ou coberturas finas em implantes metálicos, estruturas porosas, e também em compostos com componentes poliméricos (chamados de compósitos) (Azevedo *et al.*, 2007).

Os compostos de fosfato de cálcio, dentre elas a hidroxiapatita (HA), estão sendo pesquisados e cada vez mais utilizados em procedimentos para reconstrução e recomposição tecidual, devido às suas características e propriedades.

2.3.2.1 Hidroxiapatita (HA)

Apatita é um nome geral para compostos com estrutura pertencente basicamente ao grupo espacial hexagonal $P6_3/m$ e com composição química geral $M_{10}(ZO_4)_6X_2$, onde M representa cátions de valência de 1 - 3, Z equivale a ânions de valência 3 - 7 e X equivale a ânions de valência 0 - 3 (Kanazawa, 1989).

Tabela 3 – Elementos químicos possíveis para as valências das apatitas.

Elementos químicos	
M	Ca, Pb, Cd, Sr, Ni, Al, Y, La, Ce, Na, K
Z	P, As, V, Cr, Si, C, Al, S, Re
X	OH, F, Cl, Br, I, O, N, CO ₃ , H ₂ O, vacâncias

Fonte: Kanazawa (1989).

Na hidroxiapatita, M, ZO_4 e X são Ca^{2+} , PO_4^{3-} e OH^- , respectivamente. A apatita biológica consiste em uma hidroxiapatita não estequiométrica deficiente em cálcio contendo íons de substituição que incluem cátions (como Mg^{2+} , Na^+ e K^+) e ânions (como CO_3^{2-} , Cl^- e F^-). A substituição mais comum é o carbonato (CO_3^{2-}), nos grupos OH^- e PO_4^{3-} . A hidroxiapatita sintética apresenta a fórmula química $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, muito semelhante com a componente mineral dos ossos e dentes naturais (Gittings *et al.*, 2009; Okada e Furuzono, 2012).

A razão molar entre os átomos de cálcio e fósforo (Ca/P) varia entre 0,5 e 2,0 e é usualmente utilizada como forma de classificação dos diferentes fosfatos de cálcio. Compostos com maior razão Ca/P apresentam menor solubilidade em condições neutras e reduzida taxa de degradação (Best *et al.*, 2008; Guastaldi e Aparecida, 2010).

A célula unitária da HA, representada na Figura 10, pertence ao sistema hexagonal. A estrutura cristalina consiste numa rede de dimensões nanométricas de íons hidroxila (OH^-) localizados no centro de triângulos de Ca^{2+} junto ao eixo c da célula unitária hexagonal, encontrando-se os íons OH^- alinhados em colunas paralelas ao eixo c, juntamente com os íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} (Mavropoulos, 1999; Gittings *et al.*, 2009).

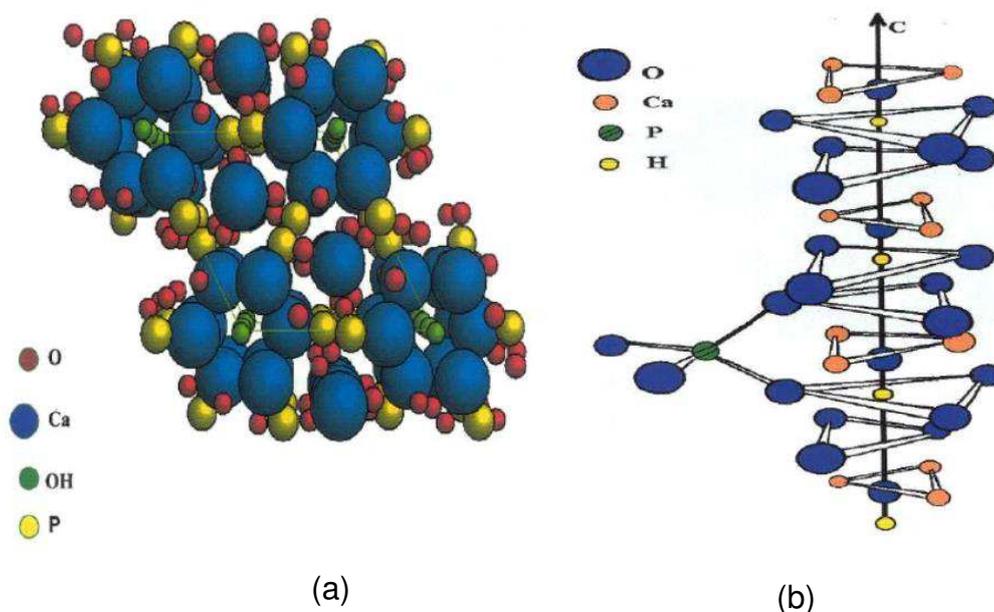


Figura 10 – (a) Estrutura da hidroxiapatita – célula unitária; (b) Estrutura da hidroxiapatita ao longo do eixo c (Mavropoulos, 1999).

A hidroxiapatita (HA) é uma cerâmica geralmente produzida por reações, que ocorrem em altas temperaturas, e é uma forma de fosfato de cálcio cristalina (Hak, 2007).

As biocerâmicas de fosfato de cálcio têm elevado potencial para aplicações como biomaterial devido à similaridade química e estrutural com a apatita biológica, que está presente em grandes proporções na fase mineral de ossos e dentes. Estes materiais apresentam excelente biocompatibilidade e comportamento bioativo, possibilitando elevados níveis de osseointegração e osteocondução (Kawachi *et al.*,

2000; Gittings *et al.*, 2009; Dorozhkin, 2010). Essa osteocondução é a capacidade da HA para adsorver fatores de crescimento osteogênico e criar condições adequadas ao local, permitindo a fixação e proliferação de vários tipos de células, bem como a formação de novo osso à sua superfície, promovendo a adesão da matriz (Zhang *et al.*, 2009).

Tais características são explicadas pela natureza química destes materiais que, por serem formados basicamente por íons cálcio e fosfato, participam ativamente do equilíbrio iônico com o fluido biológico (Kawachi *et al.*, 2000; Hench e Polak, 2002).

A forma de degradação da HA é mais uma de suas vantagens. Quando implantada em sistemas *in vivo*, a atividade celular provoca a dissolução parcial da HA, havendo liberação dos íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} e aumento da saturação nos fluidos biológicos, que conduz à precipitação de apatitas carbonatadas. Estas, por sua vez, localizadas na superfície do implante, facilitam a adesão de proteínas e contribuem para a adesão, proliferação e diferenciação de células osteogênicas. Assim, o tecido ósseo recém formado é capaz de ligar-se ao material implantado (Borges *et al.*, 2000; Vaccaro *et al.*, 2003; Pedrosa, 2011).

Os fosfatos de cálcio têm sido amplamente estudados e empregados em aplicações abrangendo todo o sistema esquelético, como reconstruções crânio-maxilo-facial e tratamento de defeitos ósseos (Dorozhkin, 2010). As cerâmicas porosas de fosfatos de cálcio podem, inclusive, atuar como suportes úteis na liberação de diferentes compostos nelas incorporados, como hormônios, vacinas, antibióticos e agentes com atividade anticâncer, incluindo compostos radioativos e cisplatina (Paul e Sharma, 2001; Kim *et al.*, 2005; Lacerda *et al.*, 2009; Sahdev *et al.*, 2013).

As principais limitações do uso dos fosfatos de cálcio advêm do fato dos mesmos serem muito quebradiços e apresentarem baixa resistência à fadiga. Com isto, recobrimentos densos ou porosos destas cerâmicas são frequentemente aplicados em implantes metálicos de sustentação para permitir a fixação biológica ou osseointegração (Dorozhkin, 2010).

A hidroxiapatita, como biomaterial, apresenta como vantagens a rápida adaptação óssea, não formação de tecido fibroso, reduzido tempo de cicatrização e íntima adesão implante/tecido. A limitação deste composto está relacionada à sua

lenta biodegradação, que ocorre por mecanismos celulares gradualmente após 4 a 5 anos de implantação. Este comportamento pode ser atribuído à razão molar Ca/P de 1,67, que torna a HA praticamente insolúvel em meios neutros. Possui ainda a desvantagem de baixa resistência mecânica em comparação com o osso normal e o fato de não apresentar microporosidade, o que dificulta o crescimento celular em seu interior (Aparecida *et al.*, 2007; Guastaldi e Aparecida, 2010).

Diversas características tornam os cimentos de fosfatos de cálcio atrativos para utilização como enxertos e substitutos ósseos, tais como a facilidade de manipulação e atoxicidade; a possibilidade de serem injetados, o que torna os processos cirúrgicos menos invasivos; a capacidade de apresentar solidificação *in situ*, sem geração de calor apreciável e o bom ajuste ao local do implante, mesmo em defeitos geometricamente complexos, garantindo maior contato do tecido com o biomaterial. Além disso, há a possibilidade de incorporação nestes materiais de fatores de crescimento para estimular reações biológicas específicas e de fármacos para a liberação controlada em locais pré-determinados do sistema esquelético (Ginebra *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2014).

2.3.3 Biomateriais Compósitos

Biomateriais compósitos podem ser definidos como materiais formados por dois ou mais componentes com distintas composições, estruturas e propriedades, e que estão separadas por uma interface ativa que permite a transferência de esforços mecânicos com desempenho satisfatório. O objetivo principal em se produzir compósitos é de combinar diferentes materiais para produzir um único dispositivo com propriedades superiores às dos componentes unitários (Jones, 1998; Lambert *et al.*, 2006; Callister Jr, 2008).

Os principais fatores que afetam as propriedades dos compósitos são as características dos materiais constituintes, o percentual, distribuição e orientação das fibras ou partículas na matriz e as interações interfaciais. A formação dos biomateriais compósitos pode se dar de diversas formas, sendo que as principais associações são do tipo polímero-cerâmica e metal-cerâmica (Wang, 2003).

Compósitos de matriz polimérica exibem simultaneamente baixo módulo de elasticidade e elevada resistência mecânica, sendo adequados para a utilização em

diferentes aplicações ortopédicas. Outras razões para o desenvolvimento de compósitos poliméricos incluem ausência de corrosão e liberação de íons observados em biomateriais metálicos (Ramakrishna *et al.*, 2001).

Diversas pesquisas têm sido conduzidas no sentido de combinar a resistência mecânica dos materiais bioinertes com a bioatividade dos materiais bioativos, onde uma das possibilidades consiste na preparação de materiais compósitos, nos quais o material bioativo está homogeneamente disperso em uma matriz resistente do material bioinerte, buscando sanar as dificuldades na obtenção de uma adequada união interfacial entre o componente bioativo e a matriz inerte, evitando a concentração de defeitos na interface que conduziria à falha do material (Bertran, 2000).

Em implantes metálicos ortopédicos e odontológicos, fosfatos de cálcio, principalmente a hidroxiapatita, têm sido utilizados como recobrimentos visando à obtenção de um microambiente condutivo para a formação e o crescimento ósseo na superfície do implante e, também, a fim de promover sua estabilização (Almeida Filho *et al.*, 2007; Guastaldi e Aparecida, 2010).

Em biomateriais poliméricos para implante ósseo, a adição de partículas de biovidro, hidroxiapatita e outros fosfatos de cálcio tem o intuito de aumentar a biocompatibilidade e o módulo elástico da matriz. Com isto, as propriedades mecânicas do compósito tornam-se mais próximas às do osso, contribuindo para a redução do fenômeno *stress-shielding* (Hench, 1998; Katti, 2004).

2.3.3.1 Membranas de SPEEK com incorporação de HA para biomateriais

O PEEK está sendo utilizado há mais de 25 anos na indústria aeroespacial por fabricantes renomados, como a Airbus. Esse material é utilizado em portas e tubos que protegem cabos de alta tensão. Também se utiliza como matéria-prima para suportes hidráulicos, caixa central e tanques de combustível, podendo reduzir o peso em 40%. Ele pode ser utilizado nessa aplicação por causa das seguintes propriedades: resistência ao desgaste, rigidez, baixo coeficiente de atrito (Isolaplast, 2016; Kettermann, 2016).

Outra aplicação de grande impacto é na fabricação de um duto de admissão de combustível, a qual alia redução de tamanho do motor e por suportar altas

temperaturas de trabalho (até 240°C). Isso é possível devido à sua ótima resistência química para combustíveis e desempenho mecânico confiável (Kettermann, 2016).

O PEEK modificado quimicamente com ácido sulfúrico está sendo utilizado para fabricação de células a combustível com membrana trocadora de prótons, que converte energia química em elétrica gerando apenas água e calor como subprodutos quando o combustível utilizado é o hidrogênio. Esta é considerada uma das tecnologias de energia limpa mais promissoras e uma fonte adequada de alimentação para aplicações estacionárias e para transporte. A introdução de grupos sulfônicos no PEEK, também aumenta a solubilidade deste polímero em solventes orgânicos, facilitando o seu processamento. Suas maiores vantagens nesta aplicação incluem: eficiência acima de 64%, alta densidade de energia e habilidade de operar com combustíveis “limpos” (Conceição, 2008; Aguiar *et al.*, 2012).

Diante desta facilidade de processamento do PEEK com a solubilização em ácido sulfúrico, foi que se iniciaram os estudos não só para área de combustíveis, mas também para de biomateriais. Zhao *et al.* (2013) foram pioneiros no estudo e avaliação de diferentes metodologias de obtenção de membranas de PEEK sulfonado (SPEEK) para biomateriais, mais especificamente para implantes ortopédicos. Em seus estudos foram observadas formação de apatita nas superfícies das membranas de SPEEK, facilidade de adesão celular e funções pré-osteoblasto, muito influenciada pela estrutura porosa observada e grupos funcionais SO_3H . Contudo um dos limitantes para o uso da membrana em biomateriais foi o ácido residual observado em algumas amostras de SPEEK.

Paralelamente Sundar e Sangeetha (2012) corroboraram os resultados anteriores, demonstrando ainda a bioatividade das amostras de SPEEK quando imersas em *Simulated Body Fluid* (SBF), além da biocompatibilidade e segurança. Estes sugeriram que as membranas de SPEEK poderiam potencialmente ser utilizadas como transporte para fármacos.

Outros estudos têm encontrado excelentes resultados. Kalambettu e Dharmalingam (2014) avaliaram a fabricação de membranas e nanofibras de SPEEK com incorporação de nano hidroxapatita. Em seus resultados foram observados aumento na cristalinidade, na bioatividade e na tração com o aumento na concentração de nano hidroxapatita; contudo as propriedades mecânicas das membranas foram superiores quando comparadas com as nanofibras. Além disso,

sugeriram para provável uso em enxerto ósseo não degradável para preenchimento de grandes defeitos.

Montero *et al.* (2017) estudaram o comportamento de biofilmes de SPEEK com diferentes graus de sulfonação. Os resultados demonstraram que para graus de sulfonação maior ocorreu redução no crescimento de biofilme *Streptococcus mutans* e *Enterococcus faecalis*. Isso revelou uma alternativa para incorporar anti-biofilme e compostos terapêuticos em SPEEK evitando infecções em aplicações biomédicas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local da Pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTIBIO) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

3.2 Materiais

- Poli-(éter-éter-cetona) (PEEK) da empresa *Victrix Technology Centre*, grade 702, forma em pó, lote VPC0164, data de manufatura 03/08/2014, registro *Food and Drug Administration* (FDA) 21 C.F.R. 177.2415, massa molar média (teórico): 100.000 g/mol (Victrix, 2015). Os principais parâmetros da especificação técnica do PEEK estão na Tabela 4.

Tabela 4 – Principais propriedades do PEEK Vicote 702.

Propriedades do PEEK Vicote 702	Unidade	Método	Valor
Tamanho de partículas	μ	Não indica	10-50
Densidade	g/cm ³	ISO 1183	1,32
Temperatura de fusão	°C	DSC	343
Temperatura de transição vítrea	°C	DSC	143
Temperatura de processamento	°C	-	380-400
CUT (uso contínuo de temperatura)	°C	UL746B	260
Viscosidade a 400 °C	Pa.s	ISO11443	130

Fonte: Victrix (2015).

- Ácido Sulfúrico P.A. 98% (H₂SO₄) fabricado pela Vetec Química Fina, lote S26-30-45.

- Reagente analítico hidroxiapatita (HA) - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - fabricado pela Synth, data de fabricação 02/03/2016 e validade 02/03/2019, tamanho médio de partícula 89 μm .

Todos os materiais foram fornecidos pelo Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais – CERTBIO da UFCG (Universidade Federal de Campina Grande/PB – UAEMa (Unidade Acadêmica de Engenharia e Materiais).

3.3 Metodologia

3.3.1 Fase Exploratória

A fase exploratória desta pesquisa teve o intuito de traçar etapas para o estudo e elaboração da metodologia de obtenção da membrana de PEEK sulfonado e posteriormente a análise da melhor forma de adição da hidroxiapatita, além da avaliação biológica. As etapas de análise desta fase estão descritas na Figura 11.

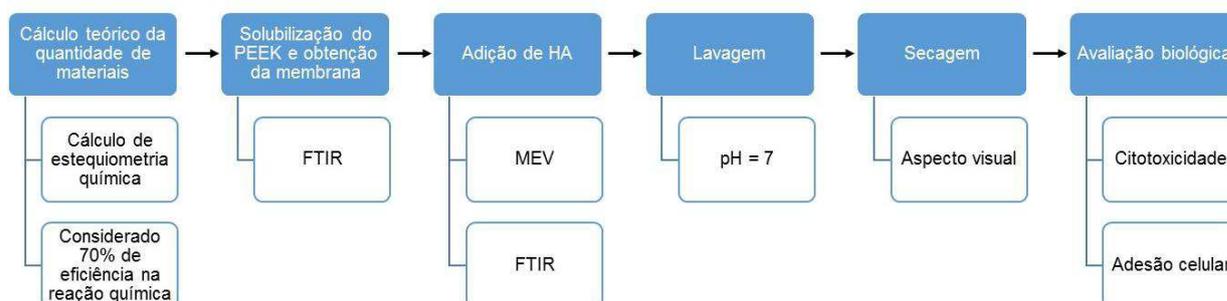


Figura 11 – Fluxograma da etapa exploratória.

3.3.1.1 Cálculo Teórico da Quantidade de Materiais

Com o intuito de racionalizar o uso dos materiais da pesquisa, realizou-se o cálculo estequiométrico, baseado na reação química de sulfonação do PEEK (Figura 12) e nos grupos ativos, da quantidade necessária de ácido sulfúrico para reagir com

2 g do polímero. E a seguir, a quantidade de hidroxiapatita necessária para reagir com a quantidade de grupos ativos do PEEK sulfonado (SPEEK).

Esse cálculo além de possibilitar o uso racional dos insumos, possibilitou a redução de custos na pesquisa. Podendo viabilizar a fabricação de um produto com custo mais competitivo e, conseqüentemente, facilitando a comercialização pelo SUS.

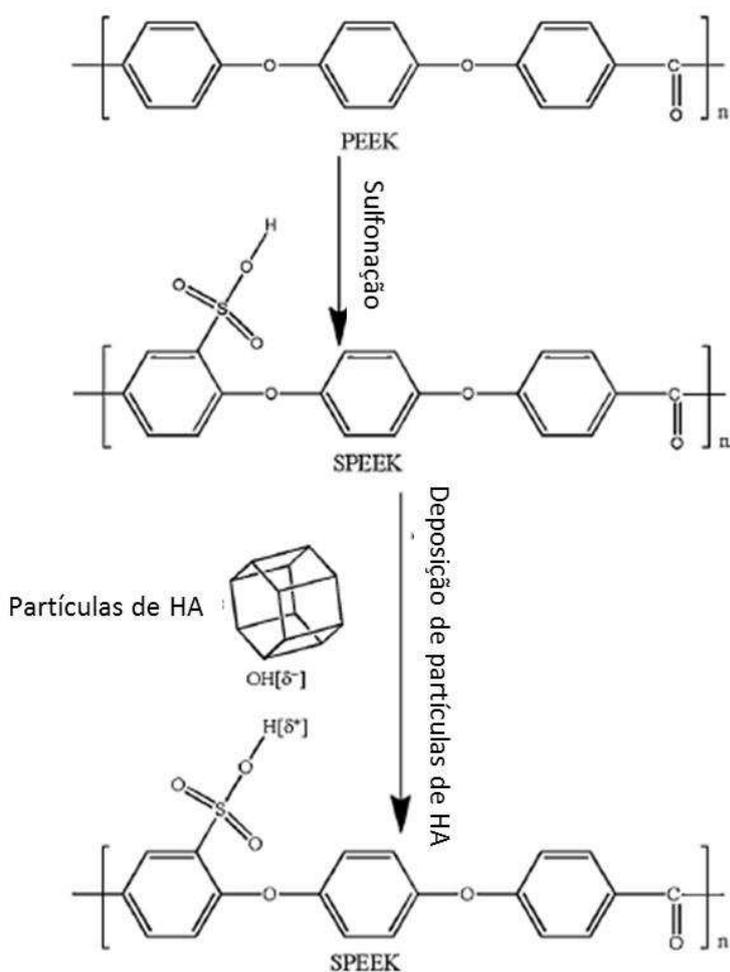


Figura 12 – Reação de sulfonação do PEEK e deposição da Hidroxiapatita (Almasi *et al.*, 2014).

Considerou-se uma eficiência de reação de aproximadamente 70%, tanto para sulfonação quanto para deposição de hidroxiapatita, visto que foi realizado em escala amostral em laboratório. Chegou-se as seguintes quantidades a serem utilizadas nos experimentos, conforme é observado na Tabela 5. Os cálculos estão no apêndice deste trabalho.

Tabela 5 – Quantidades dos materiais da pesquisa.

Material	Unidade	Quantidades de materiais
PEEK	g	2,0
Ácido Sulfúrico P.A. 98%	mL	50,0
Hidroxiapatita	g	0,6

3.3.1.2 Metodologias

3.3.1.2.1 Solubilização do PEEK e obtenção da membrana

3.3.1.2.1.1 Primeiro teste: momento de adição do PEEK ao ácido sulfúrico

1. Adição do PEEK antes da agitação
 - a. Em uma proveta mediu-se 50 mL de ácido sulfúrico P.A. 98% e foi colocado em um Becker;
 - b. A seguir, adicionou-se 2 g de PEEK com o auxílio de um bastão de vidro antes da agitação;
 - c. A seguir a solução foi colocada sob agitação mecânica de 50 rpm a uma temperatura aproximada de 50 °C;
 - d. Após 3 h de reação, a solução de SPEEK foi vertida em placa de petri de 200 mL e acondicionada à temperatura ambiente por cerca de 15 min.
2. Adição do PEEK durante da agitação
 - e. Em uma proveta mediu-se 50 mL de ácido sulfúrico P.A. 98% e foi colocado em um Becker;
 - f. A seguir o ácido foi colocado sob agitação mecânica de 50 rpm a uma temperatura aproximada de 50 °C;
 - g. Adicionou-se 2 g de PEEK com o auxílio de um bastão de vidro;
 - h. Após 3 h de reação, a solução de SPEEK foi vertida em placa de petri de 200 mL e acondicionada à temperatura ambiente por cerca de 15 min.

3.3.1.2.1.2 Segundo teste: metodologia de formação da membrana

Após definido o método de adição do PEEK, foi realizado o teste para formação da membrana a partir da seguinte etapa: placa com solução de SPEEK à temperatura ambiente por 15 min. Foram testados dois métodos:

3. Uso de água destilada gelada
 - a. Submersão da solução de SPEEK em água destilada gelada;
 - b. Formação imediata de uma membrana denominada de “aquosa”.
4. Uso da liofilização
 - a. A placa de petri com a solução de SPEEK foi ao ultrafreezer a -80°C para congelamento da solução por 4 dias;
 - b. Após este processo, a solução congelada foi ao liofilizador por 24 h;
 - c. Após saída do liofilizador, a solução ficou em temperatura ambiente por 24 h;
 - d. Decantação do material e formação da membrana liofilizada;
 - e. Retirada do líquido sobrenadante e lavagem com água destilada.

As etapas de definição da metodologia de solubilização do PEEK e obtenção da membrana estão descritas, respectivamente, nas Figuras 13 e 14.

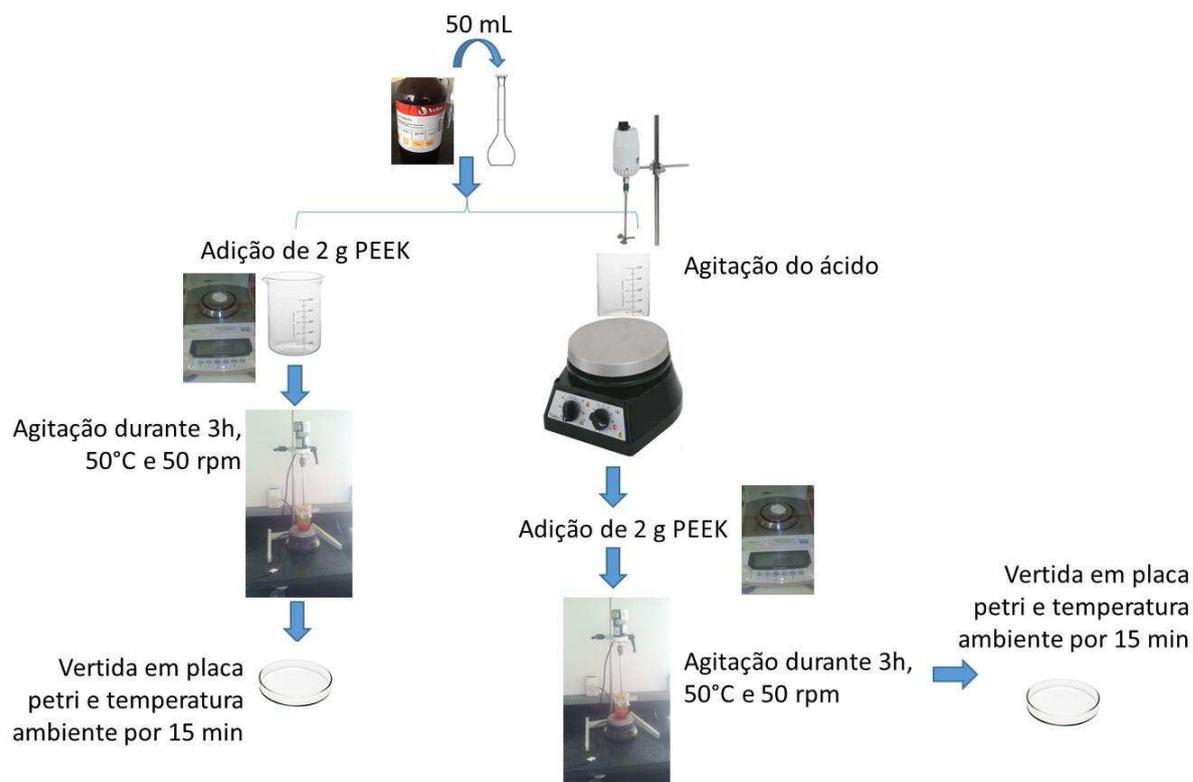


Figura 13 – Etapas de solubilização do PEEK (momento de adição do PEEK) – Etapa 1.



Figura 14 – Etapas para obtenção da membrana – Etapa 2.

3.3.1.2.2 Adição da Hidroxiapatita (HA)

Visando melhorar as propriedades de bioatividade da membrana de SPEEK para uso em biomateriais, foi realizada a adição de hidroxiapatita (HA). Após a formação da membrana de SPEEK, foram realizados os seguintes testes de adição:

5. Adição da hidroxiapatita após agitação da solução de solubilização
 - a. Preparada 100 mL de uma solução aquosa em 1% HA;
 - b. Após agitação de 3 h da solução de SPEEK foi vertida em placa de petri;
 - c. Adicionada a solução de HA e água, com a solução de SPEEK sem agitar;
 - d. Formação da membrana do tipo aquosa;
 - e. A amostra ficou submersa durante 24 h e a seguir lavada até neutralizar;
 - f. Seca em estufa a 50°C por 3 h.
- ✓ Foi utilizada solução de HA e água para adição, pois como não estava sob agitação, poderia haver acúmulo de partículas de HA na formação da membrana.
- ✓ Utilizou-se a quantidade de 1 g de HA e não 0,6 g calculados, pois esta seria diluída em água e poderia haver alguma perda.
6. Adição da hidroxiapatita durante a agitação de solubilização
 - a. Pesado 1 g de HA;
 - b. Após o tempo de 3 h de agitação da solução de SPEEK, foi adicionada a HA, com a solução de SPEEK ainda em agitação;
 - c. Deixou-se agitar por mais 30 min;
 - d. Verteu-se a solução na placa de petri e imergiu em água destilada gelada;
 - e. Formação da membrana do tipo aquosa;
 - f. A amostra ficou submersa durante 24 h e a seguir lavada até neutralizar;
 - g. Seca em estufa a 50°C por 3 h.

As etapas de definição da metodologia de adição da hidroxiapatita estão apresentadas na Figura 15.

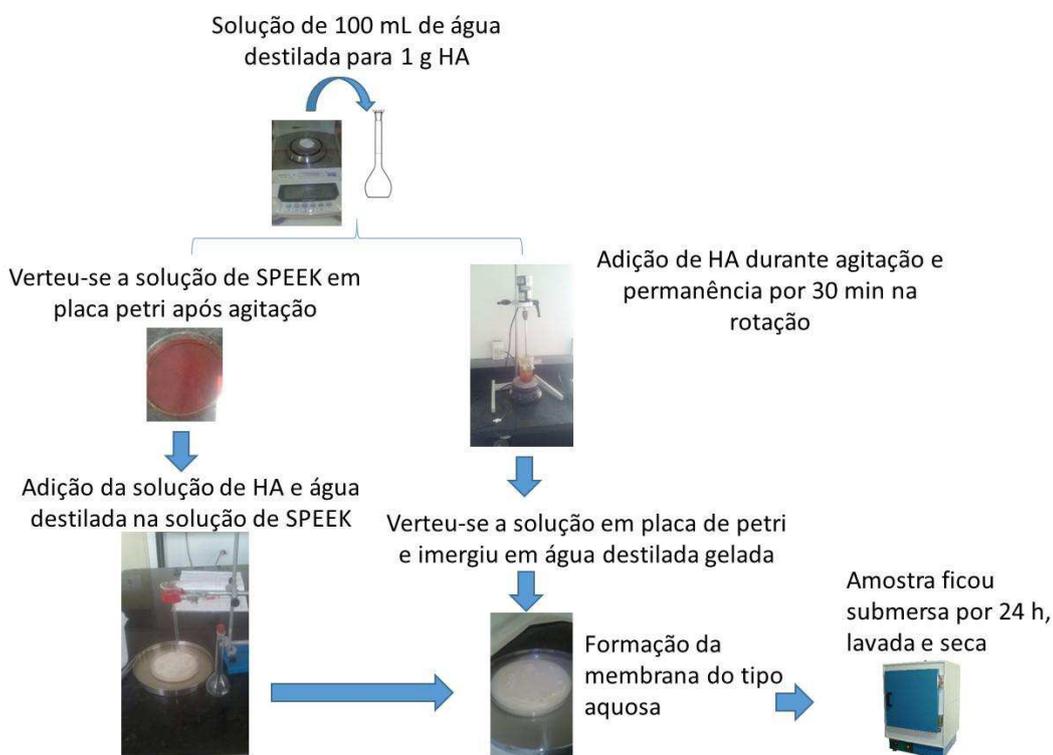


Figura 15 – Etapas da metodologia de adição de hidroxiapatita.

3.3.1.2.3 Lavagem

Visando a aplicação da membrana como biomaterial, para definição do método de lavagem, baseou-se nos estudos realizados por Montero *et al.* (2017) e Zhao *et al.* (2013). Os autores sugerem a lavagem com água destilada até atingir o pH de 7.

Em paralelo quando se definia a metodologia de secagem, estava sendo realizado o ensaio do citotoxicidade. Neste, quando foi realizada a preparação da amostra, foi percebida a saída de um líquido de coloração alaranjada, provavelmente proveniente de algum ácido residual. Decidiu-se então, por uma revisão na literatura para modificação na metodologia de lavagem.

3.3.1.2.4 Secagem

Após a definição do método de solubilização, obtenção da membrana, método de adição da HA e lavagem, foram realizados alguns testes para definição do método de secagem.

7. Membrana colocada em estufa por 1 h à 100°C;
8. Membrana colocada em estufa por 3 h à 50°C.

As etapas de definição da metodologia de secagem estão apresentadas na Figura 16.



Figura 16 – Etapas da metodologia de secagem.

3.3.2 Planejamento de experimento

Após a definição de todas as metodologias para obtenção da membrana de SPEEK com a incorporação de hidroxiapatita, onde o tipo de membrana escolhida foi a liofilizada, buscou-se avaliar a influência dos principais parâmetros de processo que poderiam influenciar na sua formação. Como o tempo de solubilização (reação de sulfonação), tempo para adição da hidroxiapatita e tempo de liofilização.

Aplicou-se como ferramenta estatística o planejamento fatorial 2^3 sem pontos centrais em duplicata e como variáveis resposta o % de grau de sulfonação (%GS), a

hidrofilicidade do material e % de perda de massa (%PM), onde o %GS foi calculado através da equação (1) com os resultados obtidos dos ensaios de FTIR; a hidrofilicidade foi avaliada através do ângulo de contato no teste de molhabilidade e; o %PM avaliado através das curvas de TGA mais especificamente na fase entre 300 e 450 °C, onde há a perda dos grupos sulfônicos segundo Montero *et al.* (2017).

Segundo Button (2005) o planejamento fatorial é indicado para a fase inicial do procedimento experimental quando há necessidade de se definir os fatores mais importantes e estudar os efeitos sobre a variável resposta.

Os dados das variáveis no planejamento foram analisados pelo software Minitab 18. Na Tabela 6, pode-se observar a matriz do planejamento experimental fatorial 2³ com os respectivos valores mínimos e máximos para cada variável. Esses valores foram determinados de acordo com os melhores resultados encontrados na literatura, para o tempo de reação de sulfonação e incorporação da HA, e disponibilidade de equipamento no laboratório, para o tempo de liofilização.

Tabela 6 – Matriz do planejamento experimental 2³.

Variáveis	Níveis	
	-1	+1
Tempo de liofilização (h)	24	48
Tempo de reação de sulfonação (h)	2,0	3,0
Tempo de reação para incorporação da HA – tempo para final da reação (h)	1,0	1,5

Na Tabela 7, pode-se observar as variáveis e os parâmetros a serem testados, além das duplicatas para o planejamento fatorial 2³. Todos os ensaios foram realizados de forma aleatória.

Tabela 7 – Representação das variáveis e dos parâmetros a serem testados, além das duplicatas para o planejamento fatorial 2^3 .

Ensaio	Amostras	Tempo de liofilização (h)	Tempo de reação de sulfonação (h)	Tempo de reação para incorporação da HA – tempo para final da reação (h)
1	E1	24	2	0,5
2	E2	48	2	0,5
3	E3	24	3	0,5
4	E4	48	3	0,5
5	E5	24	2	1,5
6	E6	48	2	1,5
7	E7	24	3	1,5
8	E8	48	3	1,5
<u>9</u>	E9	24	2	0,5
<u>10</u>	E10	48	2	0,5
<u>11</u>	E11	24	3	0,5
<u>12</u>	E12	48	3	0,5
<u>13</u>	E13	24	2	1,5
<u>14</u>	E14	48	2	1,5
<u>15</u>	E15	24	3	1,5
<u>16</u>	E16	48	3	1,5

Obs.: Os ensaios sublinhados são as duplicatas.

Buscando-se otimizar o tempo em laboratório e o gasto com material, avaliou-se o planejamento experimental inicialmente através de caracterizações quantitativas não destrutivas para que se pudesse ter uma resposta utilizando a mesma amostra. E apenas a seguir, as caracterizações quantitativas destrutivas foram realizadas para a resposta do estudo. Na Tabela 8, pode-se observar as variáveis resposta do planejamento fatorial, a ordenação de avaliação dos resultados e o objetivo principal do estudo.

Tabela 8 – Variáveis resposta do planejamento fatorial.

Ensaio*	Unidade	Resposta a ser analisada	Objetivo
1 – FTIR	%	Grau de sulfonação	Maior sulfonação
2– Molhabilidade	Graus	Ângulo de contato	Menor ângulo, ou seja, maior molhabilidade (amostra hidrofílica)
3 – TGA	%	Perda de massa na faixa de 300-450°C	Maior perda de massa

*Ensaio realizado nesta ordem de numeração.

3.3.2.1 Estudo de absorção de água

Visando um maior aprofundamento do estudo de hidrofiliabilidade das amostras de PEEK sulfonado com incorporação de hidroxiapatita, foi realizado o estudo de absorção de água na melhor amostra do planejamento de experimento.

A metodologia do estudo foi adaptada da norma ASTM D 570 nos seguintes itens:

- Dentro de um dessecador foi colocado um recipiente com água destilada;
- A amostra foi suspensa na parte interior do dessecador, sem ficar em contato com a água;
- Dessecador foi hermeticamente fechado e aguardou-se 24 h;
- Imediatamente após às 24 h, foi realizada a análise de TGA.

3.4 Caracterização das Amostras

As amostras das várias etapas (fase exploratória e planejamento experimental) foram analisadas através dos seguintes ensaios: Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR); Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV); Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS); Análise Termogravimétrica (TGA); Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC); Molhabilidade; Citotoxicidade, Adesão Celular. Todas as caracterizações

foram realizadas no Laboratório de Desenvolvimento e Avaliação de Biomateriais (CERTBIO - UFCG).

3.4.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

O FTIR permite determinar a presença dos grupos funcionais nos materiais através do espectro vibracional e rotacional característicos dos mesmos denominados de bandas de absorção, correspondentes aos níveis de energia. A técnica permite identificar parâmetros como: grupos terminais, ramificações de cadeias, configuração e conformação, isomerismo geométrico e estérico (Callister, 2000).

