

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MATERIAIS PARA ENGENHARIA**

**Síntese de compósitos/membranas P(VDF-  
TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> associado ao peptídeo OGP para  
aplicações biomédicas.**

**Luziane Aparecida Costa Da Rosa Simões**

**Itajubá**

**2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MATERIAIS PARA ENGENHARIA**

**Luziane Aparecida Costa Da Rosa Simões**

**Síntese de compósitos/membranas P(VDF-  
TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> associado ao peptídeo OGP para  
aplicações biomédicas.**

**Dissertação submetida ao Programa de Pós-  
Graduação em Materiais para Engenharia  
como parte dos requisitos para obtenção do  
Título de Mestre em Ciências em Materiais  
para Engenharia**

**Área de Concentração: Não Metais**

**Orientador: Prof. Dr. Rossano Gimenes**

**Itajubá  
2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MATERIAIS PARA ENGENHARIA**

**Luziane Aparecida Costa Da Rosa Simões**

**Síntese de compósitos/membrana P(VDF-  
TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> associado ao peptídeo OGP para  
aplicações biomédicas.**

Dissertação aprovada pela banca examinadora em 19 de Janeiro de 2019, conferindo ao autor o título de Mestre em Ciências em Materiais para Engenharia.

**Banca Examinadora:**

Prof. Dr. Rossano Gimenes

Prof. Dr.<sup>a</sup> Amanda Natalina de Faria

Prof. Dr.<sup>a</sup> Daniela Sachs

**Itajubá  
2019**

Aos meus amados esposo Alessandro e filhos Alakis Yuri e Alysson Luiz,  
pelo apoio, pelas palavras de motivação e, sobretudo por sempre  
acreditarem que eu seria capaz.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me conceder esta graça.

Ao meu esposo Alessandro e filhos Alakis Yuri e Alysson Luiz, por me apoiarem e encorajar nos momentos mais difíceis, e por dividirem comigo todas as expectativas, sonhos, e esperanças envolvidos nesse trabalho.

Ao professor Rossano, pela atenção, ensinamento e apoio no decorrer de todo o trabalho realizado.

Aos professores que ministraram com responsabilidade as disciplinas tão importantes ao meu crescimento curricular e em especial aos professores Daniel Thomazini, Flávio Soares e Frederico Barros de Souza por disponibilizarem os equipamentos de seus laboratórios e também ao técnico Marcos Cirilo e Jonas, pela disponibilidade e auxílio com as análises.

Aos colegas Melina Espanhol, Larissa Ribeiro, Mayara Peres e Samanta Torres, pelo companheirismo, dedicação, auxílio com dúvidas e principalmente por dividirmos os anseios, alegrias e também as decepções.

À Universidade Federal de Itajubá, pela realização desse curso.

**Nada na vida deve ser temido, apenas compreendido.**

**Marie Curie**

## RESUMO

Membranas não-reabsorvíveis são aplicadas após a exodontia a fim de atuar como separador do tecido ósseo do tecido conjuntivo, formando uma barreira física, essa técnica comumente conhecida como Regeneração Óssea Guiada (ROG). Contudo, essa membrana além de exibir as características necessárias à função, necessita apresentar uma liberação prolongada dos fatores bioativos com a predisposição de induzir a regeneração do tecido ósseo. O emprego do peptídeo de crescimento osteogênico, *Osteogenic Growth Peptide* (OGP) associada à membrana surge como uma alternativa, pois é capaz de induzir a formação de osso através das proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs), que por sua vez estimula o processo de formação óssea. Nesta perspectiva, objetivo desse trabalho consiste no desenvolvimento de um novo material compósito Poli(fluoreto de vinilideno-trifluoretileno)/Titanato de Bário (P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>), agregado ao peptídeo de crescimento osteogênico (OGP), o qual irá proporcionar e viabilizar o processo de regeneração. Diferentes métodos de caracterização foram aplicados. A caracterização dos materiais foi realizada pela Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de energia dispersiva (EDS), por Difração de Raios X (DRX), Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Análise Térmica (Análise Termogravimétrica (TGA/DTG), Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Medidas de Ângulo de Contato ( $\theta$ ) foram realizadas utilizando o gotejamento a fim de verificar a molhabilidade destas membranas. O OGP foi sintetizado pelo método em fase sólida, purificado por HPLC e caracterizado por espectrometria de massas. Os resultados de MEV identificaram formas esféricas e tamanhos de partículas homogêneas para o pó, para as membranas demonstram uma boa integração da cerâmica na matriz polimérica. As análise de EDS apresentaram a quantificação do material e sua pureza. O mesmo acontece com a Difração de Raios-X que revela alta cristalinidade dos pós demonstrando sua pureza, para os compósitos/membranas exibem uma estrutura cristalina com características na fase  $\beta$  conferindo a piezoelectricidade do material. Os espectros de FTIR confirmam os espectros do DRX, pois evidenciam a fase  $\beta$  expandida devido a incorporação da cerâmica BaTiO<sub>3</sub> na matriz polimérica. Quanto ao Ângulo de Contato observa-se que os valores de  $\theta$  diminuem com o decorrer do tempo caracterizado uma superfície hidrofílica nos compósitos/membranas. Os perfis cromatográficos confirmaram o grau de pureza do OGP obtido. O OGP nas membranas

foi incorporado na concentração de  $1 \times 10^{-4}$  mol. Os resultados de liberação mostraram que as membranas A-1200, A-1500 e P-1200 liberaram após 24 horas, aproximadamente de 48, 54 e 28% respectivamente o peptídeo osteogênico de crescimento.

Palavra Chave: Regeneração Óssea Guiada, Compósitos/Membranas, OGP.

## ABSTRACT

Non-resorbable membranes are applied after the extraction and in order to act as a separator of the connective tissue bone tissue, forming a physical barrier, being a technique commonly known as *Guided Bone Regeneration* (GBR). DNA is more important to be exhibited as a characteristic responsible for a regeneration of bone tissue. The osteogenic peptide growth growth, OSTP (Growth Growth Peptide) associated with the bacterium emerges as an alternative, stimulates the process of bone formation through the bone bacterial membrane (BMPs), which in turn stimulates the process of bone formation. In this perspective, the work in development of a new material is the Poly (vinylidene-trifluoroethylene) Fluoride/Barium Titanate (P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>), added to the osteogenic growth peptide (OGP), which will provide more and enable the regeneration process. Different characterization methods were applied. The characterization of the materials was performed by the Scanning Electron Microscopy (SEM), by the Dispersive Energy Spectroscopy (EDS), by the X-ray Diffraction (XRD), by the Fourier Transform Spectroscopy (FTIR), by the Thermal Analysis (TGA)/DTG, Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Contact Angle Measurements ( $\theta$ ) were applied using a profile detector and a moisture measurement system. The SEM results identified homogeneous particle shapes and sizes for the powder, so that the membranes presented a good matrix integration in the polymerization. X-ray diffraction that reveals high crystallinity of the results demonstrating its purity, for the composites/membranes crystal structure with characteristics in the  $\beta$  phase conferring a piezoelectricity of the material. The FTIR spectra confirm the XRD spectra as they evidence an expanded  $\beta$  phase due to a blend of the BaTiO<sub>3</sub> ceramics in the polymer matrix. "Regarding the Angle of Contact", "Observe the values of decreases over time", "A hydrophilic surface in the composites / membranes". The chromatographic drivers confirm the degree of purity of the obtained OGP. The results of its disclosure were membranes A-1200, A-1500 and P-1200 released after 24 hours, 54 and 28% and the osteogenic growth peptide.

Keyword: Guided Bone Regeneration, Composites/Membranes, OGP.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química dos monômeros de PVDF (a) e P(VDF-TrFE) (b).....	25
Figura 2. Célula unitária tetragonal do titanato de bário ( $\text{BaTiO}_3$ ).....	27
Figura 3. Célula unitária do $\text{BaTiO}_3$ para diferentes temperaturas, e representação da polarização espontâneo (P). a) cúbica $> 120^\circ\text{C}$ ; b) tetragonal, entre $120^\circ\text{C}$ e $0^\circ\text{C}$ ; c) ortorrômbica, entre $0^\circ\text{C}$ e $-90^\circ\text{C}$ ; d) romboédrica, abaixo de $90^\circ\text{C}$ .....	28
Figura 4. Fórmula estrutural do peptídeo OGP .....	33
Figura 5. Domínios funcionais no peptídeo OGP. A porção C-Terminal participa do reconhecimento e ligação ao receptor macromolecular e sinalização da via mitogênica. A porção N-Terminal compreende o domínio que participa da ligação às OGPBPs .....	34
Figura 6. Apresenta o delineamento experimental.....	36
Figura 7. Técnica do processamento dos compósitos na forma de membrana.....	38
Figura 8. Esquema geral do MEV....	40
Figura 9. Esboço de difração de raios X .....	42
Figura 10. Espectrometria na região do IV – Tipos de vibrações.....	44
Figura 11. Instrumento não dispersivo – FTIR .....	45
Figura 12. Micrografia do pó $\text{BaTiO}_3$ calcinado a $1200^\circ\text{C}$ .....	52
Figura 13. Espectro de EDS – $\text{BaTiO}_3$ calcinado a $1200^\circ\text{C}$ .....	52
Figura 14. Espectro de EDS – $\text{BaTiO}_3$ calcinado a $1500^\circ\text{C}$ .....	53
Figura 15. Micrografia do pó do copolímero de P(VDF-TrFE).....	54
Figura 16. Espectro de EDS do pó do copolímero P(VDF-TrFE).....	55

Figura 17. Imagens de MEV da superfície do compósito A-1200 produzida por dispersão na forma de membrana.....	56
Figura 18. (A) Micrografia da Superfície do compósito A-1200 (na forma de membrana) MEV empregando detector de elétron secundário, (B) Espectro de EDS para área analisada .....	57
Figura 19. Difratoograma de DRX da composição BaTiO <sub>3</sub> calcinados em diferentes temperaturas: 1100, 1200 e 1500 ° C.....	58
Figura 20. Difratoograma de DRX dos compósitos A-1200, P-1200 e A-1500.....	60
Figura 21. Espectro de FTIR da amostra do copolímero P(VDF-TrFE).....	61
Figura 22. Espectro de FTIR amostra do compósito A-1200.....	62
Figura 23. Espectro de FTIR amostra do compósito P-1200.....	63
Figura 24. Espectro de FTIR amostra do compósito A-1500.....	63
Figura 25. Espectro de FTIR amostra do copolímero P(VDF-TrFE) e os compósitos A-1200, P-1200 e A-1500. ....	64
Figura 26. Curvas de Análise Térmica (TG) para composição BaTiO <sub>3</sub> pura.....	65
Figura 27. Curvas de Análise Térmica (TG/DTG (inserida na figura) e para o copolímero P(VDF-TrFE)).....	66
Figura 28. Curvas de Análise Térmica (TG/DTG (inserida na figura) e para o compósito A-1200). Amostra analisada na forma de membrana. Atmosfera Nitrogênio, taxa de aquecimento 25 a 1000 ° C.....	67
Figura 29. Curvas de Análise Térmica (TG/DTG (inserida na figura) e para o compósito P-1200). Amostra analisada na forma de membrana. Atmosfera de Nitrogênio, taxa de aquecimento 25 a 1000 ° C.....	68
Figura 30. Curvas de Análise Térmica (TG/DTG (inserida na figura) e para o compósito A-1500). Amostra analisada na forma de membrana. Atmosfera de Nitrogênio, taxa de aquecimento 25 a 1000 ° C.....	68

Figura 31. Curvas de DSC para o de BaTiO <sub>3</sub> calcinada a temperatura de 1100 ° C.....	71
Figura 32. Curvas de DSC para de BaTiO <sub>3</sub> calcinada a temperatura de 1200 ° C.....	72
Figura 33. Curvas de DSC para de BaTiO <sub>3</sub> calcinada a temperatura de 1500 ° C.....	72
Figura 34. Termograma de DSC para o copolímero P(VDF-TrFE).....	73
Figura 35. Termograma de DSC (aquecimento e resfriamento) para o compósito A-1200. Amostra analisada na forma de membrana.....	74
Figura 36. Termograma de DSC (aquecimento e resfriamento) para o compósito P-1200. Amostra analisada na forma de membrana.....	74
Figura 37. Termograma de DSC (aquecimento e resfriamento) para o compósito A-1500. Amostra analisada na forma de membrana.....	75
Figura 38. Curvas de DSC, no aquecimento, do copolímero P(VDF-TrFE).....	77
Figura 39. Curvas de DSC, no aquecimento, do compósito A-1200. Amostra analisada na forma de membrana.....	77
Figura 40. Curvas de DSC, no aquecimento, do compósito P-1200. Amostra analisada na forma de membrana.....	78
Figura 41. Curvas de DSC, no aquecimento, do compósito A-1500. Amostra analisada na forma de membrana.....	78
Figura 42. Curvas de DSC, no aquecimento, do compósito A-1200, P-1200, A-1500 e inserido na figura curva DSC do copolímero P(VDF-TrFE).....	79
Figura 43. Medidas de Ângulo de Contato para os compósitos. Amostras analisadas na forma de membrana.....	81
Figura 44. Medidas de Ângulo de Contato para o compósito A-1200. Amostra analisada na forma de membrana.....	82
Figura 45. Espectro de fluorescência do Peptídeo OGP.....	83
Figura 46. Espectro de fluorescência do Peptídeo OGP.....	84

Figura 47. Perfil de liberação OGP incorporada nos compósitos A-1200, P-1200 e A-1500 no intervalo de 0 a 16 horas.....85

Figura 48. Perfil de liberação OGP incorporada nos compósitos A-1200, P-1200 e A-1500 de 24 a 72 horas.....86

## LISTA DE ABREVEATURAS E SÍMBOLOS

### 1. Aminoácidos

**Ala (A)** Alanina

**Arg (R)** Arginina

**Phe (F)** Fenilalanina

**Gly (G)** Glicina

**Gln (Q)** Glutamina

**Leu (L)** Leucina

**Lys (K)** Lisina

**Pro (P)** Prolina

**Tyr (Y)** Tirosina

**Thr (T)** Treonina

### 2. Outros

**ALP** Fosfatase alcalina

**BaCO<sub>3</sub>** Carbonato de Bário

**BaTiO<sub>3</sub>/BT** Titanato de Bário

**BMPs** Proteína Morfogenética Óssea

<b>C</b>	Carbono
<b>CL</b>	Fase Resfriamento
<b>DMF</b>	N, N, Dimetilformamida
<b>DRX</b>	Difração de Raios X
<b>DTG</b>	Derivada da Análise Termogravimétrica
<b>EDS</b>	Espectroscopia por Dispersão de Energia de Raios X
<b>e-PTFE</b>	Politetrafluoretileno expandido
<b>F</b>	Flúor
<b>FE</b>	Ferroelétrico
<b>FGF</b>	Fator de Crescimento Fibroblástico
<b>FGF – <math>\beta</math></b>	Fator de Crescimento Transformado Beta
<b>FTIR</b>	Microscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
<b>H</b>	Hidrogênio
<b>HT</b>	Alta Temperatura
<b>IGF</b>	Fator de Crescimento Insulínico
<b>LT</b>	Baixa Temperatura
<b>MEM</b>	Meio Essencial Mínimo
<b>MEV</b>	Microscopia Eletrônica por Varredura.

<b>MLCC</b>	Capacitores Cerâmicos de Múltiplas Camadas
<b>OGP</b>	Osteogenic Growth Peptide
<b>P(VDF-TrFE)</b>	Poli(fluoreto de vinilideno-trifluoretileno)
<b>PVDF</b>	Poli(fluoreto de Vinilideno)
<b>ROG</b>	Regeneração Óssea Guiada
<b>SE</b>	Elétron Secundário
<b>T<sub>c</sub></b>	Temperatura de Curie
<b>T<sub>f</sub></b>	Temperatura de Fusão
<b>TG</b>	Análise Termogravimétrica.
<b>T<sub>s</sub></b>	Temperatura de Cristalização
<b>UV-VIS</b>	Ultravioleta Visível
<b>A</b>	Fase alfa
<b>α2-M</b>	Macrobulina α
<b>B</b>	Fase beta
<b>Γ</b>	Fase gama
<b>Δ</b>	Fase delta
<b>Θ</b>	Ângulo de Contato

## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Classificação dos Polímeros.....	22
Tabela 2. Membranas disponíveis comercialmente.....	30
Tabela 3 - Tamanho médio das partículas da cerâmica calcinada em diferentes temperaturas.....	50
Tabela 4 Quantificação atômica dos elementos presentes nas amostras do pó BaTiO <sub>3</sub> calcinado em diferentes temperaturas obtidas por EDS.....	52
Tabela 5 - Resultado da análise elementar de EDS para C, O e F do P(VDF-TrFE).....	54
Tabela 6 - Bandas FTIR em cm <sup>-1</sup> e atribuições para o P(VDF-TrFE) e compósitos. ....	61
Tabela 7 - Temperatura características e parâmetros termodinâmicos (DSC) do BaTiO <sub>3</sub> .....	70
Tabela 8 - Temperatura características e parâmetros termodinâmicos (DSC) do copolímero P(VDF-TrFE) e compósitos/membranas P(VDF-TrFE)/BT.....	75
Tabela 9 - Espessura dos compósitos de P(VDF-TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> .....	79
Tabela. 10 - Ângulo de contato com MEM das membranas de P(VDF-TrFE)/B aTiO <sub>3</sub> .....	83
Tabela 11 - Porcentagem de OGP liberada a partir dos compósitos.....	86

# SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	20
1.2 Polímeros .....	22
1.3 Copolímero Poli(Fluoreto de vinilideno-Trifluor Etileno).....	24
1.4 Cerâmica Titanato de Bário.....	26
1.5 Compósito Polímero – Cerâmico.....	28
1.6 Regeneração Óssea Guiada (ROG).....	29
1.7 Peptídeo de Crescimento Osteogênico (OGP).....	30
2. OBJETIVOS.....	33
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
3.1 Delineamento Experimental.....	34
3.2 Síntese dos Pós Titanato de Bário.....	35
3.3 Síntese dos Compósitos/Membranas.....	35
4. PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE E CARACTERIZAÇÃO.....	37
4.1 Microscopias Eletrônica de Varredura (MEV).....	37
4.2 Difratomia de Raios X (DRX).....	39
4.3 Espectroscopias no Infravermelho por Transformadas de Fourie (FTIR).....	41
4.4 Técnicas de Análise Térmica.....	43
4.4.1 Análise Termogravimétrica (TG).....	43
4.4.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	44
4.5 Ângulos de Contato ( $\theta$ ) .....	45
4.6 Incorporação do OGP nas membranas P(VDF-TrFE)/BT .....	46
4.7 Liberação do OGP em solução de MEM a partir das membranas P(VDF- TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> .....	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	47
5.1 Microscopias Eletrônica de Varredura (MEV) .....	47
5.2 Difratomia de Raios X (DRX) .....	55
5.3 Espectroscopias no Infravermelho por Transformadas de Fourier (FTIR).....	61

5.4 Técnicas de Análise Térmica .....	65
5.4.1 Análise Termogravimétrica (TG) .....	65
5.4.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) .....	69
5.5 Ângulo de Contato ( $\theta$ ) .....	78
5.6 Adsorção do Peptídeo OGP e o sistema de Liberação aos compósitos/membranas P(VDF-TrFE)/BaTiO <sub>3</sub> .....	81
6. CONCLUSÕES .....	86
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	87

# 1. INTRODUÇÃO

A prática clínica enfrenta um grande desafio, a necessidade de solucionar o impasse originado pela alteração no periodonto de sustentação, conhecido como defeito ósseo. Esse defeito atinge os tecidos que sustentam e nutrem toda a cavidade oral [1].

Inúmeros estudos estão sendo realizados na busca de técnicas que promovam o reparo ósseo. Nesse intuito a técnica de Regeneração Óssea Guiada (ROG) vem revelando resultados promissores [2]. Essa técnica consiste em uma barreira física (membrana) na qual separa as células do tecido ósseo do tecido conjuntivo, formando uma barreira tecidual, favorecendo o crescimento do tecido ósseo no local aplicado [3].

Os dados apresentados pela literatura revelam que os processos realizados pela ROG são meios confiáveis para desenvolver o crescimento ósseo podendo ser defeitos verticais e/ou horizontais em pacientes com problemas com perda óssea [4].

São encontradas no mercado membranas reabsorvíveis (não precisam de uma segunda intervenção cirúrgica para sua remoção) não reabsorvíveis (apresentam necessidade de remoção), ambas atuam com a finalidade de barreira para criar e proteger um espaço onde deve ocorrer o reparo do tecido ósseo bloqueando a entrada do tecido conjuntivo [5].

As membranas que atuam com essa finalidade precisam apresentar determinadas características específicas, dentre elas destaca-se a resistência mecânica, capacidade de resistir às pressões exercidas pelo tecido sobreposto, além de não se desagregar quando for dividida para aplicação no local lesionado; flexibilidade, clinicamente fácil de ser manipulado; biocompatibilidade, material compatível ao tecido; as propriedades oclusivas, (oclui a invasão do tecido da mucosa mastigatória); a integração dos tecidos envolvidos; o custo acessível possa ter acesso ao material; a capacidade de criação de espaço entre os tecidos envolvidos e a previsibilidade clínica e estética [6].

Entre os materiais empregados na construção destas membranas destacam-se os polímeros sintéticos, tais como o politetrafluoretileno expandido (e-PTFE), polímeros naturais como colágeno de origem bovina, suína e equina. O emprego de materiais compósitos na ROG ainda é pouco explorado na literatura, embora, este tipo de material

possa ser interessante para diversas aplicações médicas, já que materiais compósitos podem combinar as propriedades de materiais poliméricos e cerâmicos.

No presente trabalho, foi proposto um material compósito polimérico-cerâmico para emprego como membrana não reabsorvível para ROG, que além de apresentar as propriedades necessárias a sua função, pode apresentar a liberação prolongada dos fatores bioativos com a predisposição de impulsionar a regeneração do tecido ósseo, tais como peptídeos de crescimento osteogênico (OGP) [7].

O OGP, presente a certo nível no meio celular podem desencadear acontecimentos naturais que conduzem a regeneração óssea [8]. Desta forma, o emprego de peptídeos sintéticos, que são sequências de aminoácidos e se caracterizam em estruturas menores do que proteínas surgem como uma alternativa na regeneração óssea.

Diversos tipos de OGP são encontrados fisiologicamente no soro humano, de ratos e em outras espécies de mamíferos em concentração micromolar, indicando desta forma a importância biológica do OGP é importante na manutenção e crescimento do tecido ósseo [9].

O OGP tem sido muito utilizado por ser capaz de induzir a formação de osso (osteointegração) através das proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs), que por sua vez estimulam o processo de formação óssea através de reações celulares. Assim sendo, ocorre a diferenciação de células osteoprogenitoras e de células progenitoras hematopoiéticas [10].

Desta forma, o desenvolvimento desse novo material compósito Poli(fluoreto de vinilideno-trifluoretileno)/Titanato de Bário (P(VDF-TrFE)/BT), associada a um OGP, é uma alternativa promissora para o desenvolvimento de membranas, as quais apresentam propriedades de promover reparo ósseo sob diversas situações, com a liberação do peptídeo de crescimento osteogênico poderão proporcionar e viabilizar o processo de regeneração óssea interagindo com alvos biológicos [11, 12,13, 14].

## 1.1 Polímeros

A semântica da palavra polímero tem origem no vocabulário grego poli “muita” e meros “partes”. Desta forma define-se polímero como materiais compostos por uma macromolécula constituída pela repetição de milhares de unidades de repetição denominada monômeros. Um polímero tem por estrutura molecular pequenas unidades de repetição, unidas por ligações covalente dando origem a macromoléculas de alta massa molecular definida como monômeros (partes). A formação dos polímeros advém da reação química que combina a união monômera denominada polimerização [15]. No ano de 1920, Hermann Staudinger propôs a teoria da macromolécula através de suas pesquisas, introduzindo uma nova classe de materiais como composto formado por moléculas de grande tamanho. Teoria que não foi aceita inicialmente pela academia, levando algumas décadas para sua aceitação. A qual concedeu mais tarde em 1953, o Premio Nobel de Química a Staudinger [16].

Existe uma vasta gama de polímeros clássicos produzidos e comercializados, este número vem aumentando com estudo de pesquisas e novas tecnologias desenvolvidas. Dessa forma, os polímeros foram classificados de muitas formas, podendo destacar as estruturas químicas, monômeros, solubilidade, tipos de aplicações entre outras. Na Tabela 1 são destacados os métodos fundamentais de classificação para os polímeros [17], os poliméricos são classificados por uma variedade de formas, o que não limita sua aplicação. Na atualidade os polímeros têm sido empregados em uma ampla diversidade de materiais sendo utilizados em aplicações industriais, na qual se destaca a área medica e biomédica [18].

Tabela 1 – Classificação dos Polímeros

Classificação dos Polímeros	
Critérios	Classe do Polímero
Origem	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Natural</li> <li>• Sintético</li> </ul>
Número de monômeros	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Homopolímero</li> <li>• Copolímero</li> </ul>
Método de preparação	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Polímero adição</li> <li>• Polímero condensação</li> <li>• Modificação de outro polímero</li> </ul>
Estrutura química da cadeia polimérica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Poli-hidrocarboneto</li> <li>• Poliamida</li> <li>• Poliéster</li> <li>Etc</li> </ul>
Encadeamento da cadeia polimérica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sequência cabeça-cauda</li> <li>• Sequência cabeça-cabeça, cauda-cauda</li> </ul>
Configurações dos átomos da cadeia polimérica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sequência Cis</li> <li>• Sequência Trans</li> </ul>
Taticidade da cadeia polimérica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Isotático</li> <li>• Sindiotático</li> <li>• Atático</li> </ul>
Fusibilidade e/ou solubilidade do polímero	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Termoplástico</li> <li>• Termorrígido</li> </ul>

Fonte: Adaptado de Introdução a Polímeros (2004)

[16].

## 1.2 Copolímero Poli(Fluoreto de vinilideno-Trifluoretileno)

Polímeros que possuem exclusivamente um tipo de monômero em sua cadeia molecular são definidos como homopolímeros. Quando se introduz monômeros diferentes nessa cadeia são formados os copolímeros os quais apresentam propriedades de seu polímero precursor (polímero base) e também exibem propriedades adicionais relacionados ao monômero introduzido em sua cadeia [16,17].

O poli(fluoreto de Vinilideno),(PVDF) e seus copolímeros são incluídos na classe dos fluoropolímeros (polímeros contendo átomos de flúor incluídos na cadeia principal, terminal ou lateral) e, tem sido estudados por apresentarem características ferroelétricas e eletromecânicas [19].

Em 1969, após tratamento aplicado a filmes alongados e polarizados de polímeros, Kawai descobriu e demonstrou a piezoelectricidade principalmente do poli(fluoreto de vinilideno), (PVDF). Também foi observado a piezoelectricidade em policarbonato, (PC), polietileno, (PE) e politetrafluoretileno, (PTFE), embora o efeito tenha sido menor [20].

A partir desses estudos, polímeros ferroelétricos têm sido amplamente estudados, principalmente copolímeros à base de VDF. No início da década de 80, foi descoberto que filmes de copolímero P(VDF-TrFE) contendo 80 mols % de VDF apresentam propriedades piezoelétricas mais elevada quando comparado ao seu homopolímero PVDF [21].

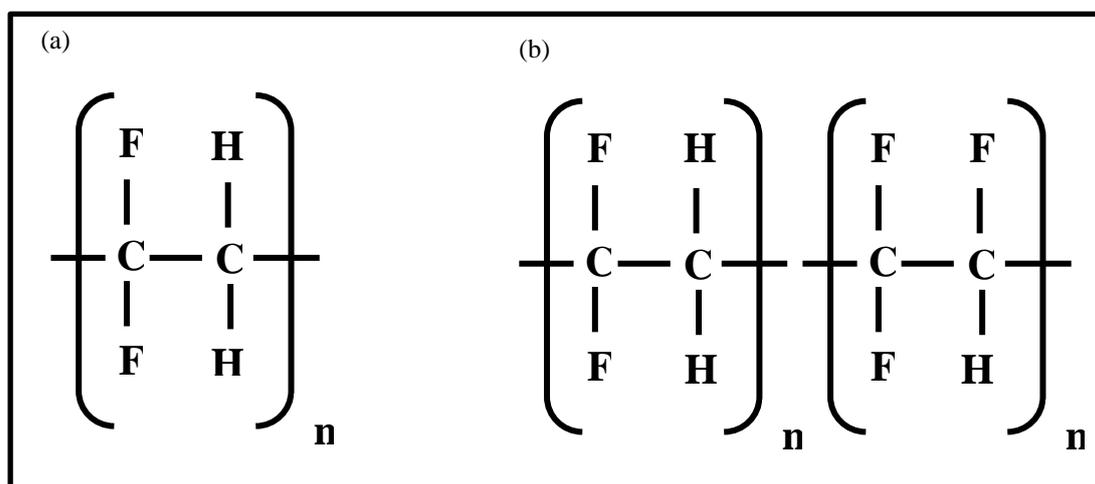
O PVDF é um polímero semicristalino, exibe uma natureza complexa de cristalização, pelo menos quatro tipos de polimorfos foram confirmados (por exemplo, as fases  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ ). No entanto, dentre essas quatro a fase mais favorável energeticamente é a fase  $\beta$  devido a sua capacidade piezoelétrica e piroelétrica. Para se obter a fase  $\beta$  no PVDF pós tratamentos são necessários, como deformação mecânica, ou poling (polimento) de alto campo elétrico, cristalização sob alta pressão ou pela aplicação de taxas de resfriamento muito altas de uma solução[22].

Os copolímeros de P(VDF-TrFE) são os mais promissores copolímeros fluorados, pois apresentam propriedades ferroelétricas, alta piezoelectricidade e

piezoelectricidade. É obtido pela copolimerização de fluoreto de Vinilideno ( $\text{CH}_2\text{-CF}_2$ ) e de trifluoretileno ( $\text{CHF-CF}_2$ ), de cadeia molecular tipo aleatória (monômeros se dispõem sem padrão definido) em que, as adições de  $\text{CHF-CF}_2$  na cadeia molecular do homopolímero de PVDF ocorrem aleatoriamente [23].

O P(VDF-TrFE) pode ser sintetizado com diferentes proporções molares trifluoretileno (TrFE) que cristalizam diretamente na fase ferroelétrica, característica que o diferencia de seu homopolímero (PVDF). Em particular estes copolímeros com razões molares entre VDF e TrFE (com conteúdo de VDF diferenciando entre 50 a 80% em mols), mostra uma conformação de cadeia ferroelétrica polar semelhante à fase  $\beta$  do PVDF, isto conseqüentemente produz um material com efeito piezoelétrico alto[24].

FIGURA 1. Estrutura química dos monômeros de PVDF (a) e P(VDF-TrFE) (b).



Fonte: Autora

Nesta faixa de conformação, o copolímero P(VDF- TrFE) apresenta a transição ferroelétrica (FE) fase  $\beta$  estável a uma temperatura ambiente com polarização espontânea dos dipolos C-F e uma mudança única na conformação da cadeia entre trans-trans (ferroelétricos, polar) trans-gauche (paraelétrica, não polar) perto de sua temperatura de transição Curie ( $T_c$ ) [24, 25].

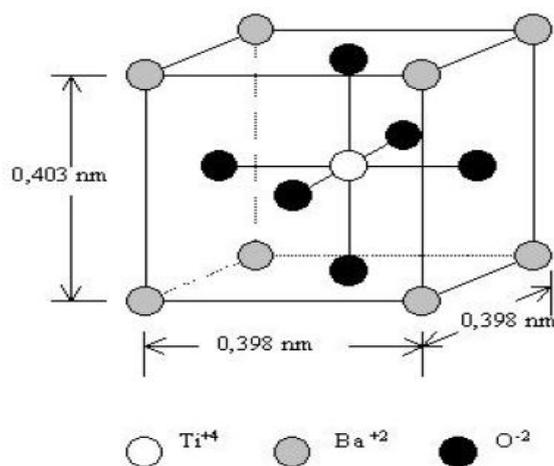
As diferentes fases cristalinas de P(VDF-TrFE) são indicadas como baixa temperatura (LT), alta temperatura (HT) e fase de resfriamento (CL). A fase LT (também chamada de fase ferroelétrica) é praticamente a mesma que a fase  $\beta$  do PVDF e se transforma na fase HT acima do ponto de Curie. A fase HT envolve quantidades

elevadas de pontos de ligação *gauche* e pode ser considerada como uma mistura da fase  $\gamma$  da fase  $\alpha$ . O resfriamento lento de uma amostra HT a temperatura ambiente da origem a fase CL diferenciando sua estrutura cristalina quando comparada as fases LT e HT. Algumas composições dos copolímeros de P(VDF-TrFE) mostram duas transições ferro-para-elétrica (LT $\rightarrow$ CL $\rightarrow$ HT) durante o aquecimento, e até duas transições para-ferroelétrica (HT $\rightarrow$ CL $\rightarrow$ LT) no resfriamento. Quando comparado ao PVDF, a cristalização com maior facilidade na fase ferroelétrica faz do P(VDF-TrFE) ser mais atraente em aplicações como tecnologia de memória, filtração, biomédica, etc. [22,26].

### 1.3 Cerâmica Titanato de Bário

O Titanato de Bário ( $\text{BaTiO}_3$ ) foi descoberto na década de 40 e enquadra na classe das cerâmicas eletrônicas, tidas como cerâmicas avançadas. É um material clássico dielétrico pertencente ao grupo de materiais com estrutura da perovskita de fórmula geral tipo  $\text{ABO}_3$  onde: A é um metal divalente, B apresenta um metal tetravalente e O é oxigênio. Na Figura 2 é apresentada uma estrutura de célula unitária tetragonal do  $\text{BaTiO}_3$ , no qual é constituída por um átomo de titânio no centro do octaedro formado por seis átomos de oxigênio localizado nas faces do cubo, com átomos de bário situados no vértice [15].

FIGURA 2. Célula unitária tetragonal do titanato de bário ( $\text{BaTiO}_3$ ).

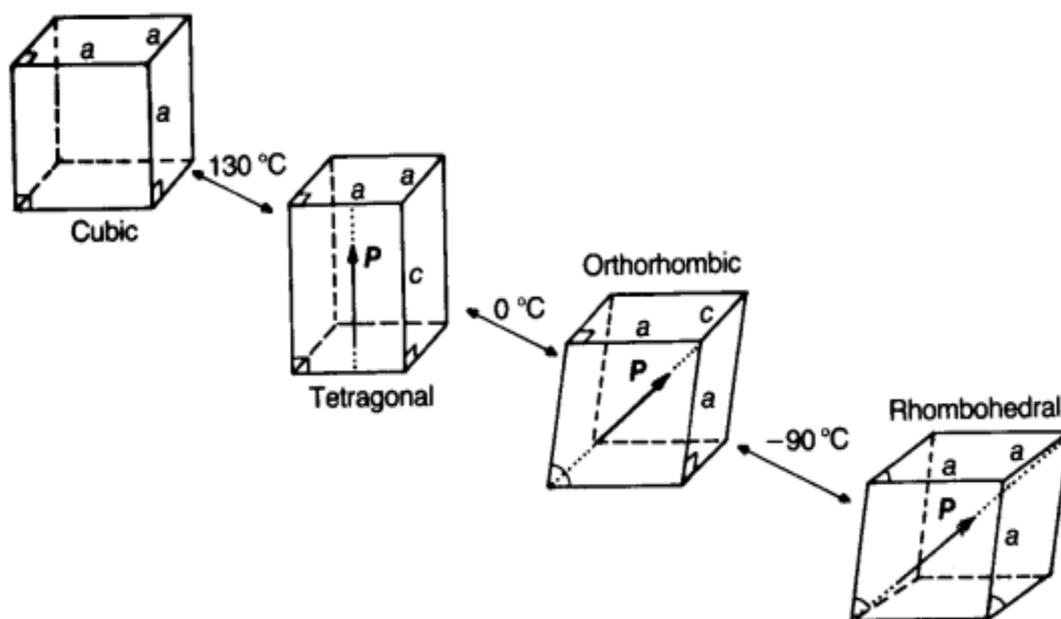


Fonte: Adaptado Callister (2012) [15].

$\text{BaTiO}_3$  é amplamente utilizado devido suas propriedades ferroelétricas, piroelétricas e piezoelétricas. Tem uma estrutura tipo fase tetragonal, estável abaixo da temperatura de Curie ( $10 - 120^\circ\text{C}$ ) mudando para fase cúbica, paraelétrica acima desta temperatura (aproximadamente  $130^\circ\text{C}$ ) e alto desempenho constante dielétrica (Figura 3). O  $\text{BaTiO}_3$  está entre os materiais cerâmicos mais conhecidos e amplamente pesquisados, e em relação a classe dos materiais ferroelétricos é o material mais investigado, devido às suas boas propriedades elétricas à temperatura ambiente [27,28], bem como por ser um ferroelétrico isento de chumbo.

Existe vários métodos de síntese do  $\text{BaTiO}_3$ , dentre elas as mais utilizadas para a produção de pós de titanato de bário são: método por combustão, métodos sol-gel, síntese hidrotérmica e o citrato precursor [29].

FIGURA 3. Célula unitária do  $\text{BaTiO}_3$  para diferentes temperaturas, e representação da polarização espontâneo (P). a) cúbica  $> 120^\circ\text{C}$ ; b) tetragonal, entre  $120^\circ\text{C}$  e  $0^\circ\text{C}$ ; c) ortorrômbica, entre  $0^\circ\text{C}$  e  $-90^\circ\text{C}$ ; d) romboédrica, abaixo de  $90^\circ\text{C}$ .



Fonte: [30].

O  $\text{BaTiO}_3$  destaca-se uma notável atenção em pesquisa realizadas nas últimas décadas, pois é um material cerâmico eletroativo e ferroelétrico e tem sido utilizado como material base em inúmeras aplicações, destacando a área de eletrocerâmicas, das

quais se pode citar os capacitores cerâmicos multicamadas (MLCs), transdutores sensores e atuadores, células a combustível de óxido sólido e memórias de acesso aleatório ferroelétrico[31]. Pode-se destacar um grande interesse por aplicações biomédicas nos últimos anos, devido sua propriedade piezoelétrica que tem a capacidade de ser utilizada como material de enxerto ósseo. Tendo relatos de gama de pesquisadores que investigaram a resposta biológica do  $\text{BaTiO}_3$  aplicados em estudos in vivo [32].

## 1.4 Compósito Polímero – Cerâmico

Materiais compósitos foram desenvolvidos para solucionar problemas tecnológicos no decorrer dos tempos, mas sua história remonta no início do século XX, esses materiais começaram a despertar a atenção de indústrias com a introdução de compósitos baseados em polímeros. Desde então, materiais compósitos tornaram-se materiais comuns de engenharia e são projetado e fabricado para várias aplicações, incluindo a indústria automobilística, indústria aeroespacial, indústria de artigos esportivos e eletrodomésticos. Na medicina, destaca-se na área de materiais que envolvem uso de próteses, lentes artificiais, válvulas cardíacas e segmentos e como material implantável na odontologia e estética [24].

Em ciência dos materiais, conceituam materiais compósitos aqueles feitos de enchimento, sejam partículas, flocos ou fibras, embutidas em uma matriz polimérica, metálica ou cerâmica. No entanto, de acordo com uma definição mais ampla, um compósito são materiais produzidos de uma fase principal denominada de matriz, ou material base, e de uma fase secundária denominada de carga. Quando colocados juntos as propriedades resultantes diferem daquelas do material base [15].

Materiais compósitos de polímero/cerâmica são materiais desenvolvidos por uma fase cerâmica imersa em uma matriz polimérica. Esses têm sido objeto de inúmeros estudos e pesquisas, visto que dispõem de uma ampla variedade de aplicações quando comparado ao material individualizado, uma vez que apresentam propriedades físicas e químicas divergentes. Ao modificar a fração dos constituintes, sua propriedade pode ser composta de acordo com sua aplicação. A busca por um compósito bem homogêneo tendo a fase cerâmica bem dispersa no polímero hospedeiro, a combinação de cerâmicas piezoelétricas (como  $\text{BaTiO}_3$ ) que exibem propriedades hidrofílicas sua dispersão em

compostos altamente hidrofóbicos (polímeros fluorados como PVDF e seus copolímeros) podem favorecer sua fusão e, a formação de compostos ferroelétrico flexível tem sido buscada nos últimos anos, tendo em vista uma maior flexibilidade permitida por esses materiais para se adequar a propriedades específicas, tais como propriedades mecânicas, elétricas e térmicas e / ou um acoplamento entre essas propriedades. A identificação dos aspectos significativos que controlam o desempenho da propriedade é, portanto, da maior importância para a fabricação de um composto [33, 34,35], um destes aspectos é o desenvolvimento de figuras de mérito (FOM) que visam estabelecer relações matemáticas entre as propriedades dos componentes bases, visando comparar materiais a fim de otimizar as propriedades para aplicações desejadas.

## **1.5 Regeneração Óssea Guiada (ROG)**

A restauração de ossos perdidos na extração de dentes, ou mesmo causada por traumas, patologias, infecções crônicas / agudas ou como consequência de doenças periodontais, faz-se necessário o emprego de um tratamento confiável e previsível. Entre as técnicas mais usualmente aplicadas tem-se a Regeneração Óssea Guiada (ROG) a qual consiste numa técnica da medicina regenerativa, que visa reposição de tecidos periodontais pelo próprio organismo, ou mesmo estimulando este na reabsorção do enxerto e coágulo; essa técnica melhora os resultados de enxerto ósseo e colocação de implantes dentários [36].

A ROG um tratamento determinado para alcançar a regeneração óssea, especialmente na região maxilofaxial. O método de tratamento com ROG fundamenta-se na aplicação de uma barreira física, geralmente na forma de membrana, para ocultar um defeito ósseo. Por definição ROG consiste na aplicação de uma membrana que tem a função de isolar o local do defeito ósseo dos tecidos moles adjacentes, evitando assim a competição destes para com o tecido ósseo, conduzindo numa eficiente formação do tecido ósseo regenerando os ossos perdidos [37].

Considerando as aplicações de ROG os requisitos básicos das membranas são a biocompatibilidade, propriedades de oclusão celular, possibilidade de integração, moldabilidade e propriedades de manutenção de espaço incluindo estabilidade, permeabilidade seletiva, incorporação tecidual e manuseio clínico [38].

As membranas aplicadas para ROG foram produzidas para auxiliar numa gama de funcionalidades em aplicações clínicas, podem ser classificadas em membranas não reabsorvíveis e reabsorvíveis. Suas características físicas e químicas influem na sua função e a escolha de um material específico, para sua composição, baseia-se nas propriedades biológicas da membrana, assim como nas condições de tratamento. As primeiras membranas introduzidas no mercado foram as não reabsorvíveis, utilizando como material o politetrafluoretileno expandido (e-PTFE). Esta classe de membrana exhibe boa biocompatibilidade e manutenção da integridade estrutural durante a cicatrização. Membranas não reabsorvíveis comumente apresentam resultados positivos quando examinados em estudos experimentais e quando utilizados em procedimentos clínicos, que exigem tempos de cicatrização prolongados. Contudo, tem a necessidade de sua remoção através de procedimento cirúrgico, apontando dessa forma a necessidade de cirurgia adicional.

As membranas reabsorvíveis (naturais ou sintéticas) foram introduzidas posteriormente, e desenvolvidas com o objetivo de excluir a necessidade de um segundo procedimento cirúrgico. Embora este fato represente uma vantagem a favor das membranas reabsorvíveis, a cinética de reabsorção da mesma deve ser considerada no tratamento clínico, havendo casos em que a desempenho da mesma é reduzida pela reabsorção da membrana, já que a reabsorção ocorre antes da regeneração óssea, poderá deixar de proteger o espaço ocultado.

Inúmeras pesquisas relatam que a ROG com aplicação de membranas reabsorvíveis ou não reabsorvíveis apresentam bons resultados e indicativos de sucesso [39,40]. Na Tabela 2 estão disponíveis várias membranas comercialmente disponíveis [40].

Tabela 2. Membranas disponíveis comercialmente.