A técnica FTIR foi realizada para identificar as bandas características dos grupos funcionais presentes nas amostras de PEEK e SPEEK, além do cálculo do grau de sulfonação. Este foi realizado segundo descrito por Zorzin *et al.* (2015) utilizando-se a fórmula:

$$\%GS = \left[1 - \frac{\text{altura banda SPEEK}}{\text{altura banda PEEK}} \right] \times 100 \quad (1)$$

Onde correlaciona-se a altura normalizada da banda característica do SPEEK com a original do PEEK para se obter o percentual do grau de sulfonação. Segundo Aguiar *et al.* (2012) a sulfonação do PEEK é confirmada pela divisão da banda de absorção de C–C aromático a 1490 cm^{-1} , com o aparecimento de uma nova banda a 1471 cm^{-1} . Devendo-se assim medir as alturas nessas bandas características de ambos os materiais.

As amostras foram submetidas à técnica de FTIR, em temperatura ambiente. O equipamento utilizado foi o Spectrum 400 da Perkin Elmer, a faixa do espectro utilizada foi de 4000 a 650 cm^{-1} por reflectância.

3.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS)

A Microscopia Eletrônica de Varredura através do fornecimento de informações sobre a natureza topográfica possibilita a verificação da morfologia, interconectividade, formação de poros nas amostras. Enquanto que o EDS é um aparelho no qual os elementos químicos presentes numa amostra podem ser identificados através do espectro de raios X emitido pela amostra. O diâmetro reduzido do feixe permite a determinação da composição mineral em amostras de tamanhos muito reduzidos ($< 5 \mu\text{m}$), permitindo uma análise quase que pontual (Padilha e Ambrozio Filho, 2014).

O MEV foi utilizado para identificar a morfologia do arranjo tridimensional estruturado, verificação da incorporação de hidroxiapatita e da adesão celular. Além do uso do EDS para identificação dos principais elementos químicos. A realização das análises foi feita em um Microscópio Eletrônico de Varredura Fabricante: WORLD PHENOM, Modelo: PRO-X 800-07334, Tensão: 119 V, Tensão de aceleração: 5,10,15 kV, Software: PHENOM ELEMENT IDENTIFICATION/PRO SUÍTE, N° de série: MVE 014917721, aumento: 300X até 45.000X, com aparelho detector de EDS interno. Foram utilizadas as seguintes magnificações: 1000X e 3000X na avaliação da metodologia de adição de HA e para o estudo de MEV/EDS; e, 3000X e 5000X para os estudos da adesão celular.

3.4.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

Termogravimetria é uma técnica na qual a mudança da massa de uma substância é medida em função da temperatura, enquanto esta é submetida a uma programação controlada. Esta técnica possibilita conhecer as alterações que o aquecimento pode provocar na massa das substâncias, permitindo estabelecer a faixa de temperatura em que elas adquirem composição química, fixa, definida e constante, a temperatura em que começam a se decompor, acompanhar o andamento de reações de desidratação, oxidação, combustão, decomposição, entre outras (Ionashiro e Giolito, 1980; Canevarolo, 2007).

A análise de termogravimetria foi utilizada com o objetivo de avaliar a estabilidade térmica e cálculo da perda de massa associando-se ao grau de sulfonação. As análises foram realizadas com taxa de aquecimento $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ de 30

até 600 °C, atmosfera de nitrogênio com fluxo de 20 mL/min, utilizando cadinho de alumina, no equipamento TG 50H, Shimadzu.

3.4.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Na curva DSC, a energia diferencial medida corresponde ao conteúdo de calor (entalpia) ou ao calor específico da amostra. A curva DSC é mais frequentemente utilizada para caracterizar a temperatura de transição vítrea (T_g), a temperatura de fusão cristalina (T_m), a temperatura de cristalização (T_c), e o calor de fusão de polímeros. A técnica também pode ser usada para o estudo da cinética de reações químicas, oxidação, por exemplo, e decomposição. A medida do calor de fusão pode ser convertida em uma cristalinidade (%) desde, é claro, que o calor de fusão para o polímero 100% cristalino seja conhecido (Cheremisinoff, 1996).

A análise de DSC foi realizada com o objetivo de observar as transições de fases da melhor amostra de SPEEK+HA do planejamento experimental. Utilizou-se para a realização do ensaio uma faixa de temperatura de 30°C até 450°C, com razão de aquecimento de 10°C/min, em atmosfera dinâmica de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min, aparelho DSCQ20 (TA Instruments, EUA).

3.4.5 Molhabilidade

A molhabilidade é uma importante propriedade de superfícies e está associada à tendência de um líquido espalhar-se ou não sobre a superfície. Do ponto de vista macroscópico, a molhabilidade de uma superfície é caracterizada por um parâmetro chamado ângulo de contato (θ), que é uma medida do quanto à água pode espalhar-se sobre a superfície. O ângulo de contato entre uma gota de um líquido e uma superfície sólida depende da relação entre as forças adesivas e as forças coesivas do líquido (Burkarter, 2010).

Três fatores importantes, tais como a tensão superficial, a hidrofobicidade de superfície após a deposição das partículas sobre uma superfície sólida e a pressão de dissociação, influenciam o ângulo de contato final dos fluidos sobre uma superfície sólida. O ângulo de contato (θ) é medido entre a linha que tangencia a

gota nas imediações da superfície e a linha horizontal que compreende a superfície, como mostra a Figura 17 (Burkarter, 2010).

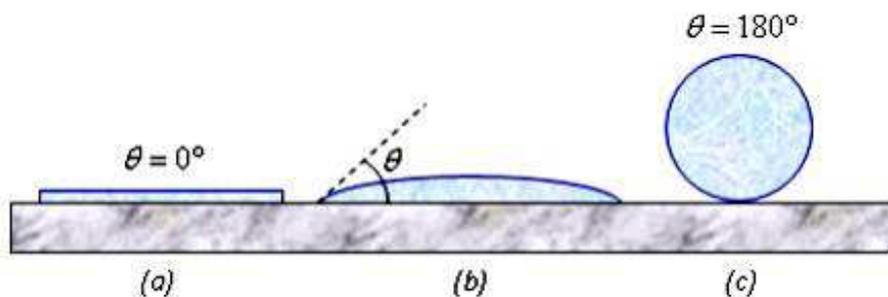


Figura 17 – Condições de molhabilidade de uma superfície: (a) superfície superhidrofílica $\theta=0^\circ$; (b) superfície com molhabilidade parcial $180^\circ > \theta > 0^\circ$; (c) superfície superhidrofóbica $\theta=180^\circ$ (Burkarter, 2010).

No que diz respeito à água, classifica-se as superfícies como hidrofóbicas quando o ângulo de contato é maior que 90° ou como hidrofílicas, quando o ângulo de contato é menor que 90° . Diversos métodos podem ser empregados para obter uma avaliação da interação entre as fases sólido/líquido (molhabilidade), mas o ângulo de contato tem sido um parâmetro que apresenta excelente relação custo/benefício (Fook, 2005; Burkarter, 2010).

Nesta pesquisa, as análises do ângulo de contato foram efetuadas após o gotejamento de água deionizada na superfície das membranas. Para cada amostra foi realizada medida em triplicata, utilizando uma câmera digital para capturar a imagem que foi, posteriormente, remetida a um microcomputador para ser feita a conversão do ângulo da interface líquido-material em unidade de tensão interfacial através do *Angle Calculator* (planilha de conversão). A medida do ângulo de contato, assim obtida, foi utilizada para caracterizar a molhabilidade das superfícies.

Esta análise foi realizada com um goniômetro (Figura 18) do Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO).



Figura 18 – Goniômetro desenvolvido por pesquisadores do CERTBIO (Holanda, 2011).

3.4.6 Citotoxicidade

O ensaio de citotoxicidade foi realizado segundo a norma ISO 10993-5:2009 *Biological evaluation of medical devices. Tests for in vitro cytotoxicity* (Iso, 2009).

Os testes de citotoxicidade foram realizados com a finalidade de avaliar a resposta celular das amostras, através da determinação da porcentagem da viabilidade celular, utilizando o método da redução do MTT [brometo de 3-(4,5-dimetilazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio], que estabelece uma correlação entre a atividade metabólica e o número de células viáveis em cultura *in vitro*.

Neste ensaio, o MTT é acumulado pelas células por endocitose e a redução do anel tetrazólico deste sal resulta na formação de cristais de formazan de cor azul que se acumulam em compartimentos endossomais e/ou lisossomais, sendo depois transportados para fora das células por exocitose.

Sendo a endocitose um mecanismo fundamental das células vivas, o ensaio do MTT tem sido usado frequentemente como ensaio de viabilidade celular.

Para a avaliação da citotoxicidade das amostras foram utilizadas a linha celular L929 (fibroblastos). Foi utilizada uma concentração de 5×10^5 células/mL RPMI 1640 e adicionados 100 μ L em uma placa de 96 poços. A placa foi transferida para a estufa de CO₂ (5%) a 37 °C por 1 h. Após este período, foram adicionadas as amostras e mais 200 μ L de RPMI 1640. RPMI 1640 foi utilizada como controle negativo. A placa foi incubada novamente em estufa de CO₂ (5%) a 37 °C por 24 h.

Após as 24 h, foram adicionados 100µl de solução de MTT (1 mg/mL) em RPMI 1640. Novamente, as placas foram incubadas em estufa de CO₂ (5%) a 37°C por 3 h. Depois, o sobrenadante foi descartado e adicionados 100µL de álcool isopropílico.

A leitura da densidade ótica foi determinada em um leitor de microplacas, Victor X3 da fabricante PERKIN ELMER, a 570 nm com filtro de referência de 650 nm. A viabilidade celular foi calculada em porcentagem, considerando o controle negativo com 100% de viabilidade.

As amostras que foram submetidas ao ensaio de citotoxicidade foram as: membrana liofilizada de SPEEK e membrana aquosa de SPEEK com incorporação de HA na fase exploratória, além da amostra liofilizada com melhor resultado no plano experimental.

3.4.7 Adesão Celular

Para a realização do ensaio celular, as amostras foram mantidas em etanol 70%, durante 24h e, posteriormente, lavadas em PBS estéril por três vezes. Em seguida, as amostras foram colocadas em placas com 48 poços e mantidas em estufa a 40 °C por 24 h. Em seguida, as células OFCOL II, da linhagem osteoblastos foram plaqueadas diretamente sobre os compósitos 1mL do meio de cultura celular e levados a uma incubadora por 7 dias. Após esse período de cultivo, as amostras foram lavadas com PBS. Em cada poço foi adicionado formaldeído a 10% durante 10 min para fixação celular. Após isto, o formaldeído foi removido e as amostras foram lavadas com PBS e secas em estufa a 40 °C durante 24 h (De Sá *et al.*, 2016).

A adesão celular foi avaliada através das superfícies das amostras por MEV. As células cultivadas diretamente na superfície da placa de cultura celular foram utilizadas como referência. Em sequência, as amostras foram metalizadas com ouro para permitir uma melhor visualização das células através do contraste.

As amostras que foram submetidas ao ensaio de adesão celular foram as: membrana liofilizada de SPEEK e membrana aquosa de SPEEK com incorporação de HA na fase exploratória, além da amostra liofilizada com melhor resultado no plano experimental.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Inicialmente serão apresentados os resultados da fase exploratória de definição da metodologia para obtenção da membrana de PEEK sulfonado com incorporação de hidroxiapatita. E posteriormente, o planejamento de experimento para avaliação dos principais parâmetros de processo que poderiam influenciar na sua formação.

4.1.1 Fase Exploratória

4.1.1.1 Metodologias

4.1.1.1.1 Solubilização do PEEK e obtenção da membrana

Na literatura havia pouco detalhamento sobre o processo de solubilização do PEEK com ácido sulfúrico, sendo assim, tornou-se necessário o estudo das diversas etapas para formação da membrana.

4.1.1.1.2 Primeiro teste: adição do PEEK ao ácido sulfúrico

Inicialmente, foram testados dois métodos de adição do PEEK no ácido sulfúrico, o primeiro antes da agitação mecânica, e o segundo no início da agitação mecânica do ácido.

Na Figura 19 foi apresentada a mudança de coloração na mistura do PEEK com ácido sulfúrico.

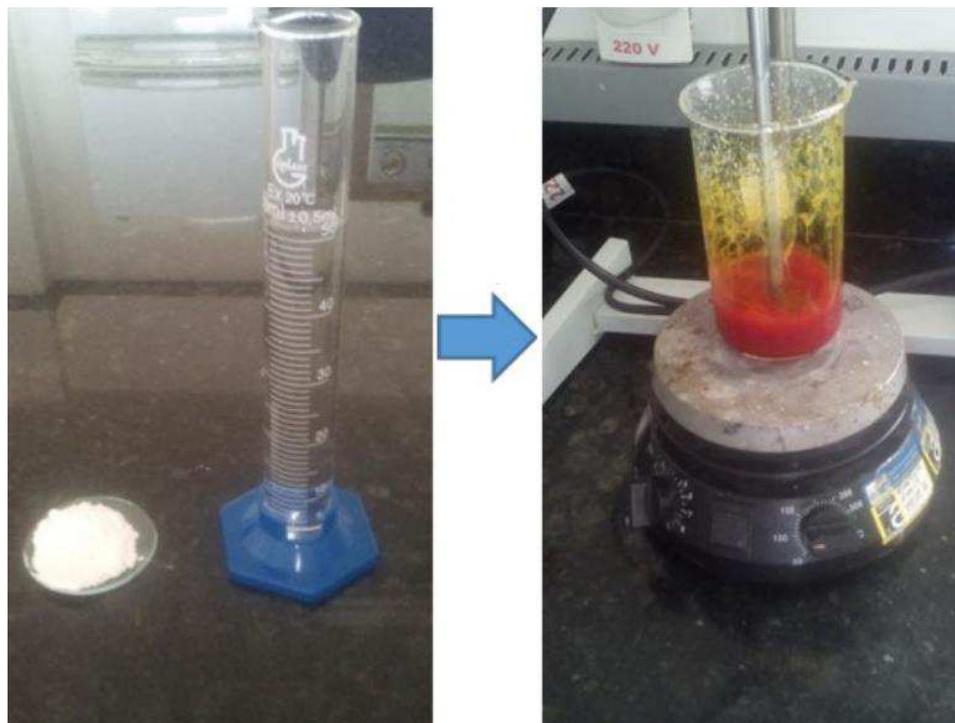


Figura 19 – Exemplificação da mudança de coloração na mistura do PEEK com ácido sulfúrico.

Algumas observações foram feitas durante o processo de adição como: em ambos os casos a reação do polímero com o ácido foi imediata, ocorrendo a mudança de coloração deste para um líquido alaranjado intenso como observado na Figura 19.

A principal diferença observada nesses dois momentos de adição, foi que na adição antes da agitação, a solução fica mais viscosa quando comparada com essa sendo realizada no início da agitação. Este fato permitiu aumentar a rotação da agitação em 10 rpm, passando o processo para 60 rpm. Isso provavelmente poderia influenciar na melhor efetividade da reação de solubilização e maior grau de sulfonação. Optando-se assim por adicionar o PEEK após a agitação do ácido sulfúrico ter iniciado com uma rotação de 60 rpm.

Jiang *et al.* (2005) e Xing *et al.* (2004) estudaram que para se alcançar maior grau de sulfonação (%GS) deve-se controlar o tempo e temperatura de reação entre o PEEK e o ácido sulfúrico. Enquanto que Conceição (2008) verificou que quanto maior o grau de sulfonação, maior a absorção de água o que facilita a trabalhabilidade do material e conseqüentemente a conformação deste.

Desta forma, buscando-se a melhor metodologia para conformação do PEEK sulfonado em membrana, optou-se inicialmente pelo melhor resultado encontrado na literatura quanto a se obter maior grau de sulfonação, cerca de 70%, com um tempo de 3 h de reação a uma temperatura de 50 °C, corroborando assim com Jiang *et al.* (2005) e Aguiar *et al.* (2012).

Objetivando-se avaliar este procedimento com relação à efetividade da sulfonação, foi realizado a Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). Os espectros são observados na Figura 20.

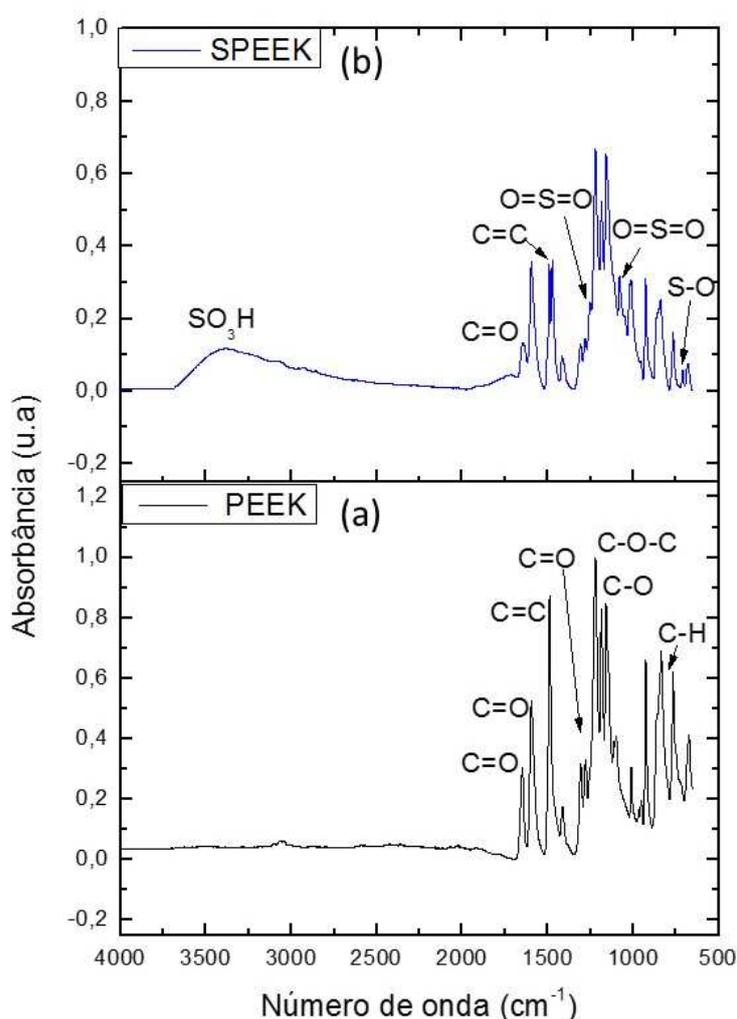


Figura 20 – Espectros FTIR das amostras: (a) PEEK, (b) SPEEK.

Na Figura 20 pode-se observar no espectro de PEEK, a banda mais intensa é a de 1221 cm⁻¹, que corresponde à estrutura de éter aromático, enquanto a banda a 1646 cm⁻¹ corresponde às unidades benzofenona, também encontrado por Nakamura *et al.* (2006). Através do zoom na região das bandas típicas do PEEK e

SPEEK, similar ao estudado por Lakshmi *et al.* (2005) e Xing *et al.* (2004), observa-se no espectro do SPEEK novas bandas em 3397, 1251, 1077, 1021, 707 cm^{-1} provenientes da sulfonação ocorrida. Além do estiramento secundário da benzofenona C=O em 1646 cm^{-1} e do estiramento dos anéis aromáticos C=C em 1490 cm^{-1} com o aparecimento de uma nova banda em 1470 cm^{-1} no SPEEK.

As intensidades relativas das bandas a 1490 e 1471 cm^{-1} foram consistentes com o grau de sulfonação calculado com a equação (1) que foi de 65%, corroborando os estudos realizados por Lakshmi *et al.* (2005), evidenciando-se que o método escolhido para sulfonação alcança os valores próximos aos teóricos de grau de sulfonação calculados.

4.1.1.1.3 Segundo teste: metodologia de formação da membrana

Após definido o método de adição do PEEK, foi realizado o teste para a conformação da membrana de PEEK sulfonado. Com a solução em uma placa de petri, o primeiro método tratou da imersão desta em água destilada gelada, sendo este o mais utilizado para formação da membrana especialmente as utilizadas para células a combustível (Jaafar *et al.*, 2007; Conceição, 2008; Guhan e Sangeetha, 2008; Aguiar *et al.*, 2012). Havendo assim a conformação da membrana, denominando-se esta de “membrana aquosa”.

O segundo tratou-se do uso da liofilização, sendo este ainda não relatado na literatura para a conformação de membranas de PEEK sulfonado, onde a solução foi inicialmente congelada a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 4 dias e liofilizada por 24 h. Sendo a seguir decantada e lavada. Esta foi denominada de “membrana liofilizada”.

As principais diferenças observadas entre os dois tipos de membrana foram com relação à coloração e resistência. Na Figura 21 foram apresentadas as fotos dos 2 tipos de membrana, aquosa e liofilizada.



Figura 21 – Membranas (a) aquosa (b) liofilizada.

Observa-se na Figura 21 (a) que a membrana aquosa é mais esbranquiçada que a liofilizada (b). Além da aquosa soltar fragmentos pequenos quando manuseada (Figura 21 (a)). Após a avaliação visual, optou-se por trabalhar com a membrana liofilizada, por essa se apresentar mais resistente ao manuseio.

4.1.1.1.4 Adição da Hidroxiapatita (HA)

Visando melhorar as propriedades de bioatividade e osseointeração da membrana de SPEEK para uso em biomateriais, conforme estudos realizados por Almasi *et al.* (2014) e Kalambettu e Dharmalingam (2014), foi realizada a adição de hidroxiapatita (HA).

Na Figura 22 estão apresentadas as fotos dos métodos de adição de hidroxiapatita.

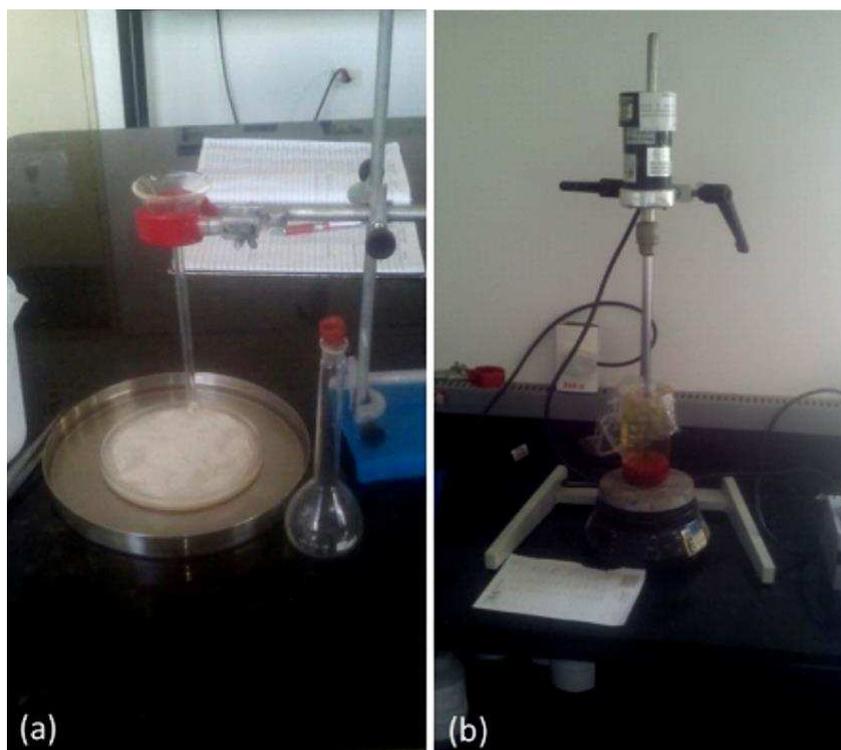


Figura 22 – Métodos de adição de hidroxiapatita: (a) após agitação de solubilização; (b) sob agitação de solubilização aguardando 30 min agitando.

Foram testados dois métodos de adição, o primeiro com adição da solução (HA e água) após a agitação de solubilização e, o segundo com adição de HA ainda sob agitação (Figura 22).

A seguir em ambos os testes, foi utilizado o método de conformação da membrana aquosa. Este foi escolhido devido ao menor tempo em laboratório quando comparado com o da liofilizada.

Prosseguindo-se, no primeiro caso houve a conformação imediata da membrana quando em contato com solução de HA+água e, no segundo a solução foi imersa em água destilada gelada por 24 h. Sendo ambas lavadas e secas à 50 °C por 3 h.

Objetivando-se avaliar os métodos de adição, fez-se inicialmente o ensaio de Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), podendo ser observado na Figura 23.

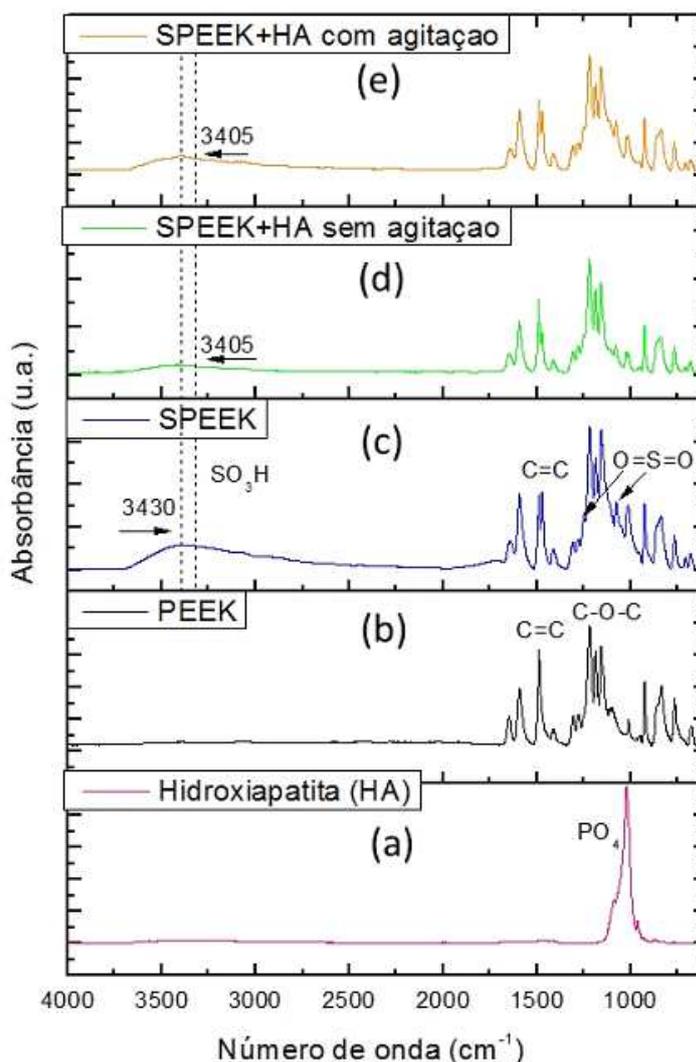


Figura 23 – Espectros FTIR das amostras: (a) HA, (b) PEEK, (c) SPEEK, (d) SPEEK+HA sem agitação, (e) SPEEK+HA com agitação.

Na Figura 23 foram inseridos os espectros de FTIR da HA, PEEK e SPEEK para alinhamento e comparação com os métodos de adição da hidroxiapatita. Nos 3 casos aparecem as bandas características de cada material: na hidroxiapatita no comprimento de onda 1022 cm^{-1} a banda característica do fosfato (PO_4); no PEEK em 1221 cm^{-1} a banda correspondente à estrutura de éter aromático e no SPEEK a existência do SO_3H em 3430 cm^{-1} .

Na Figura 24 é apresentada a reação química de sulfonação do PEEK e incorporação da hidroxiapatita.

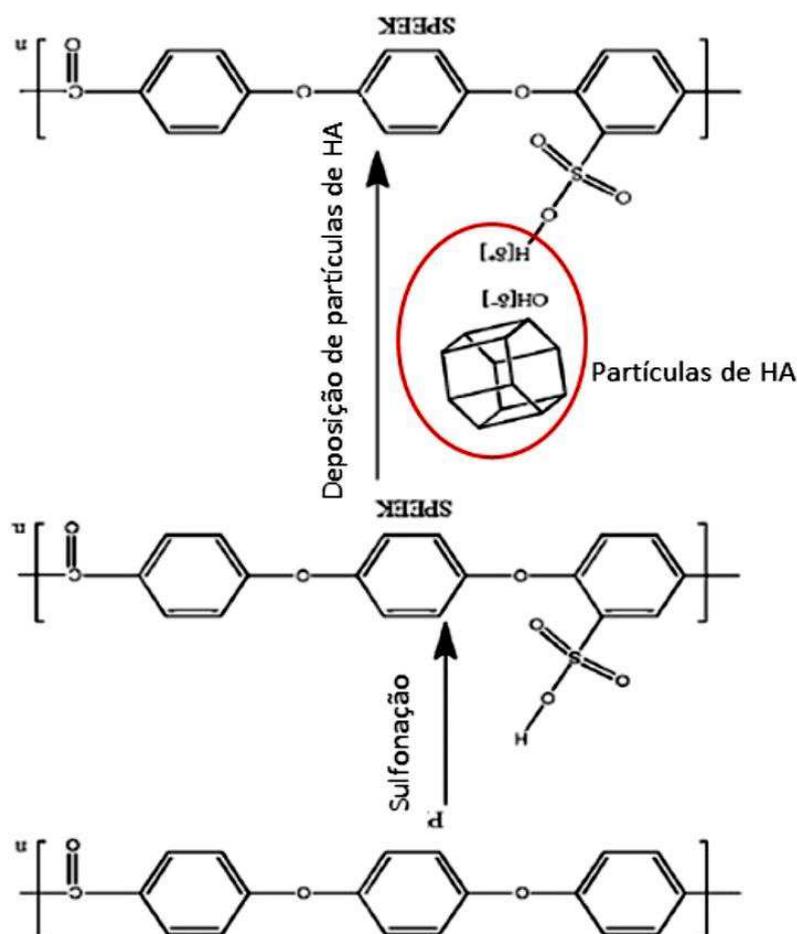


Figura 24 – Reação química de sulfonação e incorporação de hidroxiapatita.

Conforme pode-se observar ainda na Figura 24, na reação química, a ligação coordenada do grupo polar da HA levou à atração do grupo OH do SPEEK. Esta ligação conduz a uma diminuição da resistência e da frequência do banda característica do SPEEK em 3430 cm^{-1} , que está relacionada ao alongamento da ligação do grupo OH. Este fato pode ser observado na Figura 23, onde percebe-se o deslocamento da banda do SO₃H de 3430 para 3405 cm^{-1} , nos casos que há a adição de HA ao SPEEK. Contudo no método onde se adicionou com agitação, percebe-se que a banda 3405 cm^{-1} está mais intensa do que quando comparada com a sem agitação, isso pode ser uma provável consequência de uma melhor reação da HA com o SPEEK com agitação.

Os relatos encontrados na pesquisa sobre a reação da HA com o SPEEK foram similares aos estudos realizados por Almasi *et al.* (2014) e Kalambettu e Dharmalingam (2014).

Objetivando-se detalhar o estudo da reação da HA com o SPEEK realizou-se a análise das superfícies das membranas através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS). Nas Figuras 25 e 26 são apresentadas as micrografias de ambos os testes de adição de HA ao SPEEK, sem e com agitação respectivamente.

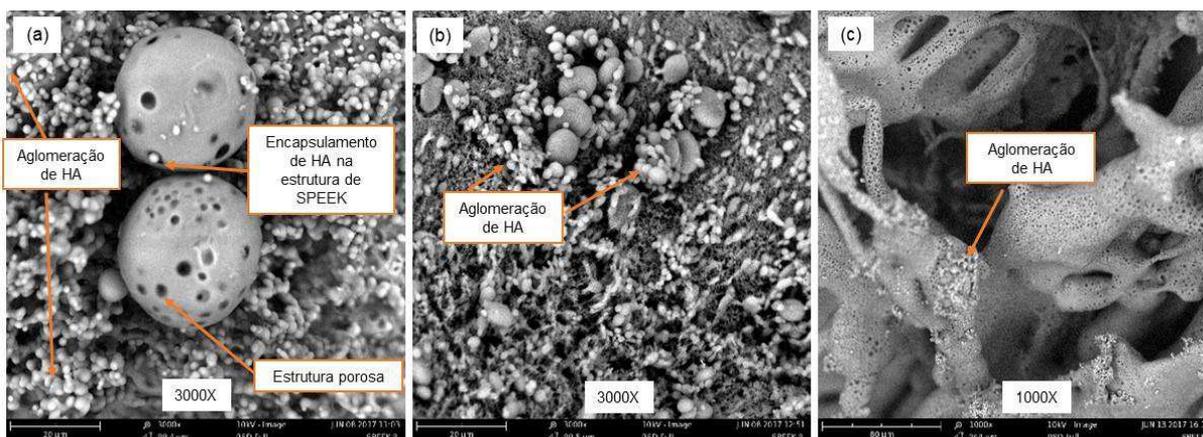


Figura 25 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das amostras SPEEK+HA adição sem agitação: (a) superfície inferior; (b) superfície superior; (c) transversal.

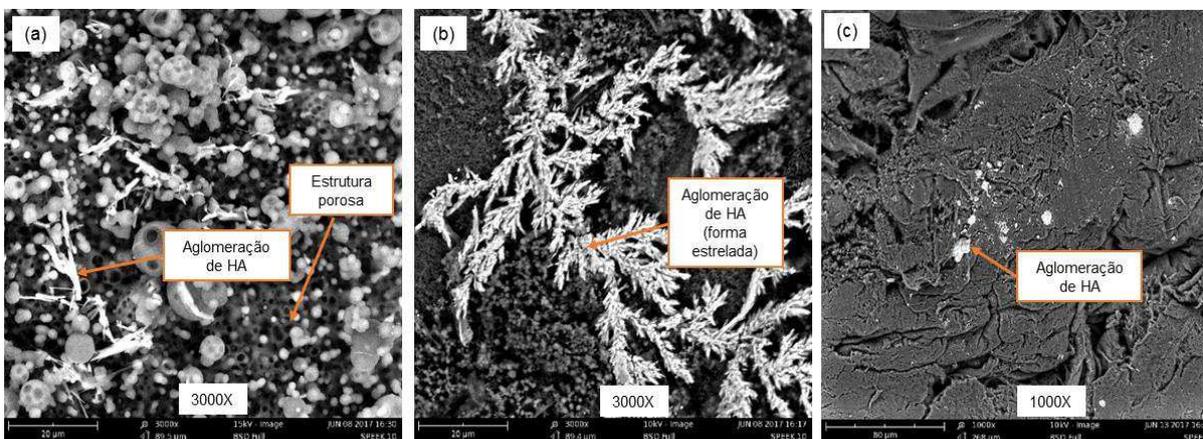


Figura 26 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das amostras SPEEK+HA adição com agitação: (a) superfície inferior; (b) superfície superior; (c) transversal.

Em ambos os processos de adição percebe-se a superfície porosa e a incorporação da hidroxiapatita à estrutura do SPEEK, através da observação das partículas mais esbranquiçadas e claras nas superfícies (inferior, superior e transversal).

No método sem agitação, Figura 25, a superfície inferior tende a apresentar uma tendência de encapsulamento das partículas de HA pelo SPEEK por ficar na

parte de baixo da membrana, esse formato de cápsula pode viabilizar a utilização do material para carregamento de fármacos.

Contudo no método com agitação, Figura 26, evidencia-se uma efetividade na incorporação da HA às superfícies do SPEEK quando comparado com o anterior. A quantidade de partículas esbranquiçadas é maior e ainda apresentou um comportamento de aglomeração das hidroxiapatitas na superfície superior na forma estrelada, provavelmente influenciada pelo método de conformação da membrana.

Na Figura 27 são apresentados os resultados de MEV/EDS comparando-se a hidroxiapatita com os 2 métodos de adição, sem e com agitação. As superfícies reportadas para ambos os métodos foram as que apresentam maior número de aglomerados de HA.

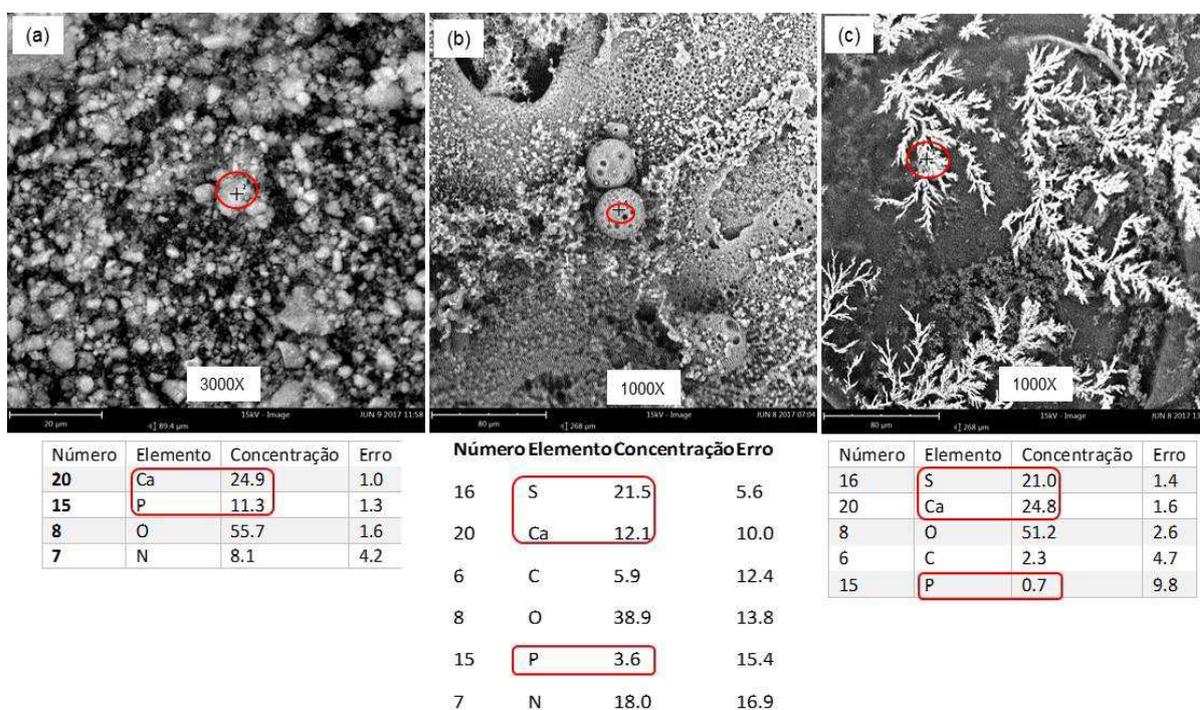


Figura 27 – MEV/EDS das amostras: (a) HÁ; (b) SPEEK+HA sem agitação (superfície inferior), (c) SPEEK+HA com agitação (superfície superior).

Evidencia-se em ambos os métodos, conforme Figura 27, que os resultados analisados são elementos químicos característicos da sulfonação (enxofre) e da hidroxiapatita (cálcio e fósforo).

Nas análises morfológicas realizadas por Almasi *et al.* (2014) em estudos deposição de HA no SPEEK, percebe-se aglomerados semelhantes aos encontrados. Nesta pesquisa o fator diferencial foi a estrutura estrelada observada

na superfície superior do método com agitação. Já Kalambettu e Dharmalingam (2014) apesar de estudar um método de adição diferente do utilizado neste estudo, as micrografias são parecidas no que se refere aos aglomerados e estrutura porosa evidenciada.

Portanto, diante das evidências encontradas nos estudos de FTIR e MEV/EDS, optou-se pelo método de adição da hidroxiapatita no SPEEK durante agitação.

Contudo, buscando-se racionalizar o tempo, foi verificado que após 1,5 h da solubilização do PEEK no ácido sulfúrico não se observava mais aglomerados do polímero, possivelmente tendo este reagido totalmente. Optou-se assim, por antecipar a adição de HA após decorrido o tempo de 1,5 e não 3 h. Ficando essa reagindo até o final das 3 h de solubilização.

4.1.1.1.5 Lavagem

Visando a aplicação da membrana como biomaterial e se baseando na literatura, foi definido inicialmente que a lavagem deveria ser em água destilada até atingir o pH de 7.

Após o ensaio de citotoxicidade com a saída de um líquido de coloração alaranjada, provavelmente proveniente de algum ácido residual, buscou-se avaliar na literatura métodos adicionais de lavagem.

Evidenciou-se que Aguiar *et al.* (2012) em seus estudos, após a lavagem com água destilada, deixou a membrana por 24 h em água deionizada, mas a lavagem inicial foi realizada até que o pH atingisse um mínimo de 5. Já Kalambettu e Dharmalingam (2014) realizou, após a lavagem com água destilada e com um mínimo de pH igual a 7, a introdução das amostras em água à 100 °C por 1 h, garantindo assim a total remoção do ácido residual.

Após análise de ambos os métodos encontrados na literatura, optou-se pela imersão da amostra em água à 100 °C durante 1 h, pois Kalambettu e Dharmalingam (2014) garantiu uma maior neutralidade da amostra com um pH mínimo de 7.

4.1.1.1.6 Secagem

Após a definição do método de solubilização, obtenção da membrana de SPEEK e adição de HA, foram realizados alguns testes para definição do método de secagem. O primeiro foi realizar a secagem da membrana a uma temperatura de 100 °C por 1 h, esta foi escolhida por ficar abaixo da T_g do PEEK (143 °C). Contudo, após 15 min da membrana de SPEEK na estufa, percebeu-se uma mudança na coloração e redução no formato da membrana, provavelmente resíduos ácidos (Figura 28).



Figura 28 – Membrana de SPEEK seca à 100 °C por 15 min.

O segundo método testado foi secagem à 50 °C por 3 h na estufa. Observando-se no final que a membrana estava seca e sem degradação, com manutenção da coloração bege (Figura 29), além de corroborar os estudos de Guhan e Sangeetha (2008) e Conceição (2008). Desta forma, este foi o método de secagem escolhido.



Figura 29 – Membrana de SPEEK seca à 50 °C por 3 h.

4.1.1.2 Metodologia final escolhida para obtenção da membrana de SPEEK com incorporação de HA

O processo de obtenção da membrana de SPEEK com incorporação da HA deve ser realizado da seguinte forma:

- a. Em uma proveta mede-se 50 mL de ácido sulfúrico P.A. 98% e se coloca em um Becker;
- b. A seguir o ácido é colocado sob agitação mecânica de 60 rpm a uma temperatura aproximada de 50 °C;
- c. Após estabilizado o Becker, adiciona-se 2 g de PEEK;
- d. Deixa-se sob agitação durante 3 h para solubilização e, em paralelo, pesa-se 0,6 g de HA;
- e. Após decorrido um tempo de 1,5 h da reação de solubilização do PEEK, ainda sob agitação, adiciona-se as 0,6 g HÁ;
- f. Deixa-se agitar por mais 1,5 h, dando um tempo total de 3 h;
- g. Verte-se a solução na placa de petri e deixa-se a temperatura ambiente por 15 min;
- h. A placa de petri com a solução de SPEEK+HA vai ao ultrafreezer a -80 °C para congelamento por 4 dias;

- i. Após este processo, a solução congelada vai ao liofilizador por 24 h;
- j. Após saída do liofilizador, a solução fica em temperatura ambiente por 24 h para ocorrer a decantação do material e formação da membrana liofilizada;
- k. A seguir, é retirado o líquido sobrenadante;
- l. Realizada a lavagem com água destilada até atingir o pH 7;
- m. Imersão da amostra em água destilada à 100 por 1 h;
- n. Seca em estufa a 50 °C por 3 h.

4.1.1.3 Avaliação Biológica

Após o processo de determinação da metodologia foram escolhidas amostras que mais atendiam esta sequência para análises biológicas. Verificando assim a possível aplicação para biomaterial, com as propriedades de viabilidade e adesão celular.

As amostras escolhidas foram: membrana liofilizada de SPEEK (A5) e membrana aquosa de SPEEK com incorporação de hidroxiapatita (A10).

4.1.1.3.1 Citotoxicidade

Os testes de citotoxicidade foram realizados com a finalidade de avaliar a resposta celular das amostras, através da determinação da porcentagem da viabilidade celular, a qual segundo a norma BS EN ISO 10993-5:2009 *Biological evaluation of medical devices. Tests for in vitro cytotoxicity* (Iso, 2009) para ser considerado viável o valor precisa dar acima de 70%.

Na Figura 30 é apresentado o gráfico de viabilidade celular para as amostras de SPEEK (A5) e SPEEK+HA (A10). Percebe-se que em todos os casos há viabilidade celular acima de 70% conforme especificado na norma BS EN ISO 10993-5:2009, mesmo considerando-se o valor mínimo do % da viabilidade. Contudo a porcentagem da viabilidade celular da amostra A10 ficou um pouco abaixo da A5, provavelmente devido à influência da aglomeração das partículas de HA. As células são muito sensíveis à energia superficial, química e morfológica (incluindo as das aglomerações de HA), o que pode retardar seu crescimento. Embora seu resultado

ainda fique acima do especificado pela norma. Estes podem ser corroborados pelos estudos realizados por Kalambettu e Dharmalingam (2014).

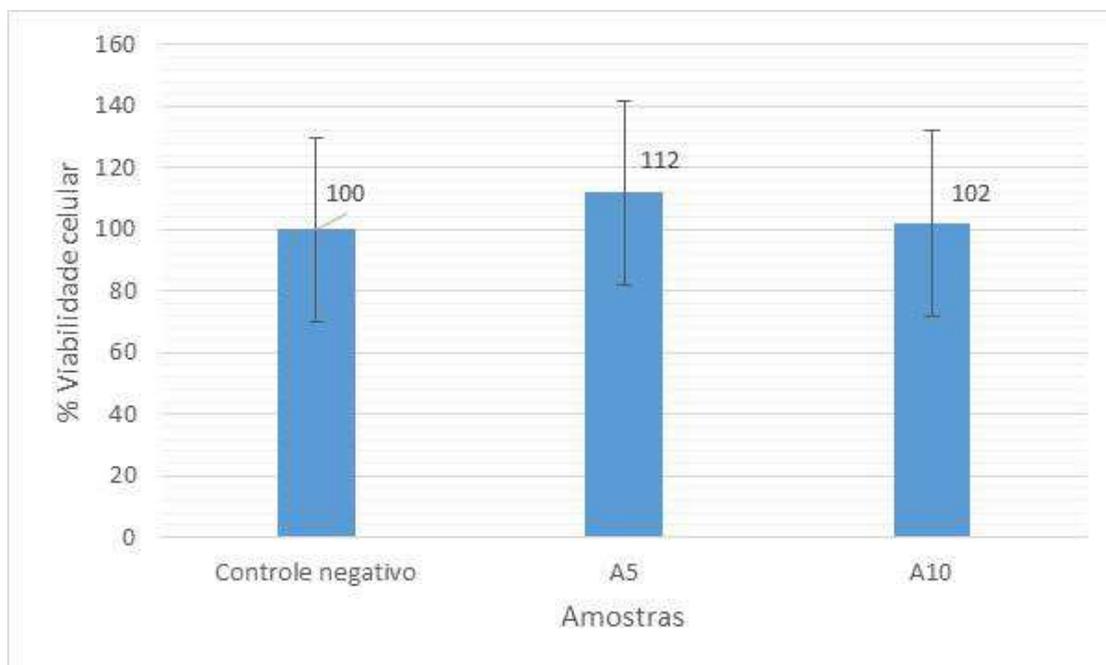


Figura 30 – Gráfico de viabilidade celular para as amostras de SPEEK (A5) e SPEEK+HA (A10).

4.1.1.3.2 Adesão Celular

A adesão celular foi realizada com o intuito de avaliar o potencial de crescimento de células do tipo osteoblastos na superfície do material, tanto na amostra A5 de SPEEK como na A10 de SPEEK com HA. Sua avaliação foi realizada através do ensaio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com recobrimento metálico.

Na Figura 31 é apresentado MEV das amostras antes e após o ensaio de adesão celular. Evidencia-se a adesão e crescimento das células em ambas as amostras analisadas, na do tipo SPEEK (A5) as células estão em formato de teia aderidas à superfície do polímero. Enquanto na do tipo SPEEK+HA (A10) percebe-se uma camada maior de recobrimento.

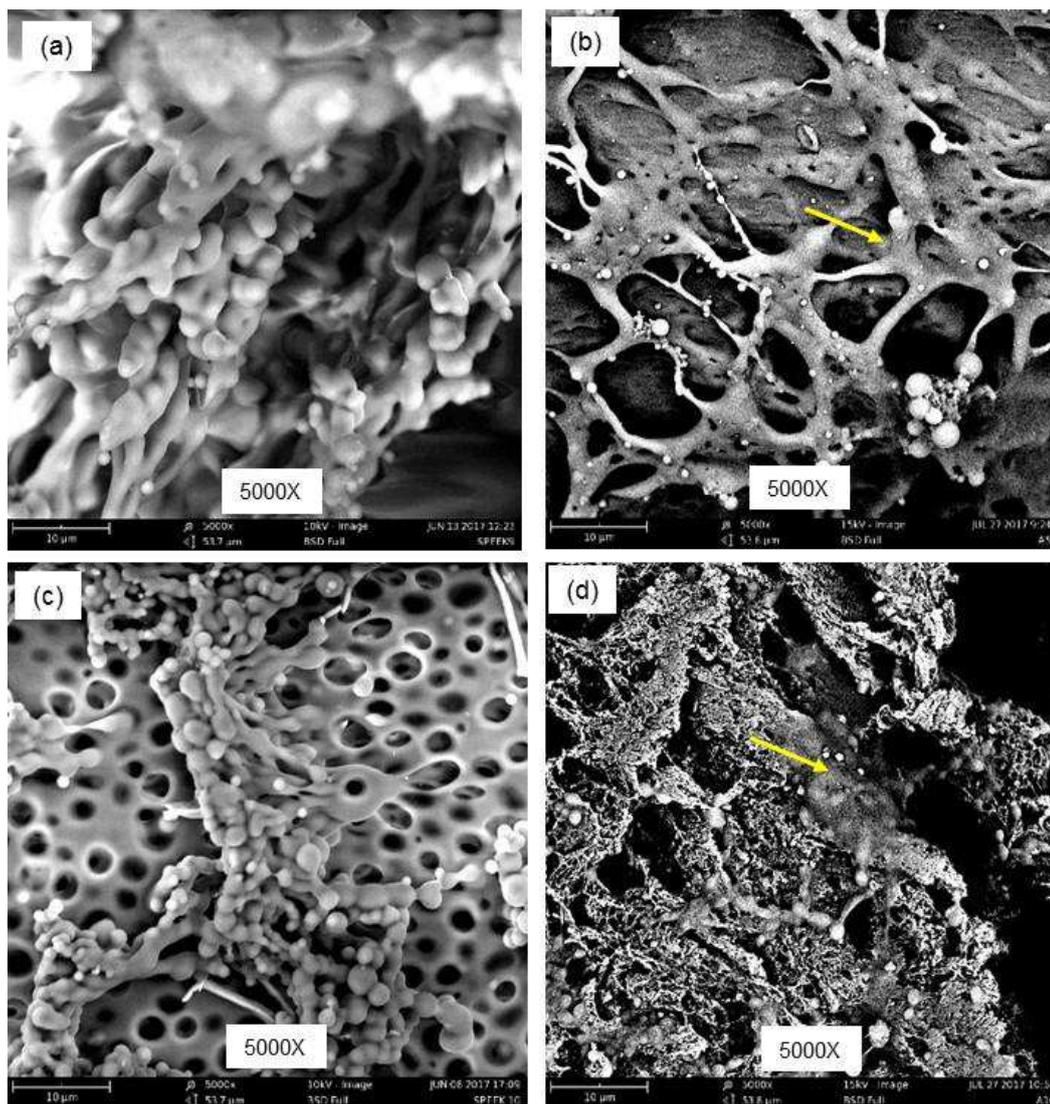


Figura 31 – MEV das amostras: (a) A5 SPEEK sem recobrimento; (b) A5 SPEEK com recobrimento de células; (c) A10 SPEEK+HA sem recobrimento; (d) A10 SPEEK+HA com recobrimento de células.

Comprovando-se assim, após a verificação da viabilidade celular e da provável adesão das células, a possibilidade de aplicação da membrana do tipo SPEEK e SPEEK+HA como biomaterial.

4.1.2 Planejamento experimental

Na Figura 32 estão apresentadas as membranas a serem analisadas no planejamento fatorial.

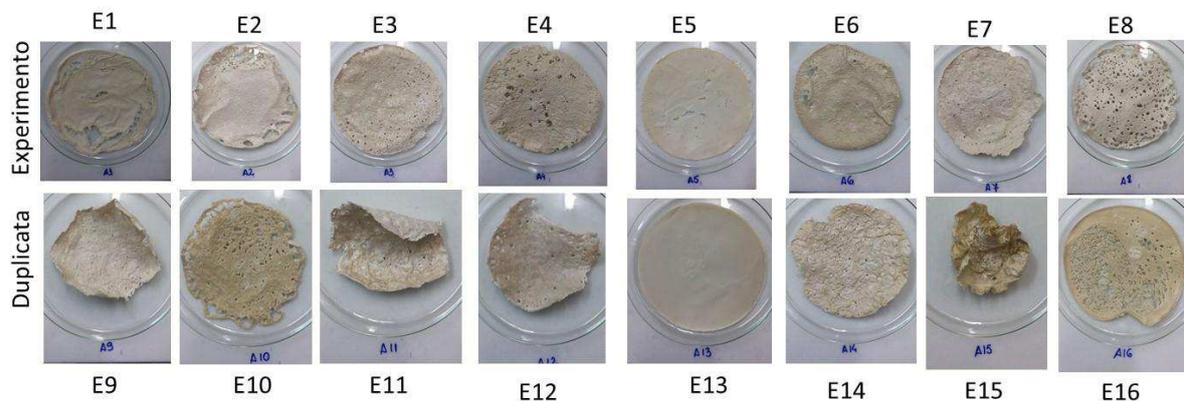


Figura 32 – Membranas a serem analisadas no planejamento fatorial.

Nas Figuras 33, 34, 35 e 36 estão apresentados os espectros de FTIR das amostras e duplicadas do planejamento fatorial.

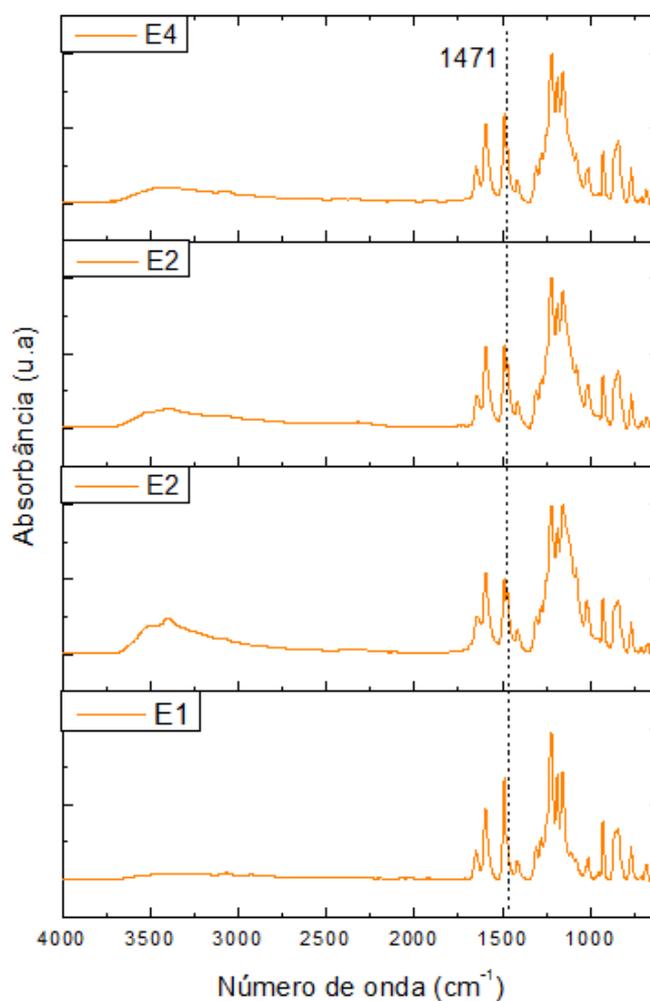


Figura 33 – Espectros FTIR das membranas obtidas com base no planejamento fatorial 2^3 ; Ensaios de 1 a 4.

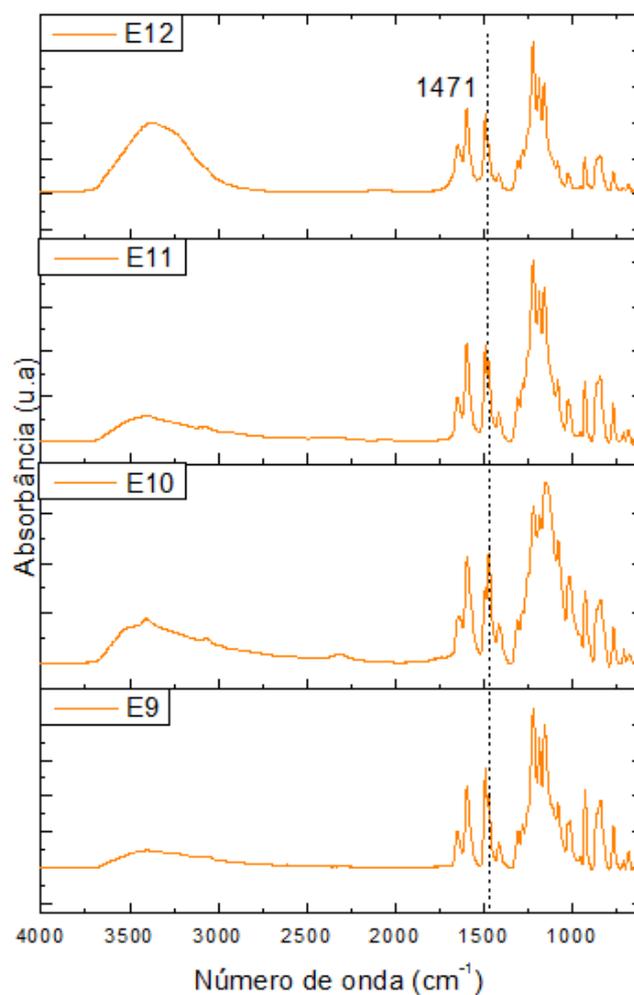


Figura 34 – Espectros FTIR das membranas obtidas com base no planejamento fatorial 2^3 ; Ensaios de 9 a 12 (duplicadas dos ensaios de 1 a 4 respectivamente).

Avaliando-se inicialmente os resultados de FTIR, apresentados nas Figuras 33 e 34. Percebe-se que em todas as amostras observa-se as bandas em 3397, 1251, 1077, 1021, 707 cm^{-1} provenientes da sulfonação e o aparecimento de uma nova banda em 1471 cm^{-1} , a qual servirá para o cálculo do %GS com a equação (1). Contudo estas ocorrem com intensidades diferentes, especialmente quando se compara o experimento com sua respectiva duplicata.

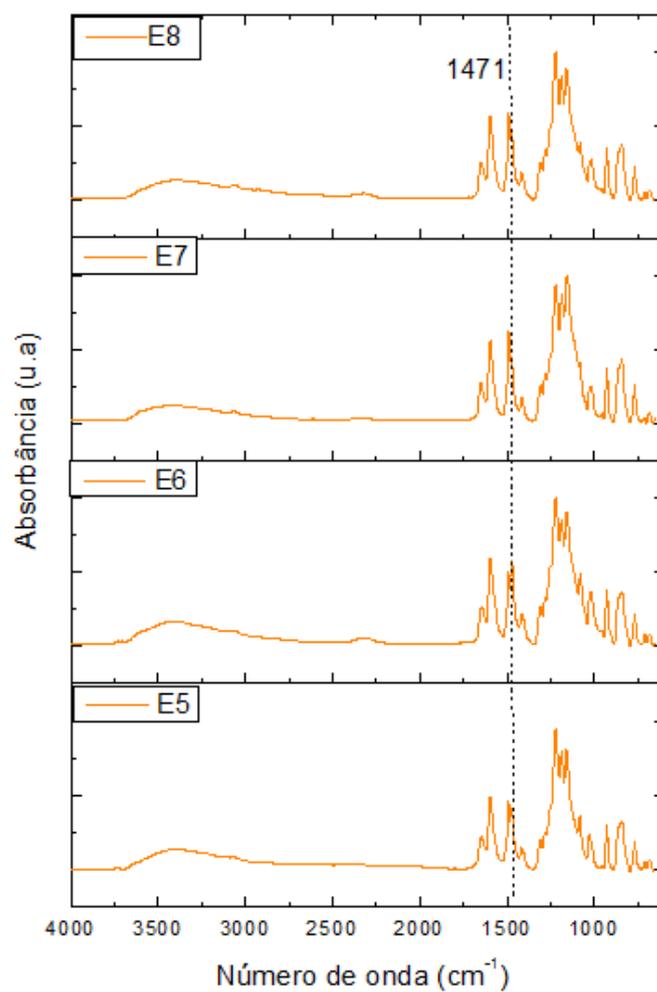


Figura 35 – Espectros FTIR das membranas obtidas com base no planejamento fatorial 2^3 ; Ensaio de 5 a 8.

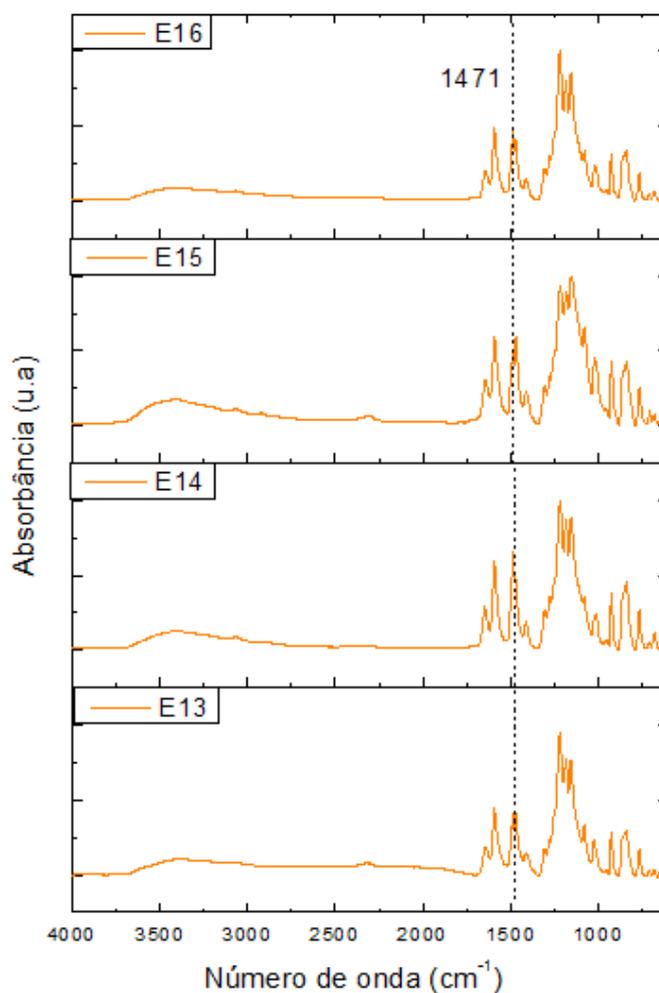


Figura 36 – Espectros FTIR das membranas obtidas com base no planejamento fatorial 23; Ensaios de 13 a 16 (duplicadas dos ensaios de 5 a 8 respectivamente).

Resultados semelhantes foram encontrados nas Figuras 35 e 36, onde se pode observar os espectros característicos provenientes da sulfonação, com diferentes intensidades, e o aparecimento de uma nova banda em 1471 cm^{-1} , a qual servirá para o cálculo do %GS.

Os resultados de TGA estão apresentados nas Figuras 37, 38, 39 e 40 referentes aos ensaios e às duplicadas. Em todas está apresentado o resultado de TGA do PEEK para referência.

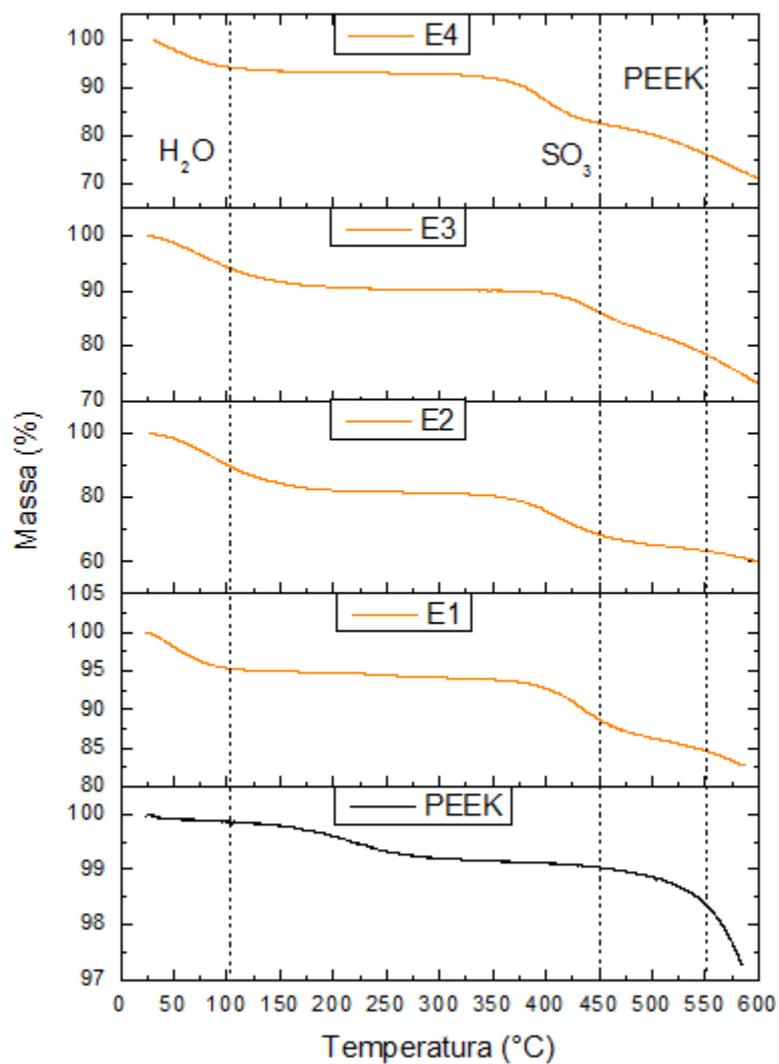


Figura 37 – Análise de TGA para os experimentos do planejamento fatorial 2³; PEEK e Ensaio de 1 a 4.

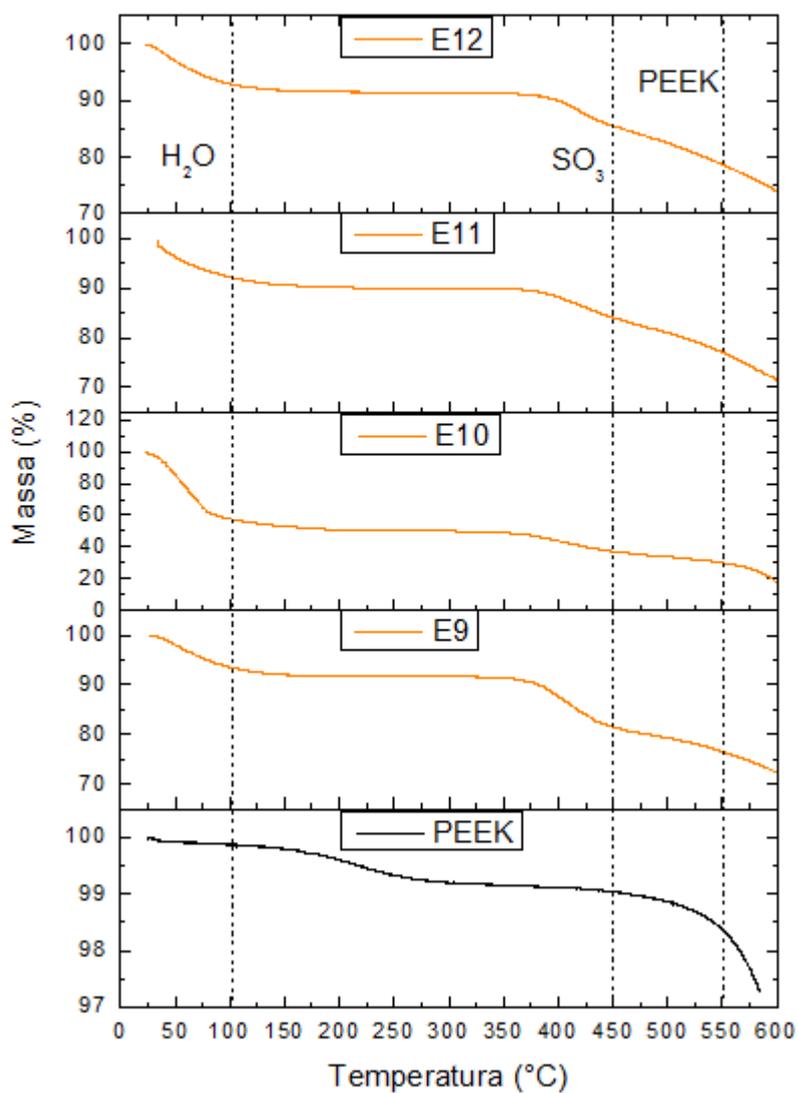


Figura 38 – Análise de TGA para os experimentos do planejamento fatorial 2³; PEEK e Ensaios de 9 a 12 (duplicadas dos ensaios de 1 a 4 respectivamente).

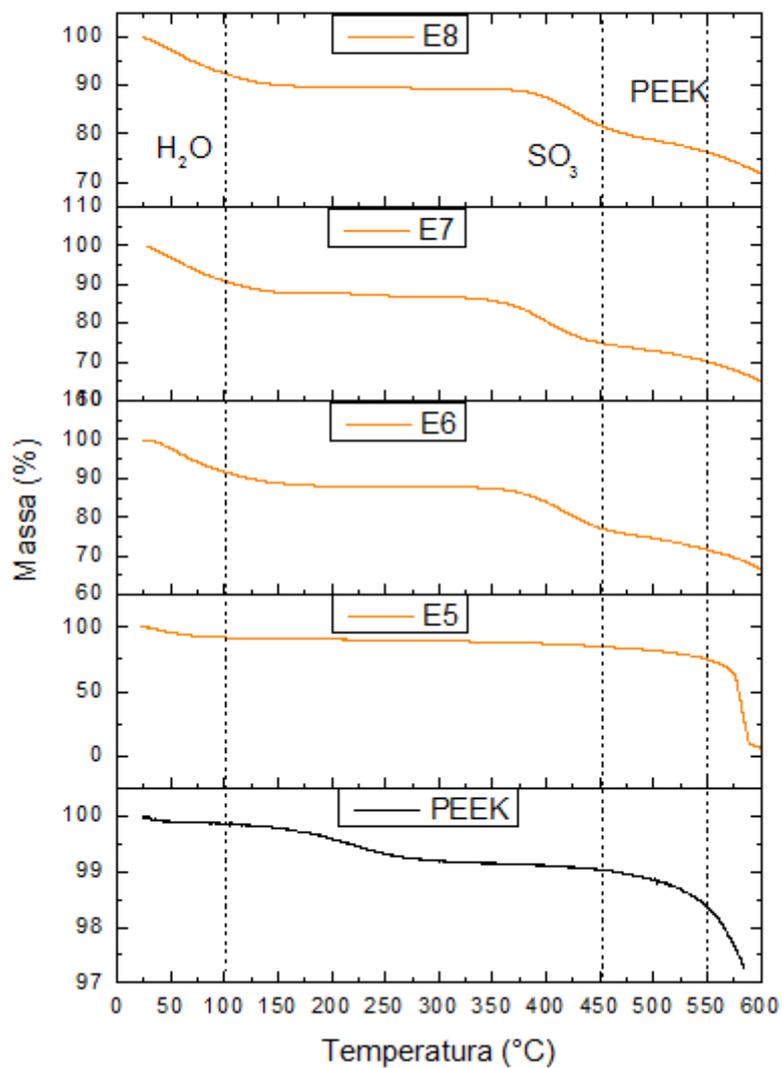


Figura 39 – Análise de TGA para os experimentos do planejamento fatorial 23; PEEK e Ensaio de 5 a 8.

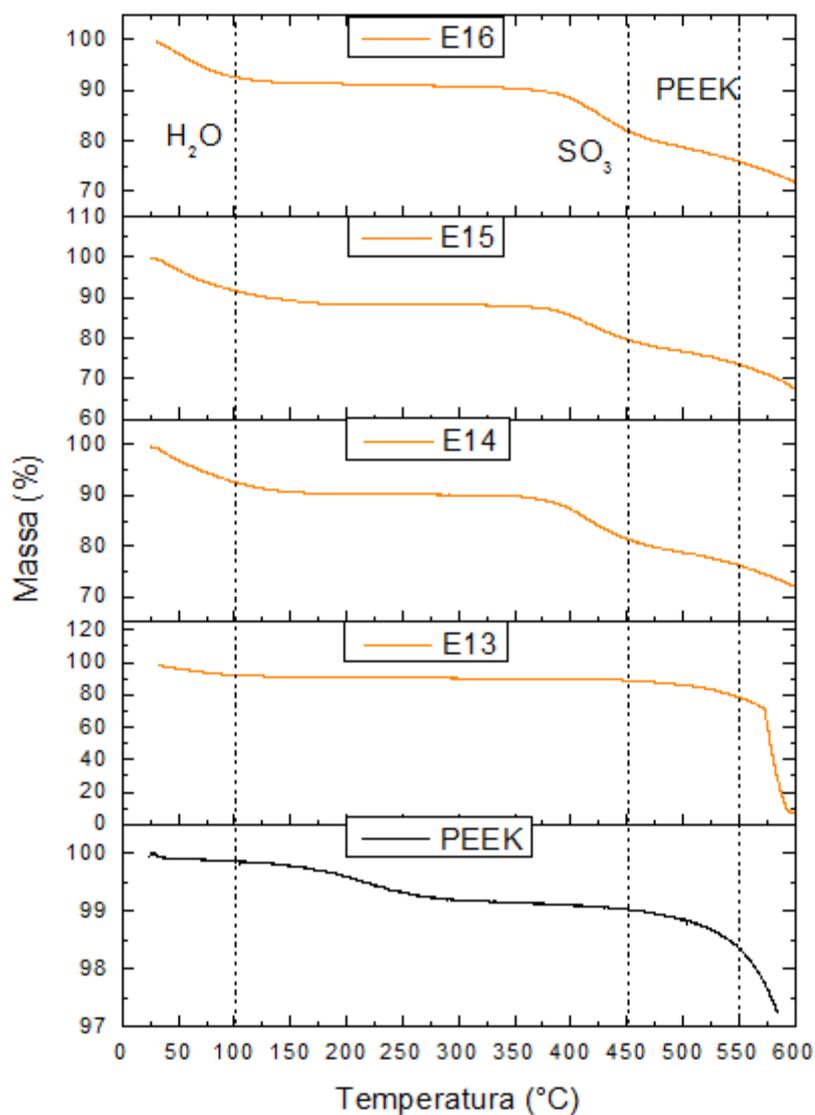


Figura 40 – Análise de TGA para os experimentos do planejamento fatorial 23; PEEK e Ensaios de 13 a 16 (duplicadas dos ensaios de 5 a 8 respectivamente).

Na Tabela 9 pode-se observar os valores aproximados da perda de massa, temperatura e massa residual relativos às etapas de decomposição térmica para as membranas de SPEEK+HA.

Tabela 9 – Valores aproximados da perda de massa, temperatura e massa residual relativos às etapas de decomposição térmica para as membranas de SPEEK+HÁ.