<b>Nome Comercial</b>	<b>Propriedades (poros, espessuras)</b>	<b>Comentário</b>
<b>Politetrafluoroetileno expandido não reabsorvível (e-PTFE)</b>		
Gore-Tex®	Descontínuo 0,5 a 30mm	Estudos mais longos.
<b>Politetrafluoroetileno não-reabsorvível de alta densidade (d-PTFE)</b>		
Cytoplast™ (GBR; TXT)	Inferior a 0,3 mm	Fechamento primário desnecessário.
Cytoplast1Non Resorb	Menos de 1,36 mm	Regeneração óssea favorável.
TefGen FD™	0.2–0.3 mm	Fácil de separar.
ACE não reabsorvível	<0,2 mm; 0,2 mm	de proliferação celular limitada .
<b>Malha de titânio não reabsorvível</b>		
Frios®BoneShields	0,03 mm; 0,1 mm	Suficiente osso e maturidade do enxerto.
Tocksystem Mesh™	0,1 a 6,5 mm; 0,1 mm	Nenhum sinal de inflamação / reabsorção.
M-TAM™	1700 mm; 0,1–0,3 mm	Excelente compatibilidade de tecidos.
Ti-Micromesh ACE	1700 mm; 0,1 mm	de sobrevivência a longo prazo e taxa de sucesso.
<b>Colágeno reabsorvível (tipo de origem de colágeno; tempo de reabsorção)</b>		
BioGide®	Porcine (I e III); 24 semanas.	Alternativa útil ao e-PTFE.
BioMend®	Bovino (I); 8 semanas de crescimento ósseo	Modula o comportamento celular.
Membrana de Biosorb®	Bovina (I); 26–38 semanas.	Fornecido fixação estável.
Neomem™	Bovina (I); 26–38 semanas.	Duas camadas, usadas em caso grave.
OsseoGuard®	Bovino (I); 24 a 32 semanas.	Melhora o resultado estético.
Ossix Porcine	(I); 16–24 semanas.	Aumento do osso trançado.
<b>Síntese reabsorvível (origem; tempo de reabsorção)</b>		
Atrisorb®	Poli-DL-lactide; 36-48 semanas.	Membrana fabricada sob encomenda.
Biofix®	Ácido poliglicólico; 24 a 48 semanas.	Atuar como barreira às células e bactérias gengivais.
Epiguide®	Ácido poli-DL-láctico; 24–48 semanas.	Suporte coágulo sanguíneo desenvolvido.
Resolut XT	Poli-DL-lactide / co-glicolide; 8 semanas.	Estrutura porosa influencia as células anexadas.
OsseoQuest®	Poliéster Hidrolisável; 16 a 24 semanas.	Boa integração dos tecidos.
Vicryl	Malha de poliglactina 910; 8 semanas	Resultados mais fiáveis comparados com os não reabsorvíveis.

Fonte: Adaptado de Malmström et al. (2016) [39].

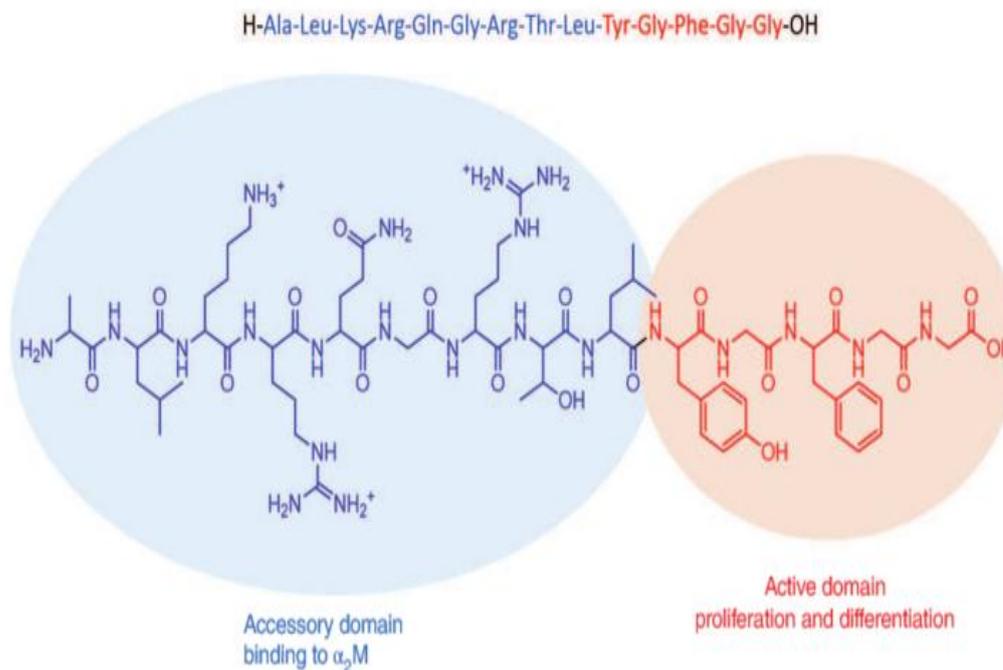
## 1.6 Peptídeo de Crescimento Osteogênico (OGP)

O peptídeo de crescimento osteogênico (OGP – *osteogenic growth peptide*) inicialmente foi isolado na década de 90. É um peptídeo de ocorrência natural cuja estrutura primária é idêntica à sequência de aminoácidos C-terminal 89-102 (Ala-Leu-Lys-Arg-Gln-Gly-Arg-Thr-Leu-Tyr-Gly-Phe-Gly-Gly) da Histona H4 (Figura 4). Este peptídeo tetradecapeptídeo endógeno presente fisiologicamente no soro humano, em concentração micromolar [9]. O OGP apresenta estruturas pequenas e lineares, que o tornam passivo a proteólise. Pequenas concentrações retiradas do OGP in vivo mostrou a existência de uma proteína de ligação de circulação para a OGP (OGP-BP). Esta proteína específica proporciona a proteção contra proteólise e a manutenção do mecanismo de liberação desse peptídeo na circulação [41].

O uso do OGP tem sido muito aplicado medicina regenerativa, pois é capaz de estimular a expressão da proteína morfogenética óssea (BMP) que é responsável pelo recrutamento de células osteoprogenitoras para locais de formação óssea, contribuindo para o aumento da formação óssea e para aumento da densidade do osso trabecular. Essas proteínas se ligam os receptores nas células mesenquimais fazendo com que diferenciem em células osteoprogenitoras [41,45].

Teoricamente a proteína de ligação do OGP em maior concentração é a alfa 2-microglobulina ( $\alpha$ 2-M) do soro, pode se ligar não covalentemente às duas formas, ativada e nativa de  $\alpha$ 2-M. Na forma ativada produz ligações covalentes com as proteinases, em um procedimento que implica uma modificação conformacional, transformando em uma molécula mais compacta, desse modo, reduz a acessibilidade do OGP no sistema. Para a forma nativa a um aumento imediatamente a disponibilidade do OGP para o sistema circulatório [42], em que sua concentração é expandida no decorrer de uma injúria local ao tecido ósseo, medula óssea ou reações osteogênicas sistêmicas [41], e igualmente quando pequenas doses de OGP exógeno são requisitada para a estimulação da formação óssea, o que propõe uma função autoregulativa para os complexos OGPBs. Este mecanismo, teoricamente está presente em muitas, se não em todas, as células, sendo capaz de desempenhar uma função essencial no circuito de feedback positivo do OGP, controlando a proliferação e diferenciação celular (Figura 5) [43,44].

FIGURA 4. Fórmula estrutural do peptídeo OGP.



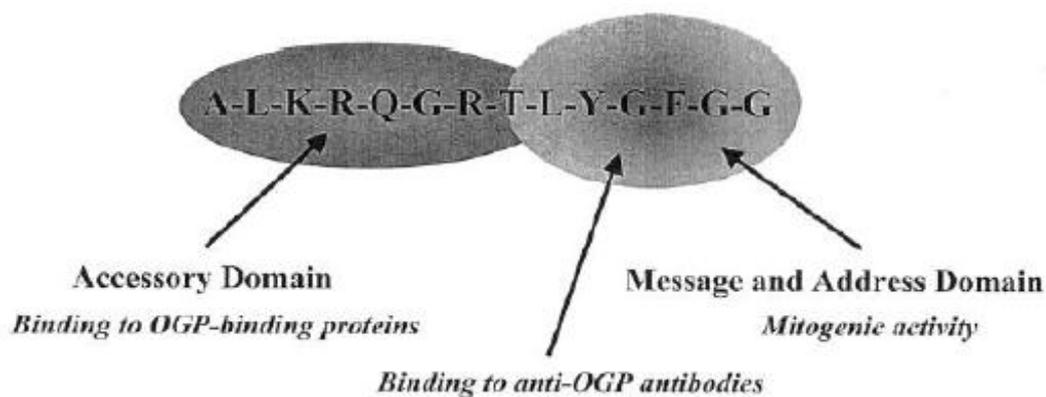
Fonte: Chorev et al. 1995

[45].

*In vitro*, o OGP e seus derivados apresentam excelente potencial mitogênico para células de linhagem osteoblástica e fibroblástica [9, 43] melhoram o aumento da atividade da fosfatase alcalina (ALP) e da mineralização da matriz óssea [41] e ainda regulam imediatamente na diferenciação de células mesenquimais de medula em osteoblastos, contribuindo assim a neoformação óssea [40,45].

*In vivo*, o OGP regula a expressão dos fatores de crescimento de transformação beta (TGF- $\beta$ ): TGF -  $\beta$ 1, TGF -  $\beta$ 2 e TGF -  $\beta$ 3, fator de crescimento fibroblástico FGF-2, fator de crescimento insulínico IGF-1 e do colágeno tipo I [46]. Além de que favorece a reparação da medula óssea recém-transplantada ou irradiada, aumentando consideravelmente as células hematopoiéticas [47].

FIGURA 5. Domínios funcionais no peptídeo OGP. A porção C-Terminal participa do reconhecimento e ligação ao receptor macromolecular e sinalização da via mitogênica. A porção N-Terminal compreende o domínio que participa da ligação às OGPBPs .



Fonte: Bab (2002)

[42].

Panseri et al. e Maia et al. (2014) em suas pesquisas relatam que o OGP, promove o aumento da massa óssea de consolidação da fratura *in vivo*. *In vitro* os peptídeos OGP estão relacionados ao aumento da proliferação de células semelhantes a osteoblastos acelerando a osteogênese [49, 50]. Pigossi e colaboradores (2015) estudaram as membranas a base de celulose bacteriana e hidroxiapatita funcionalizadas ao OGP para melhorar a reparação do defeito ósseo em ratos, demonstrando que às características biológicas do OGP e seus derivados, podem ser considerados como bons candidatos para engenharia de tecido quando associados a outros materiais [51].

Estudos realizados por Sun (1998) evidenciaram que a OGP tem auxiliado na cura de defeitos do tecido ósseo, tendo em vista, que dependendo do tamanho do defeito ósseo a cicatrização espontânea é comprometida. Existem materiais de suporte que promovem a indução do crescimento e regeneração do tecido ósseo como: as membranas de regeneração óssea guiada, scaffolds enxertos e cimentos. Sendo capazes de liberar fatores de crescimento nas regiões lesionadas [52].

Saska e seus colaboradores (2012) em estudos com membranas de celulose bacteriana funcionalizada com o peptídeo de crescimento osteogênico verificou através de ensaios *in vitro* que as membranas BC-OGP não apresentaram efeitos citotóxicos,

genotóxicos ou mutagênicos, também não indicaram diferenças na morfologia celular entre as membranas testadas. Concluindo que as membranas apresentam propriedades osteoindutora podendo ser aplicadas na regeneração do tecido ósseo [14].

## 2. OBJETIVOS

O presente trabalho visou dar início a um estudo sistemático sobre a síntese e caracterização de membranas/compósitos de P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> associadas ao peptídeo de crescimento osteogênico OGP, visando a capacidade de incorporação e a liberação do peptídeo a membrana para aplicações biológicas.

Como objetivos secundários destacam-se:

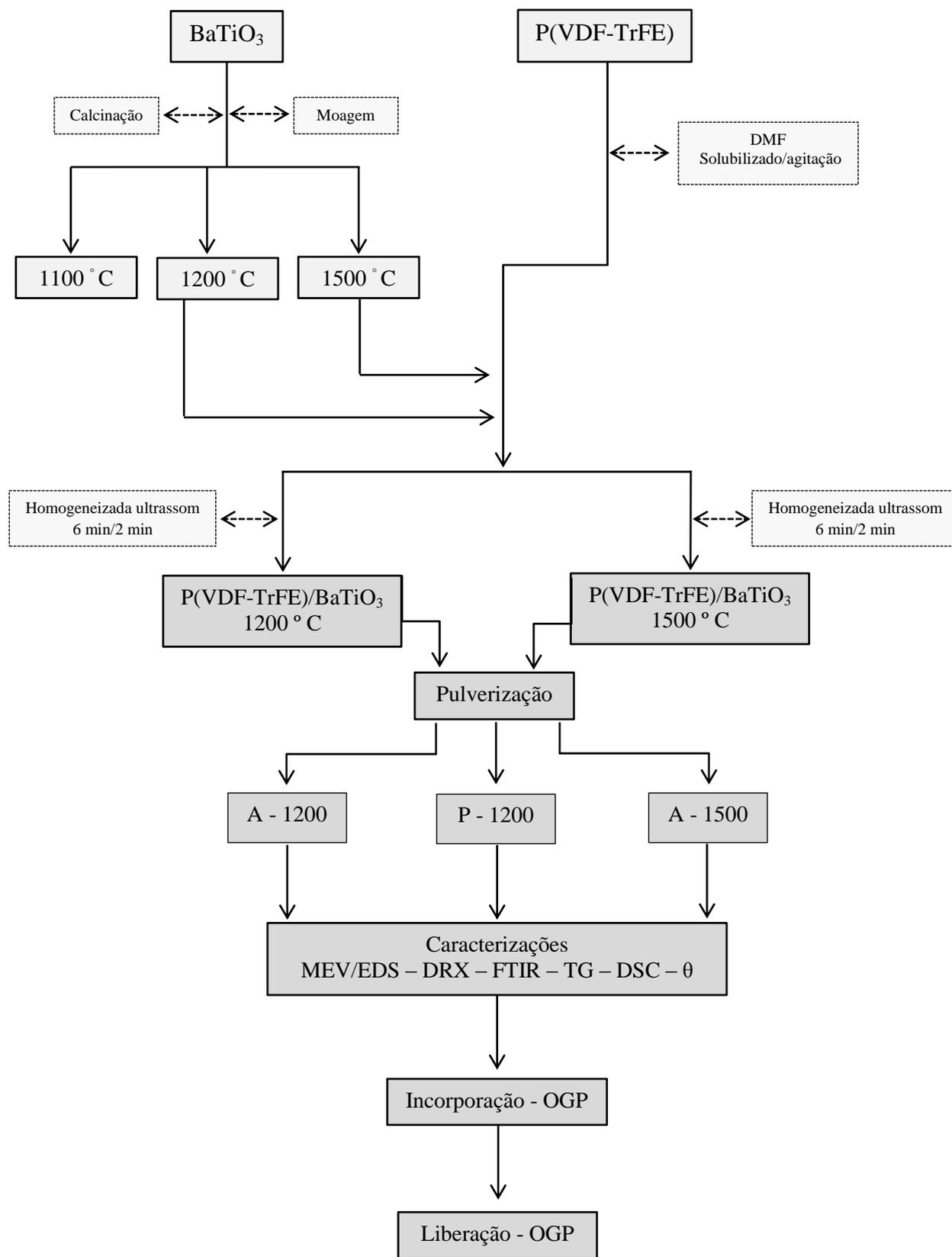
- Sintetizar um material biocompatível pelo método de pulverização;
- Incorporação do peptídeo de crescimento nos compósitos/membranas;
- Análise dos perfis de liberação in vitro do peptídeo osteogênico de crescimento incorporado aos compósitos/membranas.

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Delineamento Experimental

Os materiais estudados foram a cerâmica de BaTiO<sub>3</sub> e o copolímero P(VDF-TrFE) dando origem a um novo compósito de P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> no qual foi incorporado o peptídeo OGP. A Figura 6 apresenta o fluxograma mostrando de forma resumida o desenvolvimento do trabalho.

FIGURA 6. Apresenta o delineamento experimental.



Fonte: Autora

### 3.2 Sínteses dos Pós de Titanato de Bário

Os pós de titanato de bário comercial, tamanho de partícula  $<2\mu\text{m}$  (Aldrich, Sheboygan, WI - USA) foram tratados termicamente a 1100, 1200 e 1500 ° C durante 4 horas, em forno tipo tubular, ao ar. Os aglomerados obtidos no tratamento térmico foram moídos, desagregados com auxílio de almofariz de ágata com pistilo e em seguida peneirados.

Estes pós foram caracterizados quanto à microestrutura e morfologia de partículas por Microscopia Eletrônica de Varredura, quanto à composição cristalográfica por Difração de Raios X e termicamente por Calorimetria Diferencial de Varredura.

### 3.3 Sínteses de compósitos na forma de membranas

Os compósitos foram preparados em ambiente limpo a uma temperatura controlada em 25 ° C. A obtenção da dispersão de P(VDF-TrFE)/ BaTiO<sub>3</sub>/Dimetilformamida, foi realizada dispersando a resina do copolímero PVDF-TrFE em forma de pó em Dimetilformamida (DMF). Após a dispersão em temperatura ambiente do copolímero em DMF, acrescentou-se lentamente o pó BaTiO<sub>3</sub>. Para tanto, foram realizadas três sínteses de acordo com o tratamento térmico da cerâmica sendo utilizados os pós calcinados a 1200 e 1500 ° C e em diferentes técnica de deposição, cujos os produtos finais foram denominados Aero-1200, Aero-1500 e Pisto-1200 (A-1200, A-1500 e P-1200) respectivamente.

Obtenção da dispersão de P(VDF-TrFE)/DMF/BaTiO<sub>3</sub>

1. Resina virgem do copolímero PVDF-TrFE na razão 80/20 mol% (Atochem-Arkema, Calvert City, USA), em forma de pó com diâmetro de 0,5 mm. Os pós de PVDF-TrFe, com massa de aproximadamente 1,5g, foram solubilizadas em Dimetilformamida (DMF, Mallinkrodt, México) - um solvente apolar - sob agitação, na proporção de 20g/100 mL DMF.

2. Após a dissolução do copolímero em DMF, acrescentou-se lentamente o pó de BaTiO<sub>3</sub>. A homogeneização da dispersão resultante foi realizada por processador

ultrassônico de alta potência, durante 6 minutos, tomando-se o cuidado para manter a dispersão sob refrigeração.

3. Os compósito/membranas PVDF-TrFe/BaTiO<sub>3</sub> foram preparados nas concentrações de 10% em volume de cerâmica. A relação de massa de copolímero/cerâmica foi calculada utilizando a equação [23]:

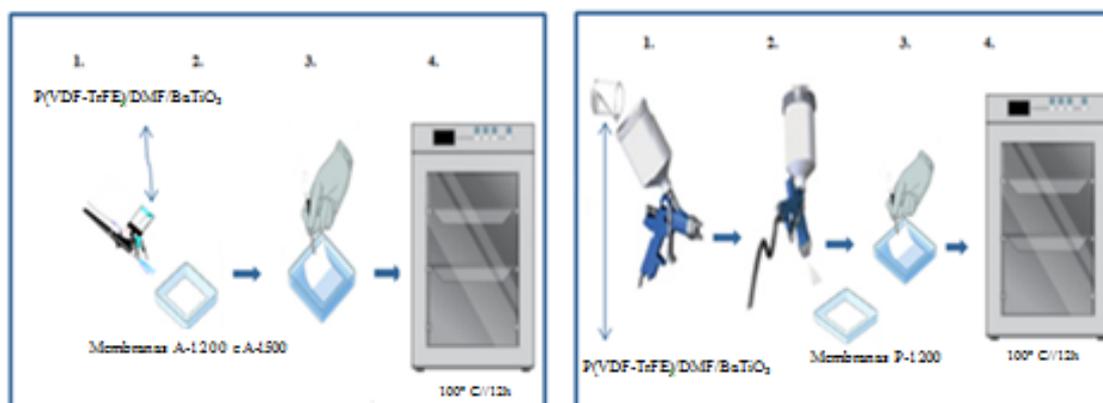
$$m_{\text{cerâmica}} = (\phi \cdot \rho_{\text{cerâmica}} \cdot m_{\text{copolímero}}) / (1 - \phi) \cdot \rho_{\text{copolímero}} \quad (1)$$

onde  $\phi$ : fração volumétrica de cerâmica no compósito.

### Preparação dos compósitos na forma de membranas por pulverização

A solução de P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>/DMF homogeneizada em Processador Ultrassônico (Sonicador Sonics VIBRA-CELL VCX 1500) foi depositada empregando um pulverizador comercial. A mesma foi pulverizada em refratário contendo água deionizada mantendo a distância entre o pulverizador e o refratário entre 100 e 200 mm. Em seguida, o compósito obtido na membrana foi seco em estufa a 100 °C durante 12 horas. Este procedimento garante a completa evaporação do solvente água adsorvida na membrana. O procedimento utilizado para o preparo do compósito P-1200 é representado na Figura 7. Para o compósito/membrana A-1200 e A-1500 a mesma técnica de pulverização, mas com outro modelo de pulverizador tendo uma agulha de aplicação mais fina e conseqüentemente um menor fluxo de vazão.

FIGURA 7. Técnica do processamento dos compósitos na forma membranas.



Fonte: Autora.

Depois de obtidos, os compósitos foram caracterizados utilizando-se as técnicas de microscopia eletrônica de varredura/ espectroscopia de energia dispersiva (MEV/EDS), difratometria de raios-X (DRX), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), técnicas de análise térmica (análise termogravimétrica (TG) e calorimetria diferencial de varredura (DSC)) e ângulo de contato ( $\theta$ ), após caracterizações a incorporação e liberação dos peptídeos.