Amostras	1ª Etapa		2ª Etapa		3ª Etapa		Resíduo m (%)
	m (%)	T (°C)	m (%)	T(°C)	m (%)	T(°C)	
PEEK	-	-	-	-	2,77%	24-585	97,23
E1	4,91	30-162	7,64	350-503	3,57	503-587	83,88
E2	17,85	30-234	16,71	308-523	4,62	523-601	60,82
E3	9,58	30-260	8,16	350-506	9,21	506-604	73,05
E4	6,46	30-147	10,88	326-473	11,17	473-604	71,49
E5	9,26	30-235	-	-	85,42	235-606	5,32
E6	11,95	25-242	12,73	313-490	10,01	490-605	65,31
E7	12,15	28-188	13,34	305-487	9,02	487-603	64,49
E8	10,24	24-227	10,78	313-503	7,07	503-603	71,91
E9	8,13	26-197	11,98	316-491	7,92	491-604	71,97
E10	48,74	23-236	16,14	304-500	18,51	500-603	16,61
E11	9,46	35-212	8,32	323-488	10,49	488-602	71,73
E12	8,09	23-157	6,96	369-473	10,72	473-603	74,23
E13	7,42	33-163	-	-	81,37	451-603	11,21
E14	9,29	25-193	11,34	317-500	7,31	500-604	72,06
E15	11,59	24-247	11,09	324-494	11,20	494-606	66,12
E16	8,52	30-194	11,89	345-504	7,20	504-604	72,39

Considerando as curvas TGA e a Tabela 9, as amostras foram termicamente estáveis até 350 °C e exibiram três estágios distintos de perda de massa, exceto as amostras E5 e E13 que apresentaram apenas 2 estágios. A perda ocorrida a 100 °C é devido à remoção de moléculas de água absorvida pelo material. A segunda etapa de degradação térmica variou de 300 até 520 °C, dependendo do ensaio, esta foi caracterizada pela remoção de grupos de ácido sulfônico, este fato não ocorreu nas amostras E5 e E13 provavelmente devido a problemas na sulfonação. Além disso, a amostra que teve maior perda devido ao grupo sulfona foi a amostra E15, provavelmente devido à maior eficiência da reação. O terceiro estágio de degradação térmica, variando de 550 a 600 °C, foi atribuído à degradação da cadeia principal do PEEK, o que pode também ser evidenciado para o PEEK.

Todos esses resultados foram corroborados pelos estudos encontrados na literatura (Aguiar *et al.*, 2012; Montero *et al.*, 2017).

Comparando-se o último estágio de degradação em torno de 550 a 600 °C nas Figuras 37 a 40, percebe-se que nas amostras de SPEEK+HA ainda possuem uma massa final quando se atinge 600 °C. Fato explicado por Zaidi *et al.* (2000) que quando usado H₂SO₄ (95-98%) para sulfonação, evita-se a degradação do material e reações de reticulação.

Prosseguindo com o planejamento fatorial 2³, na Tabela 10 são apresentados os ensaios e o resultado das variáveis resposta a serem correlacionadas. Nas amostras E5 e E13 não foi possível obter a informação do % de massa correspondente ao grupo sulfona.

Tabela 10 – Ensaio do planejamento fatorial 2³ e resultado das variáveis resposta.

Amostras	Tratamento	%GS (%)	Ângulo de contato (graus)	%PM em 300-520 °C (%)
E1	0	83,96	32,25	11,51
E2	a	54,04	28,53	16,86
E3	b	62,88	29,51	7,77
E4	ab	67,93	23,92	10,30
E5	c	49,96	28,41	-----
E6	ac	61,60	31,97	12,64
E7	bc	70,13	25,14	12,95
E8	abc	66,12	24,71	10,71
<u>E9</u>	0	68,64	22,23	11,62
<u>E10</u>	a	48,70	27,64	15,68
<u>E11</u>	b	48,40	18,00	8,21
<u>E12</u>	ab	47,83	26,05	7,05
<u>E13</u>	c	41,81	32,19	-----
<u>E14</u>	ac	75,21	24,55	11,17
<u>E15</u>	bc	61,78	24,03	10,93
<u>E16</u>	abc	54,20	31,23	11,50

Devido ao grande volume de dados do planejamento fatorial 2³, apenas os mais relevantes foram comentados nos resultados, os demais se encontram no apêndice. Nas Figuras 41, 42 e 43 são apresentadas as análises de variância (ANOVA), sumário do modelo, equação de regressão, gráfico de resíduos e de pareto, para as variáveis resposta %GS, ângulo de contato e % PM respectivamente.

Evidencia-se para todas as variáveis resposta que os dados atendem a uma normal, pois o gráfico de probabilidade normal (Figura 41 a 43) se apresenta semelhante a uma reta. Além das amostras serem independentes. Isso demonstra a possível aplicação da ANOVA e, conseqüentemente, a comparação dos vários grupos ao mesmo tempo com um nível de significância de 5%.

Regressão Fatorial: %GS x parâmetros de processo

Análise de Variância

Fonte	GL	SQ (Aj.)	QM (Aj.)	Valor F	Valor-P
Modelo	7	0,130636	0,018662	1,45	0,306
Linear	3	0,104355	0,034785	2,70	0,116
Tempo liofilização	1	0,000032	0,000032	0,00	0,961
Tempo sulfonação	1	0,030495	0,030495	2,37	0,163
Tempo HA	1	0,073828	0,073828	5,73	0,044
Interações de 2 fatores	3	0,006636	0,002212	0,17	0,913
Tempo liofilização*Tempo sulfonação	1	0,001939	0,001939	0,15	0,708
Tempo liofilização*Tempo HA	1	0,000537	0,000537	0,04	0,843
Tempo sulfonação*Tempo HA	1	0,004160	0,004160	0,32	0,586
Interações de 3 fatores	1	0,019644	0,019644	1,52	0,252
Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA	1	0,019644	0,019644	1,52	0,252
Erro	8	0,103123	0,012890		
Total	15	0,233758			

Sumário do Modelo

S	R2	R2(aj)	R2(pred)
0,113536	55,88%	17,28%	0,00%

Equação de Regressão em Unidades Não codificadas

$$\begin{aligned} \%GS = & 0,6246 - 0,0014 \text{ Tempo liofilização} - 0,0437 \text{ Tempo sulfonação} + 0,0679 \text{ Tempo HA} \\ & - 0,0110 \text{ Tempo liofilização*Tempo sulfonação} + 0,0058 \text{ Tempo liofilização*Tempo HA} \\ & + 0,0161 \text{ Tempo sulfonação*Tempo HA} \\ & - 0,0350 \text{ Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA} \end{aligned}$$

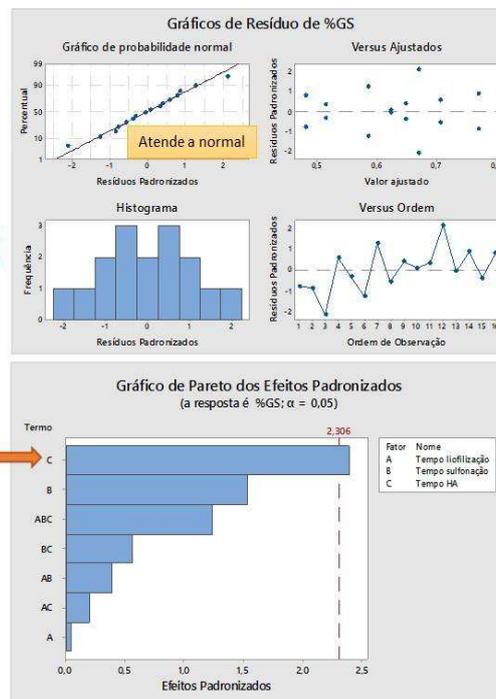


Figura 41 – Regressão fatorial para o percentual de grau de sulfonação.

Na análise da regressão fatorial para % grau de sulfonação, Figura 41, percebe-se que o único parâmetro significativo foi o tempo para incorporação da HA, contudo o R^2 apresentou um valor mediano (55,88). Fato semelhante ocorreu para o % de massa, Figura 43, que teve um R^2 igual a 53,06%.

Contudo na análise da regressão fatorial para o ângulo de contato, Figura 42, percebe-se o melhor ajuste dos fatores com um valor de R^2 mais alto (66,88%). O parâmetro mais significativo foi a interação entre o tempo de sulfonação e o tempo para incorporação da HA, o que demonstra uma interdependência entre eles. Corroborando assim os resultados de Mahjoubi *et al.* (2017), o qual verificou que quanto maior for o tempo de sulfonação maior será a molhabilidade e caso ocorra aglomerados de HA na matriz, pode ocasionar a redução desta propriedade.

Regressão Fatorial: ângulo de contato x parâmetros de processo

Análise de Variância

Fonte	GL	SQ (Aj.)	QM (Aj.)	Valor F	Valor-P
Modelo	7	181,403	25,9148	2,31	0,132
Linear	3	35,856	11,9519	1,06	0,417
Tempo liofilização	1	29,972	29,9720	2,67	0,141
Tempo sulfonação	1	4,222	4,2217	0,38	0,557
Tempo HA	1	1,662	1,6620	0,15	0,710
Interações de 2 fatores	3	145,501	48,5002	4,32	0,043
Tempo liofilização*Tempo sulfonação	1	15,955	15,9547	1,42	0,267
Tempo liofilização*Tempo HA	1	35,782	35,7823	3,19	0,112
Tempo sulfonação*Tempo HA	1	93,764	93,7637	8,35	0,020
Interações de 3 fatores	1	0,047	0,0470	0,00	0,950
Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA	1	0,047	0,0470	0,00	0,950
Erro	8	89,819	11,2274		
Total	15	271,223			

Sumário do Modelo

S	R2	R2(aj)	R2(pred)
3,35074	66,88%	37,91%	0,00%

Equação de Regressão em Unidades Não codificadas

$$\begin{aligned} \text{Ang contato} = & 27,286 - 1,369 \text{ Tempo liofilização} + 0,514 \text{ Tempo sulfonação} + 0,322 \text{ Tempo HA} \\ & + 0,999 \text{ Tempo liofilização*Tempo sulfonação} + 1,495 \text{ Tempo liofilização*Tempo HA} \\ & - 2,421 \text{ Tempo sulfonação*Tempo HA} \\ & - 0,054 \text{ Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA} \end{aligned}$$

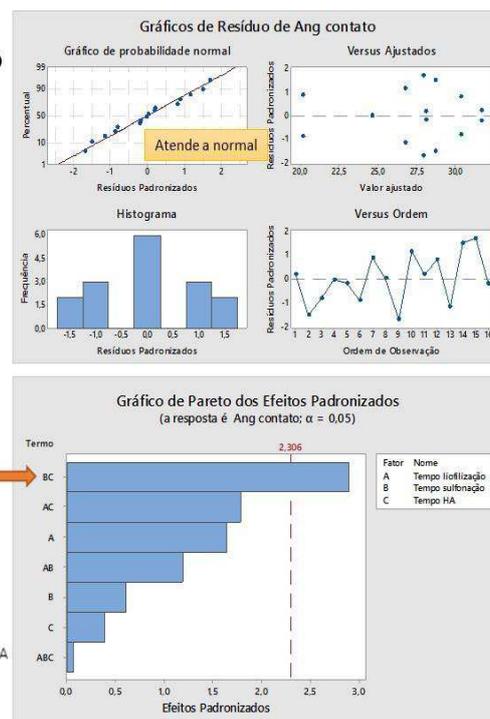


Figura 42 – Regressão fatorial para o ângulo de contato.

Na análise da regressão fatorial para percentual de massa, Figura 43, percebe-se que o fator mais significativo foi a interação entre os 3 parâmetros (tempo de sulfonação, tempo de incorporação de HA e tempo de liofilização).

As equações de regressão onde se correlaciona cada variável resposta com os parâmetros de processo analisados, Figura 41 a 43, podem ser utilizadas para predição. Inserindo-se o valor de cada parâmetro na equação, pode-se calcular o valor médio de resposta. Isso será de grande importância para estudos futuros, otimizando-se tempo e recurso.

Regressão Fatorial: %PM x parâmetros de processo

Análise de Variância

Fonte	GL	SQ (Aj.)	QM (Aj.)	Valor F	Valor-P
Modelo	7	0,016698	0,002385	1,29	0,361
Linear	3	0,005670	0,001890	1,02	0,432
Tempo liofilização	1	0,004796	0,004796	2,60	0,146
Tempo sulfonação	1	0,000216	0,000216	0,12	0,741
Tempo HA	1	0,000658	0,000658	0,36	0,567
Interações de 2 fatores	3	0,000888	0,000296	0,16	0,920
Tempo liofilização*Tempo sulfonação	1	0,000402	0,000402	0,22	0,653
Tempo liofilização*Tempo HA	1	0,000416	0,000416	0,23	0,648
Tempo sulfonação*Tempo HA	1	0,000070	0,000070	0,04	0,851
Interações de 3 fatores	1	0,010140	0,010140	5,49	0,047
Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA	1	0,010140	0,010140	5,49	0,047
Erro	8	0,014775	0,001847		
Total	15	0,031473			

Sumário do Modelo

S	R2	R2(aj)	R2(pred)
0,0429751	53,06%	11,98%	0,00%

Equação de Regressão em Unidades Não codificadas

$$\begin{aligned} \%PM = & 0,1021 + 0,0173 \text{ Tempo liofilização} + 0,0037 \text{ Tempo sulfonação} - 0,0064 \text{ Tempo HA} \\ & + 0,0050 \text{ Tempo liofilização*Tempo sulfonação} - 0,0051 \text{ Tempo liofilização*Tempo HA} \\ & + 0,0021 \text{ Tempo sulfonação*Tempo HA} \\ & - 0,0252 \text{ Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA} \end{aligned}$$

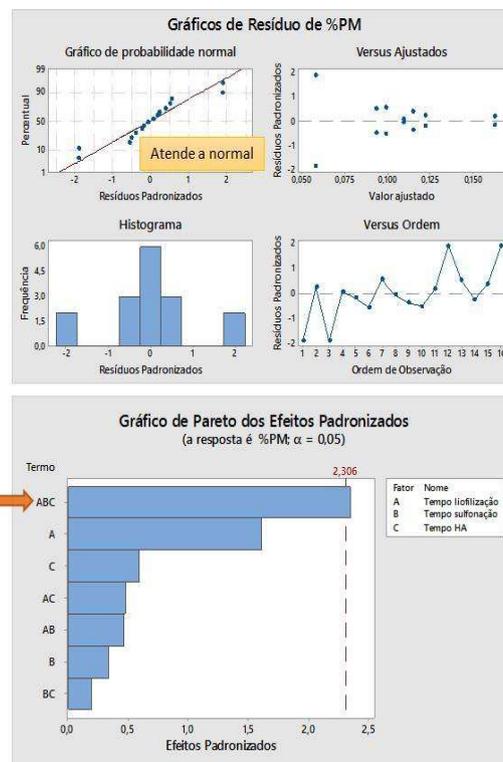


Figura 43 – Regressão fatorial para o percentual de massa.

O planejamento foi realizado com o intuito de aplicação das membranas para biomateriais, buscou-se assim a melhor combinação das seguintes respostas: maior grau de sulfonação, menor ângulo de contato e maior perda de massa. Isso devido ao fato da maior sulfonação e maior perda de massa referente ao grupo sulfona permitirem uma maior absorção de água (menor ângulo de contato), consequentemente facilitando a trabalhabilidade do material (Mahjoubi *et al.*, 2017).

Assim, a Figura 44 apresenta o estudo de otimização das variáveis resposta (maior %GS, menor ângulo, maior %PM).

Solução

Solução	Tempo liofilização	Tempo sulfonação	Tempo HA	%PM Ajuste	Ang contato Ajuste	%GS Ajuste	Desirability Composta
1	-1	1	1	0,1094	24,6302	0,706639	0,619308

Predição de Múltiplas Respostas

Variável	Configuração			
Tempo liofilização	-1			
Tempo sulfonação	1			
Tempo HA	1			
Resposta	Ajuste	EP do Ajustado	IC de 95%	IP de 95%
%PM	0,1094	0,0304	(0,0393; 0,1795)	(-0,0120; 0,2308)
Ang contato	24,63	2,37	(19,17; 30,09)	(15,17; 34,09)
%GS	0,7066	0,0803	(0,5215; 0,8918)	(0,3860; 1,0273)

Figura 44 – Otimização de resposta para as variáveis resposta.

O melhor resultado de parâmetros foi: tempo de liofilização de 24 h, o que contribui na redução do tempo total da metodologia e no menor consumo de energia do equipamento; maior tempo de sulfonação (3 h) e para incorporação de hidroxiapatita (1,5 h após o início da reação de sulfonação), corroborando com os estudos da literatura (Zhou e Lee, 2011; Almasi *et al.*, 2014; Kalambettu e Dharmalingam, 2014). Evidenciando-se assim que a melhor amostra e duplicata foram a E7 e E15.

4.1.2.1 Estudo de absorção de água

Visando um maior aprofundamento do estudo de hidrofiliabilidade das amostras de PEEK sulfonado com incorporação de hidroxiapatita, foi realizado o ensaio de TGA para o estudo de absorção de água na melhor amostra E7 após esta ter sido exposta à umidade por 24 h.

Na Figura 45 é apresentada a análise de TGA da amostra E7 antes e depois de exposta à umidade.

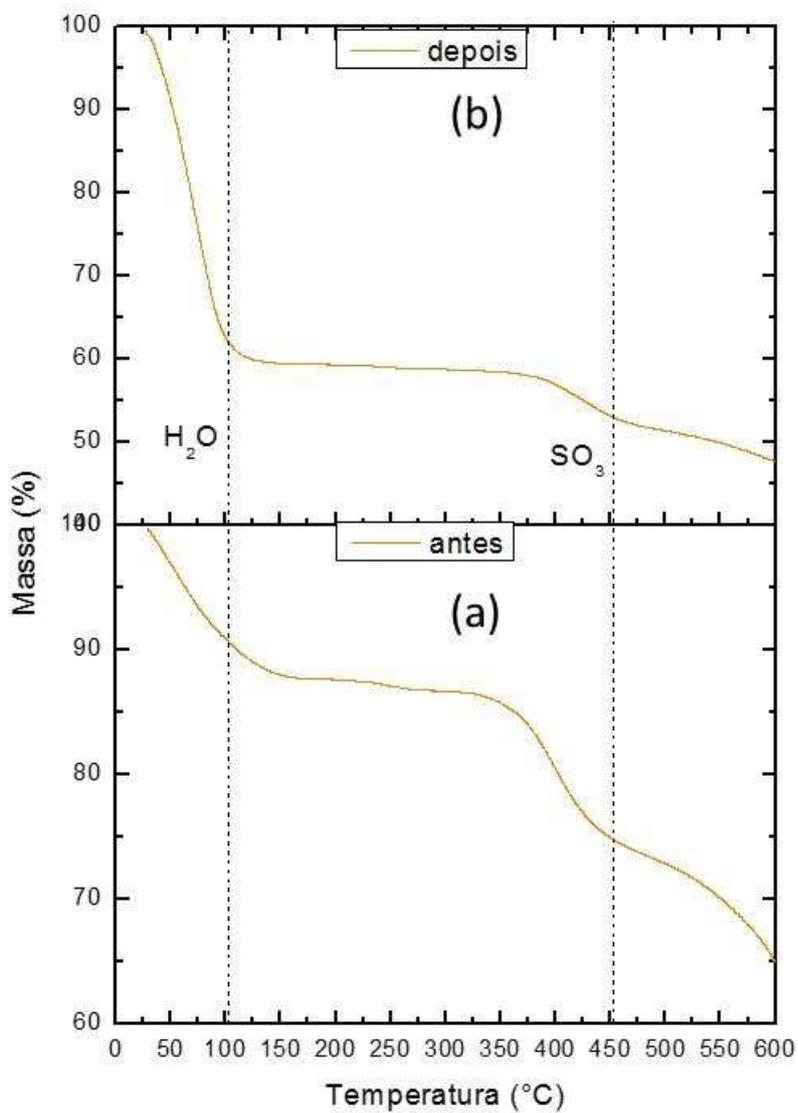


Figura 45 – Análise de TGA da amostra E7, (a) antes e (b) depois, de exposta à umidade.

Na Tabela 11 são apresentados os valores aproximados da perda de massa, temperatura e massa residual relativos às etapas de decomposição térmica para a amostra E7, antes e depois de exposta à umidade

Tabela 11 – Valores aproximados da perda de massa, temperatura e massa residual relativos às etapas de decomposição térmica para a amostra E7, antes e depois de exposta à umidade.

Amostras	1ª Etapa		2ª Etapa		3ª Etapa		Resíduo
	m (%)	T (°C)	m (%)	T (°C)	m (%)	T (°C)	m (%)
E7 antes de exposta	12,15	28-188	13,34	305-487	9,02	487-603	64,49
E7 após exposta	39,64	30-190	7,50	307-505	2,21	505-600	50,65

Percebe-se que a perda ocorrida entre 30 e 100 °C, devido à remoção de moléculas de água absorvida pelo material, houve um aumento de 27,49% nesse poder de absorção de água quando comparada a perda antes e depois da exposição.

A segunda etapa de degradação térmica variou de 300 até 505 °C, caracterizada pela remoção de grupos de ácido sulfônico. Contudo percebe-se uma diferença menor de 6,86% na perda, quando se compara o antes e depois da exposição. Provavelmente, pelo maior tempo de exposição à umidade, o grupo –OH do grupo sulfona reagiu mais com água do ambiente, demonstrando assim a importância da proteção da amostra quanto a locais úmidos. O terceiro estágio de degradação térmica, variando de 500 a 600 °C, foi atribuído à degradação da cadeia principal do PEEK.

Evidenciou-se conforme Tabela 11, que a amostra apresentou um resíduo após o ensaio de TGA, visando um aprofundamento do estudo, foi realizado um ensaio de FTIR deste resíduo comparando-o com o da amostra antes do TGA. Na Figura 46 são apresentados os espectros FTIR da amostra E7 antes e após (resíduo) o TGA.

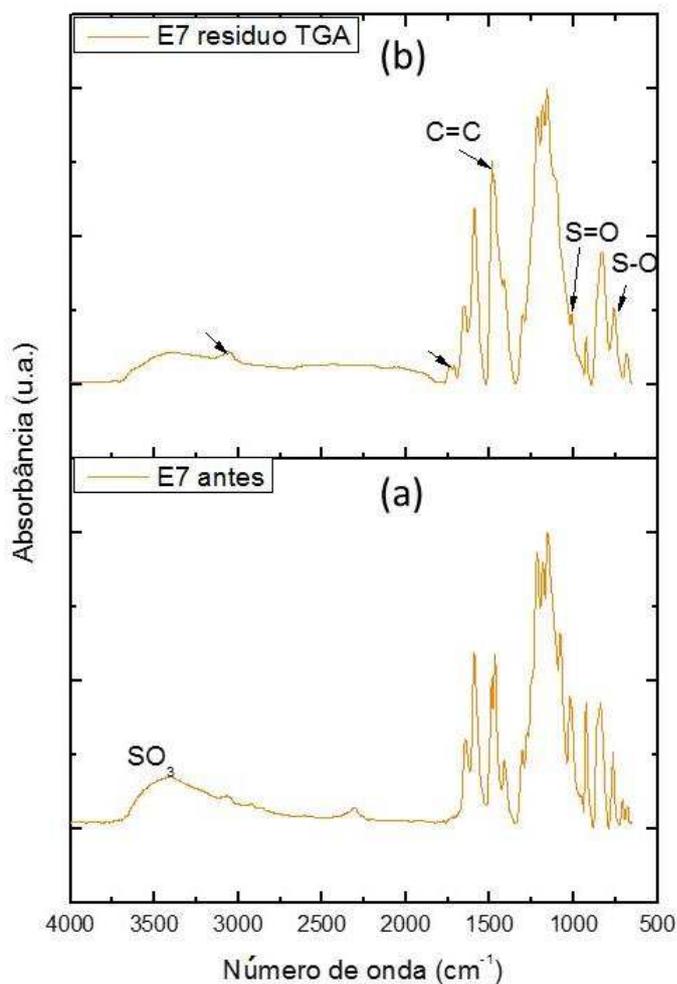


Figura 46 – Espectros FTIR da amostra E7; (a) antes e (b) após (resíduo) o ensaio de TGA.

Percebe-se que no resíduo a banda em 3397 cm^{-1} proveniente da sulfonação reduziu sua altura, ocorrendo o aparecimento de novas bandas em 3054 e 1743 cm^{-1} . Além disso, ocorreu um estiramento maior em 1471 cm^{-1} referente ao anel aromático e uma redução da altura das bandas em 1021 e 707 cm^{-1} referente aos grupos S=O e S-O. Demonstrando assim, uma degradação maior das bandas características da sulfonação após o ensaio de TGA.

4.1.2.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise de DSC foi realizada com o objetivo de observar as transições de fases da melhor amostra de SPEEK+HA do planejamento experimental. Na Figura 47 é apresentada a curva de DSC para amostra E7 do planejamento experimental.

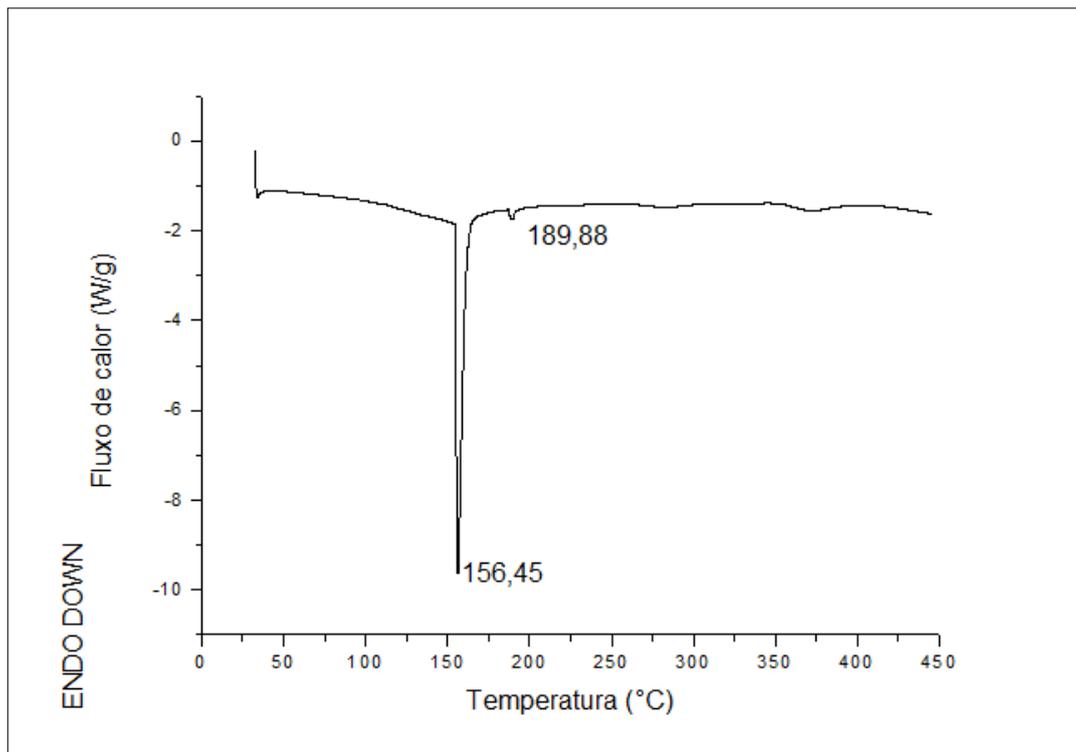


Figura 47 – Curva DSC para amostra E7 do planejamento experimental.

Na Figura 47, observa-se a presença de um pico endotérmico em 156,45 e 189,88 °C, representando a temperatura de transição vítrea (T_g) e a temperatura de recristalização (T_c), estas se apresentam mais altas que as reportadas na literatura por Lai *et al.* (2007), (Fan *et al.*, 2004; Victrex, 2015), 143 e 150 °C respectivamente, fato influenciado pela existência da hidroxiapatita. A presença do pico mais estreito correspondente a materiais cristalinos, também tem a influência da cristalinidade da HA presente na amostra.

4.1.2.3 Citotoxicidade

O ensaio de viabilidade celular foi realizado na melhor amostra do planejamento experimental (SPEEK+HA liofilizada), pois ainda não havia sido testada. E o ensaio foi realizado na amostra E15, pois é a duplicata da E7 que já havia sido utilizada para o ensaio do estudo de absorção de água.

Na Figura 48 é apresentado o gráfico de viabilidade celular para a melhor amostra do planejamento experimental, E15.

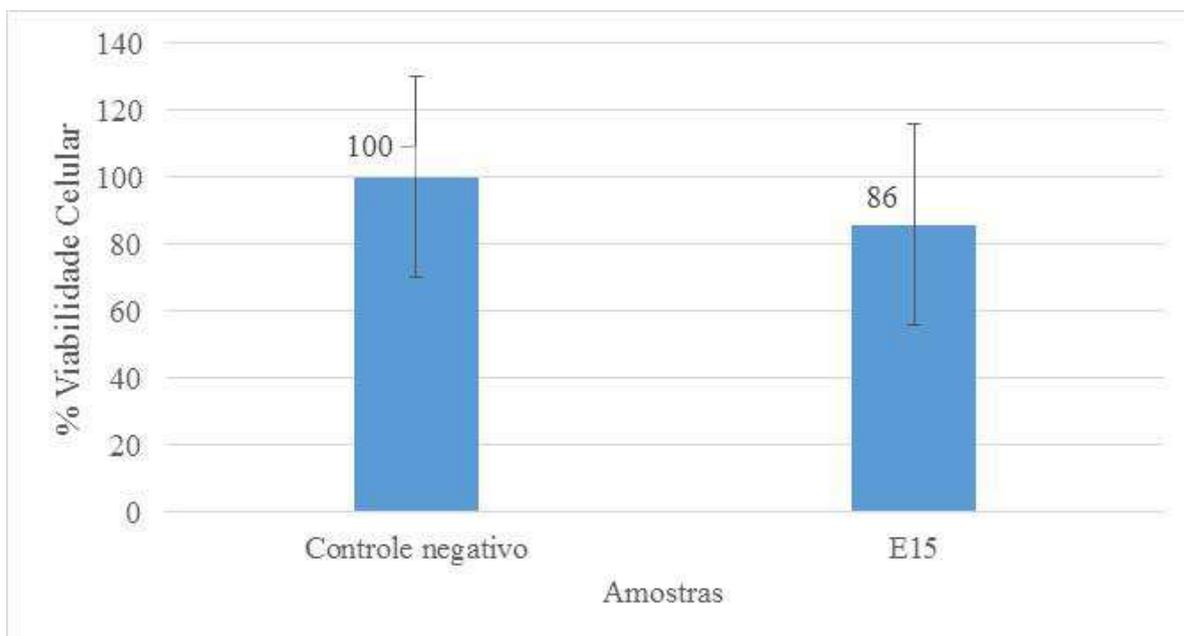


Figura 48 – Gráfico de viabilidade celular para a melhor amostra E15 do planejamento experimental.

Percebe-se que a amostra apresentou viabilidade celular acima de 70% conforme especificado na norma BS EN ISO 10993-5:2009, embora sua variabilidade seja alta e o valor mínimo fique um pouco abaixo do especificado.

4.1.2.4 Adesão celular

Na Figura 49 é apresentado MEV da amostra de melhor resultado E15 do planejamento experimental com e sem recobrimento de células.

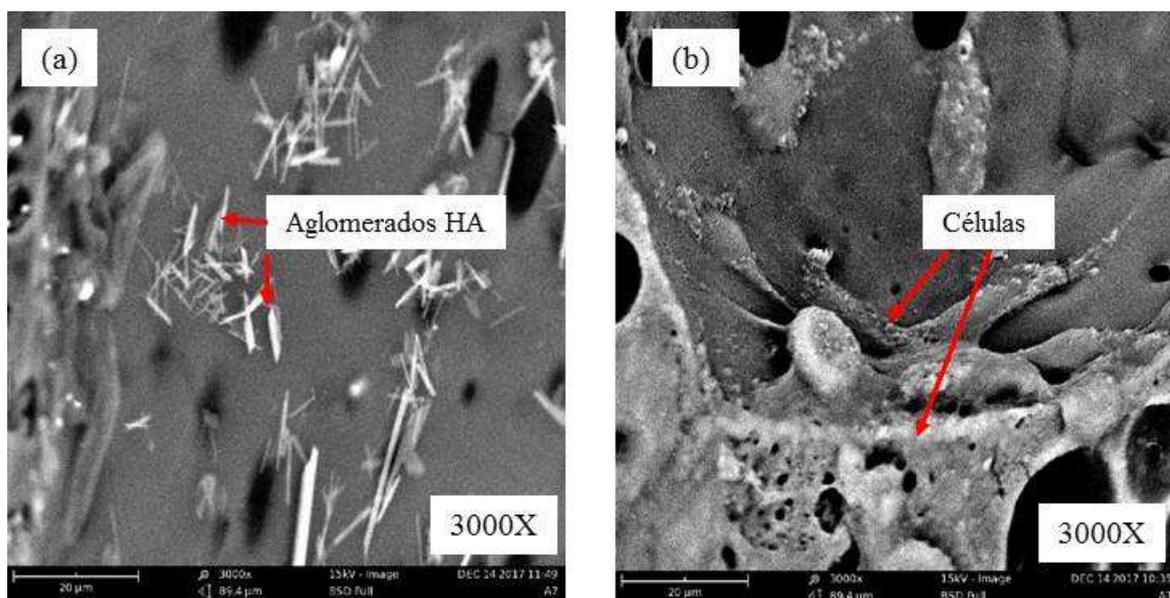


Figura 49 – MEV da amostra de melhor resultado no planejamento experimental E15: (a) SPEEK+HA liofilizada sem recobrimento; (b) SPEEK+HA liofilizada com recobrimento.

Evidencia-se a adesão e crescimento das células em formato de teia aderidas à superfície do polímero na amostra E15.

Comprovando-se assim, após a verificação da viabilidade celular e da provável adesão das células, a possibilidade de aplicação da membrana do tipo SPEEK+HA liofilizada como biomaterial.

5 CONCLUSÃO

Os resultados na fase exploratória demonstraram que o melhor método testado foi a adição do PEEK durante agitação, a membrana liofilizada apresenta um melhor comportamento para aplicação em biomateriais, a hidroxiapatita teve melhor resultado quando adicionada ainda sob agitação, a lavagem deve ser mais cuidadosa para retirada do ácido residual e a secagem deve ser executada com uma menor temperatura por mais tempo em estufa.

Já no planejamento experimental foi demonstrado que a amostra 7 e 15 tiveram o melhor resultado, alcançando maior hidrofiliicidade com maior sulfonação; e os valores das temperaturas de transição vítrea e cristalização tiveram um pequeno aumento devido à presença da hidroxiapatita na amostra. Além disso, os resultados biológicos na membrana aquosa SPEEK+HA, liofilizada SPEEK e SPEEK+HA demonstraram viabilidade e adesão celular, sendo possível sua utilização para biomaterial.

Dessa forma, esta tese conseguiu-se alcançar uma metodologia para obtenção da membrana de PEEK sulfonado com incorporação de hidroxiapatita para aplicação em biomateriais, a baixo custo, menor tempo de laboratório e maior simplicidade de processamento. Contribuindo assim para o avanço das pesquisas do uso e processamento do PEEK na área de biomateriais.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Uso de membranas de SPEEK para enxertos ósseos;
- ✓ Estudo do SPEEK para encapsulamento de fármaco;
- ✓ Comparação da modificação química e física do PEEK para uso em biomateriais;
- ✓ Enxertos para próteses mamárias com SPEEK;
- ✓ Manufatura Aditiva através do processamento do pó de SPEEK para biomateriais;
- ✓ Membranas de SPEEK com colágeno ou quitosana para cicatrização de feridas superficiais.

REFERÊNCIAS

ADRIÃO, R. J. B. **Biomateriais e reacções de hipersensibilidade: um problema ortopédico?** . 2011. 53f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências da Saúde), Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal

AGUIAR, K. R.; BATALHA, G. P.; PEIXOTO, M.; RAMOS, A.; PEZZIN, S. H. Produção de membranas híbridas zirconizadas de SPEEK/Copolissilsesquioxano para aplicação em células a combustível do tipo PEM. **Polímeros**, v. 22, n. 5, p. 453-459, 2012.

ALBUQUERQUE, J. A. C. **Planeta plástico: tudo o que você precisa saber sobre plásticos**. Sagra Luzzatto, 2001. ISBN 8524106417.

ALMASI, D.; IZMAN, S.; ASSADIAN, M.; GHANBARI, M.; KADIR, M. A. Crystalline ha coating on peek via chemical deposition. **Applied Surface Science**, v. 314, p. 1034-1040, 2014.

ALMEIDA FILHO, E. D.; ASSIS, C. M. D.; VERCÍK, L. D. O.; GUASTALDI, A. C. Biomateriais: deposição de hidroxiapatita sobre superfície de Ti-cp modificada por aspersão térmica. **Química Nova**, p. 1129-1232, 2007.

AMINI, A. R.; LAURENCIN, C. T.; NUKAVARAPU, S. P. Bone tissue engineering: recent advances and challenges. **Critical Reviews™ in Biomedical Engineering**, v. 40, n. 5, 2012.

APARECIDA, A. H.; FOOK, M. V. L.; SANTOS, M. L. D.; GUASTALDI, A. C. Study of the influence of K⁺, Mg²⁺, SO₄⁽²⁻⁾ and CO₃⁽²⁻⁾ ions in the biomimetic crystallization of amorphous calcium phosphate (ACP) and conversion into octacalcium phosphate (OCP). **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 892-896, 2007.

ARCOS, D.; VALLET-REGÍ, M. Bioceramics for drug delivery. **Acta Materialia**, v. 61, n. 3, p. 890-911, 2013.

ARMENTANO, I.; DOTTORI, M.; FORTUNATI, E.; MATTIOLI, S.; KENNY, J. Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: a review. **Polymer degradation and stability**, v. 95, n. 11, p. 2126-2146, 2010.

AZEVEDO, V.; CHAVES, S.; BEZERRA, D.; LIA FOOK, M.; COSTA, A. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista eletrônica de Materiais e processos**, v. 2, n. 3, p. 27-34, 2007.

BARRIAS, C.; RIBEIRO, C.; RODRIGUES, D.; MIRANDA, S.; BARBOSA, M. A. Effect of calcium phosphate addition to alginate microspheres: modulation of enzyme release kinetics and improvement of cell adhesion. *Key Engineering Materials*, 2005, Trans Tech Publ. p.689-692.

BENETTI, C. **Estudo da reparação óssea por espectroscopia ATR-FTIR após remoção de fragmento da região mandibular com laser de Er, Cr: YSGG ou broca multilaminada**. 2014. Universidade de São Paulo

BERTRAN, C. A. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Quim Nova**, v. 23, p. 123-129, 2000.

BEST, S.; PORTER, A.; THIAN, E.; HUANG, J. Bioceramics: past, present and for the future. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 28, n. 7, p. 1319-1327, 2008.

BISPO, V. M. Estudo do efeito da reticulação por genipin em suportesbiocompatíveis de quitosana-PVA. 2009.

BLACK, J.; HASTINGS, G. **Handbook of biomaterial properties**. Springer Science & Business Media, 2013. ISBN 1461558018.

BORELLI, V. **Pesquisa e desenvolvimento de biomateriais: estudo das inter-relações científicas, tecnológicas e normativas**. 2011. Universidade de São Paulo

BORGES, A.; REZENDE, C.; RIBEIRO, M.; MELO, E.; NÓBREGA, P. Hidroxiapatita sintética como substituto ósseo em defeito experimental provocado no terço proximal da tíbia em cão: aspectos à microscopia eletrônica de transmissão. **Arq Bras Med Vet Zootec**, v. 52, n. 6, p. 616-620, 2000.

BURKARTER, E. Desenvolvimento de superfícies superhidrofóbicas de politetrafluoretileno. 2010.

BUTTON, S. T. Metodologia para planejamento experimental e análise de resultados. **São Paulo**, 2005.

CALLISTER JR, W. **Ciência e Engenharia de Materiais-Uma Introdução. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora, 2007.** ISBN 978-85-216-1595-8. 2008

CALLISTER, W. **Ciência E Engenharia de Materiais: Uma Introdução.** Grupo Gen-LTC, 2000. ISBN 8521618212.

CANEVAROLO, S. V. J. **Técnicas de caracterização de polímeros.** Artiber, 2007. ISBN 9788588098190.

CARTER, C. B.; NORTON, M. G. Ceramics in biology and medicine. **Ceramic Materials: Science and Engineering**, p. 635-651, 2007.

CHEREMISINOFF, N. P. **Polymer characterization: laboratory techniques and analysis.** William Andrew, 1996. ISBN 0815518692.

CONCEIÇÃO, T. F. D. Poli (éter éter cetona) modificado quimicamente: preparação, caracterização e obtenção de membranas de condução protônica. 2008.

DA COSTA, E.; NOVAKI, L.; TSAI, H. I.; PEREIRA, L. T. P.; DE ANDRADE, A. V. C.; SANTOS, C. D. O. P.; BORGES, C. P. F.; MARQUES, M. B.; DA CRUZ, A. C. C.; DOS SANTOS, F. A. Sinterização de biovidros na forma de partículas e do tipo espuma. 2003.

DALAPICULA, S. S.; CARDOSO, E. S.; CONZ, M. B.; VIDIGAL JUNIOR, G. M. Características físico-químicas dos biomateriais utilizados em enxertias ósseas. Uma revisão crítica. **ImplantNews**, p. 487-491, 2006.

DE SÁ, M. D.; DOS SANTOS, F. S. F.; FERREIRA, V. P.; FOOK, M. V. L. Análise química, térmica e morfológica de compostos de PEEK/CaCO₃. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 11, n. 1, 2016.

DOROZHKIN, S. V. Bioceramics of calcium orthophosphates. **Biomaterials**, v. 31, n. 7, p. 1465-1485, 2010.

FAN, J.; TSUI, C.; TANG, C.; CHOW, C. Influence of interphase layer on the overall elasto-plastic behaviors of HA/PEEK biocomposite. **Biomaterials**, v. 25, n. 23, p. 5363-5373, 2004.

FOOK, M. V. L. **Desenvolvimento de técnica de deposição de hidroxiapatita pelo método biomimético na superfície polietileno de ultra-alto peso molecular para aplicação como biomaterial**. 2005. 125f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara-SP.

GINEBRA, M.-P.; TRAYKOVA, T.; PLANELL, J. A. Calcium phosphate cements as bone drug delivery systems: a review. **Journal of controlled release**, v. 113, n. 2, p. 102-110, 2006.

GITTINGS, J.; BOWEN, C. R.; DENT, A. C.; TURNER, I. G.; BAXTER, F. R.; CHAUDHURI, J. B. Electrical characterization of hydroxyapatite-based bioceramics. **Acta Biomaterialia**, v. 5, n. 2, p. 743-754, 2009.

GONG, T.; XIE, J.; LIAO, J.; ZHANG, T.; LIN, S.; LIN, Y. Nanomaterials and bone regeneration. **Bone research**, v. 3, p. 15029, 2015.

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

GUHAN, S.; SANGEETHA, D. Evaluation of sulfonated poly (ether ether ketone) silicotungstic acid composite membranes for fuel cell applications. **International Journal of Polymeric Materials**, v. 58, n. 2, p. 87-98, 2008.

HAK, D. J. The use of osteoconductive bone graft substitutes in orthopaedic trauma. **Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons**, v. 15, n. 9, p. 525-536, 2007.

HAN, C.-M.; LEE, E.-J.; KIM, H.-E.; KOH, Y.-H.; KIM, K. N.; HA, Y.; KUH, S.-U. The electron beam deposition of titanium on polyetheretherketone (PEEK) and the

resulting enhanced biological properties. **Biomaterials**, v. 31, n. 13, p. 3465-3470, 2010.

HENCH, L. L. Bioactive materials: the potential for tissue regeneration. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 41, n. 4, p. 511-518, 1998.

HENCH, L. L.; POLAK, J. M. Third-generation biomedical materials. **Science**, v. 295, n. 5557, p. 1014-1017, 2002.

HOLANDA, A. D. Membranas de quitosana para uso em sistema de liberação controlada de insulina: síntese e caracterização. **Campina Grande: Universidade Federal de Campina Grande**, 2011.

HUANG, S.; FU, X. Naturally derived materials-based cell and drug delivery systems in skin regeneration. **Journal of Controlled Release**, v. 142, n. 2, p. 149-159, 2010.

HUTMACHER, D. W.; SCHANTZ, J. T.; LAM, C. X. F.; TAN, K. C.; LIM, T. C. State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. **Journal of tissue engineering and regenerative medicine**, v. 1, n. 4, p. 245-260, 2007.

IONASHIRO, M.; GIOLITO, I. Nomenclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica. **Cerâmica**, v. 26, n. 121, p. 17-24, 1980.

ISO. **Biological evaluation of medical devices. Tests for in vitro cytotoxicity.**: International Organization for Standardization, BS EN ISO 10993-5, 2009.

ISOLAPLAST. PEEK. 2016. Disponível em: <
http://www.isolaplast.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=91:peek&catid=38:plasticos&Itemid=143>. Acesso em: Novembro de 2016.

JAAFAR, J.; ISMAIL, A.; MUSTAFA, A. Physicochemical study of poly (ether ether ketone) electrolyte membranes sulfonated with mixtures of fuming sulfuric acid and sulfuric acid for direct methanol fuel cell application. **Materials Science and Engineering: A**, v. 460, p. 475-484, 2007.

JALILI, K.; ABBASI, F.; OSKOEI, S.; ALINEJAD, Z. Relationships between the morphology, swelling and mechanical properties of poly (dimethyl siloxane)/poly (acrylic acid) interpenetrating networks. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 2, n. 5, p. 534-541, 2009.

JIANG, R.; KUNZ, H. R.; FENTON, J. M. Investigation of membrane property and fuel cell behavior with sulfonated poly (ether ether ketone) electrolyte: temperature and relative humidity effects. **Journal of Power sources**, v. 150, p. 120-128, 2005.

JONES, D.; LEACH, D.; MOORE, D. Mechanical properties of poly (ether-ether-ketone) for engineering applications. **Polymer**, v. 26, n. 9, p. 1385-1393, 1985.

JONES, R. M. **Mechanics of composite materials**. CRC press, 1998. ISBN 156032712X.

JUDAS, F.; PALMA, P.; FALACHO, R. I.; FIGUEIREDO, H. Estrutura e dinâmica do tecido ósseo. 2012.

JUNQUEIRA, L.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica. 556**: Guanabara Koogan 2013.

KAIGLER, D.; MOONEY, D. Tissue engineering's impact on dentistry. **Journal of dental education**, v. 65, n. 5, p. 456-462, 2001.

KALAMBETTU, A.; DHARMALINGAM, S. Fabrication and in vitro evaluation of Sulphonated Polyether Ether Ketone/nano Hydroxyapatite composites as bone graft materials. **Materials Chemistry and Physics**, v. 147, n. 1, p. 168-177, 2014.

KAMIL, S.; KOJIMA, K.; VACANTI, M.; ZAPOROJAN, V.; VACANTI, C.; EAVEY, R. Tissue engineered cartilage: utilization of autologous serum and serum-free media for chondrocyte culture. **International journal of pediatric otorhinolaryngology**, v. 71, n. 1, p. 71-75, 2007.

KANAZAWA, T. **Inorganic phosphate materials**. Elsevier Science Ltd, 1989. ISBN 0444988807.

KASEMO, B.; LAUSMAA, J. Material-tissue interfaces: the role of surface properties and processes. **Environmental health perspectives**, v. 102, n. Suppl 5, p. 41, 1994.

KATTI, K. S. Biomaterials in total joint replacement. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 39, n. 3, p. 133-142, 2004.

KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C. A.; DOS REIS, R. R.; ALVES, O. L. Bioceramics: Tendencies And Perspectives Of An Interdisciplinary Area [biocerâmicas: Tendências E Perspectivas De Uma área Interdisciplinar]. **Química Nova**, 2000.

KERSTEN, R. F. M. R.; VAN GAALEN, S. M.; DE GAST, A.; ÖNER, F. C. Polyetheretherketone (PEEK) cages in cervical applications: a systematic review. **The Spine Journal**, v. 15, n. 6, p. 1446-1460, 2015.

KETTERMANN, V. PEEK: O polímero de alta performance. 2016. Disponível em: <<http://engenheirodemateriais.com.br/2016/05/04/peek-o-polimero-de-alta-performance/>>. Acesso em: Novembro de 2016.

KIM, H.-W.; KNOWLES, J. C.; KIM, H.-E. Hydroxyapatite porous scaffold engineered with biological polymer hybrid coating for antibiotic Vancomycin release. **Journal of materials science: materials in medicine**, v. 16, n. 3, p. 189-195, 2005.

KURTZ, S. M. **PEEK biomaterials handbook**. William Andrew, 2012. ISBN 143774463X.

KURTZ, S. M.; DEVINE, J. N. PEEK biomaterials in trauma, orthopedic, and spinal implants. **Biomaterials**, v. 28, n. 32, p. 4845-69, Nov 2007.

LACERDA, K. A.; LAMEIRAS, F. S.; SILVA, V. V. Evaluation of the biodegradation of porous hydroxyapatite matrices for application as radioactive sources in brachytherapy. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1216-1221, 2009.

LAI, Y.-H.; KUO, M.; HUANG, J.; CHEN, M. On the PEEK composites reinforced by surface-modified nano-silica. **Materials Science and Engineering: A**, v. 458, n. 1, p. 158-169, 2007.

LAKSHMI, R. M.; CHOUDHARY, V.; VARMA, I. Sulphonated poly (ether ether ketone): Synthesis and characterisation. **Journal of materials science**, v. 40, n. 3, p. 629-636, 2005.

LAMBERT, R.; PEREIRA, M.; MANSUR, H. Biomateriais; fundamento e aplicações. **Rio de Janeiro: Cultura Médica**, 2006.

LANZA, R.; LANGER, R.; VACANTI, J. P. **Principles of tissue engineering**. Academic press, 2011. ISBN 0080548849.

LIMA, M. S. C. F. D. **Resposta térmica de um compósito PEEK+ PTFE+ Fibra de carbono+ grafite**. 2012. 137 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Materiais; Projetos Mecânicos; Termociências), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN.

LU, Q.; YANG, Z.; LI, X.; JIN, S. Synthesis, morphology, and melting behavior of poly (ether ether ketone) of different molecular weights. **Journal of applied polymer science**, v. 114, n. 4, p. 2060-2070, 2009.

MAHJOUBI, H.; BUCK, E.; MANIMUNDA, P.; FARIVAR, R.; CHROMIK, R.; MURSHED, M.; CERRUTI, M. Surface phosphonation enhances hydroxyapatite coating adhesion on polyetheretherketone and its osseointegration potential. **Acta biomaterialia**, v. 47, p. 149-158, 2017.

MARINS, L. V.; CESTARI, T. M.; SOTTOVIA, A. D.; GRANJEIRO, J. M.; TAGA, R. Radiographic and histological study of perennial bone defect repair in rat calvaria after treatment with blocks of porous bovine organic graft material. **Journal of applied oral science**, v. 12, n. 1, p. 62-69, 2004.

MARK, H. F.; BIKALES, N.; OVERBERGER, C. G.; MENGES, G.; KROSCWITZ, J. I. **Encyclopedia of polymer science and engineering**. JOHN WILEY REFERENCE, 1989. ISBN 0471811823.

MARTÍN, C. BIOMATERIALES DE NATURALEZA INORGÁNICA: METALES, ALEACIONES Y CERÁMICAS. 2005. Disponível em: < <http://www.analesranf.com/index.php/discurso/article/view/802/767> >. Acesso em: Novembro de 2016.

MAVROPOULOS, E. **A hidroxiapatita como absorvedor de metais**. 1999.

MAZUR, R. L.; BOTELHO, E. C.; COSTA, M. L.; REZENDE, M. C. Avaliações térmica e reológica da matriz termoplástica PEKK utilizada em compósitos aeronáuticos. **Polímeros**, p. 237-243, 2008.

MEYERS, S. R.; KHOO, X.; HUANG, X.; WALSH, E. B.; GRINSTAFF, M. W.; KENAN, D. J. The development of peptide-based interfacial biomaterials for generating biological functionality on the surface of bioinert materials. **Biomaterials**, v. 30, n. 3, p. 277-286, 2009.

MOHAN, D.; NICA, D. A.; MOHAN, A.; FEDER, B.; CIUREA, A. V. New Concept in Cranioplasty Based on Biomaterials Performance in Various Clinical Cases. **Key Engineering Materials**, v. 695, p. 185-188, 2016.

MONTERO, J. F.; TAJIRI, H. A.; BARRA, G. M.; FREDEL, M. C.; BENFATTI, C. A.; MAGINI, R. S.; PIMENTA, A. L.; SOUZA, J. C. Biofilm behavior on sulfonated poly (ether-ether-ketone)(sPEEK). **Materials Science and Engineering: C**, v. 70, p. 456-460, 2017.

MORENO, M.; AMARAL, M. H.; LOBO, J. M. S.; SILVA, A. C. Scaffolds for Bone Regeneration: State of the Art. **Current Pharmaceutical Design**, v. 22, n. 18, p. 2726-2736, 2016.

NAJEEB, S.; ZAFAR, M. S.; KHURSHID, Z.; SIDDIQUI, F. Applications of polyetheretherketone (PEEK) in oral implantology and prosthodontics. **Journal of prosthodontic Research**, v. 60, n. 1, p. 12-19, 2016.

NAKAMURA, H.; NAKAMURA, T.; NOGUCHI, T.; IMAGAWA, K. Photodegradation of PEEK sheets under tensile stress. **Polymer degradation and stability**, v. 91, n. 4, p. 740-746, 2006.

O'REILLY, E. B.; BARNETT, S.; MADDEN, C.; WELCH, B.; MICKEY, B.; ROZEN, S. Computed-tomography modeled polyether ether ketone (PEEK) implants in revision cranioplasty. **Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery**, v. 68, n. 3, p. 329-338, 2015.

OKADA, M.; FURUZONO, T. Hydroxylapatite nanoparticles: fabrication methods and medical applications. **Science and technology of advanced materials**, v. 13, n. 6, p. 064103, 2012.

OONISHI, H.; HENCH, L.; WILSON, J.; SUGIHARA, F.; TSUJI, E.; KUSHITANI, S.; IWAKI, H. Comparative bone growth behavior in granules of bioceramic materials of various sizes. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 44, n. 1, p. 31-43, 1999.

PADILHA, A. F.; AMBROZIO FILHO, F. **Técnicas de análise microestrutural**. Hemus Leonardo, 2014. ISBN 108528905160.

PARK, J.; LAKES, R. S. **Biomaterials: an introduction**. Springer Science & Business Media, 2007. ISBN 0387378804.

PARK, J. B. **Biomaterials: an introduction**. Plenum Publishing Corporation, 1979. ISBN 0306401037.

PAUL, W.; SHARMA, C. P. Porous hydroxyapatite nanoparticles for intestinal delivery of insulin. **Trends in Biomaterials & Artificial Organs**, v. 14, n. 2, 2001.

PEDROSA, A. S. D. M. **Influência da polarização eléctrica no crescimento de hidroxiapatite para implantes ósseos**. 2011. Faculdade de Ciências e Tecnologia

PEREIRA, A. P. V.; VASCONCELOS, W. L.; ORÉFICE, R. L. Novos biomateriais: híbridos orgânico-Inorgânicos bioativos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 9, n. 4, p. 104-109, 1999.

PETERSON, D. R.; BRONZINO, J. D. **Biomechanics: principles and applications**. CRC press, 2007. ISBN 1420008196.

PHAN, K.; HOGAN, J. A.; ASSEM, Y.; MOBBS, R. J. PEEK-Halo effect in interbody fusion. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 24, p. 138-140, 2016.

RAGHAVENDRA, G.; VARAPRASAD, K.; JAYARAMUDU, T. Chapter 2– Biomaterials: Design development and biomedical applications. **Nanotechnology applications for tissue engineering**, p. 21-44, 2015.

RAMAKRISHNA, S.; MAYER, J.; WINTERMANTEL, E.; LEONG, K. W. Biomedical applications of polymer-composite materials: a review. **Composites science and technology**, v. 61, n. 9, p. 1189-1224, 2001.

RATNER, B.; HOFFMAN, A.; SCHOEN, F.; LEMONS, J. Introduction-biomaterials science: An evolving, multidisciplinary endeavor. **Biomaterials science**, v. 3, 2013.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E. **Biomaterials science: an introduction to materials in medicine**. Academic press, 2004. ISBN 008047036X.

REGO, B. T. **Avaliação do comportamento mecânico de nanocompósito de PEEK/nHA sob curta e longa duração para aplicação como biomaterial**. 2012. 168 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP.

RIBEIRO, L. Í. D. A. Estudo da implantação in vivo de biomateriais compósitos de fosfato de cálcio e polímeros. 2014.

ROSENGREN, Å.; OSCARSSON, S.; MAZZOCCHI, M.; KRAJEWSKI, A.; RAVAGLIOLI, A. Protein adsorption onto two bioactive glass-ceramics. **Biomaterials**, v. 24, n. 1, p. 147-155, 2003.

SADAT-SHOJAI, M.; KHORASANI, M.-T.; DINPANAH-KHOSHDARGI, E.; JAMSHIDI, A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. **Acta biomaterialia**, v. 9, n. 8, p. 7591-7621, 2013.

SAHDEV, P.; PODARALLA, S.; KAUSHIK, R. S.; PERUMAL, O. Calcium phosphate nanoparticles for transcutaneous vaccine delivery. **Journal of biomedical nanotechnology**, v. 9, n. 1, p. 132-141, 2013.

SIDDIQ, A. R.; KENNEDY, A. R. Porous poly-ether ether ketone (PEEK) manufactured by a novel powder route using near-spherical salt bead porogens:

Characterisation and mechanical properties. **Materials Science and Engineering: C**, v. 47, p. 180-188, 2015.

SUNDAR, S. S.; SANGEETHA, D. Investigation on sulphonated PEEK beads for drug delivery, bioactivity and tissue engineering applications. **Journal of Materials Science**, v. 47, n. 6, p. 2736-2742, 2012.

TABATA, Y. Biomaterial technology for tissue engineering applications. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 6, n. Suppl 3, p. S311-S324, 2009.

THOMAZINI, A. H. A. **Desenvolvimento de estruturas porosas de polietileno de ultra alto peso molecular (PEUAPM) recobertas com apatitas para substituição e regeneração óssea**. 2009. 141 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, UNESP, São Paulo-SP.

VACANTI, C. A.; BONASSAR, L. J.; VACANTI, M. P.; SHUFFLEBARGER, J. Replacement of an avulsed phalanx with tissue-engineered bone. **New England Journal of Medicine**, v. 344, n. 20, p. 1511-1514, 2001.

VACCARO, A. R.; SINGH, K.; HAID, R.; KITCHEL, S.; WUISMAN, P.; TAYLOR, W.; BRANCH, C.; GARFIN, S. The use of bioabsorbable implants in the spine. **The Spine Journal**, v. 3, n. 3, p. 227-237, 2003.

VALLE, M. R. D. D. **Análise morfométrica das fibras colágenas e reticulínicas na extrofia vesical**. 2004. Universidade de São Paulo

VICTREX. **PEEK Properties Guide**. Lancashire 2015.

VOGEL, M.; VOIGT, C.; GROSS, U. M.; MÜLLER-MAI, C. M. In vivo comparison of bioactive glass particles in rabbits. **Biomaterials**, v. 22, n. 4, p. 357-362, 2001.

WANG, J.; WU, D.; ZHANG, Z.; LI, J.; SHEN, Y.; WANG, Z.; LI, Y.; ZHANG, Z.-Y.; SUN, J. Biomimetically Ornamented Rapid Prototyping Fabrication of an Apatite–Collagen–Polycaprolactone Composite Construct with Nano–Micro–Macro Hierarchical Structure for Large Bone Defect Treatment. **ACS applied materials & interfaces**, v. 7, n. 47, p. 26244-26256, 2015.

WANG, M. Developing bioactive composite materials for tissue replacement. **Biomaterials**, v. 24, n. 13, p. 2133-2151, 2003.

WANG, M.; TANG, S.-J.; MCGRADY, L. M.; RAO, R. D. Biomechanical comparison of supplemental posterior fixations for two-level anterior lumbar interbody fusion. **Journal of Engineering in Medicine**, p. 227-245, 2012.

WILLIAMS, D. F. **Definitions in biomaterials: proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials**. Elsevier Science Limited, 1987. ISBN 0444428585.

WILLIAMS, R. **Surface modification of biomaterials: Methods analysis and applications**. Elsevier, 2010. ISBN 0857090763.

XING, P.; ROBERTSON, G. P.; GUIVER, M. D.; MIKHAILENKO, S. D.; WANG, K.; KALIAGUINE, S. Synthesis and characterization of sulfonated poly (ether ether ketone) for proton exchange membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 229, n. 1, p. 95-106, 2004.

XU, N.; YE, X.; WEI, D.; ZHONG, J.; CHEN, Y.; XU, G.; HE, D. 3D artificial bones for bone repair prepared by computed tomography-guided fused deposition modeling for bone repair. **ACS applied materials & interfaces**, v. 6, n. 17, p. 14952-14963, 2014.

YANG, F.; NEELEY, W. L.; MOORE, M. J.; KARP, J. M.; SHUKLA, A.; LANGER, R. Tissue engineering: the therapeutic strategy of the twenty-first century. **Nanotechnology and Tissue Engineering The Scaffold Based Approach**. Wiley-VCH Verlag, p. 1-65, 2014.

ZAIDI, S. J.; MIKHAILENKO, S. D.; ROBERTSON, G.; GUIVER, M.; KALIAGUINE, S. Proton conducting composite membranes from polyether ether ketone and heteropolyacids for fuel cell applications. **Journal of Membrane Science**, v. 173, n. 1, p. 17-34, 2000.

ZHANG, J.; LIU, W.; SCHNITZLER, V.; TANCRET, F.; BOULER, J.-M. Calcium phosphate cements for bone substitution: chemistry, handling and mechanical properties. **Acta biomaterialia**, v. 10, n. 3, p. 1035-1049, 2014.

ZHANG, Y.; ZUO, K.; ZENG, Y.-P. Effects of gelatin addition on the microstructure of freeze-cast porous hydroxyapatite ceramics. **Ceramics International**, v. 35, n. 6, p. 2151-2154, 2009.

ZHAO, Y.; WONG, H. M.; WANG, W.; LI, P.; XU, Z.; CHONG, E. Y.; YAN, C. H.; YEUNG, K. W.; CHU, P. K. Cytocompatibility, osseointegration, and bioactivity of three-dimensional porous and nanostructured network on polyetheretherketone. **Biomaterials**, v. 34, n. 37, p. 9264-9277, 2013.

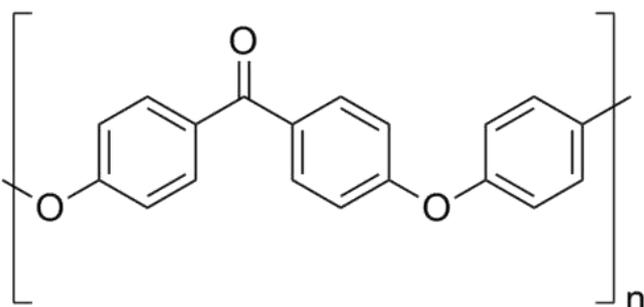
ZHOU, H.; LEE, J. Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering. **Acta biomaterialia**, v. 7, n. 7, p. 2769-2781, 2011.

ZORZIN, J.; MAIER, E.; HARRE, S.; FEY, T.; BELLI, R.; LOHBAUER, U.; PETSCHERT, A.; TASCHNER, M. Bulk-fill resin composites: polymerization properties and extended light curing. **Dental materials**, v. 31, n. 3, p. 293-301, 2015.

APÊNDICE

1 - Cálculo Teórico da Quantidade de Materiais

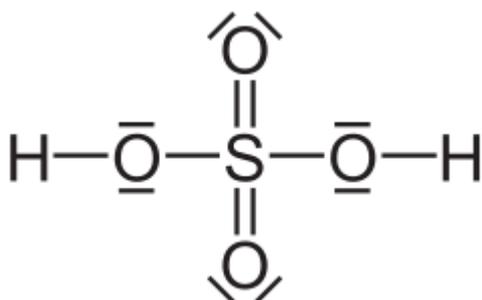
PEEK



$C_{19}H_{12}O_3$ – massa molar do PEEK = 288,29 g/mol

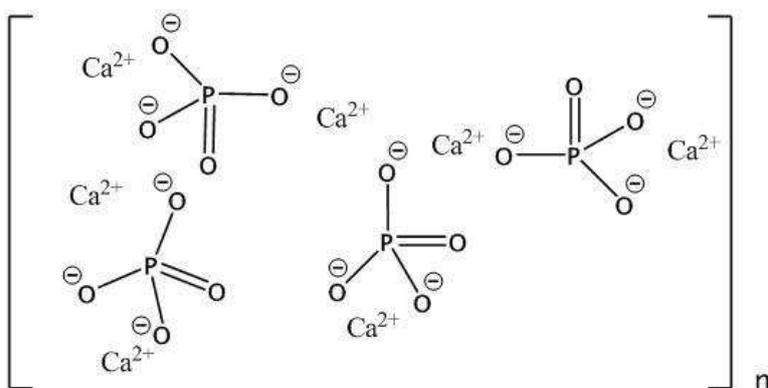
Segundo Kurtz, a massa molar média da cadeia de PEEK = 100.000 g/mol ou u.m.a. (valor teórico).

Ácido sulfúrico



H_2SO_4 – massa molar do ácido sulfúrico = 98,077 g/mol

Hidroxiapatita (HA)



$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ – massa molar da HA = 1004,61 g/mol

a. Cálculo da quantidade de ácido sulfúrico para 2 gramas de PEEK:

$$\text{Grau de polimerização (n)} = \frac{\text{massa molar média da cadeia}}{\text{massa molar do monômero}}$$

n = representa o total de monômeros na cadeia

$$\text{I. } n = \frac{100.000 \text{ g/mol}}{288,29 \text{ g/mol}} = 346,84 \text{ monômeros}$$

II. Para o PEEK, tem-se:

$$100.000 \text{ g/mol} \text{ ----- } 6,023 \times 10^{23} \text{ cadeias} = 1 \text{ mol (número de Avogrado)}$$

$$X \text{ g} \text{ ----- } 1 \text{ cadeia}$$

$$\text{Assim, 1 cadeia de PEEK} = 16,601 \times 10^{-20} \text{ g}$$

III. Em 2 g PEEK ----- X cadeias

$$16,601 \times 10^{-20} \text{ g} \text{ ----- } 1 \text{ cadeia}$$

$$\text{Assim, em 2 g de PEEK existem } 1,2 \times 10^{19} \text{ cadeias}$$

IV. Número de sítios ativos no PEEK = $1,2 \times 10^{19}$ cadeias x 346,84 monômeros

$$\text{Número de sítios ativos no PEEK} = 417,85 \times 10^{19}$$

V. Número de moles nos sítios ativos do PEEK

$$6,023 \times 10^{23} \text{ u.m.a.} \text{ ----- } 1 \text{ mol}$$

$$417,85 \times 10^{19} \text{ sítios} \text{ ----- } X \text{ mol}$$

$$\text{Número de moles nos sítios ativos do PEEK} = 69,38 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

VI. Considerando-se que $\text{H}_2\text{SO}_4 = 98,077 \text{ g/mol}$

$$1 \text{ mol de } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ ----- } 98,077 \text{ g}$$

$$69,38 \times 10^{-4} \text{ mol} \text{ ----- } X \text{ g}$$

Seria necessário 0,68 g de H_2SO_4

VII. Como o H_2SO_4 tem uma pureza analítica (P.A.) de 98%, assim tem-se:

$$\underline{\quad 1 \quad} \times 0,68 \text{ g} = 34,02 \text{ g de H}_2\text{SO}_4$$

$$1 - 0,98$$

Como 1 mL = 1,03 g tem-se que:

$$34,02 \text{ g} = 33,03 \text{ mL de H}_2\text{SO}_4 \text{ para } 100\% \text{ de eficiência na reação}$$

VIII. Como existem os ensaios são em escala laboratorial, considerou-se 70% de efetividade na reação. Assim:

$$\underline{33,03 \text{ mL de H}_2\text{SO}_4} = \underline{47,2 \text{ mL de H}_2\text{SO}_4}$$

70%

Arredondou-se para 50 mL de H₂SO₄

b. *Cálculo da quantidade de hidroxiapatita para reagir com o grupo SO₃H:*

Como HA é representada por Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, o elemento de reação com o SO₃H é o Ca e este tem carga +2 (Ca⁺²).

Em 6,023x10²³ átomos----- 1 mol

417,85x10¹⁹ sítios ----- X mol

2 (referente a 2 átomos de Ca)

34,69x10⁻⁴ mol de Ca

Como em:

1 mol de Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ = 10 mol Ca

X mol ----- 34,69x10⁻⁴ mol de Ca

34,69x10⁻⁵ mol de Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂

Como:

Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ 1 mol = 1004,61 g

34,69x10⁻⁵ mol ----- Xg

0,35 g de Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ para 100% de eficiência na reação

Como os ensaios são em escala laboratorial, considerou-se 70% de efetividade na reação. Assim:

$$\underline{0,35 \text{ g de Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2} = \underline{0,6 \text{ g de Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2}$$

70%

2 – Resultados do Planejamento Experimental

Experimento Fatorial Completo

Resumo do experimento

Fatores:	3	Experimento Base:	3; 8
Ensaio:	16	Réplicas:	2
Blocos:	1	Pts centrais (total):	0

Todos os termos estão livres de alias.

Regressão Fatorial: %GS versus Tempo liofilização; ... ação; Tempo HA

Análise de Variância

Fonte	GL	SQ (Aj.)	QM (Aj.)	Valor F	Valor-P
Modelo	7	0,13063 6	0,01866 2	1,45	0,306
Linear	3	0,10435 5	0,03478 5	2,70	0,116
Tempo liofilização	1	0,00003 2	0,00003 2	0,00	0,961
Tempo sulfonação	1	0,03049 5	0,03049 5	2,37	0,163
Tempo HA	1	0,07382 8	0,07382 8	5,73	0,044
Interações de 2 fatores	3	0,00663 6	0,00221 2	0,17	0,913
Tempo liofilização*Tempo sulfonação	1	0,00193 9	0,00193 9	0,15	0,708
Tempo liofilização*Tempo HA	1	0,00053 7	0,00053 7	0,04	0,843
Tempo sulfonação*Tempo HA	1	0,00416 0	0,00416 0	0,32	0,586
Interações de 3 fatores	1	0,01964 4	0,01964 4	1,52	0,252
Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA	1	0,01964 4	0,01964 4	1,52	0,252
Erro	8	0,10312 3	0,01289 0		
Total	15	0,23375 8			

Sumário do Modelo

S	R2	R2(aj)	R2(pred)
0,113536	55,88%	17,28%	0,00%

Coeficientes Codificados

Termo	Efeito	Coef	EP de Coef	Valor-T	Valor-P
Constante		0,6246	0,0284	22,00	0,000
Tempo liofilização	- 0,0028	- 0,0014	0,0284	-0,05	0,961
Tempo sulfonação	- 0,0873	- 0,0437	0,0284	-1,54	0,163
Tempo HA	0,1359	0,0679	0,0284	2,39	0,044
Tempo liofilização*Tempo sulfonação	- 0,0220	- 0,0110	0,0284	-0,39	0,708
Tempo liofilização*Tempo HA	0,0116	0,0058	0,0284	0,20	0,843
Tempo sulfonação*Tempo HA	0,0322	0,0161	0,0284	0,57	0,586
Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA	- 0,0701	- 0,0350	0,0284	-1,23	0,252

Termo	VIF
Constante	
Tempo liofilização	1,00
Tempo sulfonação	1,00
Tempo HA	1,00
Tempo liofilização*Tempo sulfonação	1,00
Tempo liofilização*Tempo HA	1,00
Tempo sulfonação*Tempo HA	1,00
Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA	1,00

Equação de Regressão em Unidades Não codificadas

%GS =	$0,6246 - 0,0014 \text{ Tempo liofilização} - 0,0437 \text{ Tempo sulfonação} + 0,0679 \text{ Tempo HA} \\ - 0,0110 \text{ Tempo liofilização*Tempo sulfonação} + 0,0058 \text{ Tempo liofilização*Tempo HA} \\ + 0,0161 \text{ Tempo sulfonação*Tempo HA} \\ - 0,0350 \text{ Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA}$
-------	--

Estrutura de Aliases

Fator	Nome
A	Tempo liofilização
B	Tempo sulfonação
C	Tempo HA
Aliases	
I	
A	
B	
C	
AB	
AC	
BC	
ABC	

Ajustados e Diagnósticos para Observações Atípicas

Obs.	%GS	Ajuste	Resíd	Resíd Pad	
3	0,4996	0,6696	-0,1700	-2,12	R
12	0,8396	0,6696	0,1700	2,12	R