## **4. PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE E CARACTERIZAÇÃO**

### **4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

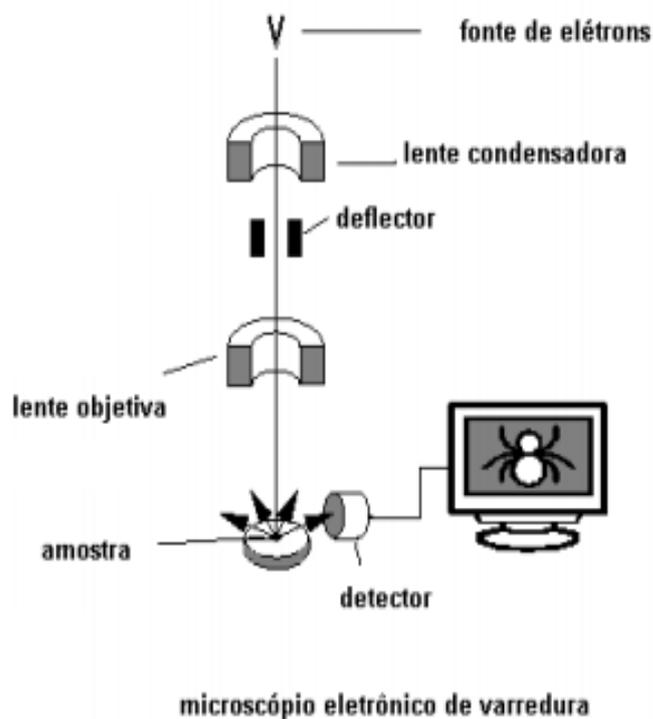
A Microscopia Eletrônica Varredura é uma técnica de observação e análise de características microestruturais dos materiais na qual a origem do funcionamento consiste em utilizar um feixe de elétrons para varrer a superfície da amostra ponto a ponto, o qual transmite um sinal do detector a uma tela catódica a qual a varredura esta sincronizada com a do feixe. A interação do feixe de elétrons produz uma série de sinais utilizados para formar imagens e efetuar análises de caracterização das amostras podendo revelar informações de sua natureza incluindo composição, topografia, potencial eletrostático, campo magnético local e outras propriedades da amostra [53]. A Figura 8 ilustra o esquema básico de um MEV.

O canhão de elétrons emite um feixe de elétrons onde são gerados por efeito termiônico através de filamento de tungstênio que por meio de uma fonte variável de tensão acelera os elétrons. O sistema de lentes eletromagnéticas, que podem constituir-se de uma ou mais lentes, são responsáveis por colimar e controlar a intensidade desse feixe de elétrons. Por sua vez, os elétrons passam pela lente objetiva eletromagnética, que tem a finalidade de controlar o tamanho do feixe de elétrons (formato retangular) que incide na amostra. Já a bobina de controle de varredura, que constitui o MEV, é composta por dois pares. Um faz a varredura da amostra na direção x e o outro executa o movimento na direção y, varrendo assim toda a superfície da amostra. Assim quando o feixe de elétrons que é criado em vácuo atinge a superfície da amostra, os sinais emitidos são identificados por detectores de elétrons secundários e então são armazenados e convertidos em imagem no computador. Dentre os sinais emitidos, os

mais utilizados para obtenção da imagem são originários dos elétrons secundários e/ou dos elétrons retroespalhados.

Os elétrons secundários (“*secondary electron*” – SE) no MEV são resultados da interação do feixe de elétrons com o material da amostra. Estes elétrons resultantes são de baixa energia ( $<50\text{eV}$ ), e formarão imagens com alta resolução (3-5 nm).

FIGURA 8. Desenho esquemático dos componentes básicos do MEV.



Fonte: Adaptado [52]

Os elétrons retroespalhados (“*backscattering electron*”- BSE) são caracterizados por possuírem alta energia, proveniente de numerosas colisões elásticas que ocorrem com os elétrons na superfície do sólido. Em função disso, é limitada a resolução da imagem formada por esse tipo de sinal, de modo contrário dos elétrons secundários que exibem uma imagem com resolução nítida [53].

A espectroscopia de energia dispersiva (EDS) é outra forma de realizar análise, ela resulta da interação do feixe de elétrons por dispersão de energia.

A técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) ao ser aplicado em um material fornece informações referentes à morfologia, o tamanho de partículas e a identificação de seus elementos químicos para uma amostra sólida empregada a técnica de espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS), possibilitando a análise semiquantitativa da composição do material analisado. [15,54].

O controle da morfologia e do tamanho de partículas é de fundamental importância em compósitos ferro/piezoelétricos, pois a fase ferroelétrica da composição de BaTiO<sub>3</sub> é dependente do tamanho de partícula e da temperatura. Sendo assim, o tamanho ideal para partícula da cerâmica posiciona-se entre 0,30 - 0,50 µm [24]. Dessa forma a microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para avaliar o tamanho e morfologia das partículas da cerâmica BaTiO<sub>3</sub> calcinado em diferentes temperaturas. Conseqüentemente, as micrografias formadas foram realizadas as medidas do tamanho das partículas através do aplicativo *ImageJ*, determinando dessa forma o tamanho médio e o desvio padrão correspondente.

Ao mesmo tempo a análise de MEV, efetuou-se a microanálise química utilizando a técnica de EDS, promovendo a quantificação em cinco localidades distintas de cada amostra, o que proporcionou a quantificação de cada elemento químico presente nos pós e nos compósitos. Para obtenção das micrografias o equipamento empregou-se o modelo Phenom Prox, da marca Phenom-World.

## 4.2 Difratomia de Raios X (DRX)

A difratometria de raios X (DRX) é uma técnica de caracterização que possibilita inteirar-se da estrutura cristalina e da microestrutura do material analisado e entender suas propriedades. O fenômeno de difração fundamenta-se na ocorrência do feixe de raios X monocromático, com comprimento de onda  $\lambda$ , incidir segundo um ângulo  $\theta$ , e refletidos por planos cristalinos paralelos. Ao se incidir um feixe de raios X sobre o cristal, a difração pode indiretamente expor detalhes da estrutura interna dos materiais. Assim, a condição para a difração é demonstrada pela lei de Bragg (Equação dois) esboçada na Figura 9.

Com a finalidade de conhecer as estruturas cristalinas, a técnica de DRX que mensura a distância entre dois planos paralelos da rede cristalina segundo a Lei de Bragg é descrita pela expressão:

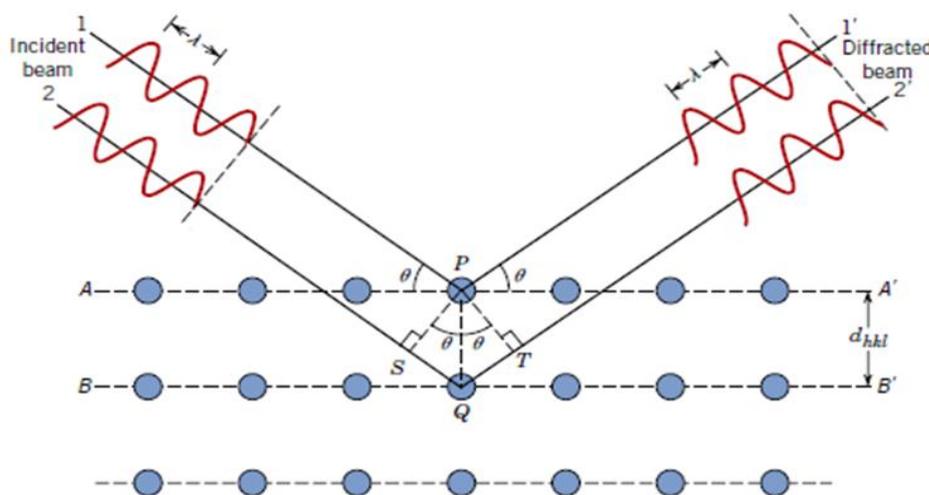
$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta \quad (2)$$

Onde  $n$  representa a ordem da reflexão (podendo ser qualquer número, 1, 2, 3,...),  $\lambda$  representa o comprimento de onda em Angstrom ( $\text{\AA}$ ) da radiação incidente,  $d_{hkl}$  é a distância interplanar entre os planos selecionados da estrutura cristalina e  $\theta$  é o ângulo de incidência dos raios X ou reflexão do feixe incidente, medido entre o feixe incidente e os planos cristalinos [55].

Nessa pesquisa foi realizada medidas para análises de difração de raio X nos pós cerâmicos, para avaliar a formação das fase existentes, da cristalinidade e detecção de possíveis impurezas do titanato de bário. Para o composto P(VDF-TrFE)/BT na forma de membranas, para verificar possíveis modificações estruturais em função da junção de fases distintas. As medidas foram realizadas utilizando a radiação  $\text{Cu-K}\alpha$ , tensão de 40kV e corrente de 40mA aplicada ao filamento do tubo de raios-X. Os parâmetros de medidas foram varredura  $2\theta$ , entre  $20^\circ$  a  $70^\circ$ , passo  $0,02^\circ$  e tempo de contagem 0,5s. Foi utilizado um difratômetro da marca Rigaku SmartLab do Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAv®), da UNIFEI em Itabira (MG) .

A análise do difratograma e a fase presente na estrutura cristalina dos materiais foram realizadas com a utilização do aplicativo XParti High Score Plus e com a biblioteca de dados PDF-2 (Powder Diffraction File).

FIGURA 9. Esboco de difração de raios X.



Fonte: Callister (2002)

[15].

### 4.3 Espectroscopias no Infravermelho por Transformadas de Fourier (FTIR)

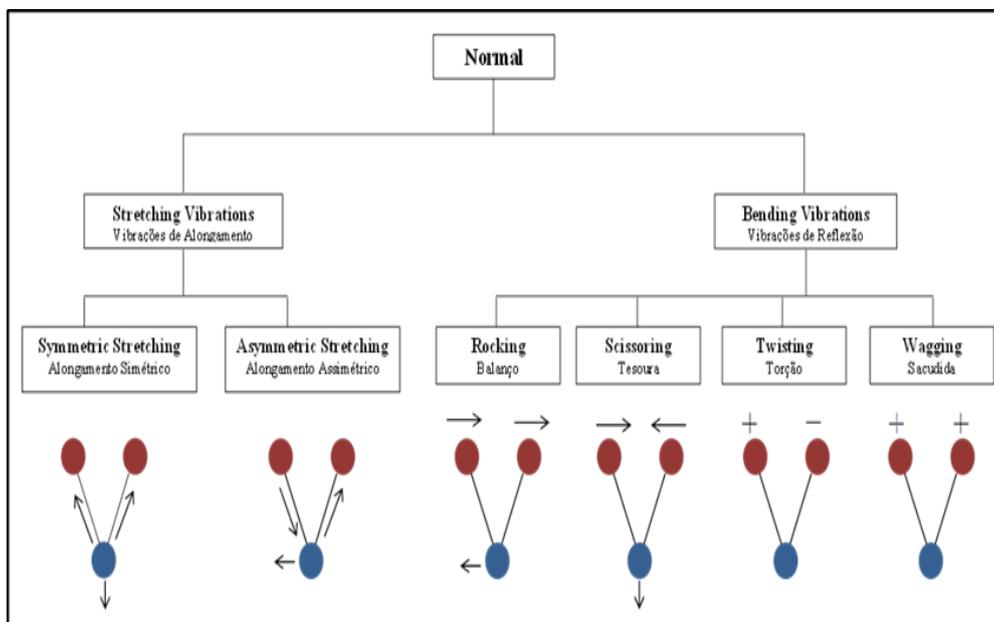
Existem inúmeras técnicas de análises que são aplicadas para identificar a estrutura molecular e ligações químicas das substâncias. A espectroscopia no infravermelho (IV) é uma técnica que estuda a interação da radiação eletromagnética e a matéria para obter características físicas e químicas do material analisado, tendo como objetivo a identificação das moléculas.

A opção da técnica espectroscópica IV tem sido amplamente utilizada na análise de compostos orgânicos e inorgânicos, fornecendo parâmetros importantes sobre os grupos funcionais da amostra, de acordo com sua natureza. No que se refere a compostos orgânicos, a espectroscopia de absorção da radiação no IV é indicada, pois se pode encontrar em uma série de compostos que já apresentam suas bandas de absorção registradas em varias literatura [56,57].

A espectroscopia de absorção no IV é causada por movimentos de energia rotacional ou vibracional dos grupos moleculares e ligações químicas de uma molécula. A absorção de radiação IV provoca, portanto, aumento da amplitude das vibrações moleculares. As vibrações moleculares podem ocorrer nas formas de alongamento, variação da distância interatômica ao longo do eixo de ligação entre os átomos e deformação, que são caracterizadas por uma variação no ângulo entre duas ligações podendo ser classificadas em quatro tipos: (I) deformação simétrica no plano (*scissoring*), (II) deformação simétrica fora do plano (*wagging*), (III) deformação assimétrica no plano (*rocking*), e (IV) deformação assimétrica fora do plano (*twisting*) [56]. A Figura 10 ilustra esses tipos de vibrações, que são possíveis em qualquer molécula contendo mais de dois átomos.

A intensidade das vibrações em diferentes frequências produz o espectro de absorção que representa diferentes bandas características dos grupos funcionais que compõem a molécula, sendo assim é possível à identificação pela comparação dos padrões repetitivos. O comprimento de onda (frequência da onda) de absorção depende das massas relativas dos átomos, das constantes das forças entre as ligações e a geometria dos átomos [57].

FIGURA 10. Espectrometria na região do IV – Tipos de vibrações.



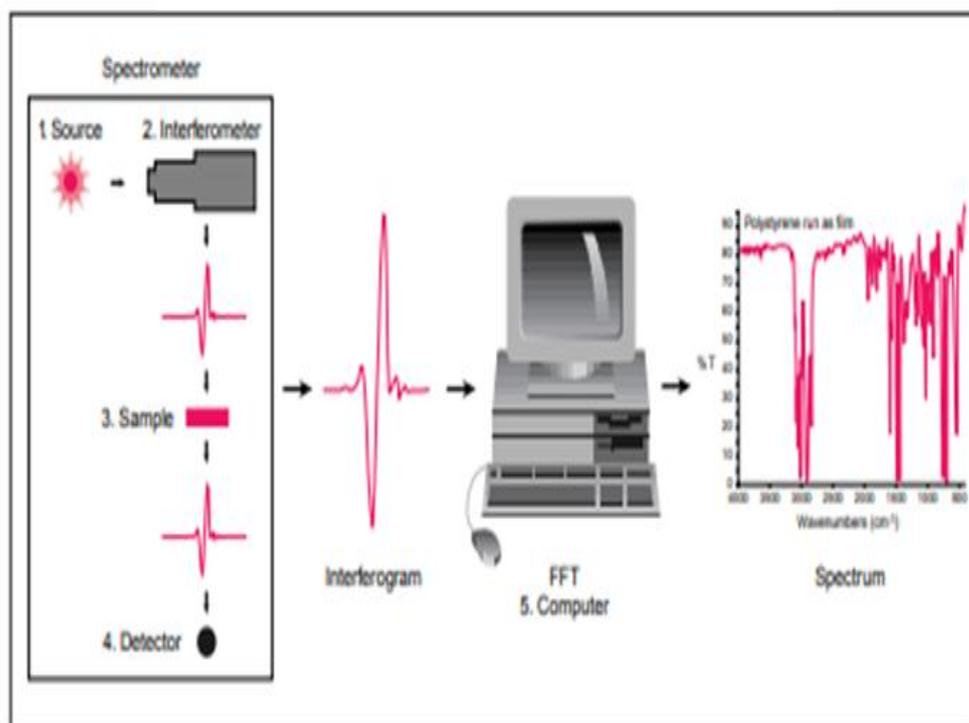
Fonte: Autora

Técnicas de espectroscopias têm sido amplamente aplicadas em pesquisas biomédicas e com isso têm-se aumentado o interesse de técnicas relacionadas à medição de espectros vibracionais, dentre essas se encontra a Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (*Fourier Transform InfraRed*) – FTIR, é o método de espectroscopia mais utilizado em pesquisas [58]. A precisão da reprodutibilidade do comprimento de onda e o alto poder resolução, como também a rapidez do registro são uma das vantagens do FTIR, tendo como desvantagens a complexidade dos instrumentos e seu elevado custo. Este método consiste na interferência da radiação entre dois feixes resultando um interferograma. Um interferograma é o registro do sinal produzido (na forma de um gráfico de tempo versus a intensidade) pela combinação das múltiplas frequências possíveis de obter com a transformada de Fourier. A conversão do interferograma para os espectros são obtidos pelo tratamento matemático com transformadas de Fourier, sendo representada no esquema da Figura 11.

A técnica de FTIR foi aplicada para identificar as fases de cristalização do copolímero P(VDF-TrFE) e dos compósitos/membranas P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> que possuem modos de vibração característicos em suas moléculas, isso acontece devido às

diferentes conformações moleculares que as cadeias podem assumir em cada fase. Desta forma, cada fase pode ser diferenciada por  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . As fases de cristalização podem ser distinguidas pelas bandas de absorção características do infravermelho. As análises de FTIR foram realizadas com 32 varreduras, no intervalo de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . O equipamento utilizado foi um de FTIR - Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spectrometer do Laboratório de Química Analítica, UNIFEI – Itajubá (MG).

FIGURA 11. Instrumento não dispersivo – FTIR.



Fonte: Silverstein et al. (2005)

[58].

## 4.4 Técnicas de Análise Térmica

Nesta pesquisa foram empregues as Técnicas de Análise Térmica Termogravimétrica (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

### 4.4.1 Análise termogravimétrica (TG)

Na análise termogravimétrica (TG) a modificação de massa (ganho e/ou perda) de uma amostra monitorada, em uma atmosfera controlada, é constantemente assistida

em função da temperatura e do tempo, quando a temperatura em que é submetida à amostra aumenta de forma linear em relação ao tempo. Designa-se curva termogravimétrica ou curva de decomposição térmica os dados que relacionam a perda de massa ou porcentagem de massa em função do tempo ou da temperatura, em que permite tirar conclusões sobre a estabilidade térmica da amostra. É imprescindível o ensaio termogravimétrico para conseguir avaliar e identificar os processos de decomposição térmica, determinando a temperatura em que acontecem e a quantidade.

As amostras do copolímero puro P(VDF-TrFE) e dos compósitos em forma de membranas representadas por A-1200, P-1200 e A-1500, foram submetidas à análise termogravimétrica em um equipamento Mettler TG50 com um processador Mettler TC11 TA do Laboratório de Análise Térmica, UNIFEI – Itajubá (MG).

Todas as amostras foram submetidas ao aquecimento numa faixa de temperatura de 25 a 1000 ° C, sob atmosfera de Nitrogênio, através de uma razão de aquecimento de 10 ° C por minuto. Foi utilizado para o experimento um suporte de cerâmica (prato da balança) e uma capsula de alumina, sobre a qual se posicionaram as amostras (aproximadamente de 9 a 2 mg). Os dados foram coletados e analisados pelo programa Thermal Analyst 5 da TA Instruments do Laboratório de Análise Térmica, UNIFEI – Itajubá (MG).

#### **4.4.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)**

A Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) é uma técnica de caracterização em que se mede a diferença de energia (entalpia) fornecida à substância e a um material de referência, em função da temperatura enquanto eles são submetidos a uma variação controlada de temperatura [59]. Desta forma permite-se quantificar a porcentagem de cristalinidade do material em função da temperatura. As transições de fase são acompanhadas por variações de entalpia da substância, uma vez que mudanças na estrutura do material podem liberar ou absorver energia, pela fragmentação de formação de ligações recentes ou unicamente por reordenações na estrutura cristalina.

No estudo de polímeros semi-cristalinos, como o P(VDF-TrFE), a técnica de DSC fornece medidas precisas e rápidas como a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) a qual, a mudança reversível da região amorfa de um polímero que transforma de uma condição rígida para uma condição viscosa com menor rigidez, em que a entalpia deixa

de sofrer alteração, mas o calor específico sofre uma modificação imediata; assim como a temperatura de cristalização ( $T_c$ ), na qual são produzidos os primeiros cristais; a Temperatura de Curie ( $T_c$ ) e finalmente a temperatura de fusão ( $T_m$ ). Assim, medições realizadas decorreram nas seguintes condições: sob uma atmosfera de Nitrogênio; aquecimento de 25 a 250 ° C; isoterma em 250 ° C por 10 minutos; resfriamento até - 50 ° C e novo ciclo de aquecimento até 250 ° C e uma taxa de aquecimento de 10 ° C min<sup>-1</sup>. Todas as medições foram realizadas no Laboratório de Análise Térmica – Núcleo de Tecnologia em Compósitos (NTC) UNIFEI – Itajubá (MG), no qual se utilizou o equipamento DSC da Q10 da TA Instrumens, USA.

Foram realizadas as medidas de DSC com o objetivo de determinar as propriedades térmicas das amostras através da variação da entalpia em função do tempo ou temperatura [60]

O grau de cristalinidade ( $X_c$ ) esta diretamente ligado à variação da entalpia ( $\Delta H_f$ ) e foi calculado através da entalpia do tipo de fusão ( $\Delta H_f$ ) e da entalpia de fusão de uma estrutura 100% cristalina, utilizando a equação 3.

$$X_c = (Hf_s/Hf_t) * 100 \quad (3)$$

Onde:

$\Delta X_c$  = Porcentagem de Cristalinidade;

$Hf_s$  = Calor Médio da Fusão

$Hf_t$  = Calor da Fusão (para uma amostra 100% cristalina)

E 100% valor da cristalinidade do P(VDF-TrF) usado para calcular a cristalinidade dos compósitos 45 [61].

#### 4.5 Ângulos de Contato ( $\theta$ )

Medidas de ângulo de contato foram realizadas à temperatura de  $25 \pm 1$  ° C e umidade relativa de 45% com Meio Essencial Mínimo (MEM) através do método de

gota Sésil, para caracterizar a molhabilidade da superfície das membranas. Neste método uma gota de MEM de 10 µL foi depositada cuidadosamente sobre a superfície das amostras, usando uma micropipeta. As imagens da gota depositada foram capturadas por um sistema óptico para o cálculo do ângulo de contato. Este procedimento foi realizado por meio do equipamento da Kruss, modelo EasyDrop da UNIFEI/Itajubá. O ângulo de contato estático foi medido 10 min após a colocação da gota totalizando o tempo de 50 minutos até absorção total da gota pela membrana. Cada amostra foi testada com um perfil da gota a partir de cinco medidas sobre a superfície da amostra, determinando assim a média do ângulo de contato.

#### **4.6 Incorporação do OGP nos compósitos P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>**

O OPG (Ala-Leu-Lys-Arg-Gln-Gly-Arg-Thr-Leu-Tyr-Gly-Phe-Gly-Gly) utilizado neste estudo foi obtido em colaboração com a Prof. Reinaldo Marchetto e Dr. Edson Crusca Junior do Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química do Instituto de Química da UNESP, Araraquara. A incorporação destes peptídeos aos compósitos foi realizada por adsorção física.

A metodologia de incorporação promove a interação iônica entre os peptídeos e os compósitos. Assim sendo, a quantidade incorporada de peptídeo OGP na superfície do compósito foi dosada a fim de liberar uma concentração de  $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>, considerando os estudos anteriores conduzidos por Saska e colaboradores (2012) [14].