R Resíduo grande

Gráfico de Efeitos para %GS

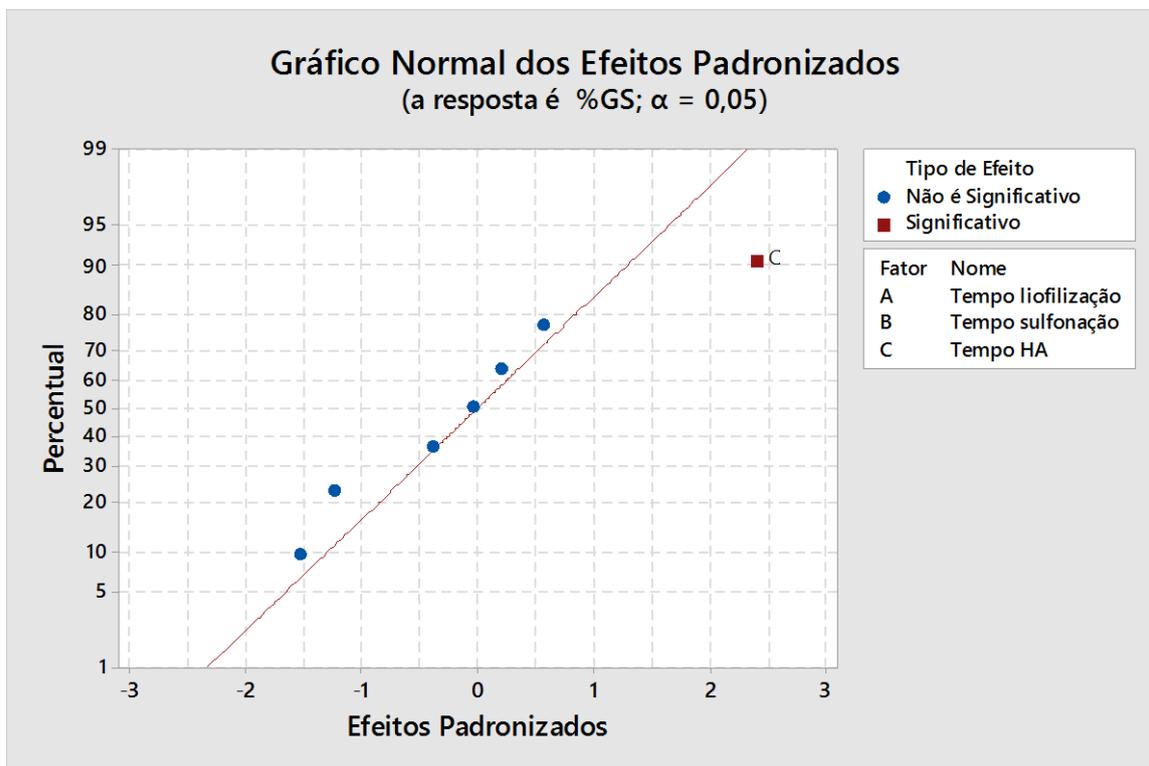
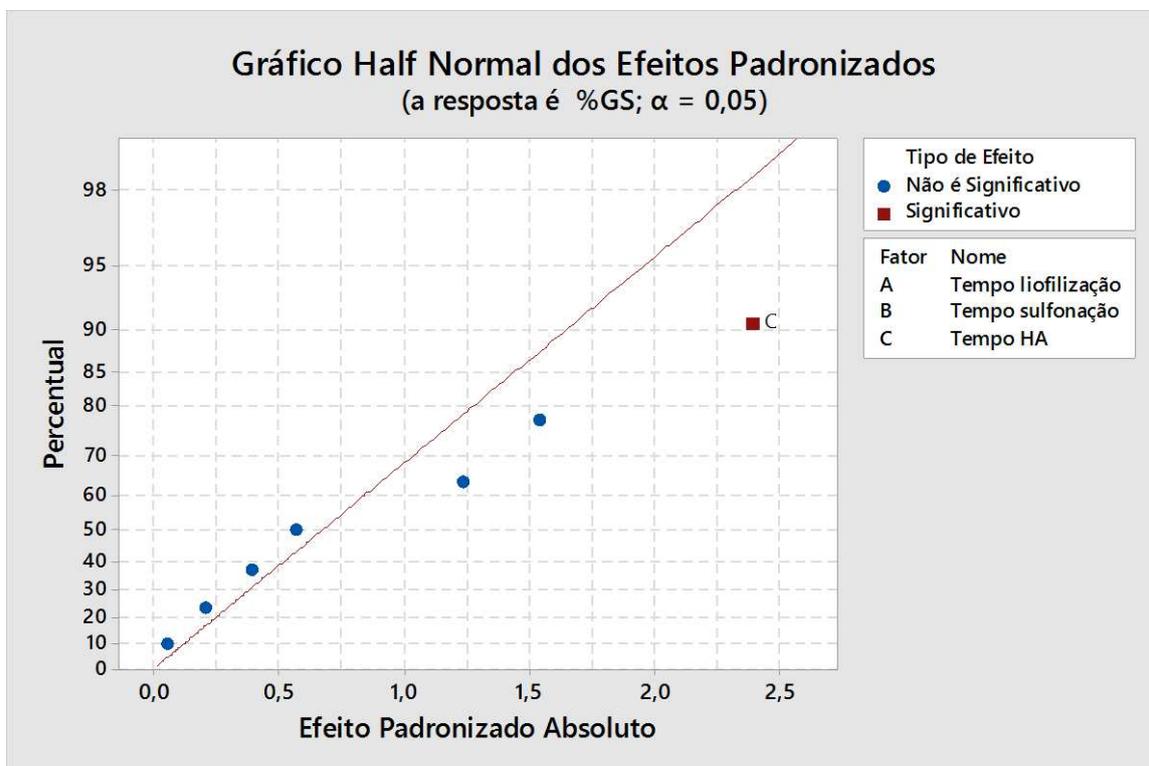
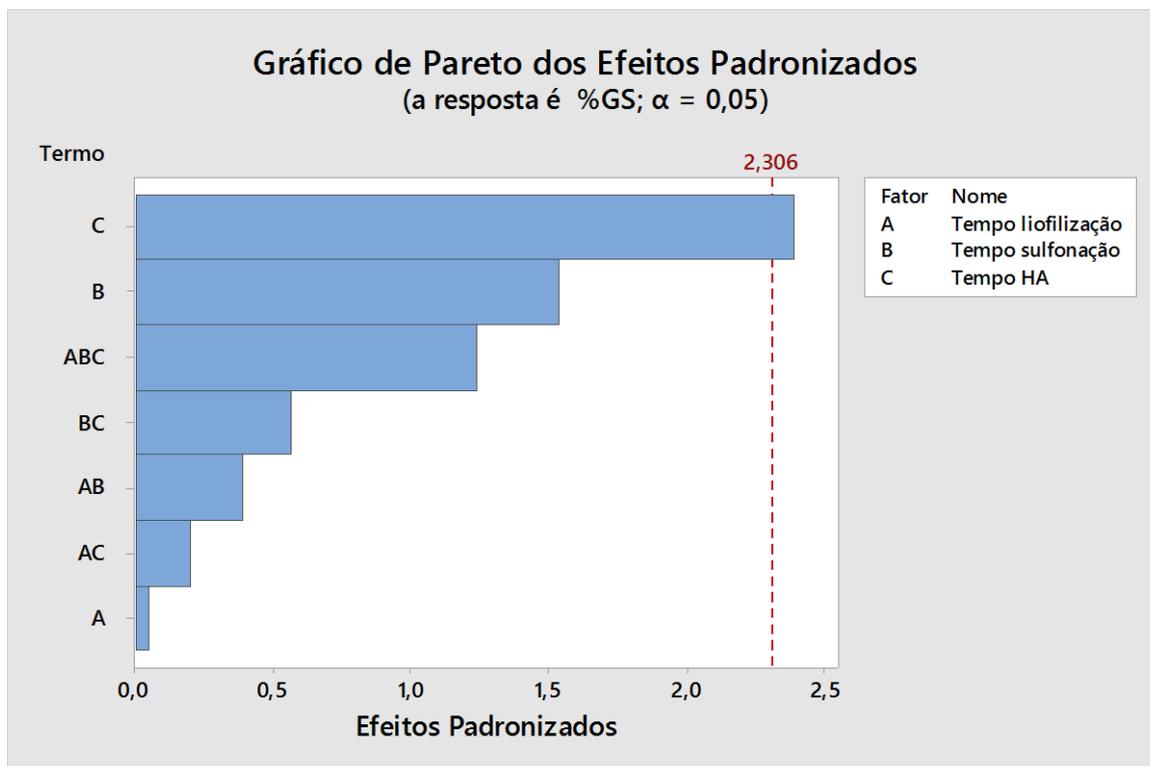


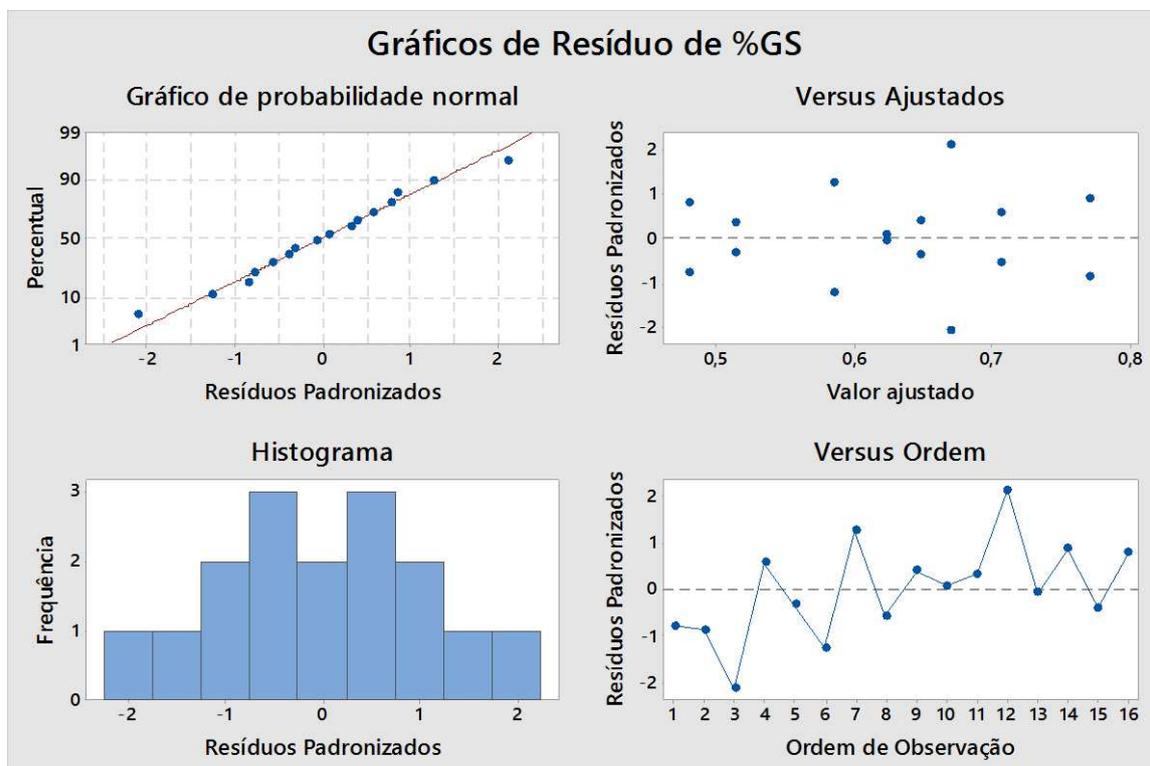
Gráfico de Efeitos Half Normal para %GS

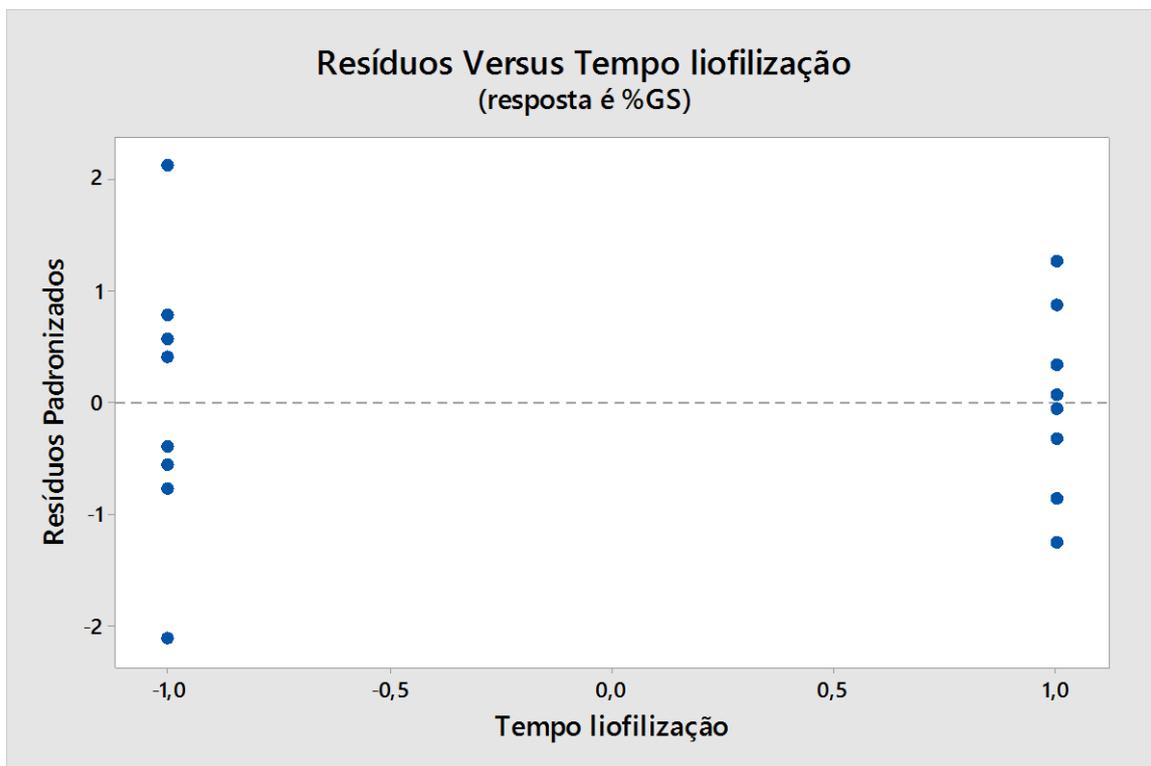
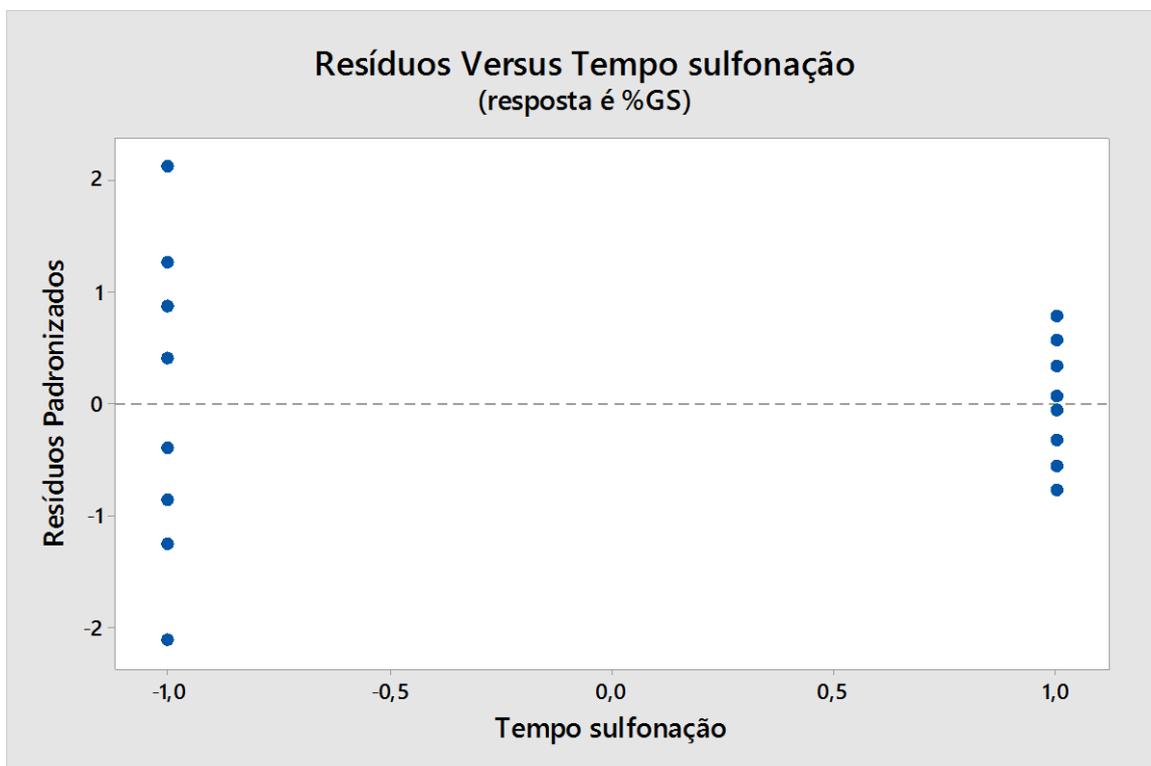


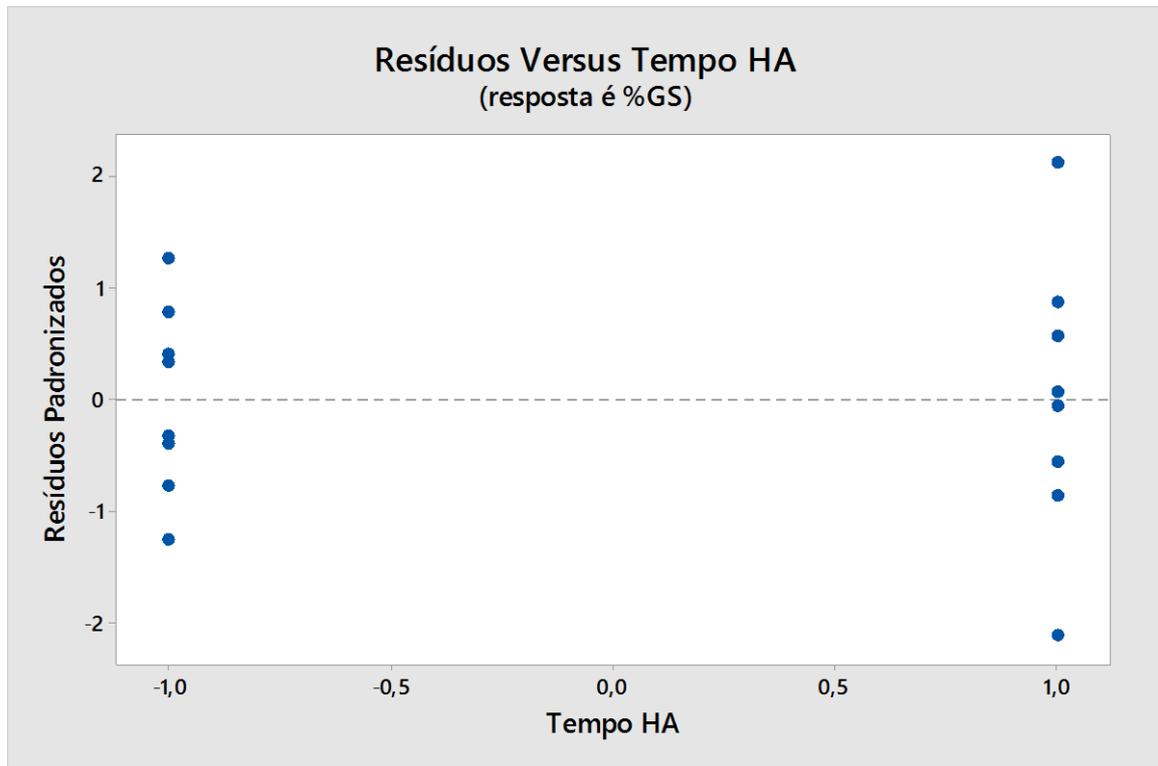
Efeitos de Pareto para %GS



Gráficos de Resíduo de %GS



Resíduos de %GS vs Tempo liofilização**Resíduos de %GS vs Tempo sulfonação**

Resíduos de %GS vs Tempo HA

Regressão Fatorial: Ang contato versus Tempo ... Ifonação; Tempo HA**Análise de Variância**

Fonte	GL	SQ (Aj.)	QM (Aj.)	Valor F	Valor-P
Modelo	7	181,40 3	25,9148	2,31	0,132
Linear	3	35,856	11,9519	1,06	0,417
Tempo liofilização	1	29,972	29,9720	2,67	0,141
Tempo sulfonação	1	4,222	4,2217	0,38	0,557
Tempo HA	1	1,662	1,6620	0,15	0,710
Interações de 2 fatores	3	145,50 1	48,5002	4,32	0,043
Tempo liofilização*Tempo sulfonação	1	15,955	15,9547	1,42	0,267
Tempo liofilização*Tempo HA	1	35,782	35,7823	3,19	0,112
Tempo sulfonação*Tempo HA	1	93,764	93,7637	8,35	0,020
Interações de 3 fatores	1	0,047	0,0470	0,00	0,950
Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA	1	0,047	0,0470	0,00	0,950
Erro	8	89,819	11,2274		
Total	15	271,22 3			

Sumário do Modelo

S	R2	R2(aj)	R2(pred)
3,35074	66,88%	37,91%	0,00%

Coeficientes Codificados

Termo	Efeito	Coef	EP de Coef	Valor-T	Valor-P	VIF
Constante		27,286	0,838	32,57	0,000	
Tempo liofilização	-2,737	-1,369	0,838	-1,63	0,141	1,00
Tempo sulfonação	1,027	0,514	0,838	0,61	0,557	1,00
Tempo HA	0,645	0,322	0,838	0,38	0,710	1,00
Tempo liofilização*Tempo sulfonação	1,997	0,999	0,838	1,19	0,267	1,00
Tempo liofilização*Tempo HA	2,991	1,495	0,838	1,79	0,112	1,00
Tempo sulfonação*Tempo HA	-4,842	-2,421	0,838	-2,89	0,020	1,00
Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA	-0,108	-0,054	0,838	-0,06	0,950	1,00

Equação de Regressão em Unidades Não codificadas

Ang contato =	$27,286 - 1,369 \text{ Tempo liofilização} + 0,514 \text{ Tempo sulfonação} + 0,322 \text{ Tempo HA}$ $+ 0,999 \text{ Tempo liofilização*Tempo sulfonação}$ $+ 1,495 \text{ Tempo liofilização*Tempo HA}$ $- 2,421 \text{ Tempo sulfonação*Tempo HA}$ $- 0,054 \text{ Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA}$
---------------	--

Estrutura de Aliases

Fator	Nome
A	Tempo liofilização
B	Tempo sulfonação
C	Tempo HA
Aliases	
I	
A	
B	
C	
AB	
AC	
BC	
ABC	

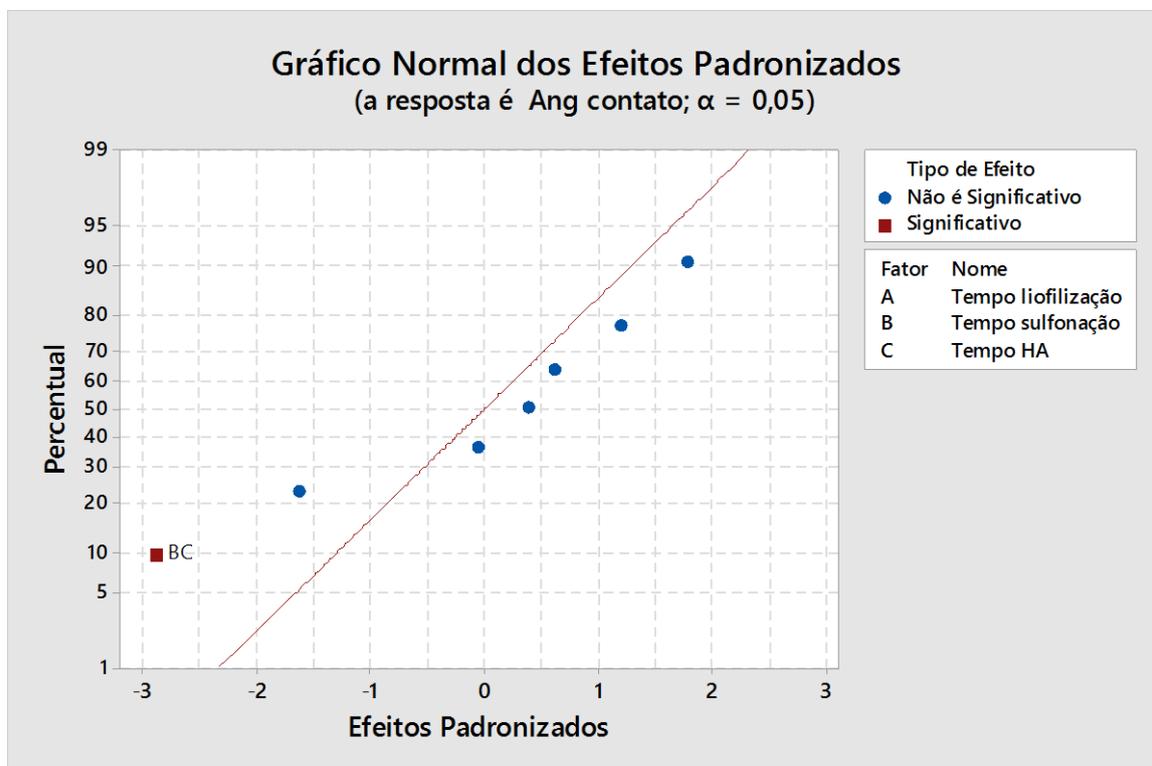
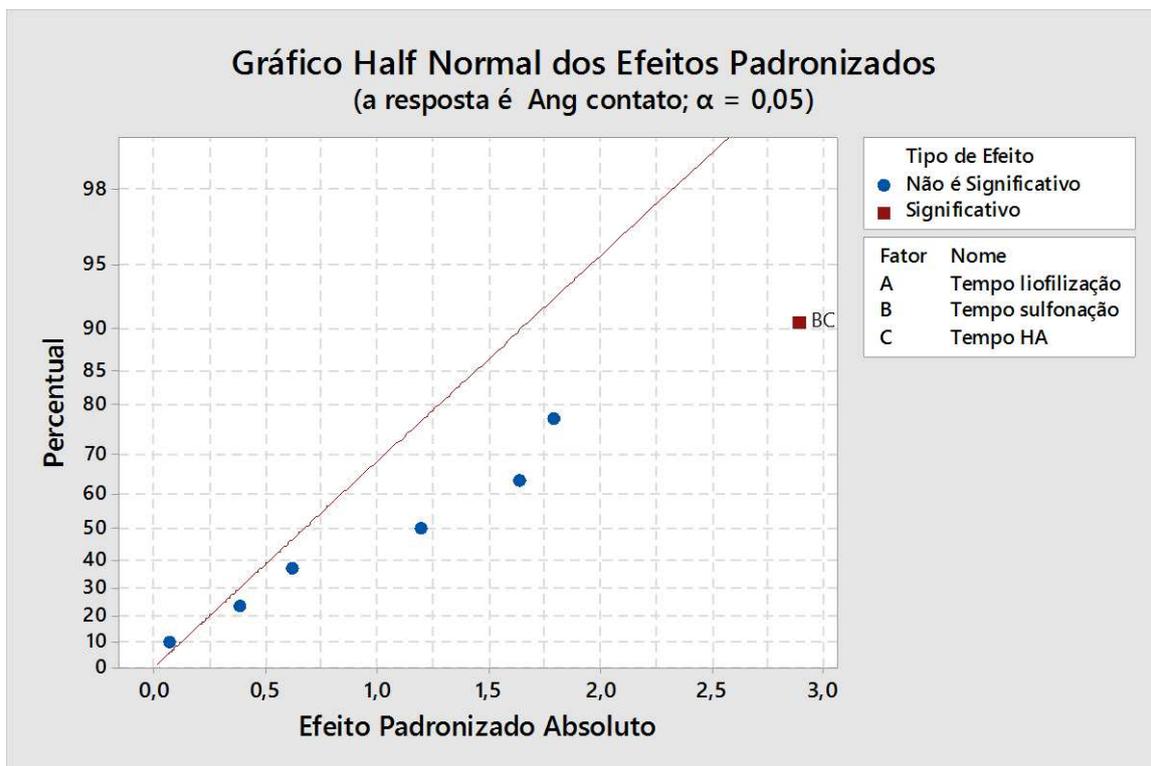
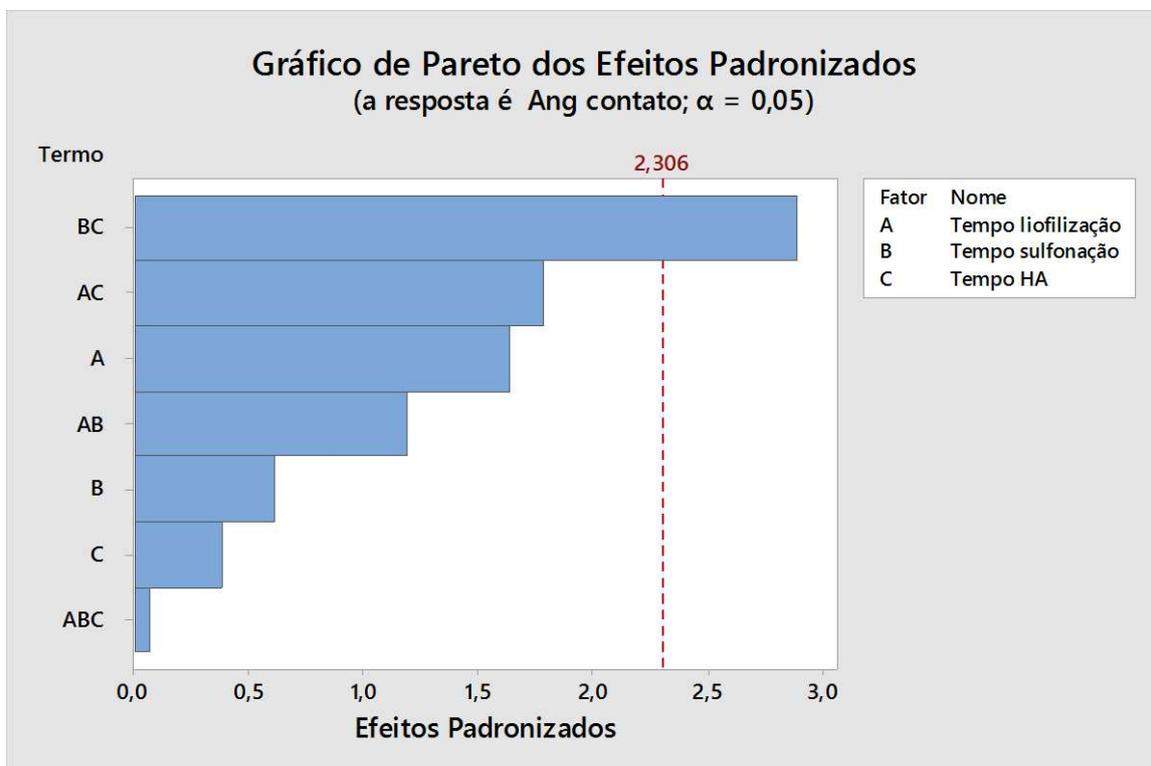
Gráfico de Efeitos para Ang contato

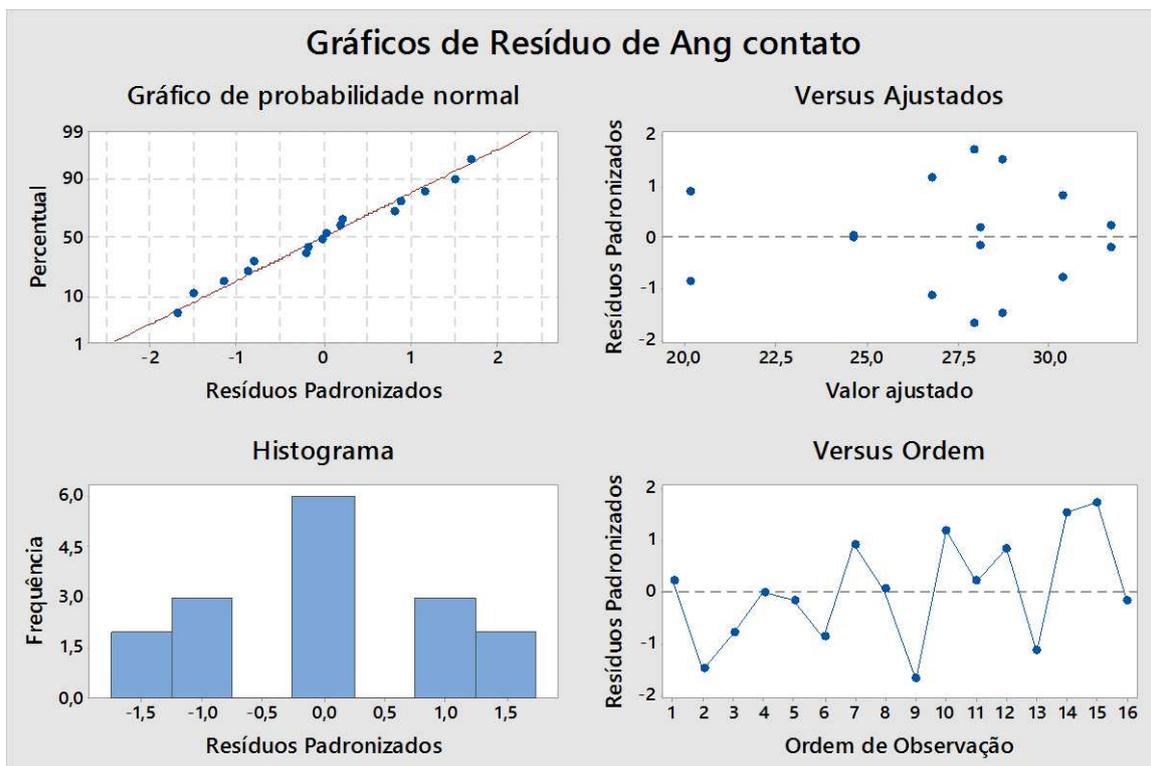
Gráfico de Efeitos Half Normal para Ang contato



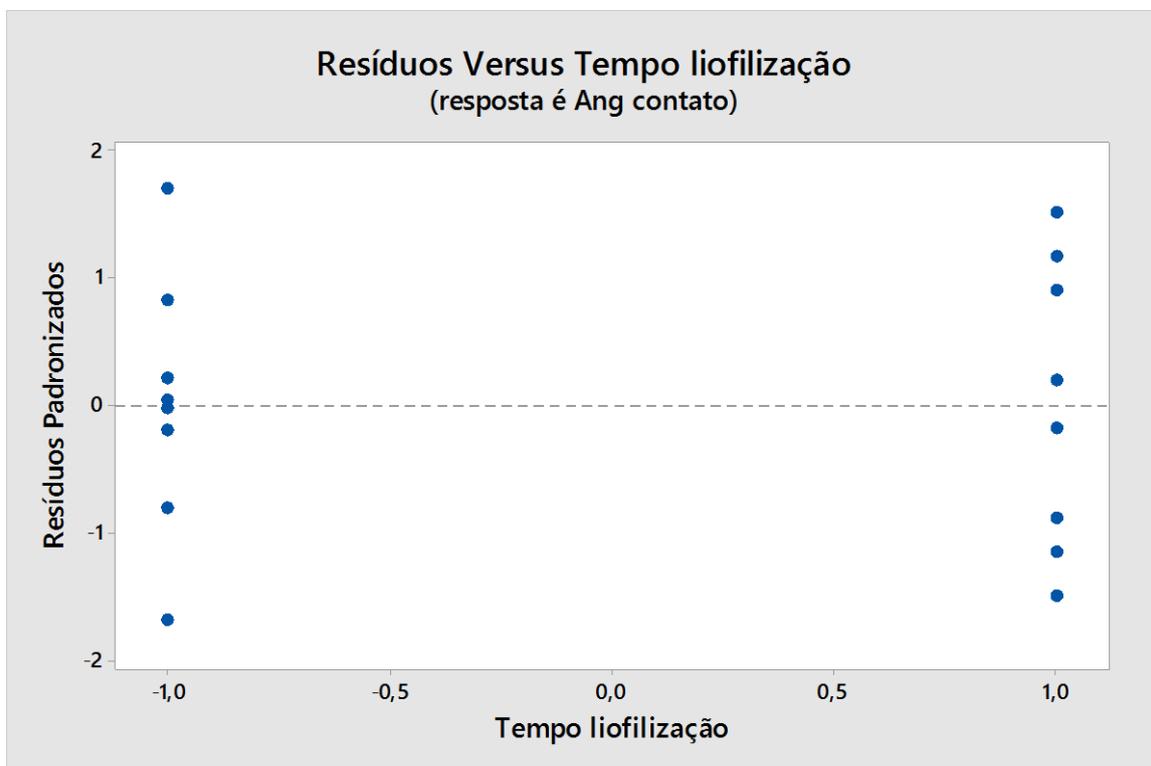
Efeitos de Pareto para Ang contato

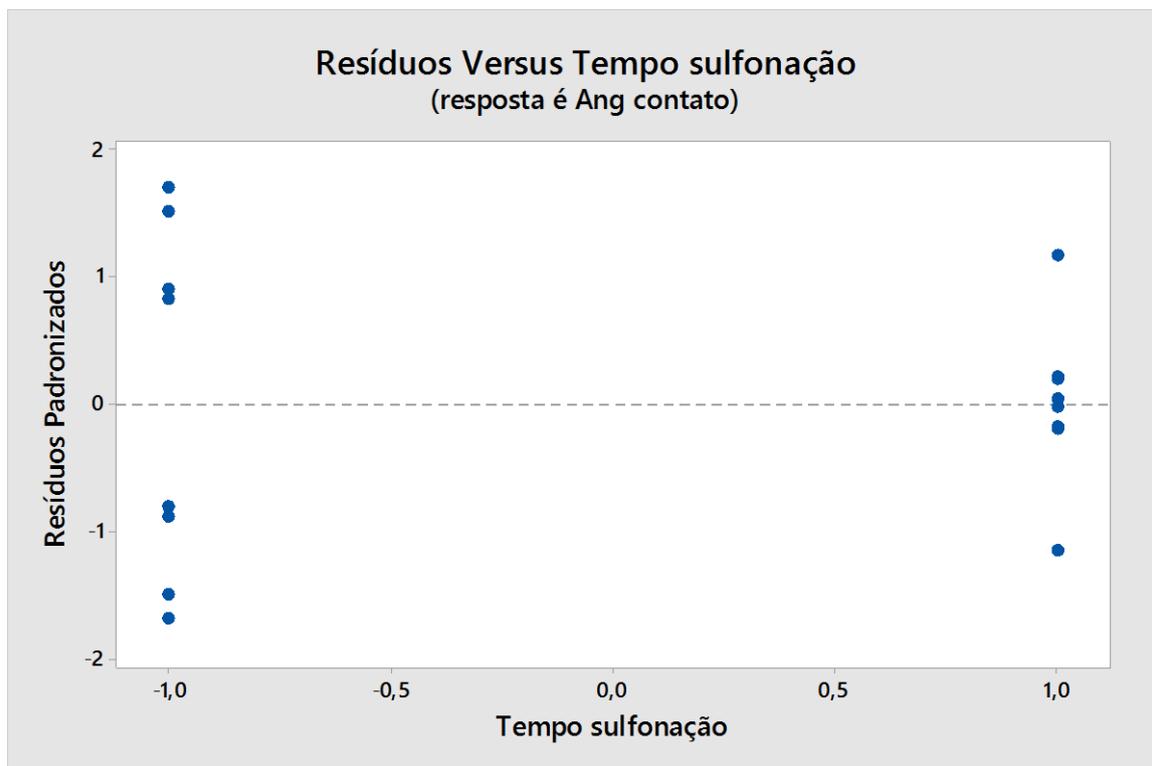


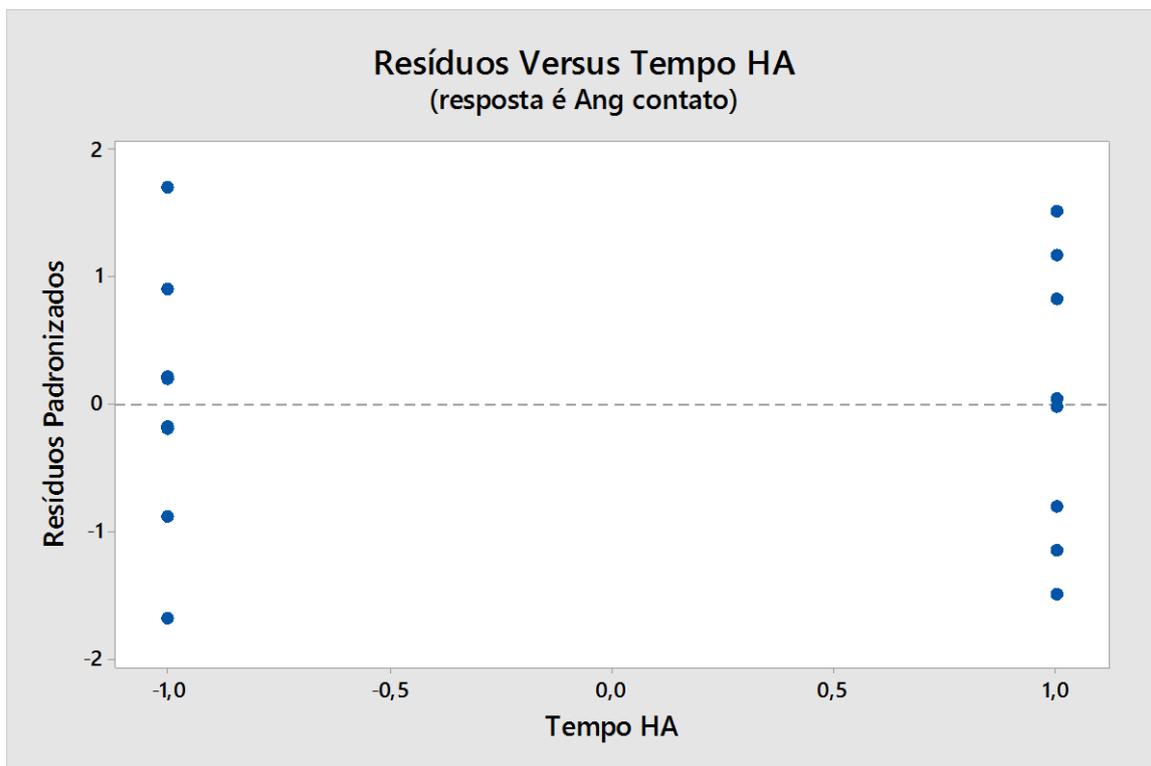
Gráficos de Resíduo de Ang contato



Resíduos de Ang contato vs Tempo liofilização



Resíduos de Ang contato vs Tempo sulfonação

Resíduos de Ang contato vs Tempo HA

Regressão Fatorial: %PM versus Tempo liofilização; ... ação; Tempo HA

Análise de Variância

Fonte	GL	SQ (Aj.)	QM (Aj.)	Valor F	Valor-P
Modelo	7	0,016698	0,002385	1,29	0,361
Linear	3	0,005670	0,001890	1,02	0,432
Tempo liofilização	1	0,004796	0,004796	2,60	0,146
Tempo sulfonação	1	0,000216	0,000216	0,12	0,741
Tempo HA	1	0,000658	0,000658	0,36	0,567
Interações de 2 fatores	3	0,000888	0,000296	0,16	0,920
Tempo liofilização*Tempo sulfonação	1	0,000402	0,000402	0,22	0,653
Tempo liofilização*Tempo HA	1	0,000416	0,000416	0,23	0,648
Tempo sulfonação*Tempo HA	1	0,000070	0,000070	0,04	0,851
Interações de 3 fatores	1	0,010140	0,010140	5,49	0,047
Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA	1	0,010140	0,010140	5,49	0,047
Erro	8	0,014775	0,001847		
Total	15	0,031473			