Estudos anteriores na literatura mostram que concentrações maiores que  $10^{-14}$  mol L<sup>-1</sup> Bab et al. (1992) e Spreafico et al. (2006) [9, 62], evidenciaram a proliferação celular e que a concentração de  $10^{-9}$  mol L<sup>-1</sup> proporcionou melhor atividade da fosfatase alcalina e uma maior formação e mineralização de nódulos ósseos. Com base no perfil de liberação foi definida para o peptídeo OGP a concentração ideal de  $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> a ser incorporado aos compósitos A-1200, A-1500 e P-1200.

Para o processo de incorporação, a solução peptídica for preparada em solução estoque  $10^{-4}$  ml. L<sup>-1</sup>, de OGP em solução aquosa contendo 10% (v/v) de etanol absoluto (Synther, Brasil) e pH 7,4. A partir da solução estoque foram preparadas diluições, com concentrações  $10^{-6}$  e  $10^{-8}$  ml. L<sup>-1</sup>; na qual cada compósito (na forma de membranas esféricas com 12 mm x 0,05 mm de diâmetro) foram imersos em 1 mL solução de

peptídeo, OGP, num período de 72 h a 10 °C. Todos os ensaios de incorporação foram feitos em triplicata. A determinação da quantidade de peptídeo incorporado foi dada pela curva padrão do peptídeo livre em solução aquosa contendo 10% (v/v) de etanol absoluto.

Após esse período de 72 h, os compósitos foram filtrados e lavados na solução aquosa de etanol por cinco vezes, para o excesso da solução peptídica e possíveis moléculas adsorvidas, e secas em estufa a 37 °C para posterior análise de liberação do peptídeo.

#### **4.7 Determinações da liberação do peptídeo nos compósitos**

Com os parâmetros de ensaio determinados, os estudos de liberação do OGP *in vitro* foram efetuados de acordo com as seguintes etapas. Posterior ao carregamento das amostras de A-1200, P-1200 e A-1500 em OGP estarem totalmente secas, anéis com dimensões de 12 mm x 0,05mm foram imersas em 1 mL de solução Meio Mínimo MEM (pH 7,4), volume capaz de recobrir todo o compósito. As amostras foram mantidas a uma temperatura de 37° C durante todo o período do experimento de análise. Foi empregado parafilme sobre os recipientes contendo os compósitos em MEM a fim de evitar a perda por evaporação. Para as medições da análise foi realizado por espectroscopia UV-Vis a 220-280 nm (com medidas em triplicata para cada amostra) utilizando um espectrofotômetro Varian, modelo Cary 50 e uma curva de calibração inicialmente preparada. Foi utilizado o comprimento de onda entre 220 a 280 nm, respectivamente.

O tempo de aquisição dos dados foi de 72 horas, sendo adotado o seguinte protocolo: a primeira medida em tempo inicial (T = 0 min), posteriormente seguido de medidas a cada 1 hora durante 16 horas, depois a cada 24 horas até completar 72 horas.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Neste capítulo, serão abordados e analisados os resultados dos ensaios de caracterização abordados anteriormente, para BaTiO<sub>3</sub> (BT), do copolímero P(VDF-TrFE) e do compósito P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> (membrana P(VDF-TrFE)/BT) obtido por meio dos procedimentos descritos no capítulo terceiro.

## 5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

### BaTiO<sub>3</sub>

A imagem da micrografia das partículas referente à composição BaTiO<sub>3</sub> apresentada na Figura 12 refere-se ao pó calcinado em 1200 ° C, pode se observar que as partículas apresentam formas esféricas e com valor de tamanho médio de partícula é de  $0,44 \pm 0,09 \mu\text{m}$ , formando pequenos aglomerados e não há registro de impurezas confirmadas pelos dados do espectro de energia dispersiva (EDS), apresentado na Figura 13. As medidas do tamanho de partículas foram realizadas com auxílio do aplicativo ImageJ [63]. Pode-se inferir que não houve sinterização das partículas durante a etapa de tratamento térmico, já que as partículas são esféricas e não há evidências de formação de pescoços entre as partículas nos aglomerados. Esta característica é importante, já que o formato esférico favorece a dispersão das partículas na matriz polimérica.

Na Tabela 3 está organizado o tamanho médio das partículas de BaTiO<sub>3</sub> tratados termicamente em diferentes temperaturas. O pó tratado termicamente a 1100 ° C apresentou partículas menores que as composições BaTiO<sub>3</sub> tratada termicamente a 1200 ° C e 1500 ° C, e a composição BaTiO<sub>3</sub> tratada termicamente a 1500 ° C, apresenta o maior no tamanho de partícula, sendo esse de  $0,45 \pm 0,08 \mu\text{m}$ . Para os compósitos/membranas foram empregados os pós com tratamento térmico a 1200 ° C e 1500 ° C. O ligeiro aumento do tamanho de partícula em função do aumento da temperatura do tratamento térmico era esperado, já que ao aumentar a temperatura, favorece o transporte de massa na superfície da partícula, e além disso pode haver mudanças dimensionais no tamanho de cristalito do titanato de bário

Na Figura 13 são apresentadas a micrografia e o espectro de EDS da composição BaTiO<sub>3</sub> com tratamento térmico a 1200 ° C. Verifica-se que os elementos apresentados são essencialmente da composição de BaTiO<sub>3</sub>. A semelhança na morfologia do BaTiO<sub>3</sub>, foi observado nas pesquisas de Upadhyay *et al.* em 2014[64].

A partir do espectro de EDS verifica-se a forma semi-quantitativa a quantidade de cada um dos elementos presentes na amostra da composição BaTiO<sub>3</sub> calcinado na temperatura de 1200 ° C e 1500 ° C (Figuras 13 e 14) .

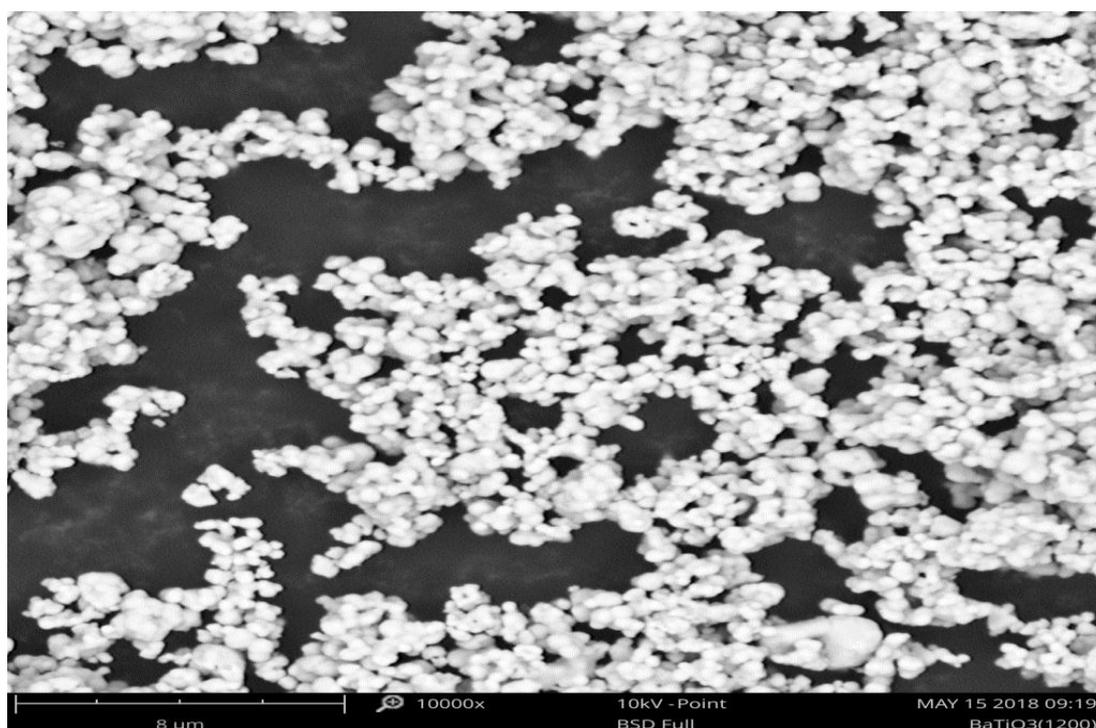
Tabela 3 - Tamanho médio das partículas da cerâmica calcinada em diferentes temperaturas.

Tratamento Térmico	Tamanho médio de partículas ( $\mu\text{m}$ )
1100 °C	0,41 $\pm$ 0,08
1200 °C	0,44 $\pm$ 0,09
1500 °C	0,45 $\pm$ 0,08

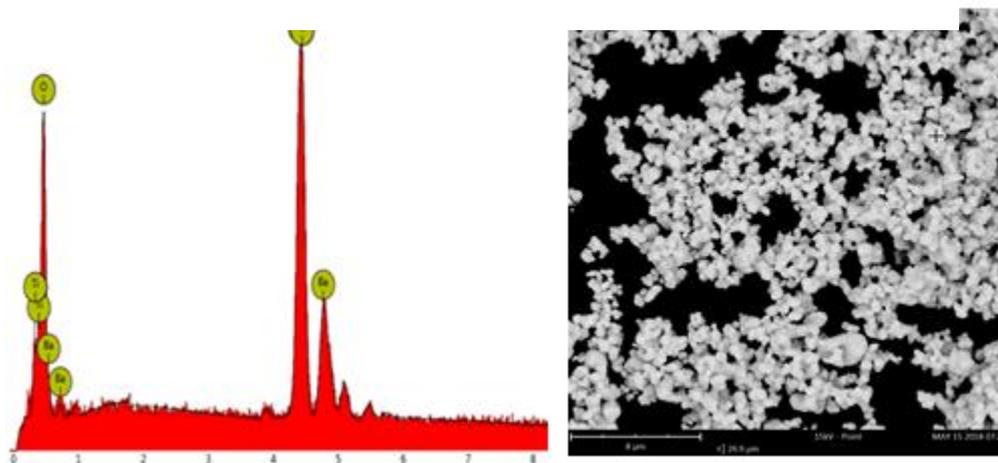
Fonte: Autora

Na Figura 14 são exibidas a imagem da técnica de MEV/EDS referente ao pó de BaTiO<sub>3</sub> com tratamento térmico em temperatura maior. Na micrografia é possível observar que o pó tratado a 1500 ° C apresentou morfologia de forma esférica e partículas em pequenos aglomerados além de notar o início do processo de sinterização, no qual alterou a morfologia das partículas, na região onde há encontro das mesmas, já que nesta região o contorno entre elas é mais achatado e angulado, evidenciando início do processo de sinterização, que pode ter contribuído para o aumento do tamanho de partículas, outro aspecto relevante é a presença das partículas desejadas em meio à sinterização do material cerâmico e confirmada na Tabela 4.

FIGURA 12. Micrografia do pó BaTiO<sub>3</sub> calcinado a 1200 ° C.



Fonte: Autora

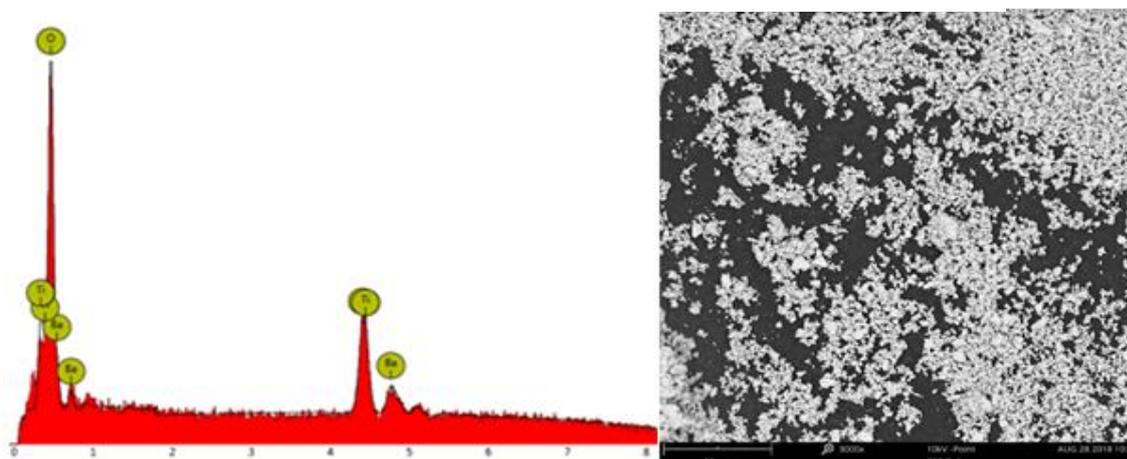
FIGURA 13. Espectro de EDS – BaTiO<sub>3</sub> calcinado a 1200 ° C.

Fonte: Autora

Tabela 4 – Quantificação atômica dos elementos presentes nas amostras do pó BaTiO<sub>3</sub> calcinado em diferentes temperaturas obtidas por EDS.

Amostra	Ti (%)	Ba (%)	O (%)
1200 ° C	78	11,9	10,1
1500 ° C	82,6	8,9	8,5

Fonte: Autora

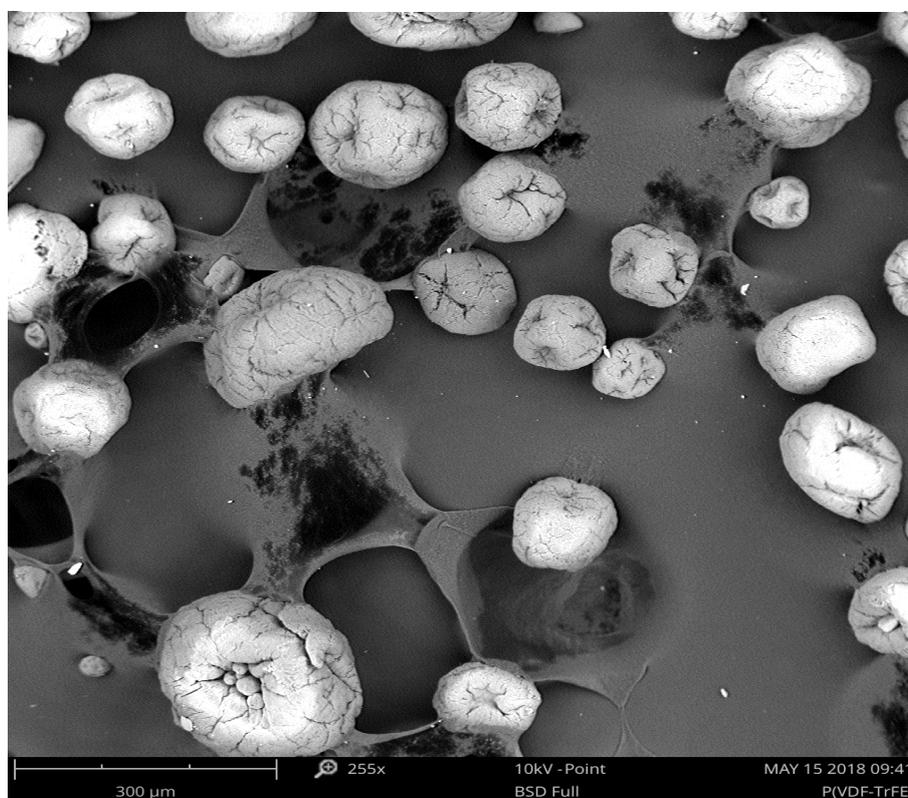
FIGURA 14. Espectro de EDS – BaTiO<sub>3</sub> calcinado a 1500 ° C.

Fonte: Autora

## PVDF-TrFE

Foi realizado imagens da micrografia do copolímero PVDF-TrFE. A Figura 15 revela alta pureza do material, demonstra que possui uma estrutura de dimensões heterogêneas, variando de 150 $\mu\text{m}$  a 75 $\mu\text{m}$  com partículas maiores que apresentadas pela cerâmica. Sobre a morfologia do pó de PVDF-TrFE pode-se afirmar que as partículas são semi-esféricas com algumas apresentando achatamentos e fissuras devido ao processo de obtenção industrial dos mesmos. Esta morfologia permite o emprego da técnica de prensagem dos pós de PVDF-TrFE misturado ao pó de BaTiO<sub>3</sub> para obter compósitos, já que o formato esférico das partículas permitirão obter compósitos homogêneos. Porém optou-se em obter compósitos empregando dispersão dos componentes em solvente já que este método permite a obtenção de membranas finas (inferior a 30  $\mu\text{m}$ ) e flexíveis, enquanto a prensagem é indicada apenas para confecção compósita na forma blocos rígida (*bulk*). A porcentagem de peso do elemento individual (carbono (C), oxigênio (O) e flúor (F)) encontra-se na Tabela 5.

FIGURA 15. Micrografia do pó do copolímero de P(VDF-TrFE).



Fonte: Autora

Tabela 5 – Resultado da análise elementar de EDS para C, O e F do P(VDF-TrFE).

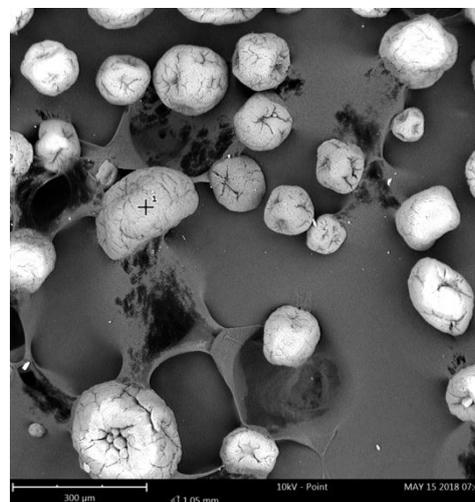
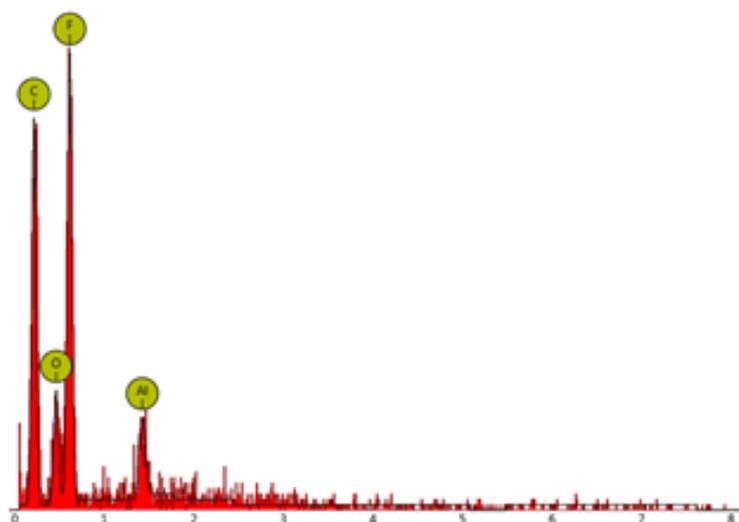
Símbolo/ Elemento	Nome /Elemento	Concentração (%)
F	Flúor	56,61
O	Oxigênio	0,57
C	Carbono	42,36

Fonte: Autora

### Compósito P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>

Nesta pesquisa a etapa de dispersão das partículas de titanato de bário distribuídas de forma homogênea dentro da matriz polimérica é de extrema importância, já que dado ao tamanho considerável das membranas produzidas, problemas de homogeneidade do compósito podem afetar a biocompatibilidade do mesmo, bem como alterar o perfil de liberação do peptídeo, já que a adesão do mesmo a superfície também depende da homogeneidade estrutural do compósito. Analisando as micrografias obtidas por MEV, a Figura 17 pode-se verificar as partículas de BaTiO<sub>3</sub> estão dispersas na matriz polimérica. Observa-se pontos claros e brilhantes presentes no compósito, estes pontos são referentes às partículas do BaTiO<sub>3</sub>, e a escura é a refere-se a matriz polimérica o P(VDF-TrFE).

FIGURA 16. Espectro de EDS do pó do copolímero P(VDF-TrFE)



Fonte: Autora

Para conseguir uma distribuição homogênea das partículas de titanato de bário procurou-se adaptar a metodologia usada por Gimenes (2005) [24] o qual, em seus estudos incorporou o pó de  $\text{BaTiO}_3$  em meio a solução de  $\text{P(VDF-TrFE)/DMF}$  obtendo o compósito de forma imediata, após a precipitação do mesmo devido a adição de água deionizada ao meio.

A Figura 18 apresenta MEV da superfície do compósito A-1200, pode-se observar a distribuição homogênea com boa integração das partículas de  $\text{BaTiO}_3$  calcinado a  $1200^\circ\text{C}$  na matriz polimérica. Observa-se também que a superfície do compósito possui pequenas saliências e reentrâncias que caracterizam com uma superfície rugosa, condizente com a textura aveludada e maleável observada para as membranas do compósito. A partir do espectro de energia dispersiva, Figura 18 verifica-se apenas picos referentes aos elementos presentes matérias primas empregadas na confecção das amostras, evidenciando desta forma, que não houve qualquer contaminação durante o processamento das matérias primas durante a síntese do compósito.

FIGURA 17. Imagens de MEV da superfície do compósito A-1200 produzida por dispersão na forma de membrana.