Sumário do Modelo

S	R2	R2(aj)	R2(pred)
0,0429751	53,06%	11,98%	0,00%

Coeficientes Codificados

Termo	Efeito	Coef	EP de Coef	Valor-T	Valor-P
Constante		0,1021	0,0107	9,50	0,000
Tempo liofilização	0,0346	0,0173	0,0107	1,61	0,146
Tempo sulfonação	0,0074	0,0037	0,0107	0,34	0,741
Tempo HA	- 0,0128	- 0,0064	0,0107	-0,60	0,567
Tempo liofilização*Tempo sulfonação	0,0100	0,0050	0,0107	0,47	0,653
Tempo liofilização*Tempo HA	- 0,0102	- 0,0051	0,0107	-0,47	0,648
Tempo sulfonação*Tempo HA	0,0042	0,0021	0,0107	0,19	0,851
Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA	- 0,0504	- 0,0252	0,0107	-2,34	0,047

Termo	VIF
Constante	
Tempo liofilização	1,00
Tempo sulfonação	1,00
Tempo HA	1,00
Tempo liofilização*Tempo sulfonação	1,00
Tempo liofilização*Tempo HA	1,00
Tempo sulfonação*Tempo HA	1,00
Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA	1,00

Equação de Regressão em Unidades Não codificadas

%PM =	$0,1021 + 0,0173 \text{ Tempo liofilização} + 0,0037 \text{ Tempo sulfonação} - 0,0064 \text{ Tempo HA} \\ + 0,0050 \text{ Tempo liofilização*Tempo sulfonação} - 0,0051 \text{ Tempo liofilização*Tempo HA} \\ + 0,0021 \text{ Tempo sulfonação*Tempo HA} \\ - 0,0252 \text{ Tempo liofilização*Tempo sulfonação*Tempo HA}$
-------	--

Estrutura de Aliases

Fator	Nome
A	Tempo liofilização
B	Tempo sulfonação
C	Tempo HA
Aliases	
I	
A	
B	
C	
AB	
AC	
BC	
ABC	

Gráfico de Efeitos para %PM

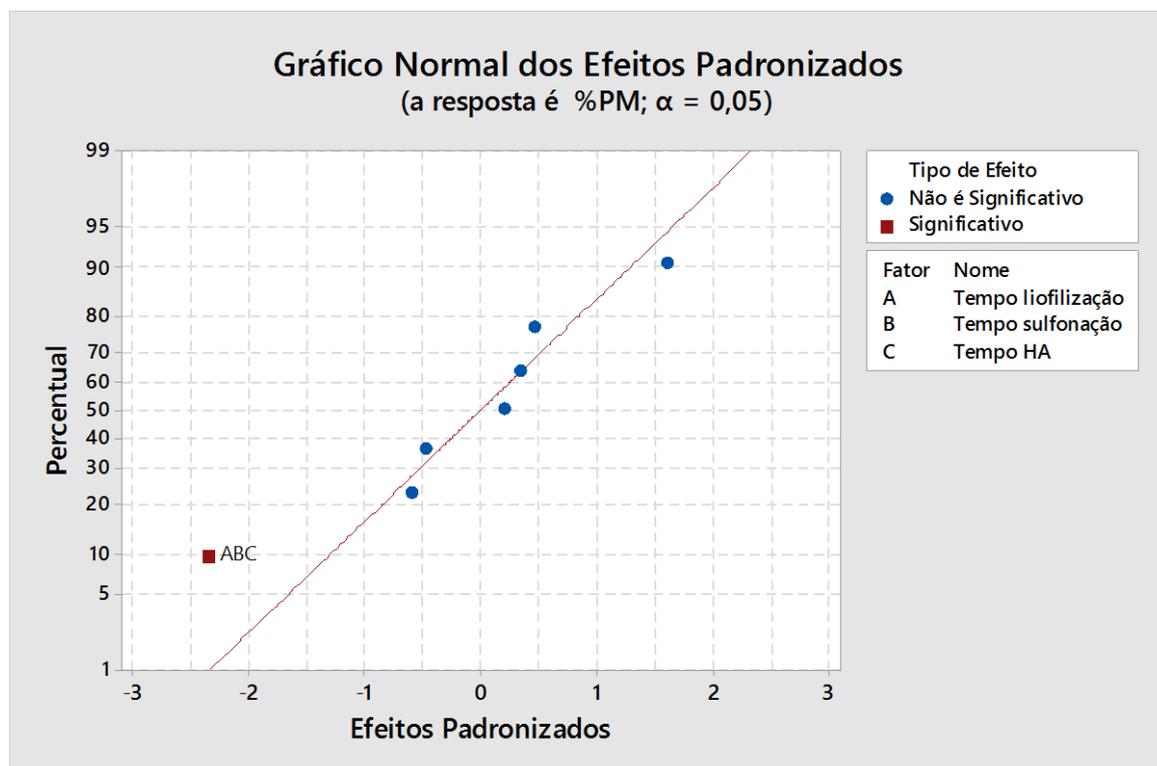
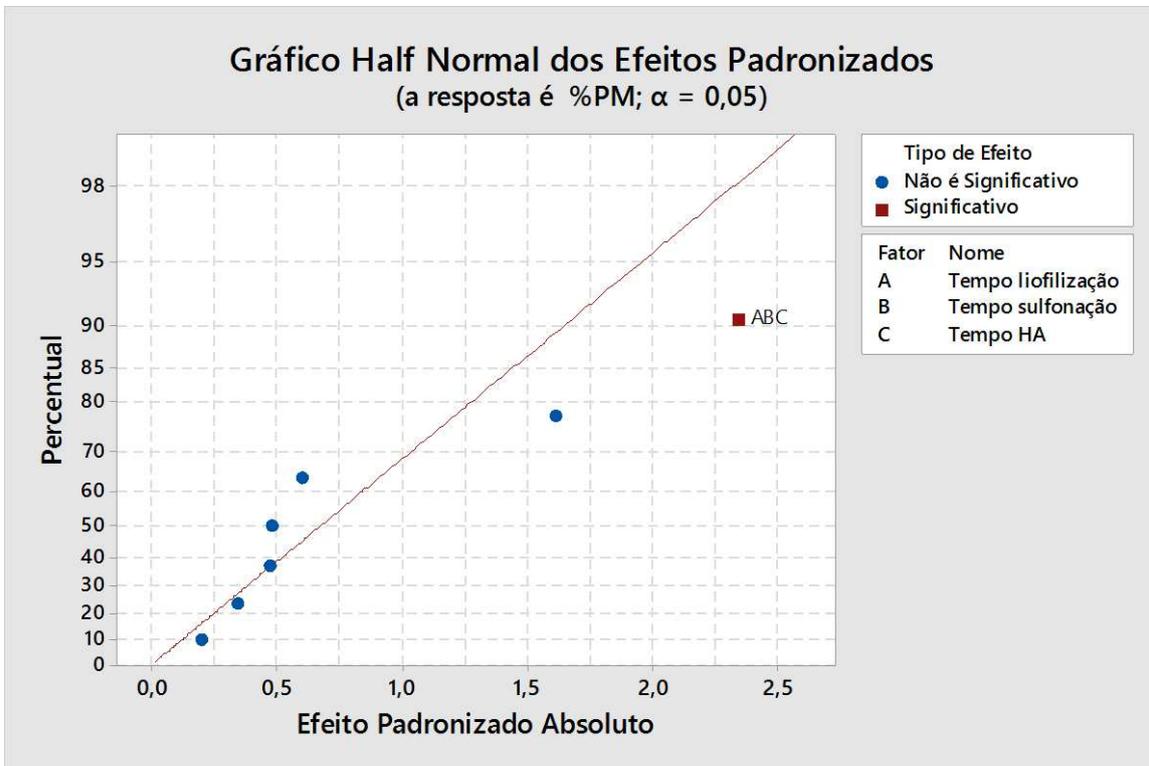
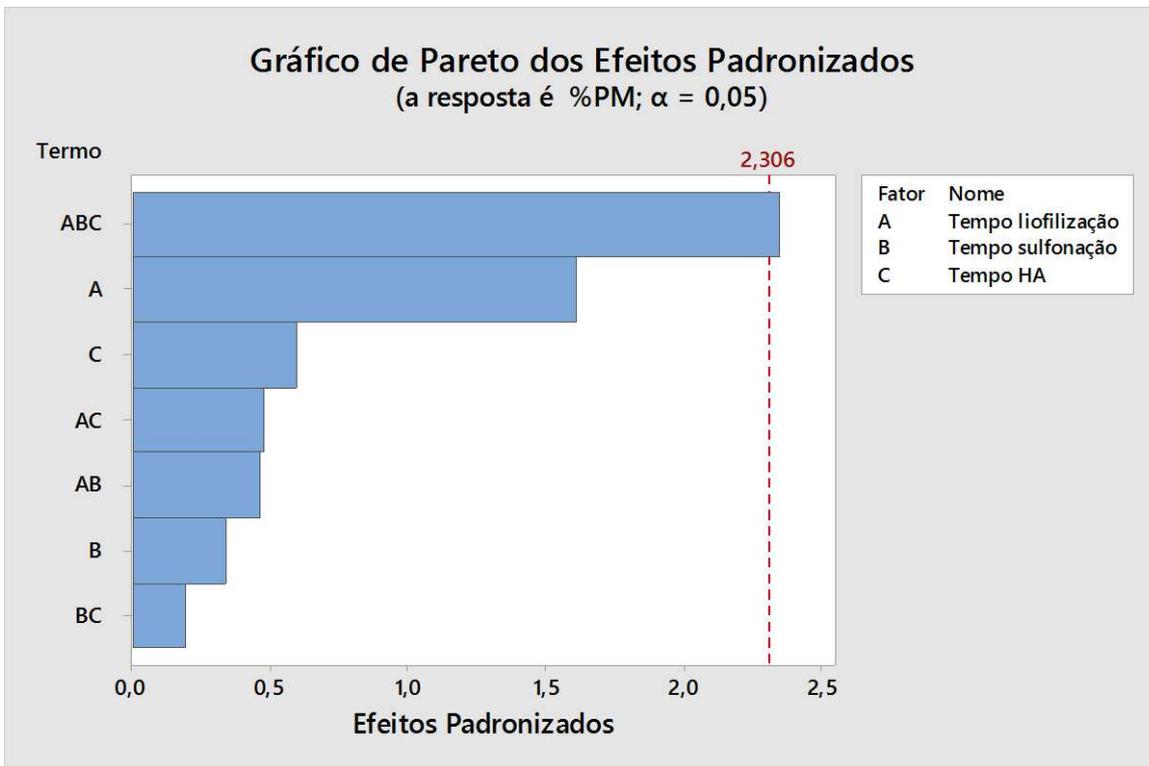


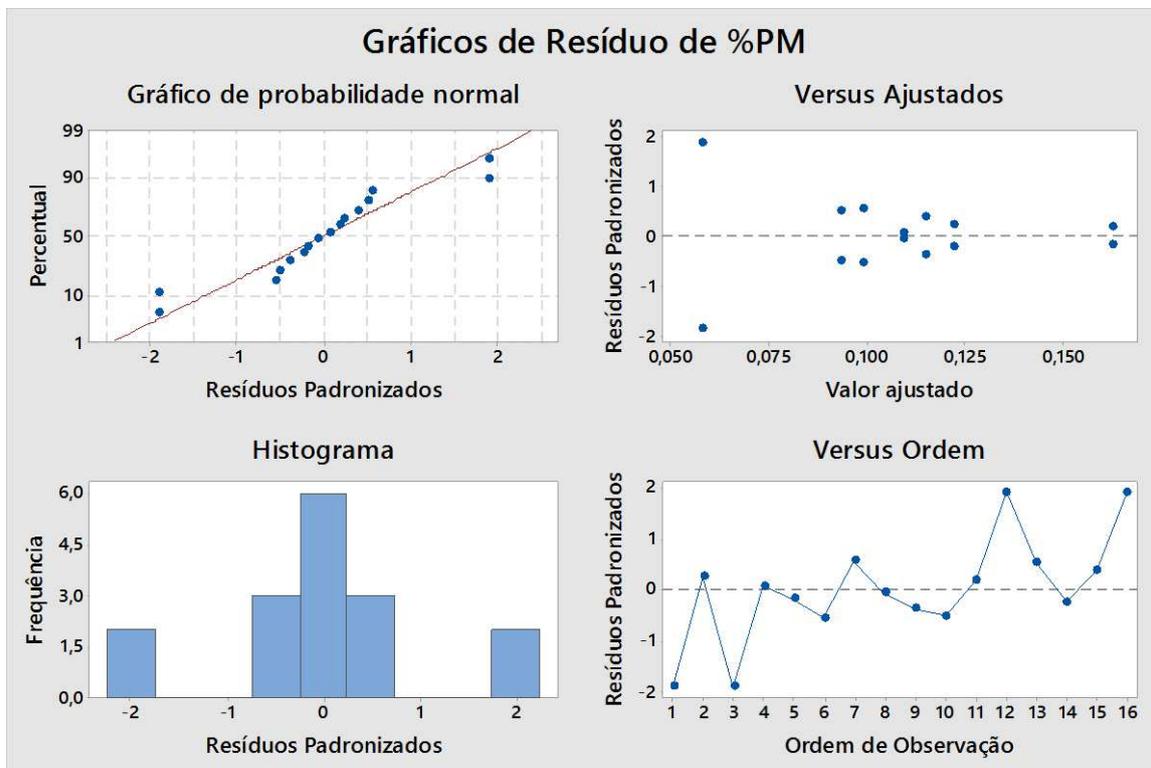
Gráfico de Efeitos Half Normal para %PM



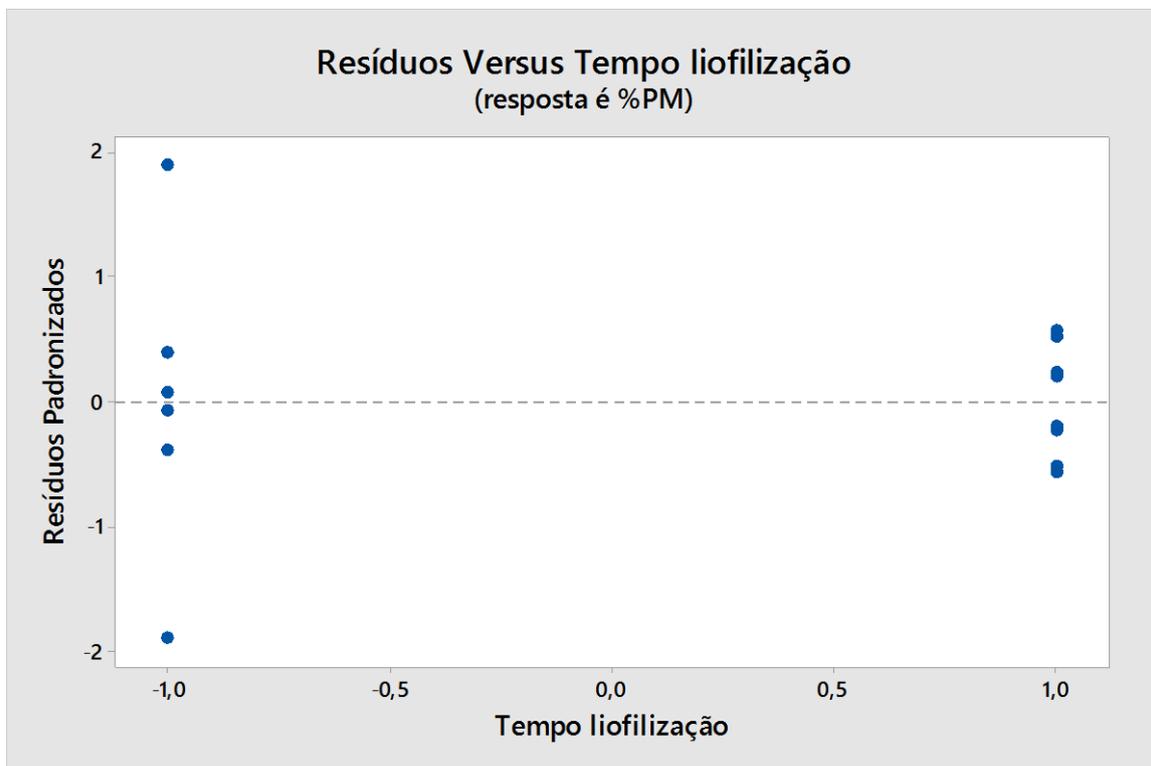
Efeitos de Pareto para %PM

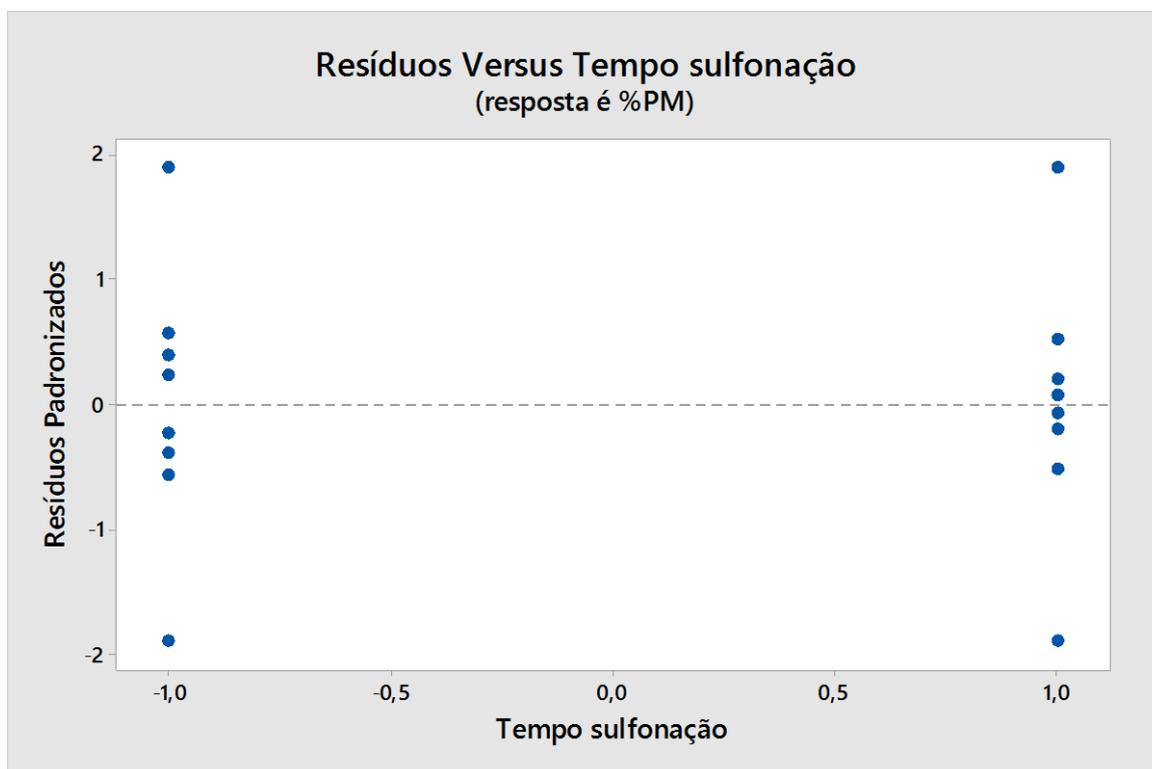
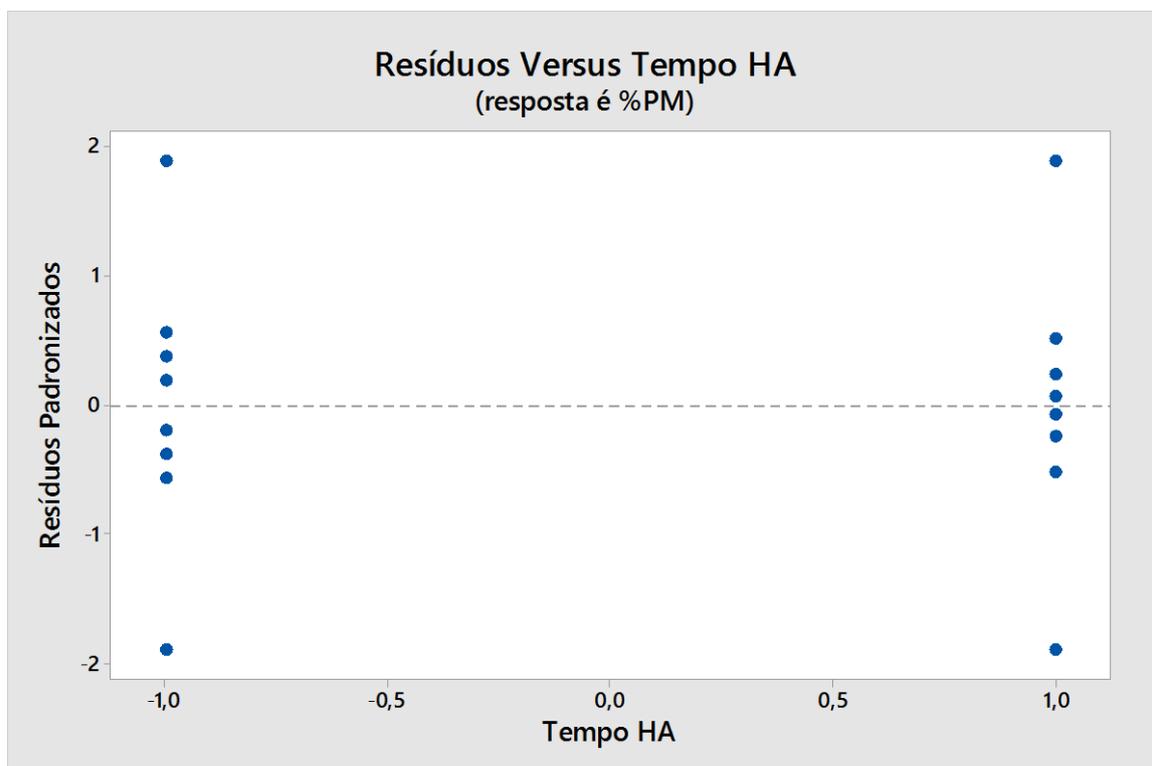


Gráficos de Resíduo de %PM



Resíduos de %PM vs Tempo liofilização



Resíduos de %PM vs Tempo sulfonação**Resíduos de %PM vs Tempo HA**

Otimização da Resposta: %PM; Ang contato; %GS

Parâmetros

Resposta	Meta	Inferior	Alvo	Superior	Peso	Importância
%PM	Máximo	0,000000	0,1686		1	1
Ang contato	Mínimo		17,9993	32,2523	1	1
%GS	Máximo	0,418138	0,8396		1	1

Solução

Solução	Tempo liofilização	Tempo sulfonação	Tempo HA	%PM Ajuste	Ang contato Ajuste	%GS Ajuste	Desirability Composta
1	-1	1	1	0,1094	24,6302	0,706639	0,619308

Predição de Múltiplas Respostas

Variável	Configuração			
Tempo liofilização	-1			
Tempo sulfonação	1			
Tempo HA	1			
Resposta	Ajuste	EP do Ajustado	IC de 95%	IP de 95%
%PM	0,1094	0,0304	(0,0393; 0,1795)	(-0,0120; 0,2308)
Ang contato	24,63	2,37	(19,17; 30,09)	(15,17; 34,09)
%GS	0,7066	0,0803	(0,5215; 0,8918)	(0,3860; 1,0273)