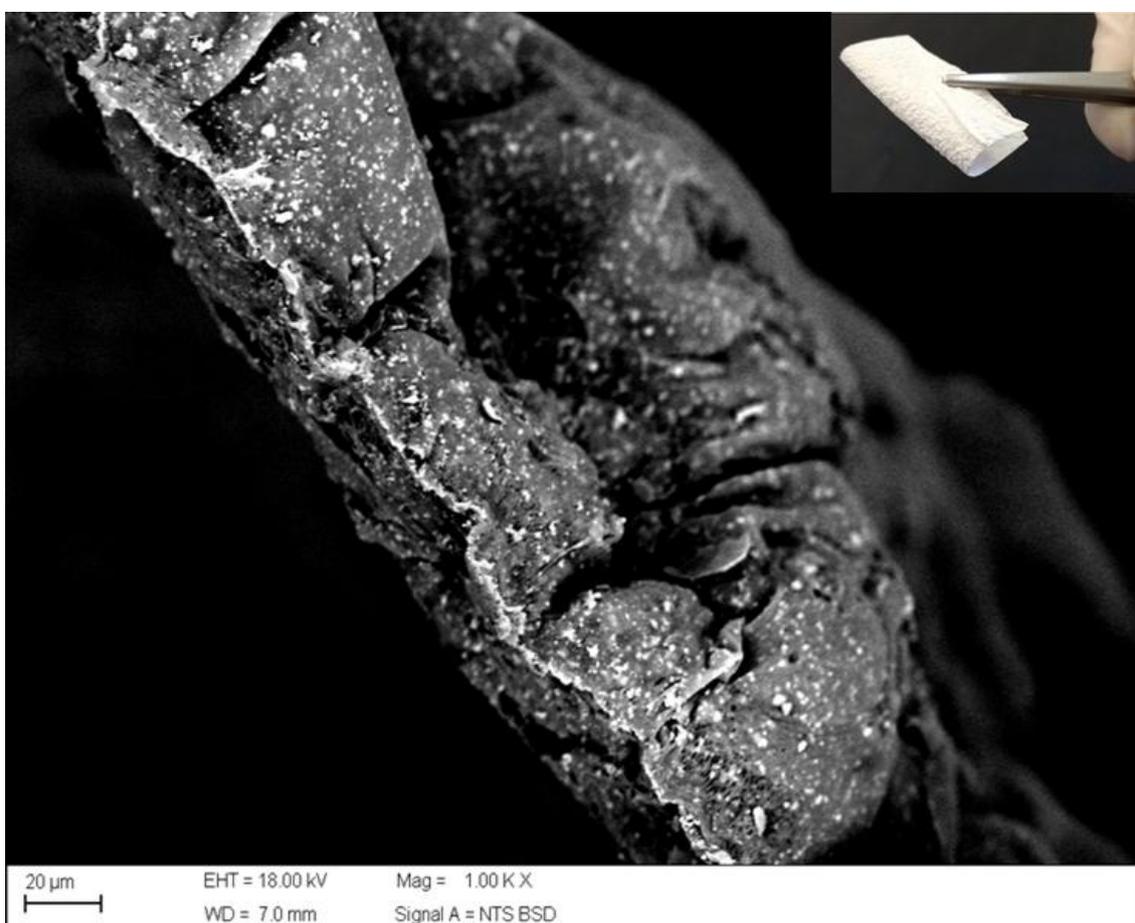
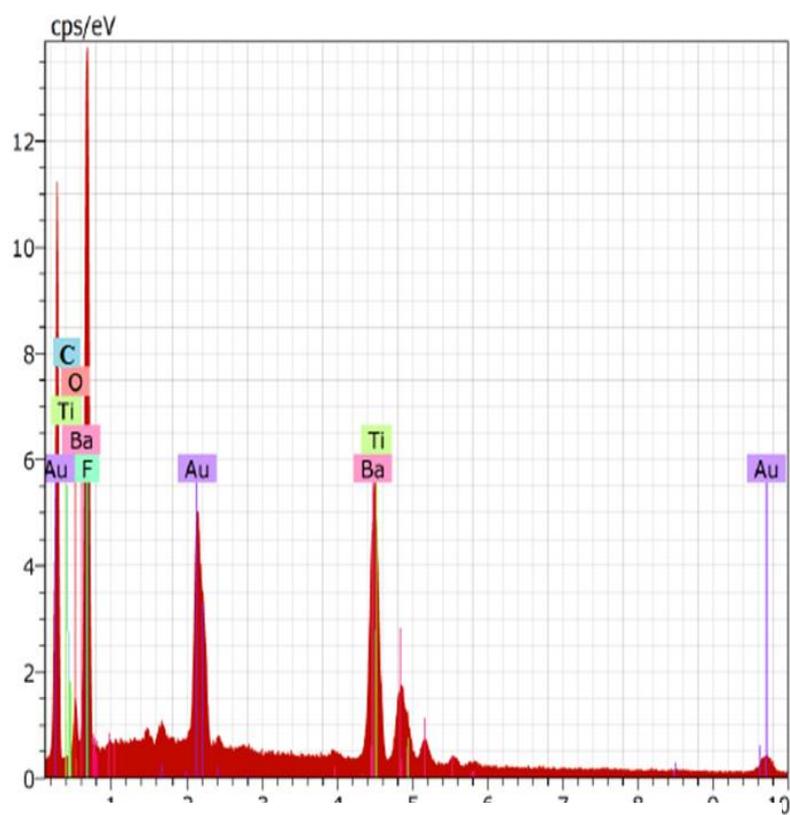
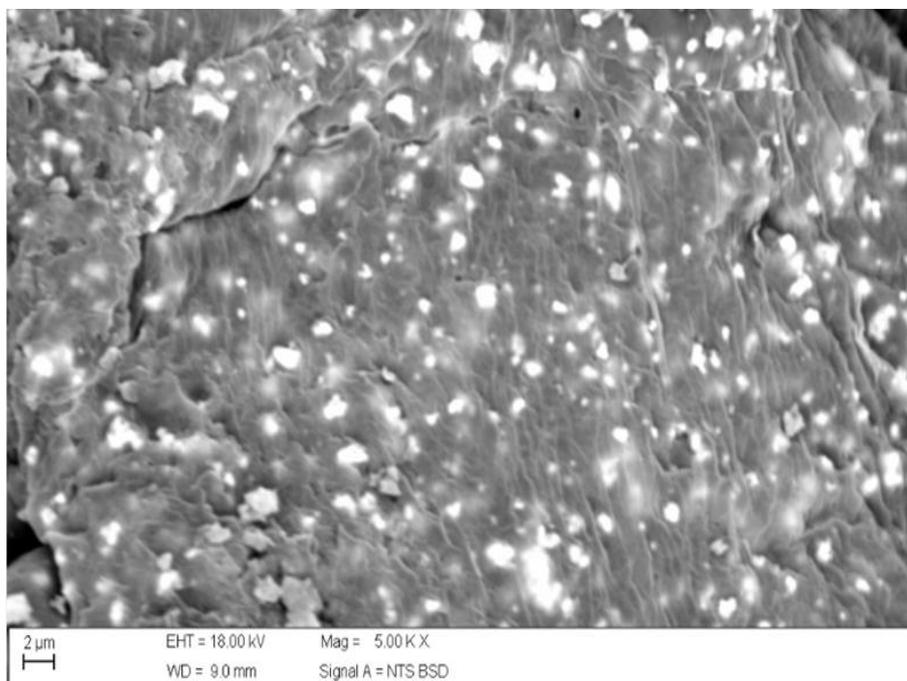


FIGURA 18. (A) Micrografia da Superfície do compósito A-1200 (na forma de membrana) MEV empregando detector de elétron secundário, (B) Espectro de EDS para área analisada.



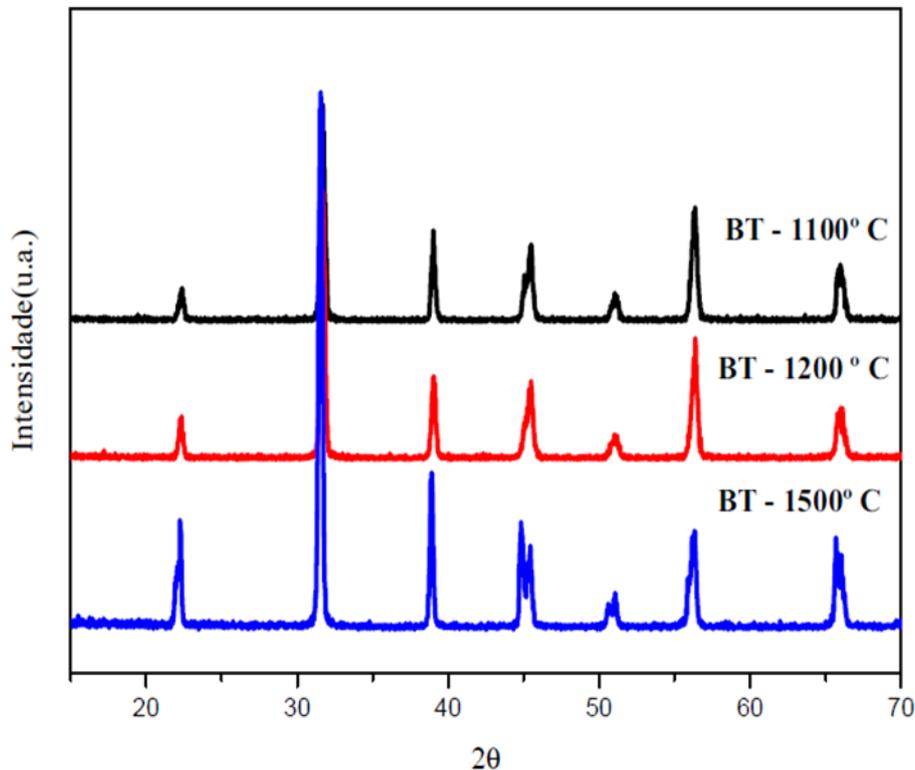
Fonte: Autora

## 5.2 Difractometria de Raios X (DRX)

### Pó de BaTiO<sub>3</sub>

Com objetivo de analisar as fases existentes, o grau de cristalinidade e a pureza do material foi utilizada a técnica de difratometria de raios-X nas composições de BaTiO<sub>3</sub> calcinadas. Conforme pode ser observado na Figura 19, todos os picos presentes foram indexados seguindo o padrão do JCPDS, referente a ficha 05-0626, referente ao BaTiO<sub>3</sub>, sistema tetragonal, grupo espacial P4m. Não foi observado a presença de outras fases cristalinas, corroborando com os dados de EDS, a qual indicou trata-se de um material puro, sem contaminantes. Nota-se também pelo perfil dos difratogramas, e pela a largura a meia altura (FWHM) dos picos de BaTiO<sub>3</sub> que o pó tratado termicamente a 1500 ° C é mais cristalino que os pó tratados a 1100 ° C e 1200 ° C.

Figura 19. Difratoograma de DRX da composição BaTiO<sub>3</sub> calcinados em diferentes temperaturas: 1100, 1200 e 1500 ° C.



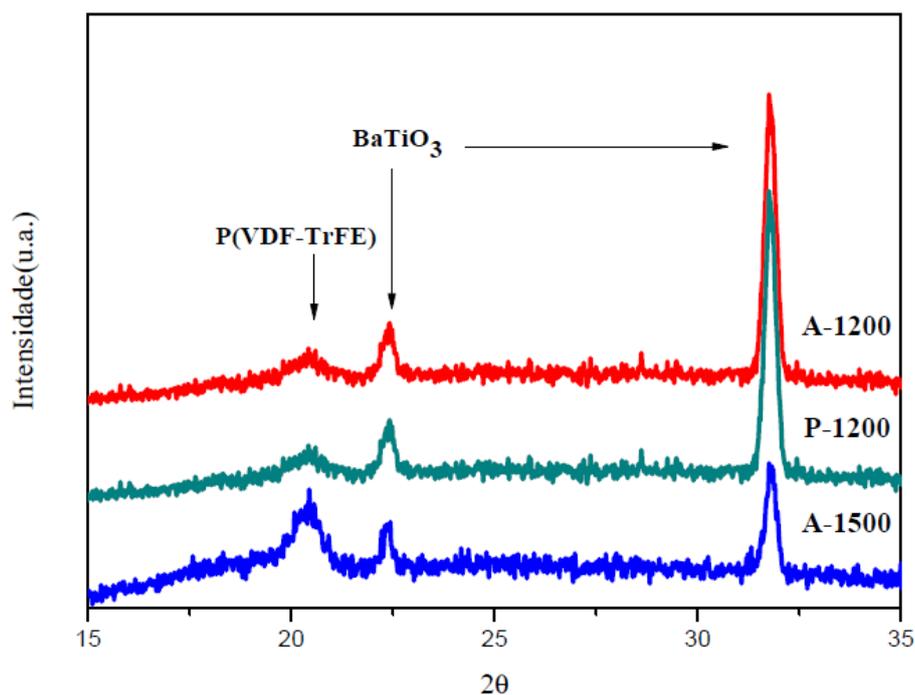
Fonte: Autora

Com base nos parâmetros de DRX dos pós-calcinados apresentados na Figura 19, revelaram que a fase tetragonal está predominantemente presente para todos os pós calcinados, sendo verificado no pico duplo em torno de  $45^\circ$  o qual indica a alta cristalinidade e a excelente fase tetragonal dos pós. Além disso, o perfil do pó calcinado a  $1500^\circ\text{C}$  revela que esse pó ao ser tratado em temperatura superior aos demais, apresenta um perfil mais bem definido e com melhor separação do pico duplo correspondente às reflexões dos planos (002) e (200), entre  $2\theta = 44,82^\circ$  e  $2\theta = 45,35^\circ$ , referentes a fase tetragonal.

### **Membranas P(VDF-TrFE)/BT**

A técnica de difração de raios X foi aplicada nas membranas do compósito de P(VDF-TrFE)/BT com a finalidade observar as mudanças que ocorrem na estrutura da membrana. Os espectros de DRX confirmam a formação da estrutura da fase LT do PVDF-TrFE, a qual é uma fase ortorrômbica, grupo espacial Cm2m, semelhante à fase  $\beta$  do PVDF, evidenciando assim a cristalização da fase ferroelétrica cristalina para todos os compósitos/ P(VDF-TrFE)/BT. Na Figura 20 pode-se notar o pico difratado em torno de  $19\text{-}20^\circ$ , correspondente à sobreposição de reflexões dos planos (110) e (200) da fase LT do PVDF-TrFE e, dos picos na posição  $2\theta = 22,35^\circ$  e  $2\theta = 31,71^\circ$  correspondentes aos picos de difração (100) e (110) que são atribuídos à fase tetragonal do  $\text{BaTiO}_3$ , reportados na literatura [65,66]. Observa-se ainda que o compósito A-1500 apresenta intensidade relativa do pico da fase LT do PVDF-TrFE, mais intenso que o pico das reflexões 001 e 100 do  $\text{BaTiO}_3$  o qual indica um desenvolvimento melhor da fase ferroelétrica/piezoelétrica do copolímero do que para os compósitos A-1200 e P-1200.

FIGURA 20: Difratoograma de DRX dos compósitos A-1200, P-1200 e A-1500.



Fonte: Autora

### 5.3 Espectroscopia no Infravermelho por Transformadas de Fourier (FTIR)

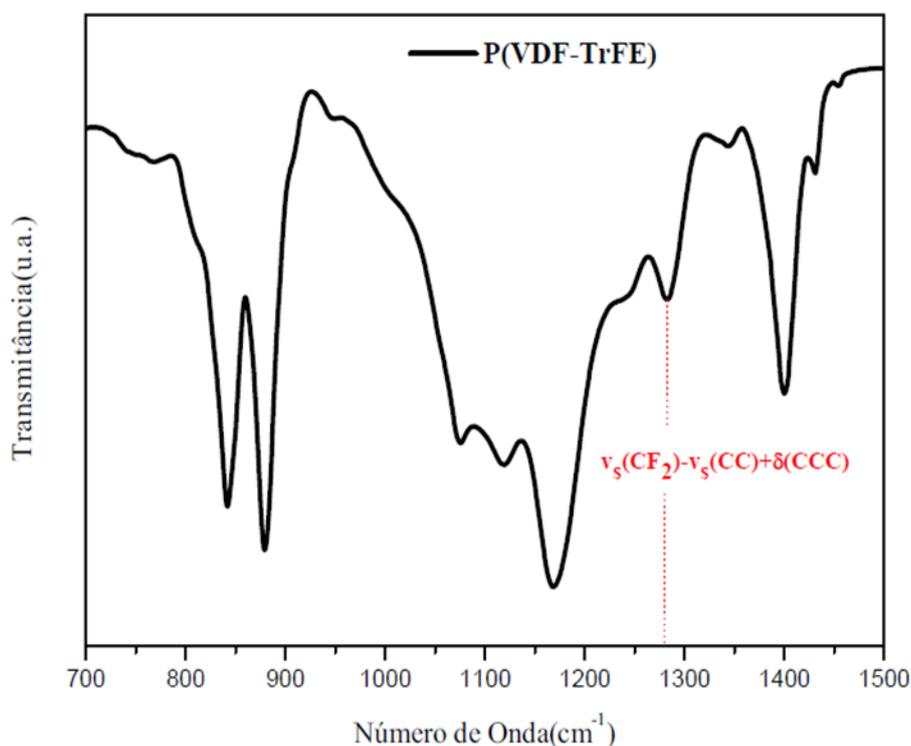
A Figura 21 descreve o espectro de FTIR da amostra do copolímero P(VDF-TrFE), enquanto que as Figuras 22, 23 e 24, mostram os espectros de FTIR registrado para os compósitos P(VDF-TrFE)/BT: A-1200, P-1200 e A-1500. As bandas, referente as vibrações do copolímero e do compósito/membrana foram analisadas na faixa de número de ondas de  $700 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ . Os espectros comparam a fase  $\beta$  antes e depois da incorporação do  $\text{BaTiO}_3$  no copolímero, na qual as atribuições das bandas e suas respectivas posições foram listadas na Tabela 6. Os espectros mostram as proeminentes bandas características da fase  $\beta$  responsável pela propriedade ferroelétrica do material.

Nesta análise, ressaltam-se especificamente duas bandas características  $1281$  e  $1400 \text{ cm}^{-1}$ , relativa à fase  $\beta$  do P(VDF-TrFE), as demais bandas também associadas à fase  $\beta$  estão presentes na Tabela 6. A banda ao redor de  $1282 \text{ cm}^{-1}$  é associada alongamento assimétrico (*asymmetric stretching*) do grupo  $\text{CF}_2$  ( $\nu_s(\text{CF}_2)$ ), alongamento assimétrico (*asymmetric stretching*) do grupo C-C ( $\nu_s(\text{CC})$ ) e vibração “tesoura”

(*scissoring*) do grupo C-C-C ( $\delta(\text{CCC})$ ) na fase  $\beta$  do P(VDF-TrFE). Associado às vibrações de “alongamento assimétrico” grupo C-F é considerado altamente confiável para a cristalinidade ferroelétrica. A contribuição positiva da “sacudindo” a vibração (*wagging vibration*) do grupo  $\text{CH}_2$  ( $w(\text{CH}_2)$ ) e a contribuição alongamento assimétrico (*asymmetric stretching*) do grupo CC ( $v_a(\text{CC})$ ) são associados com a formação de bandas características em torno de  $1400 \text{ cm}^{-1}$  [65].

Pode ser observada uma pequena mudança na intensidade dos espectros de FTIR dos compósitos. Essa modificação pode estar associada à incorporação da cerâmica ao copolímero na formação do compósito/membranas. Na Figura 25, faz uma comparação e a pequena melhoria da fase LT da amostra do compósito em relação à amostra pura do copolímero. A obtenção de fase ferroelétrica do PVDF-TrFE demonstrada por DRX e confirmada por espectroscopia no infra-vermelho é um resultado extremamente significativo, pois demonstra que haverá contribuição na piezoelectricidade do material em decorrência de efeitos associativos das fases PVDF-TrFE e do  $\text{BaTiO}_3$ .

FIGURA 21. Espectro de FTIR da amostra do copolímero P(VDF-TrFE).



Fonte: Autora

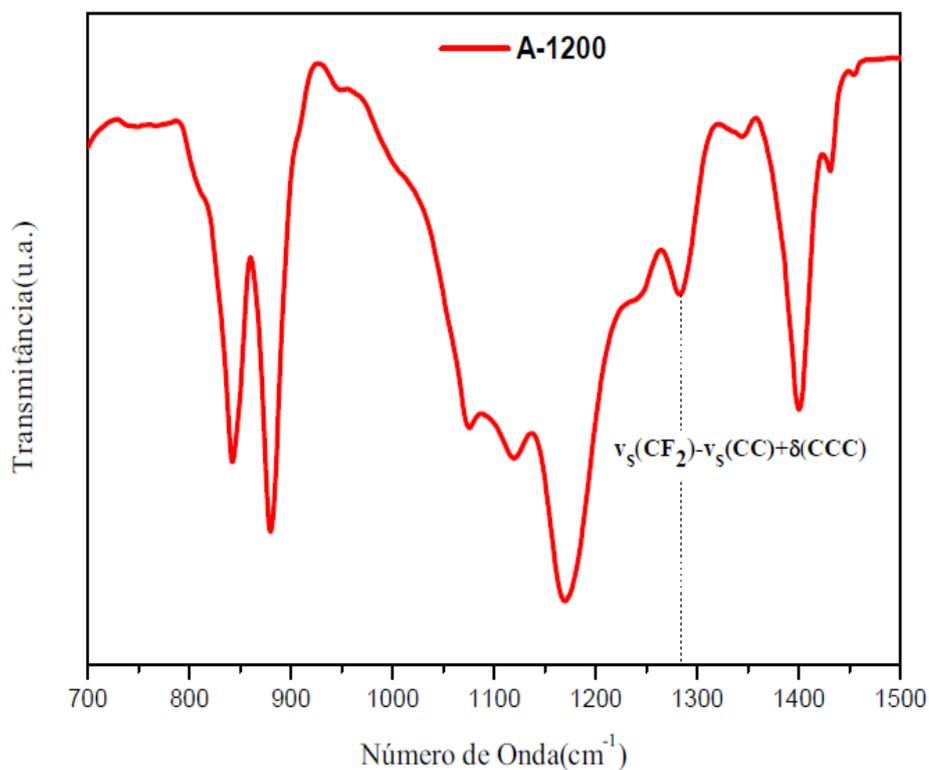
Tabela 6 – Bandas FTIR em  $\text{cm}^{-1}$  e atribuições para o P(VDF-TrFE) e compósitos.

Atribuições de bandas ( $\text{cm}^{-1}$ ) e posições					
	$w(\text{CH}_2);$ $\nu_a(\text{CC})^a$	$\nu_s(\text{CF}_2);$ $\nu_s(\text{CC});$ $\delta(\text{CCC})^a$	$\nu_a(\text{CF}_2)$	$r(\text{CH}_2),$ $\nu_a(\text{CF}_2);$ $r(\text{CF}_2)$	$\nu_s(\text{CF}_2); \nu_s(\text{CC})$
<b>P(VDF-TrFE)</b>	1400,00	1281,00	1168,37	879,21	841,55
<b>A-1200</b>	1400,13	1282,17	1170,36	880,27	842,47
<b>A-1500</b>	1400,44	1283,13	1172,31	880,67	843,04
<b>P-1200</b>	1400,29	1282,73	1172,52	880,32	842,68

<sup>a</sup>  $w$ , vibração “sacudida”;  $\nu_a$ , alongamento assimétrico;  $\nu_s$ , alongamento simétrico;  $\delta$ , tesoura;  $r$ , balanço.

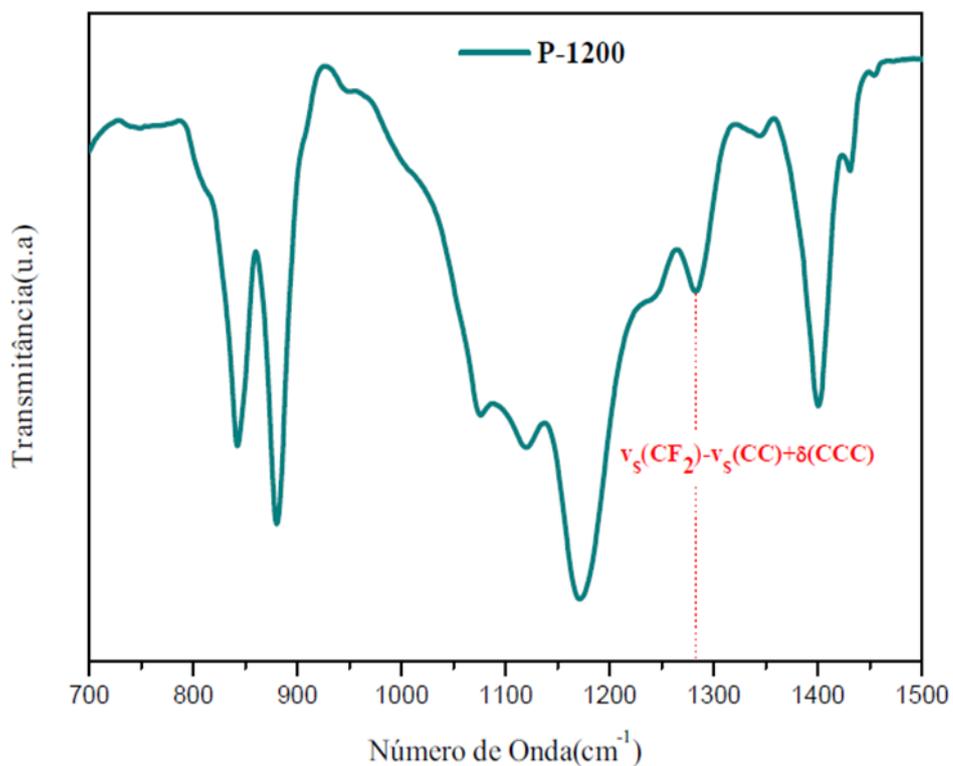
Fonte: Autora

Figura 22. Espectro de FTIR amostra do compósito A-1200.



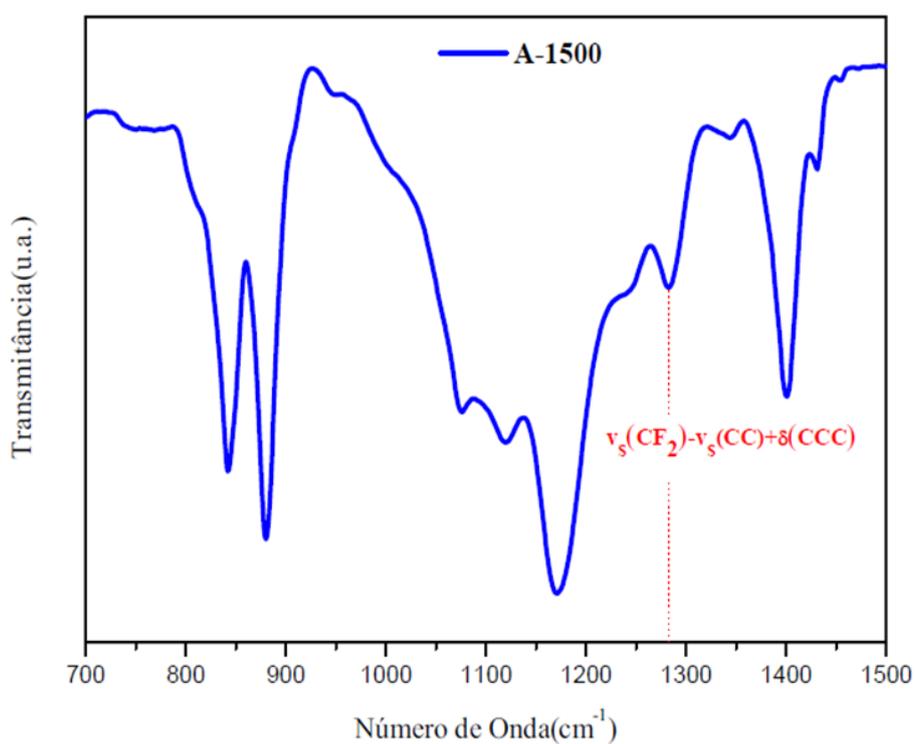
Fonte: Autora

Figura 23. Espectro de FTIR amostra do compósito P-1200.



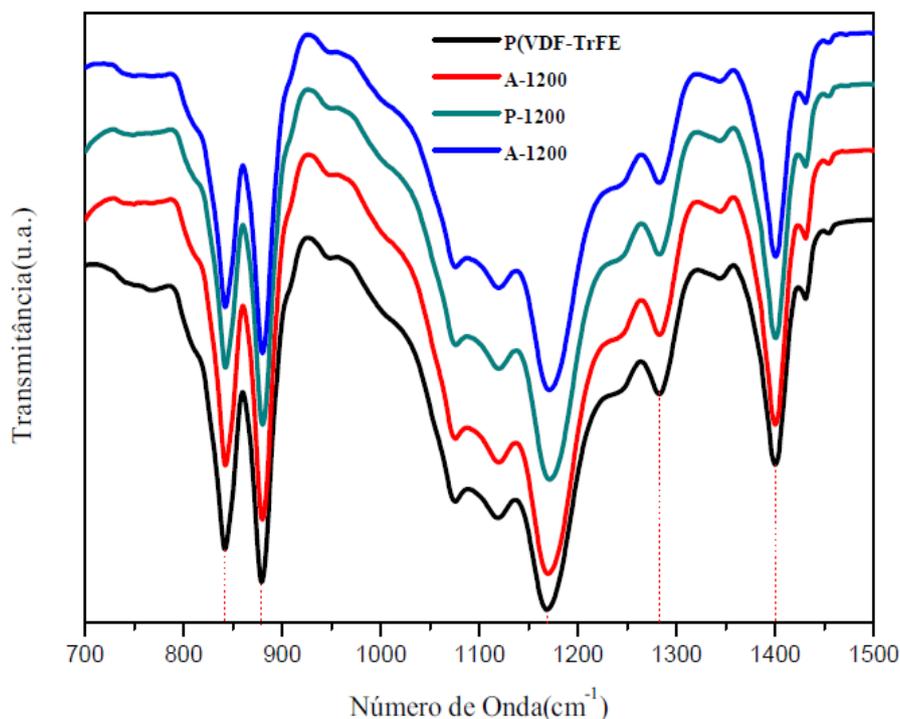
Fonte: Autora

Figura 24. Espectro de FTIR amostra do compósito A-1500.



Fonte: Autora

Figura 25. Espectro de FTIR amostra do copolímero P(VDF-TrFE) e os compósitos A-1200, P-1200 e A-1500.



Fonte: Autora

## 5.4 Técnicas de Análise Térmica

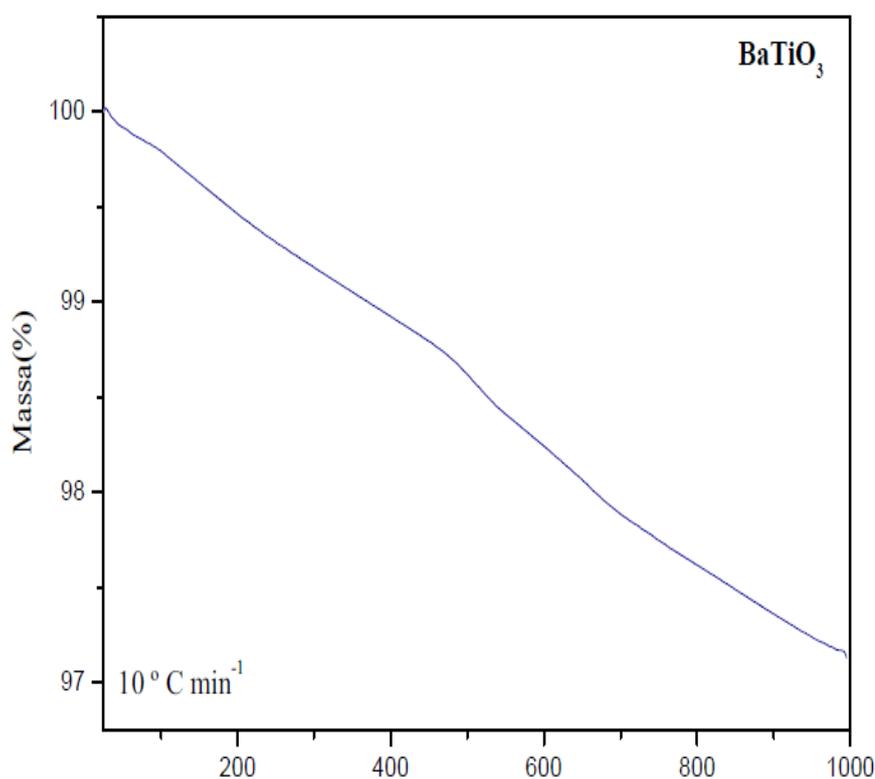
### 5.4.1 Análise Termogravimétrica (TG)

As análises termogravimétricas foram realizadas para a cerâmica  $\text{BaTiO}_3$ , para o copolímero P(VDF-TrFE) e para os compósitos P(VDF-TrFE)/BT. Na cerâmica teve como objetivo de verificar sua pureza, no copolímero investigar a degradação térmica e para os compósitos/membranas foram realizadas com objetivo de verificar o equilíbrio térmico, tendo em vista que para aplicações como biomateriais à necessidade de serem altamente estáveis não somente na temperatura corporal, mas em especial para maiores intervalos de temperatura, no qual envolve a técnica de esterilização. Na Figura 26, são apresentadas as curvas termogravimétricas para a composição  $\text{BaTiO}_3$  pura e as Figuras 27, 28, 29 e 30, para o copolímero e os compósitos/membranas e suas respectivas

derivadas inseridos nas figuras, sobre atmosfera de nitrogênio (inerte), a  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  para a cerâmica, para o copolímero e para os compósitos A-1200, P-1200 e A-1500.

Referente amostra do  $\text{BaTiO}_3$  a Figura 26 mostra um declínio de peso até  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$  no qual se atribui a perda de água aderida a superfície da cerâmica, próximo a  $500\text{ }^{\circ}\text{C}$  verifica-se uma pequena declividade referente a perda de do grupo hidroxila de superfície. A curva de TG do  $\text{BaTiO}_3$  demonstra que a cerâmica não perdeu quase nenhum peso (0,06 mg de perda de peso), que pode estar relacionado a pureza do material.

Figura 26: Curvas de Análise Térmica (TG) para composição  $\text{BaTiO}_3$  pura.



Fonte: Autora

Na Figura 27 mostra dados de TG para o P(VDF-TrFE) estudado. Foi observa-se perda de massa até a temperatura de  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Após essa temperatura a degradação ocorre em mais de uma inflexão relacionada à perda de peso confirmado pelas etapas desses eventos térmicos registrados na curva da DTG. Sendo que um considerado processo de perda de peso é observado na primeira inflexão entre aproximadamente 82% ( $M_{\text{perda}} = 6,95\text{mg}$ ), com uma temperatura inicial de decomposição a  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ , observa-se ainda

uma segunda inflexão com perda de peso em torno de 545 a 740 ° C, com aproximadamente 18% de perda de massa ( $M_{\text{perda}} = 1,52\text{mg}$ ).

Figura 27. Curvas de Análise Térmica TG e DTG para o copolímero P(VDF-TrFE).

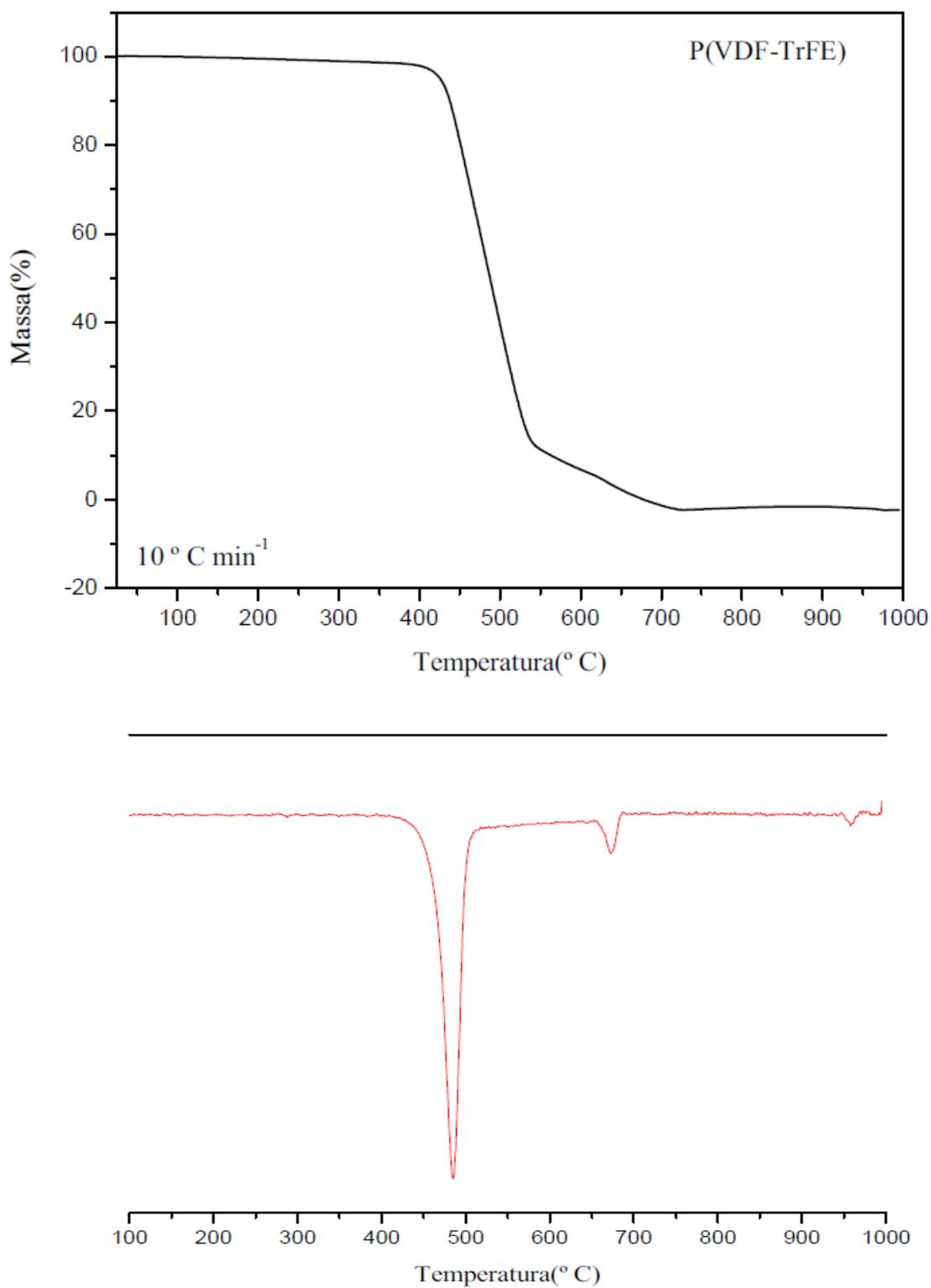
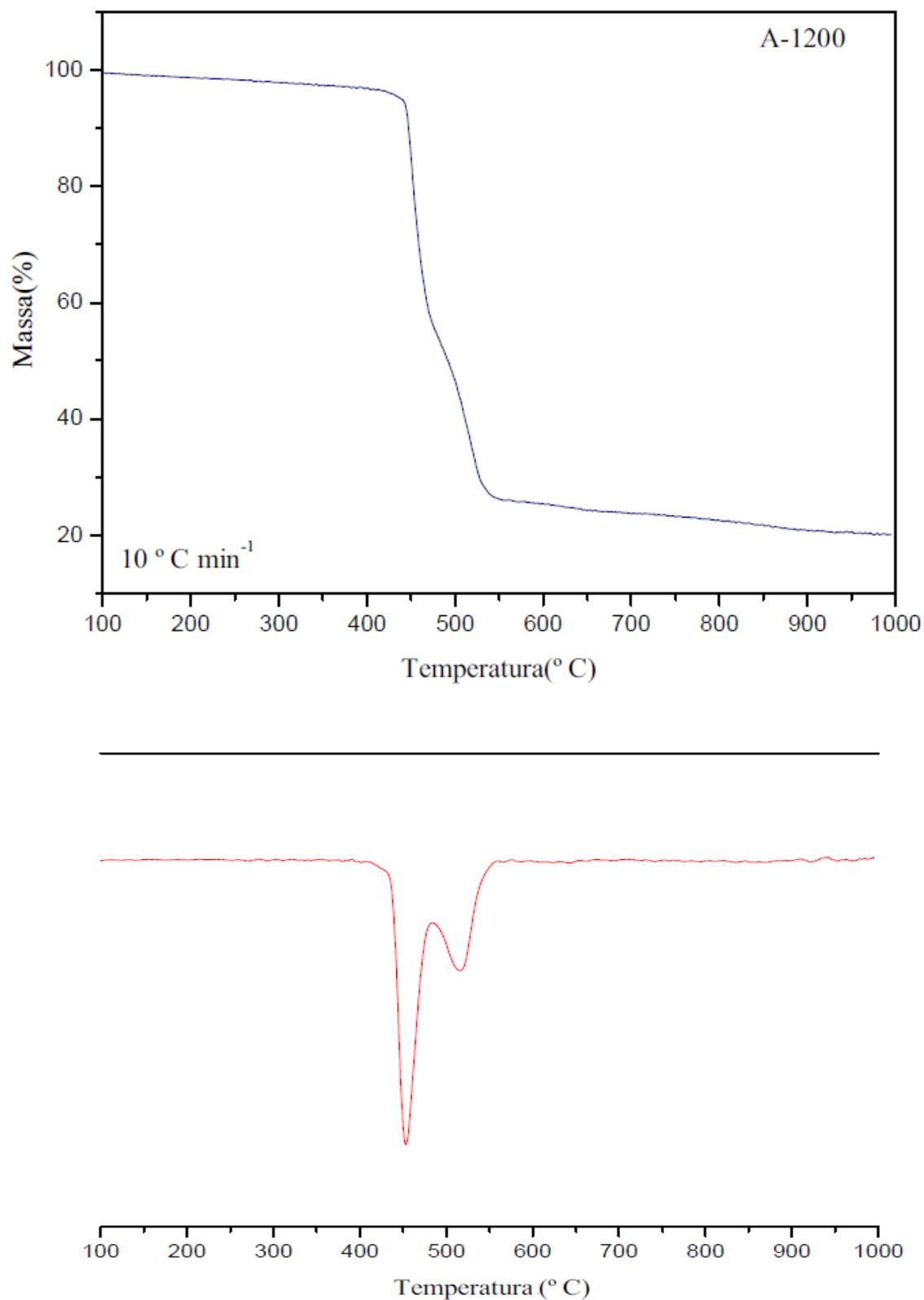


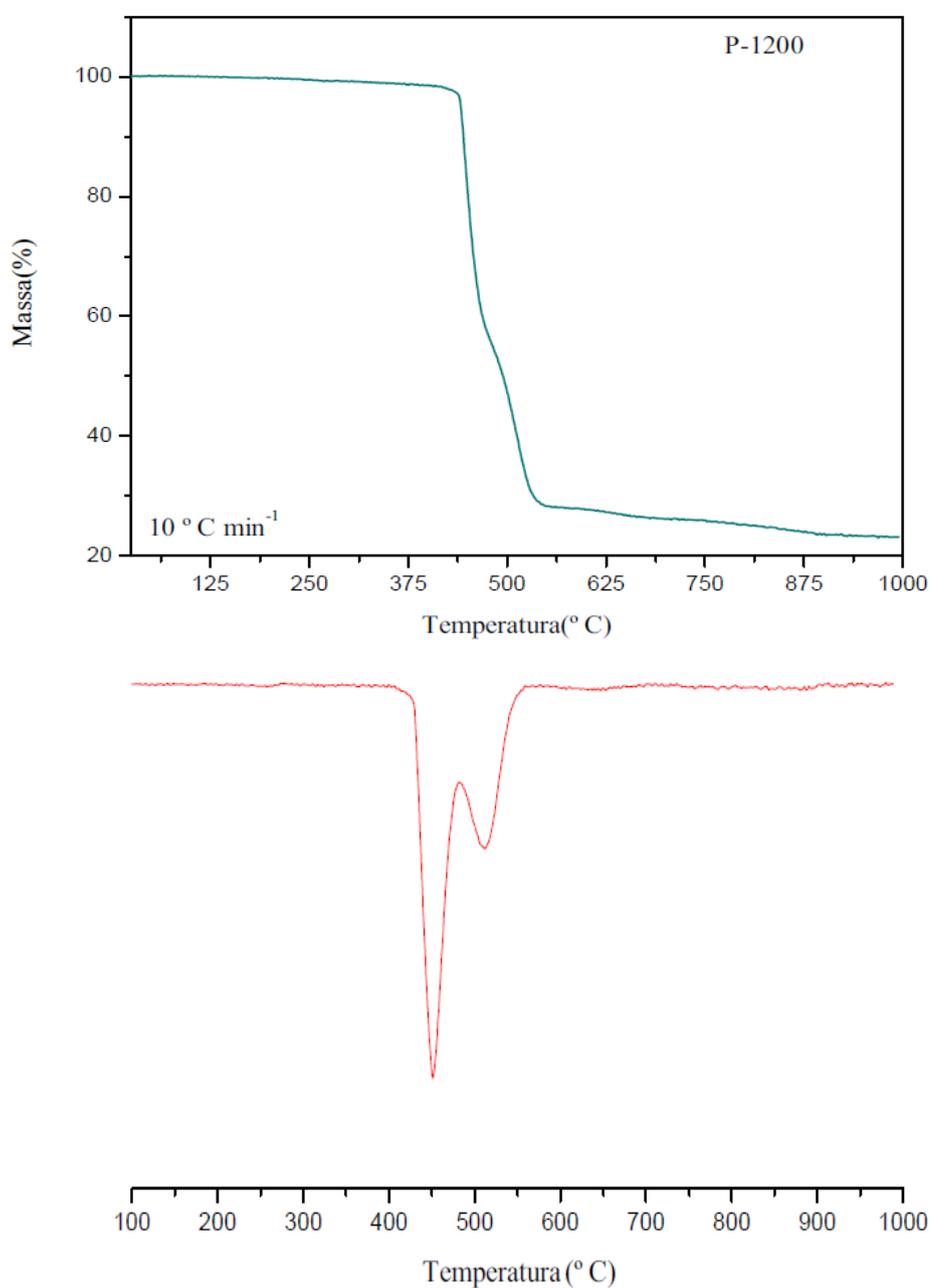
Figura 28. Curvas de Análise Térmica TG e DTG e para o compósito A-1200).