Gráfico de Otimização

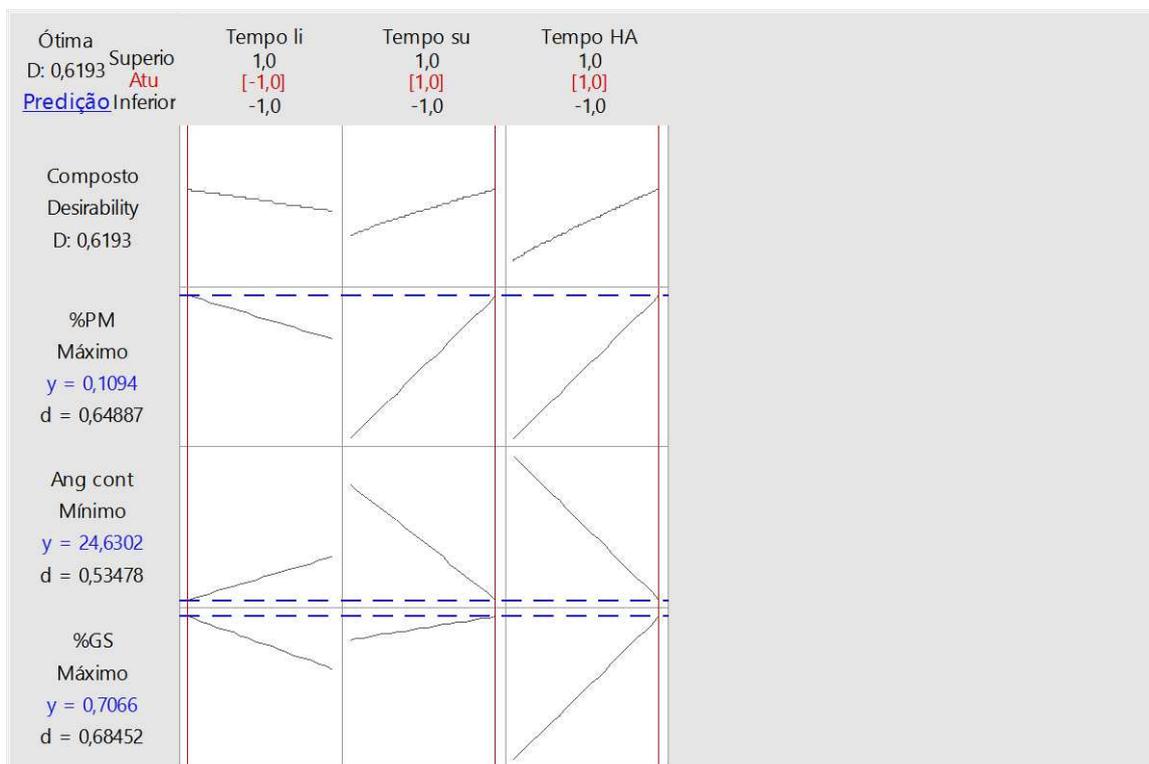


Gráfico de cubo

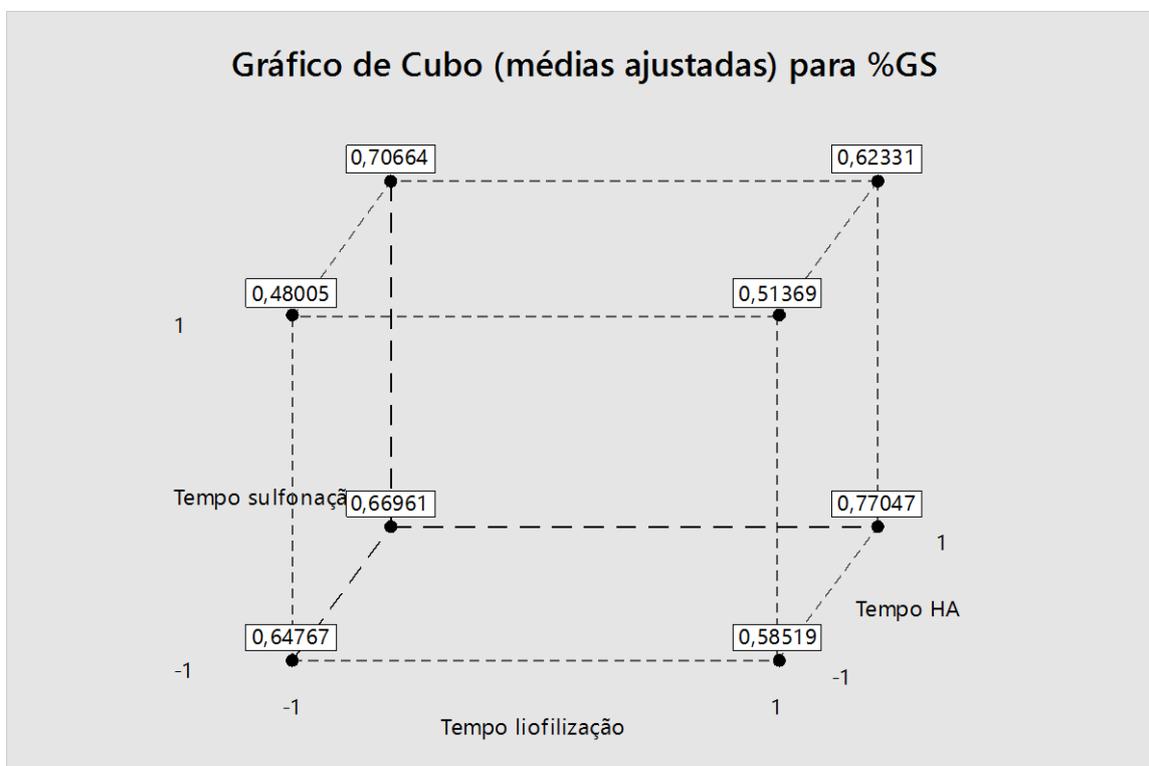


Gráfico de Cubo (médias ajustadas) para %PM

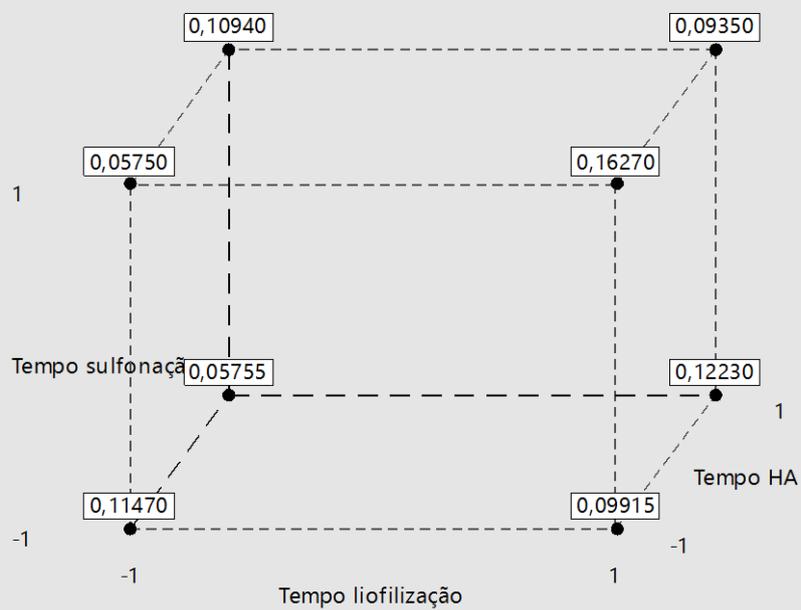


Gráfico de Cubo (médias ajustadas) para Ang contato

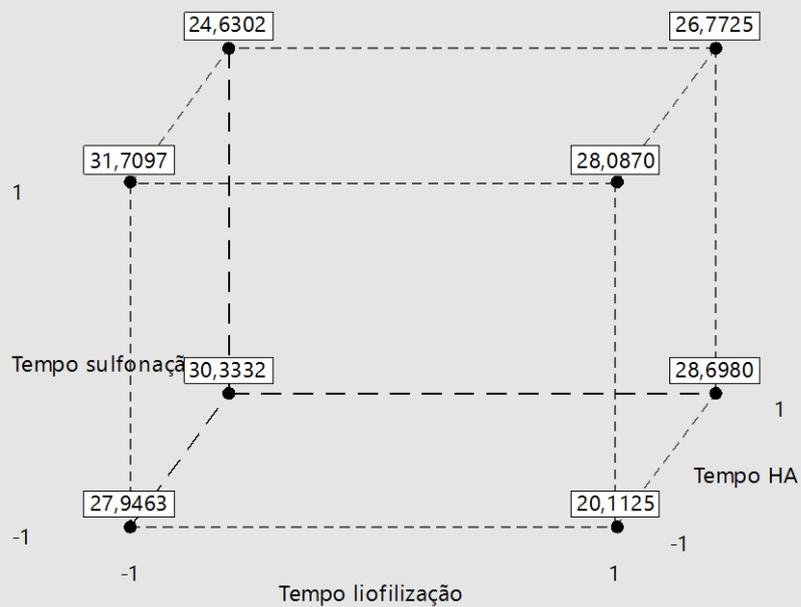


Gráfico de contorno %PM

Gráfico de Contorno de %PM versus Tempo sulfonação; Tempo liofilização

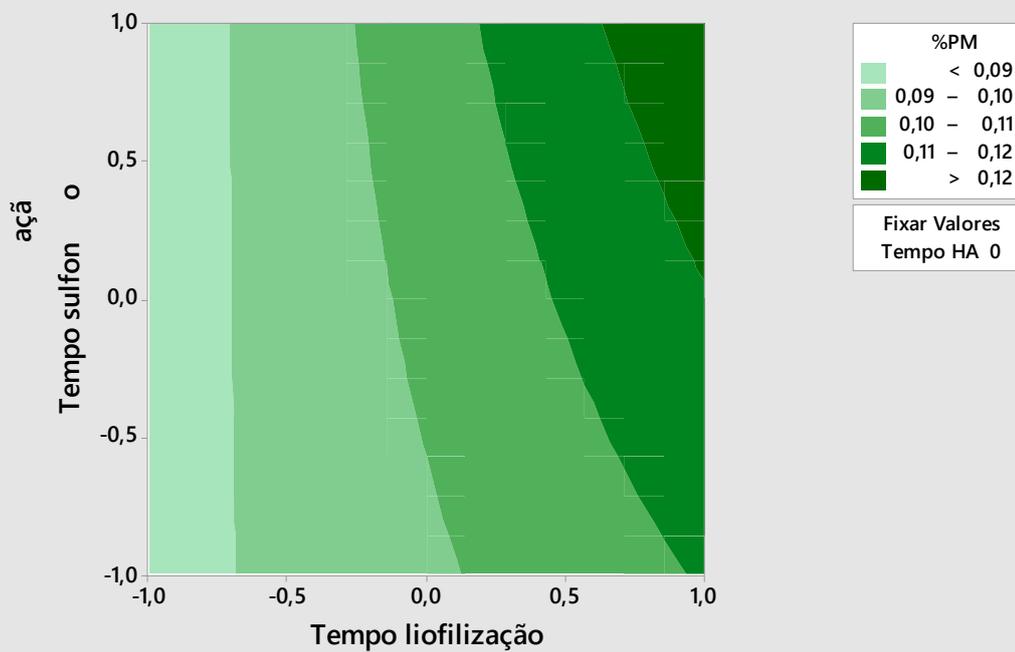


Gráfico de Contorno de %PM versus Tempo HA; Tempo liofilização

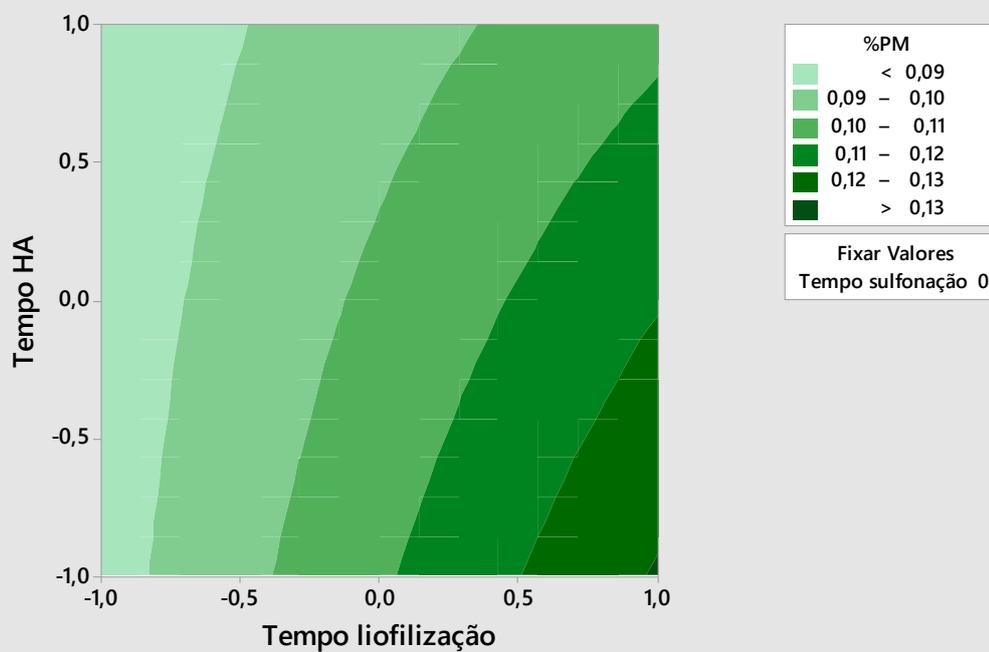


Gráfico de Contorno de %PM versus Tempo HA; Tempo sulfonação

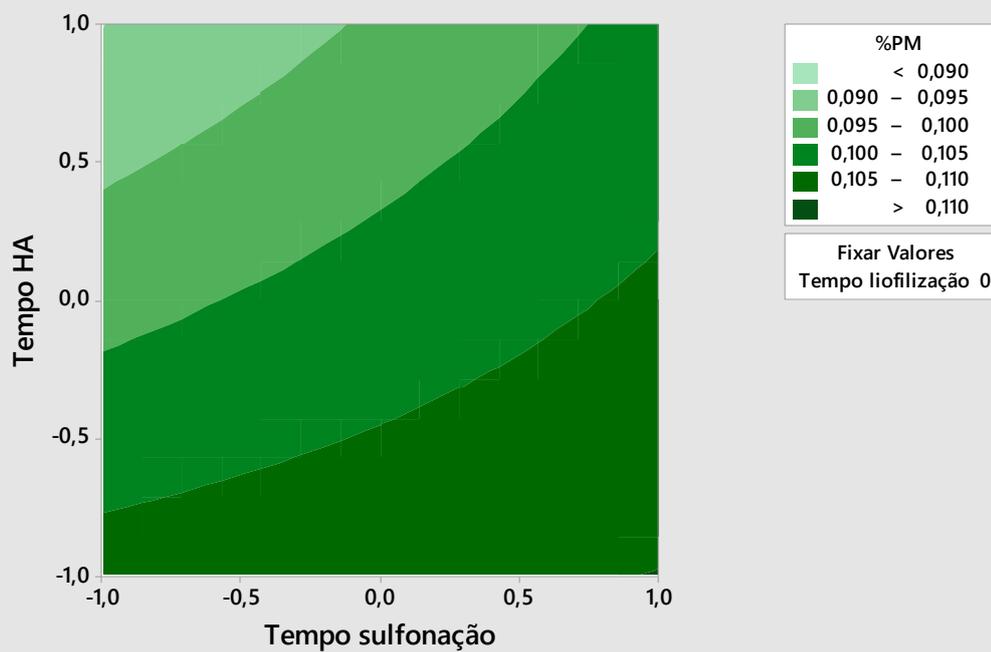


Gráfico de contorno – ângulo de contato

Gráfico de Contorno de Ang contato versus Tempo sulfonação; Tempo liof

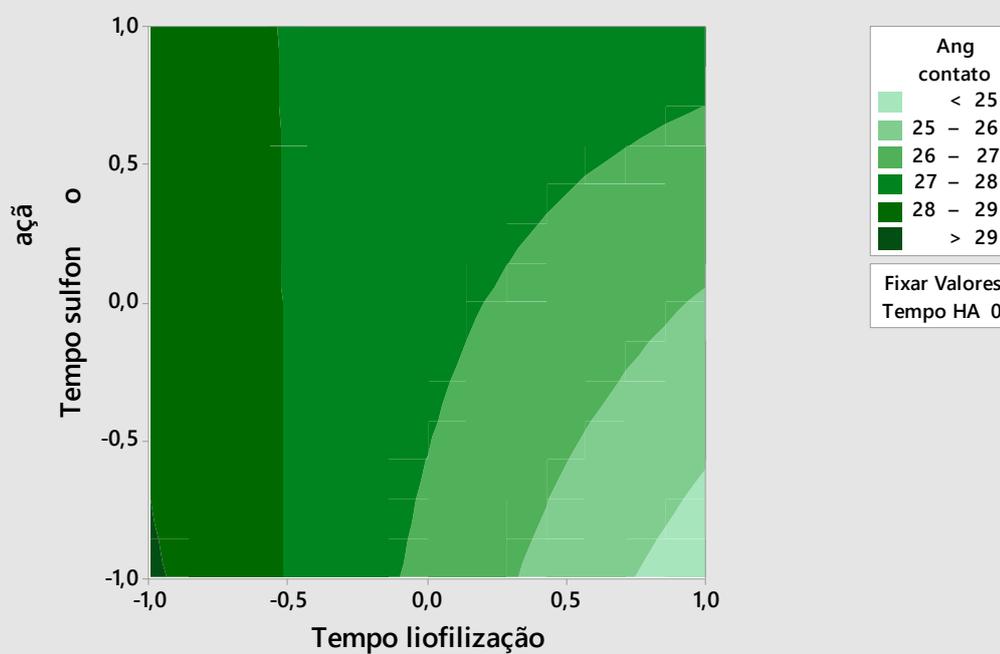


Gráfico de Contorno de Ang contato versus Tempo HA; Tempo liofilização

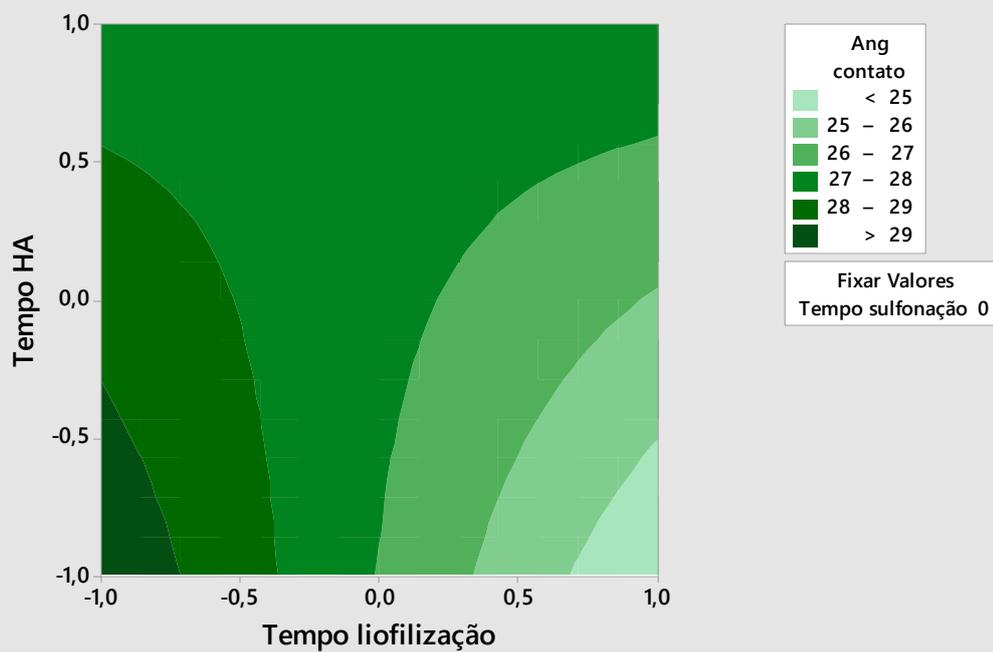


Gráfico de Contorno de Ang contato versus Tempo HA; Tempo sulfonação

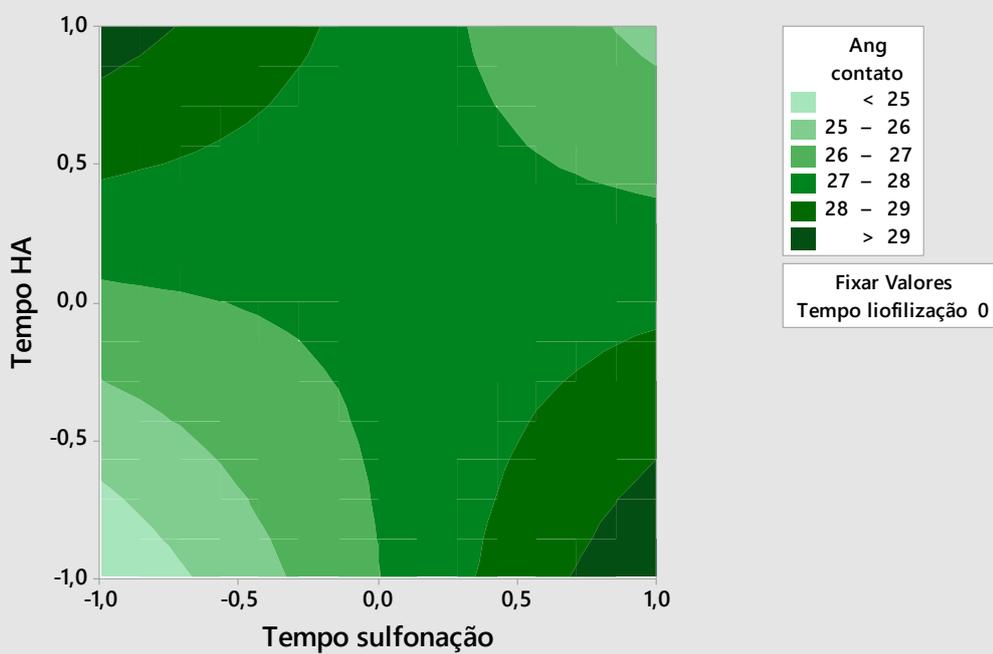


Gráfico de contorno - %GS

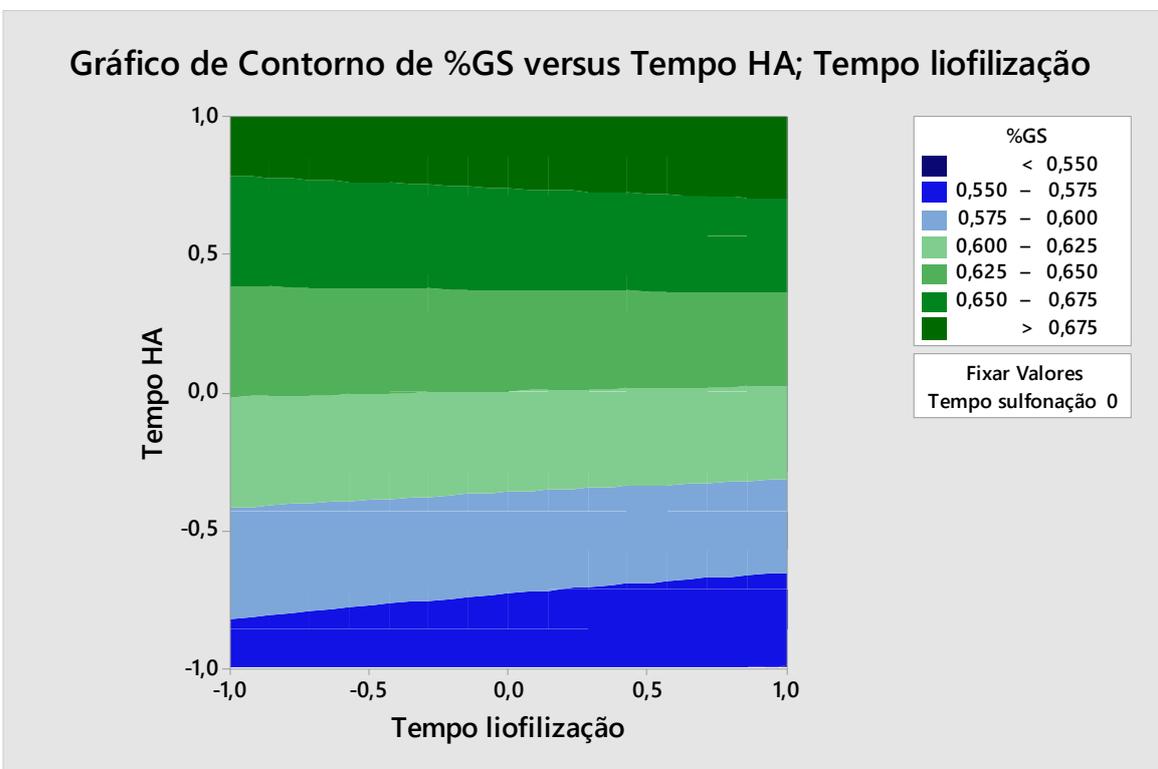
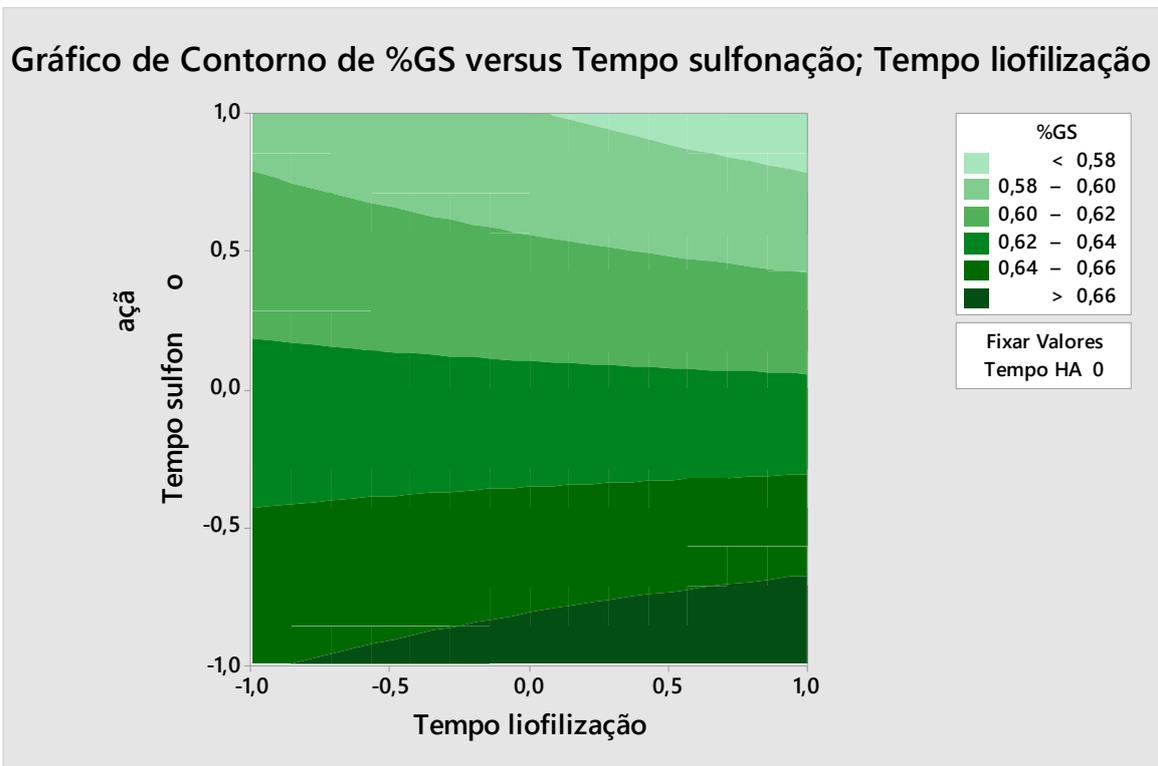


Gráfico de Contorno de %GS versus Tempo HA; Tempo sulfonação

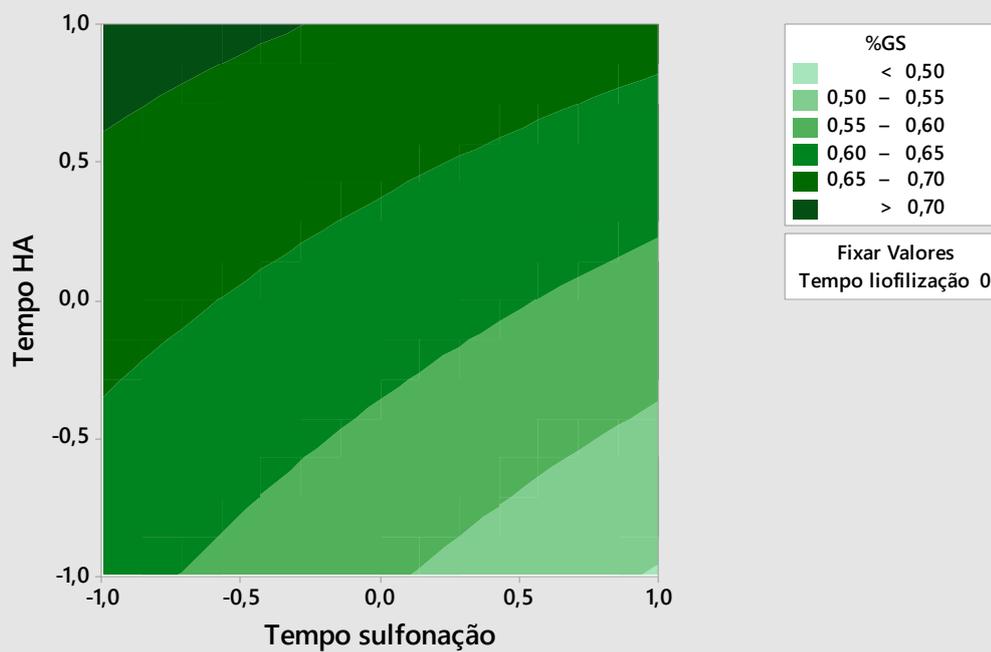


Gráfico de superfície - %PM

Gráfico de Superfície de %PM versus Tempo sulfonação; Tempo liofilizaç

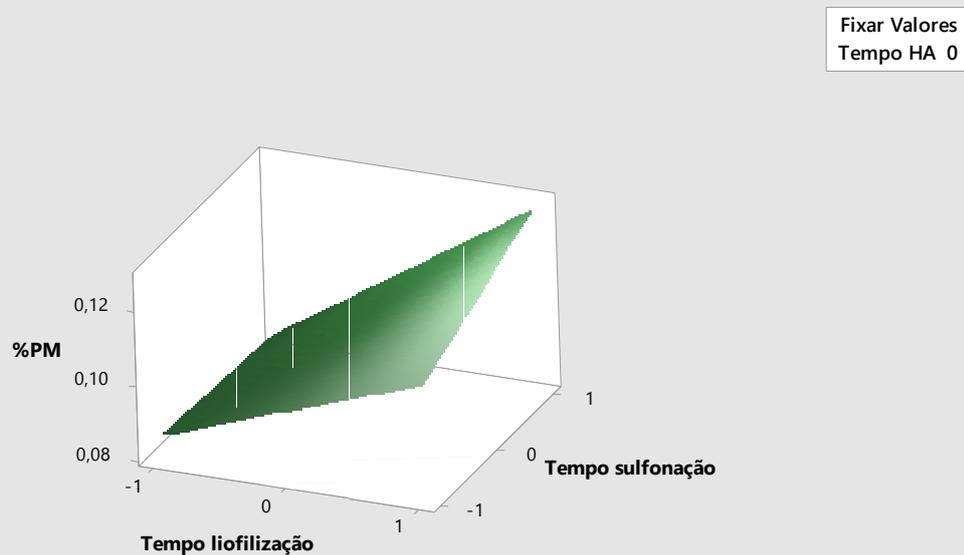


Gráfico de Superfície de %PM versus Tempo HA; Tempo liofilização

Fixar Valores
Tempo sulfonação 0

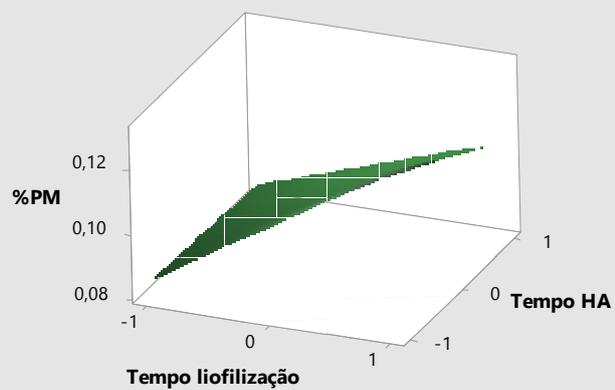


Gráfico de Superfície de %PM versus Tempo HA; Tempo sulfonação

Fixar Valores
Tempo liofilização 0

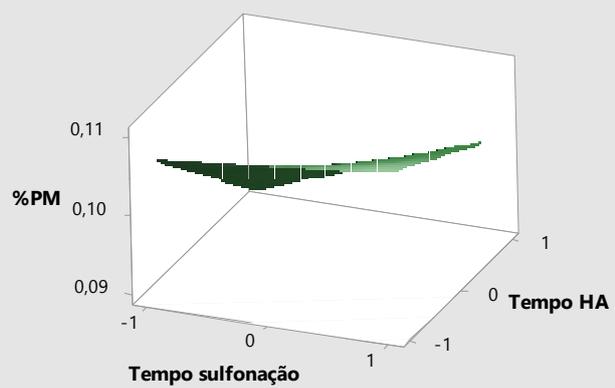


Gráfico de superfície - ângulo de contato

Gráfico de Superfície de Ang contato versus Tempo sulfonação; Tempo li

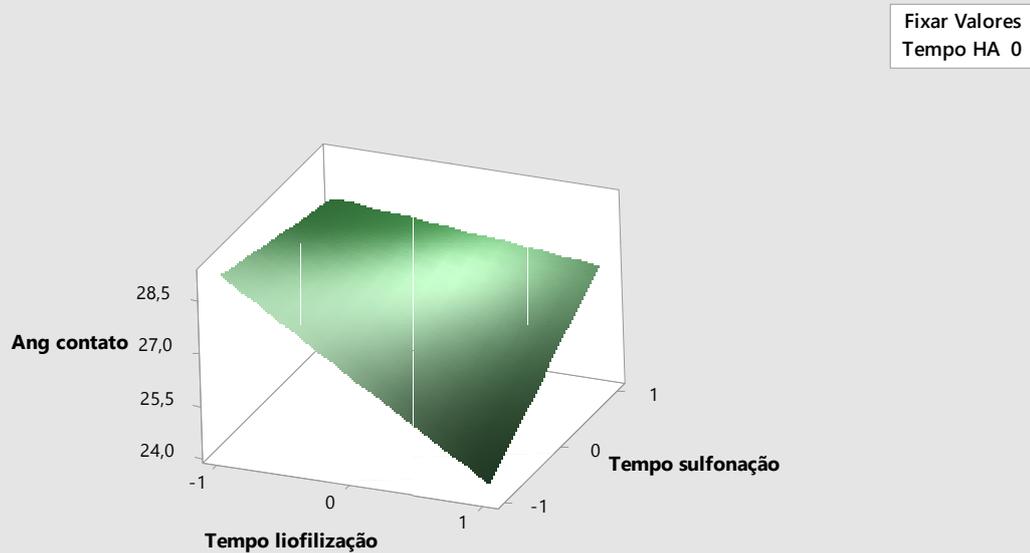


Gráfico de Superfície de Ang contato versus Tempo HA; Tempo liofilizaç

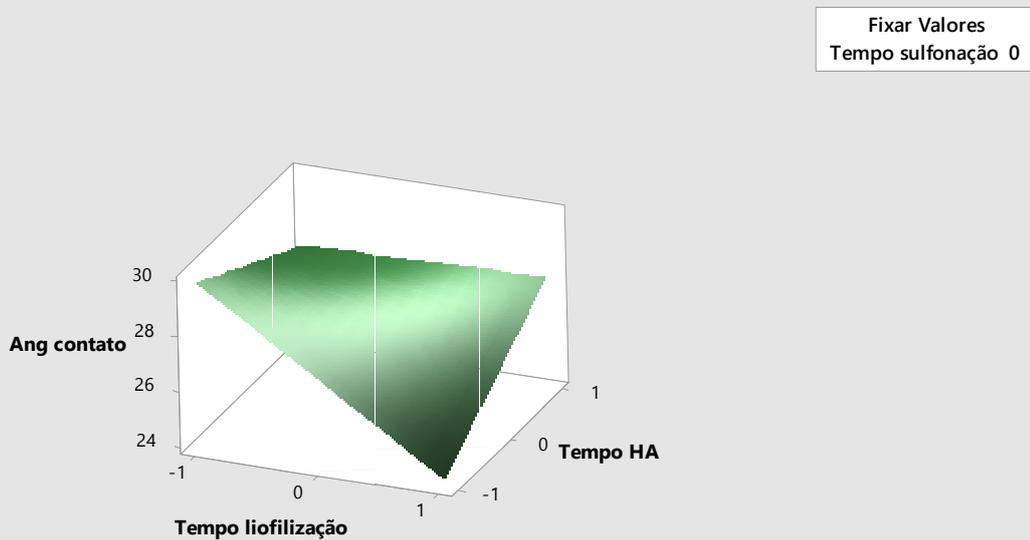


Gráfico de Superfície de Ang contato versus Tempo HA; Tempo sulfonação

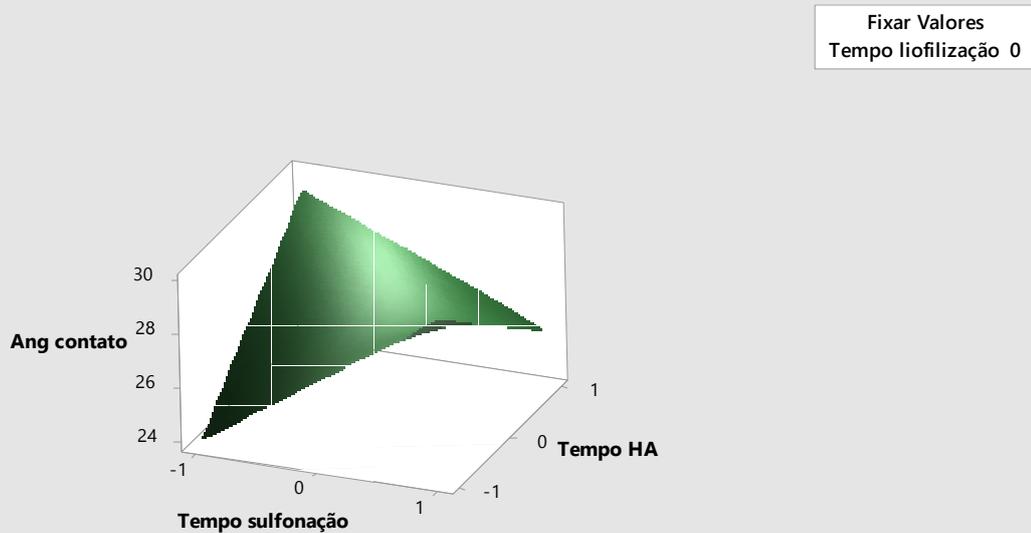


Gráfico de superfície - %GS

Gráfico de Superfície de %GS versus Tempo sulfonação; Tempo liofilizaç

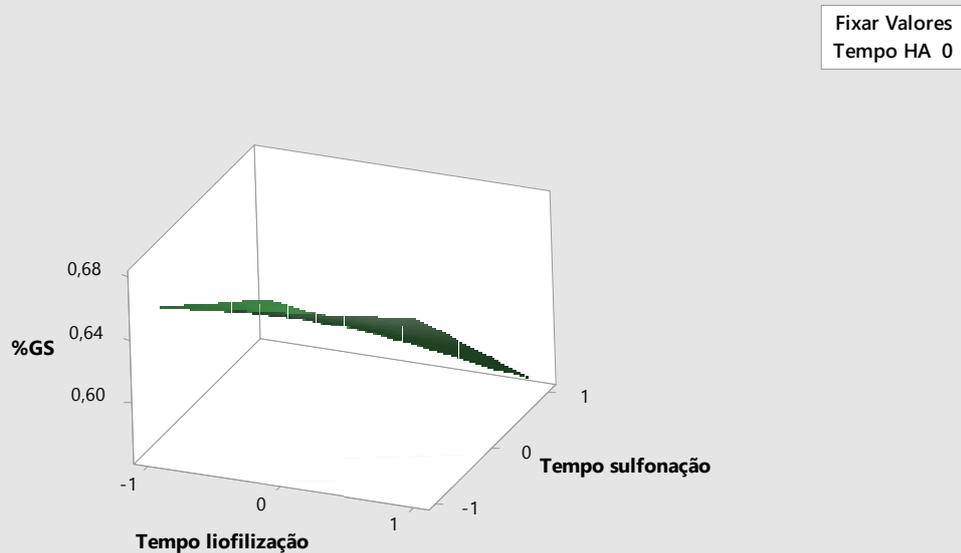


Gráfico de Superfície de %GS versus Tempo HA; Tempo liofilização

Fixar Valores
Tempo sulfonação 0

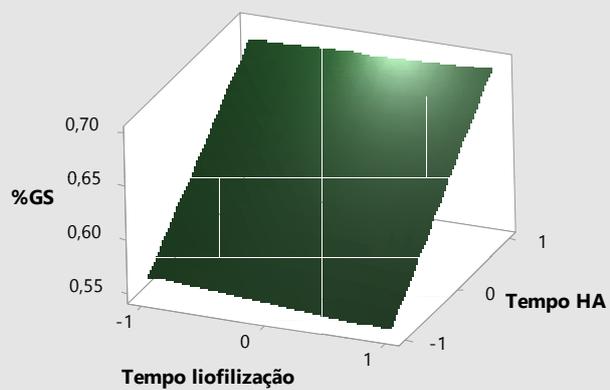


Gráfico de Superfície de %GS versus Tempo HA; Tempo sulfonação

Fixar Valores
Tempo liofilização 0

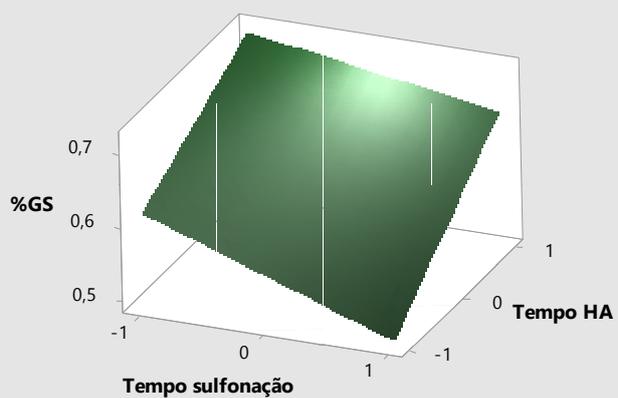


Gráfico de interação

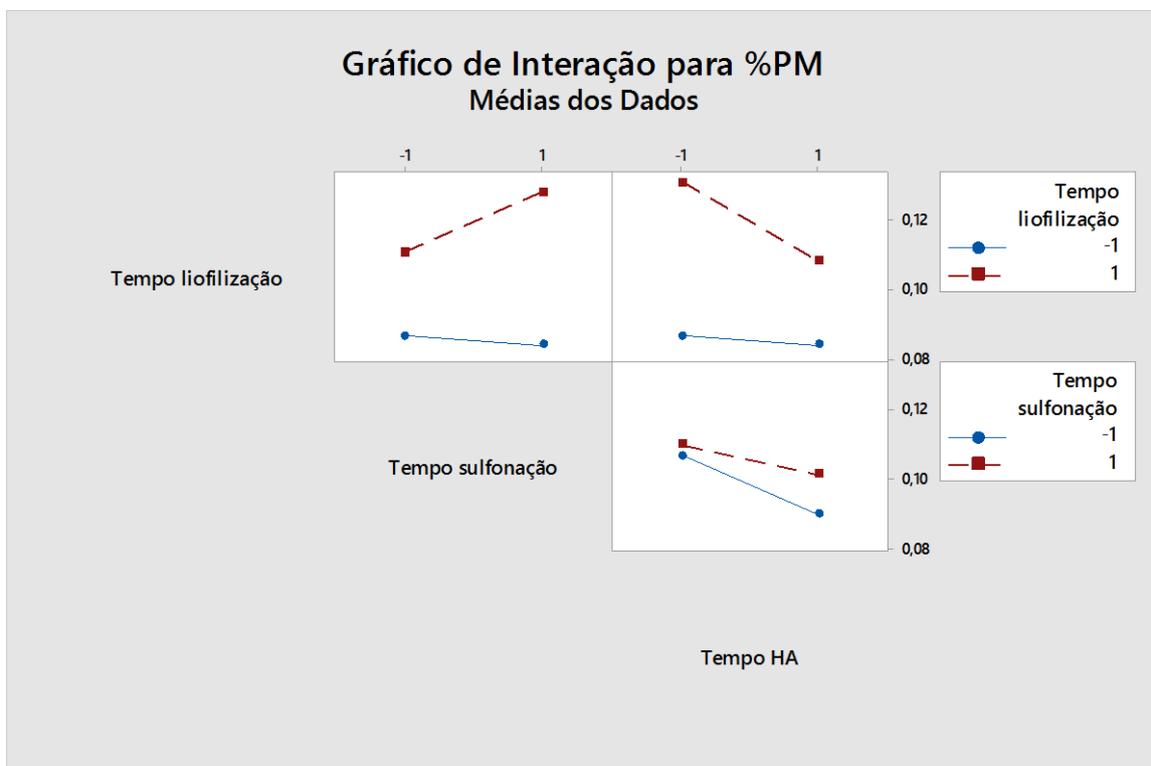
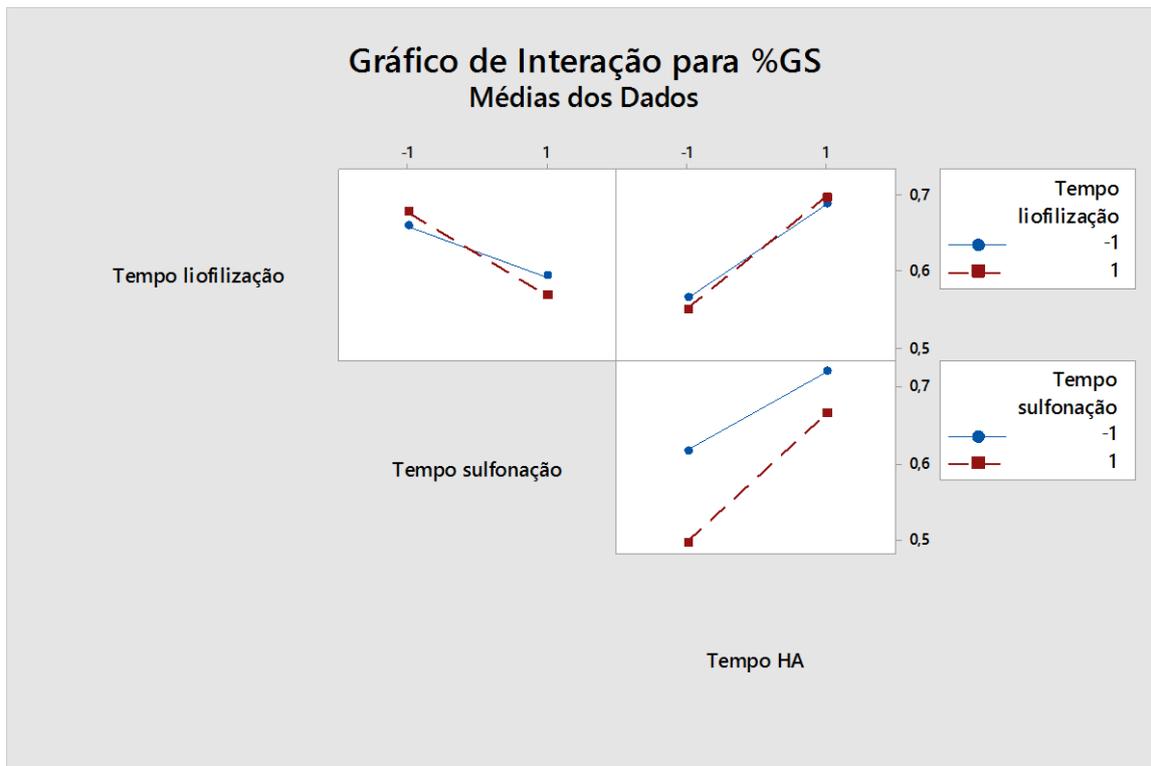


Gráfico de Interação para Ang contato Médias dos Dados