Amostra analisada na forma de membrana. Atmosfera Nitrogênio, taxa de aquecimento 25 a 1000 ° C.



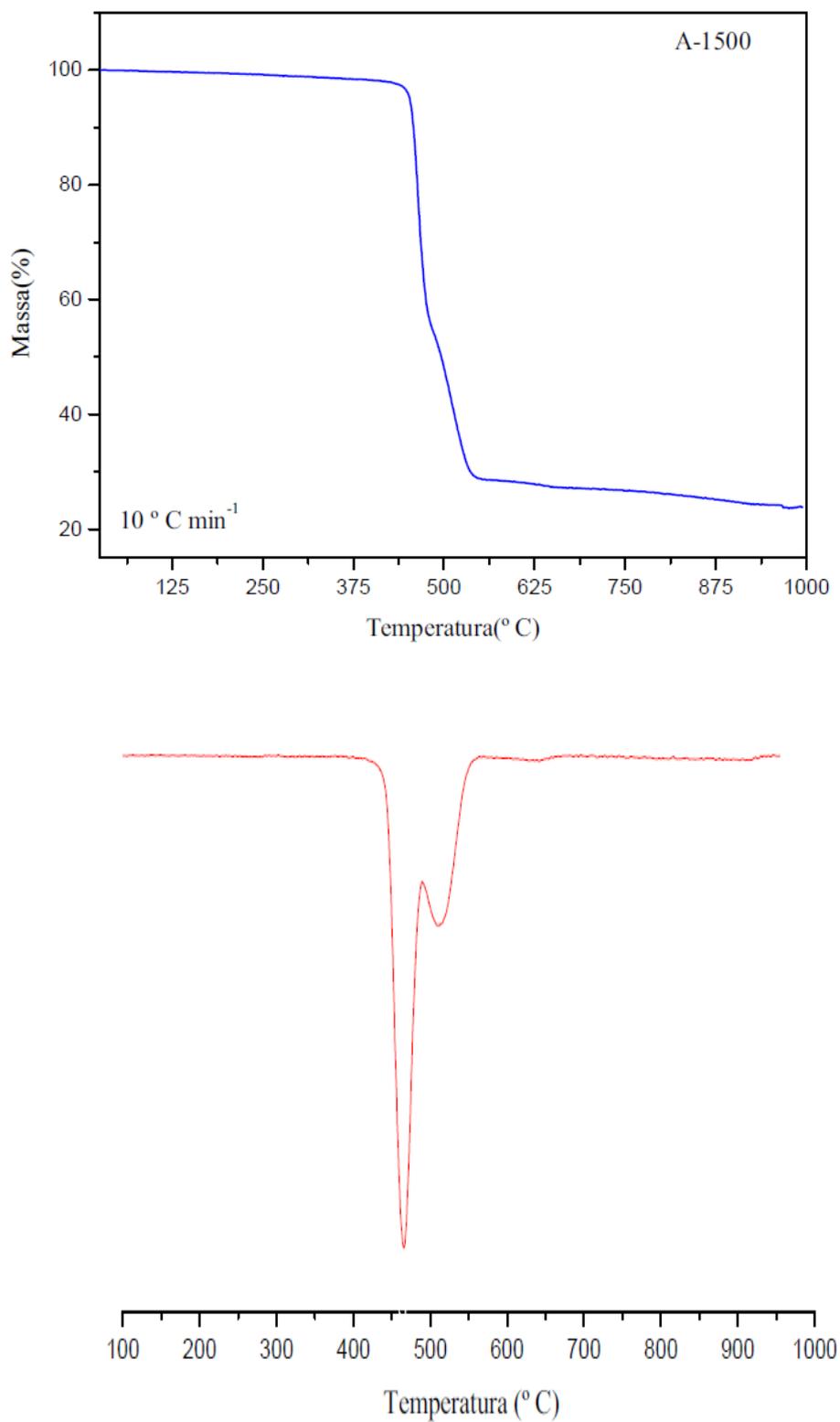
Informações mais detalhadas dos dados de TG são obtidas analisando a DTG. A curva de DTG é mostrada na inserção da Figura 27 para o copolímero P(VDF-TrFE). Verifica-se pela curva de DTG que o valor máximo do pico principal de degradação,  $T_{MAX}$ , ocorre a 485 °C, e corresponde a temperatura da taxa da massa de perda máxima. Não se observa desidratação em torno de 100 °C, devido à natureza hidrofóbica do copolímero.

Figura 29. Curvas de Análise Térmica TG e DTG e para o compósito P-1200. Amostra analisada na forma de membrana. Atmosfera de Nitrogênio, taxa de aquecimento 25 a 1000 °C.



Fonte: Autora

Figura 30. Curvas de Análise Térmica TG e DTG para o compósito A-1500. Amostra analisada na forma de membrana. Atmosfera de Nitrogênio, taxa de aquecimento 25 a 1000 ° C.



Fonte: Autora

De maneira geral observa-se uma boa estabilidade térmica para os compósitos até a temperatura de 430 °C, com ligeira perda de massa. A degradação térmica devido ao processo de aquecimento sob atmosfera de nitrogênio começa cerca de 400 °C para as membranas A-1200, P-1200 e A-1500. Esses resultados identificam que todas as membranas são materiais adequados em termos da aplicação desejada considerando suas estabilidades físicas-químicas com a temperatura. Desta forma, em ambos os materiais (compósito e PVDF-TrFE puro) nas curvas de TG o padrão do copolímero puro apresentaram duas inflexões relativa à perda de massa, confirmadas pela DTG (inserida na figura). No entanto existe uma diferença nas temperaturas as quais ocorrem os eventos térmicos bem como a taxa pela qual os mesmos ocorrem. Avaliando as curvas DTG do copolímero, nota-se um pico em temperatura próxima a 480 °C e um segundo a 700 °C menos intenso. Desta forma, a degradação térmica do PVDF-TrFE ocorreu nitidamente em duas etapas, sendo uma delas envolvendo a formação de compostos fluorados, ricos em carbono e até mesmo saída de gases como N<sub>2</sub> e F<sub>2</sub>. Nos compósitos o comportamento embora seja similar, com a presença de dois picos na TG, porém em temperaturas mais baixas (aproximadamente 430 °C e 600 °C). Nota-se que os dois eventos térmicos envolvidos na decomposição do compósito nas amostras de compósito ocorrem em temperaturas mais próximas que PVDF-TrFE puro, e com taxas semelhantes. Já no PVDF-TrFE estes dois eventos térmicos apresentam taxas bem distintas. Provavelmente a presença de titanato de bário deve ter acelerado a decomposição térmica dos produtos de decomposição do copolímero.

As temperaturas nas quais ocorrem perdas de massa devido a decomposição do P(VDF-TrFE) no compósito são: primeira perda em torno de 400 °C e perda de massa aproximadamente na média de 52,6% para todas as membranas (A-1200: Perda de Massa = 51,69%, membrana P-1200: Perda de Massa = 53,44% e para a membrana A-1500: Perda de Massa = 52,63%), seguida de uma segunda inflexão em torno de 500 °C, na qual segue na mesma proporção com uma média de perda de massa aproximadamente de 47,4% em todas as membranas (A-1200:  $M_{perda} = 48,31\%$ , P-1200:  $M_{perda} = 46,56\%$  e A-1500:  $M_{perda} = 47,37\%$ ),

As análises das curvas termogravimétricas para todas as membranas revelam que a degradação ocorre em duas etapas em todas as amostras. O processo de degradação é semelhante em todas as membranas e as diminuições da temperatura de decomposição podem estar associadas às cisões das cadeias de carbono-hidrogênio do polímero.

Fenômenos semelhantes foram observados por Costa *et.al.* (2013), Botelho *et al.* (2008) e V. Sencadas *et al.* (2006) [67, 68 e 69] em suas pesquisas sobre o homopolímero PVDF e seu copolímero P(VDF-TrFE).

#### **5.4.2 Calorimetria Exploratória Varredura (DSC)**

##### **Pós de BaTiO<sub>3</sub>**

A técnica de Calorimetria exploratória de varredura (DSC) foi empregada determinar a Temperatura de Curie ( $T_C$ ) dos materiais. A  $T_C$  relacionada à presença de pico endotérmico (representado pela seta para baixo ↓) está relacionada com a transição de fase tetragonal piezoelétrica para uma fase cúbica- paraelétrica ou vice-versa . Como é desejável obter um material piezoelétrico, é necessário garantir que as temperaturas empregadas no processamento do compósito sejam inferiores à  $T_C$ .

As Figuras 31, 32 e 33 apresentam as curvas de DSC para os pós calcinados a 1100 ° C, 1200 ° C e 1500 ° C. A  $T_C$  é observada para as três amostras no intervalo de 128 e 132° C. Observa-se também um aumento na temperatura de transição com o aumento da temperatura de calcinação dos pós, conforme mostrados na Tabela 7. Dessa forma, pode-se verificar que à medida que ocorre o aumento de calcinação dos pós, aumenta o valor de  $\Delta H$ . Eventos semelhantes para os pós calcinados a 1100 e 1200 ° C, também foram observados por Vacce *et al.* (2012), Araújo *et al.* (2014) e Khalameida *et al.* (2010) [70, 71 e 72], em suas pesquisas.

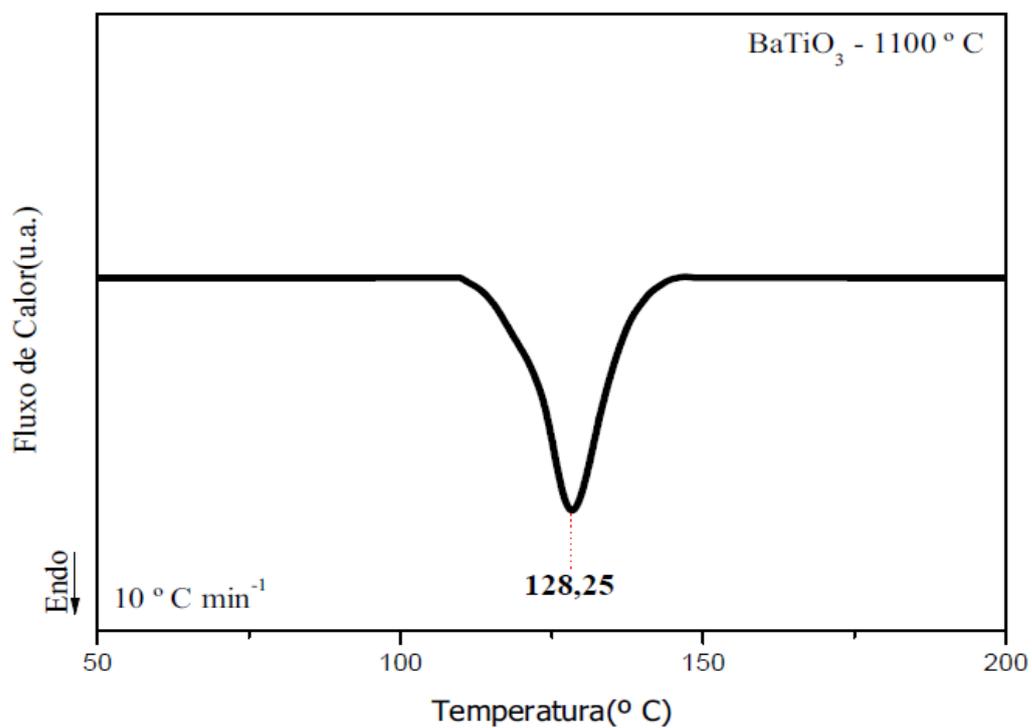
Tabela 7 - Temperatura características e parâmetros termodinâmicos (DSC) do BaTiO<sub>3</sub>.

Amostras	$T_c$ (° C) <sup>a</sup>	$\Delta H$ (J g <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>
BT – 1100 ° C	128,25	0,37
BT – 1200 ° C	130,23	0,49
BT – 1500 ° C	131,06	0,73

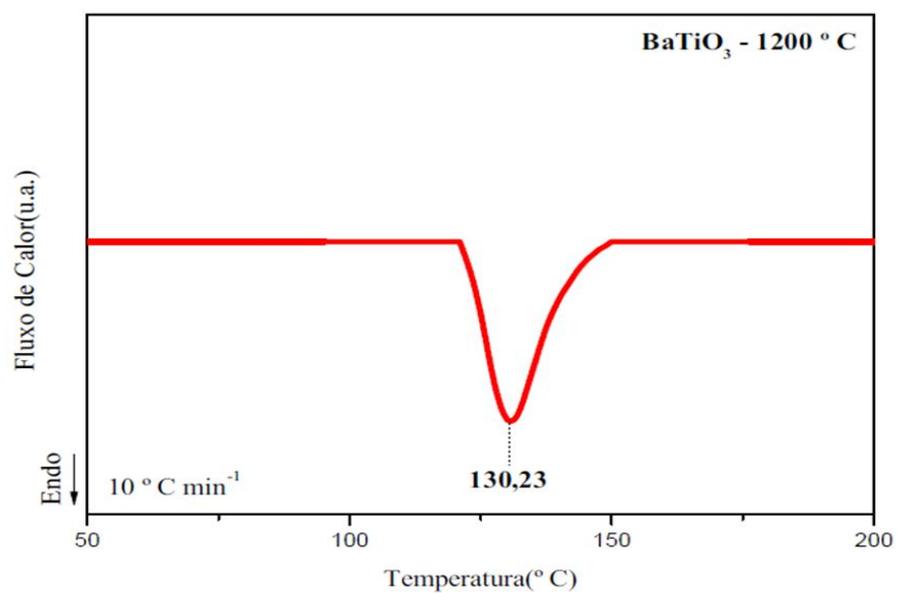
<sup>a</sup> Temperatura Curie:  $T_c$ ; Entalpia de Transição de Curie:  $\Delta H$ .

Fonte: Autora

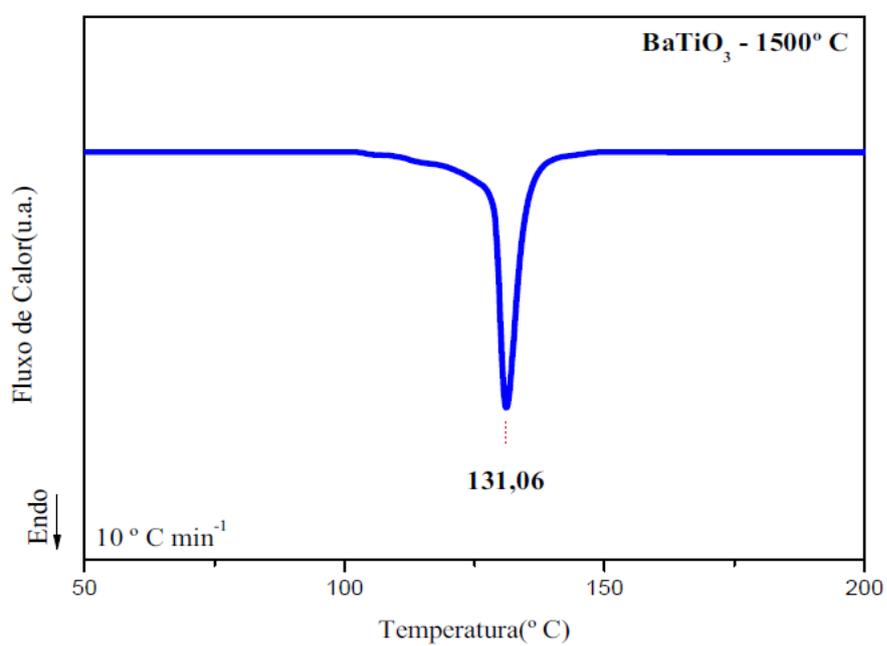
FIGURA 31. Curvas de DSC para o de BaTiO<sub>3</sub> calcinada a temperatura de 1100 ° C.



Fonte: Autora

FIGURA 32. Curvas de DSC para de BaTiO<sub>3</sub> calcinada a temperatura de 1200 ° C.

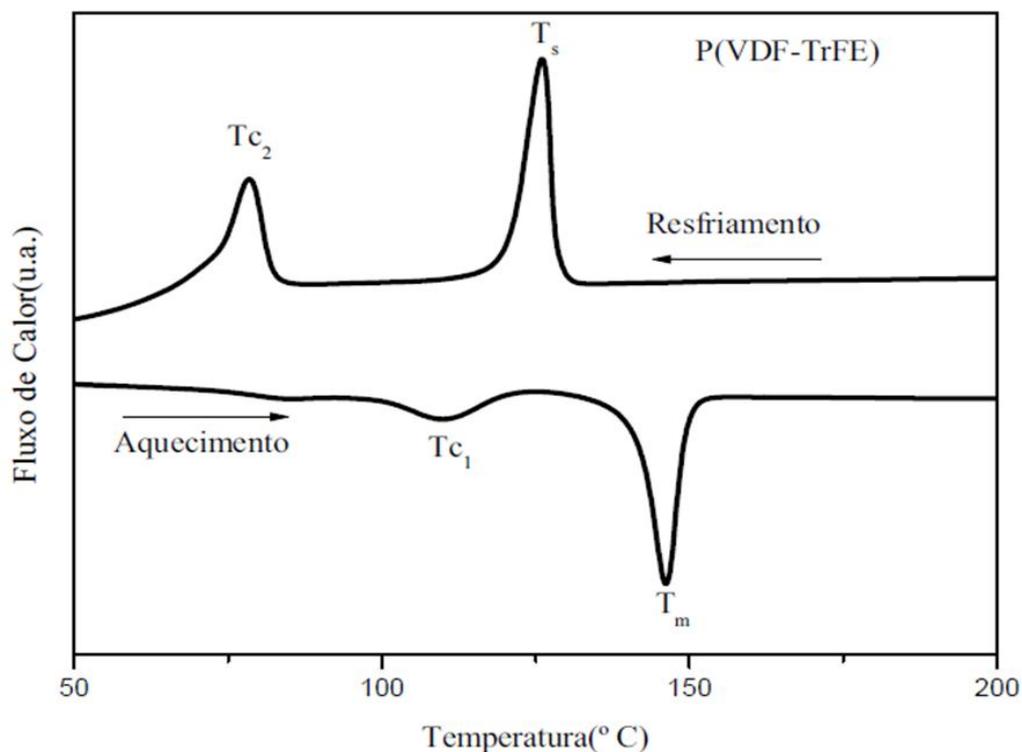
Fonte: Autora

FIGURA 33. Curvas de DSC para de BaTiO<sub>3</sub> calcinada a temperatura de 1500 ° C.

Fonte: Autora

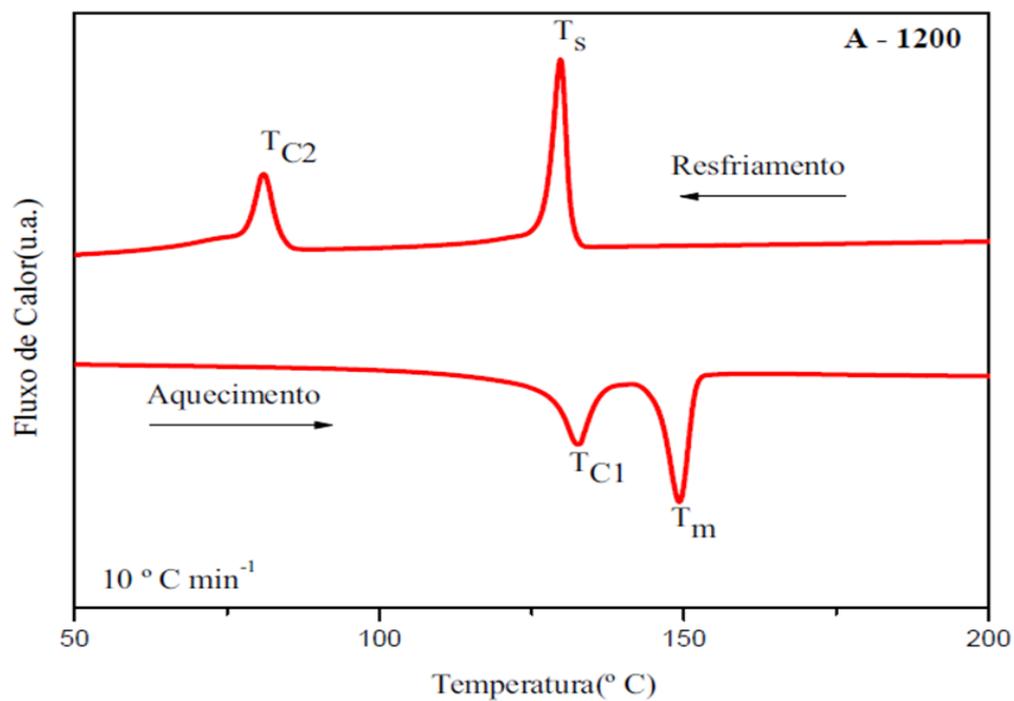
Com a técnica de DSC foi determinado a temperatura de Curie ( $T_c$ ), temperatura de fusão ( $T_m$ ) e o calor da fusão ( $\Delta H_f$ ) para os compósito P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> comparando-os com o copolímero puro P(VDF-TrFE). As Figuras 34, 35, 36 e 37, registram, respectivamente, as curvas de DSC para a 1ª e 2ª rampa de aquecimento do copolímero puro P(VDF-TrFE) e para os compósitos A-1200, P-1200 e A-1500. Durante o aquecimento observa-se que estão presentes dois picos endotérmicos correspondentes à transição de fase entre ferroelétrica – paraelétrica (F-P), na temperatura menor, denominada  $T_{C1}$ , e a transição de fase de fusão ( $T_m$ ), na temperatura mais elevada, do copolímero e para os compósitos. No resfriamento observam-se dois picos exotérmicos associados ao processo de cristalização (Temperatura de solidificação ( $T_s$ )), na temperatura mais elevada, e a transição de fase paraelétrico-ferroelétrica, (P-F), na menor temperatura ( $T_{C2}$ ).

FIGURA 34. Termograma de DSC para o copolímero P(VDF-TrFE).



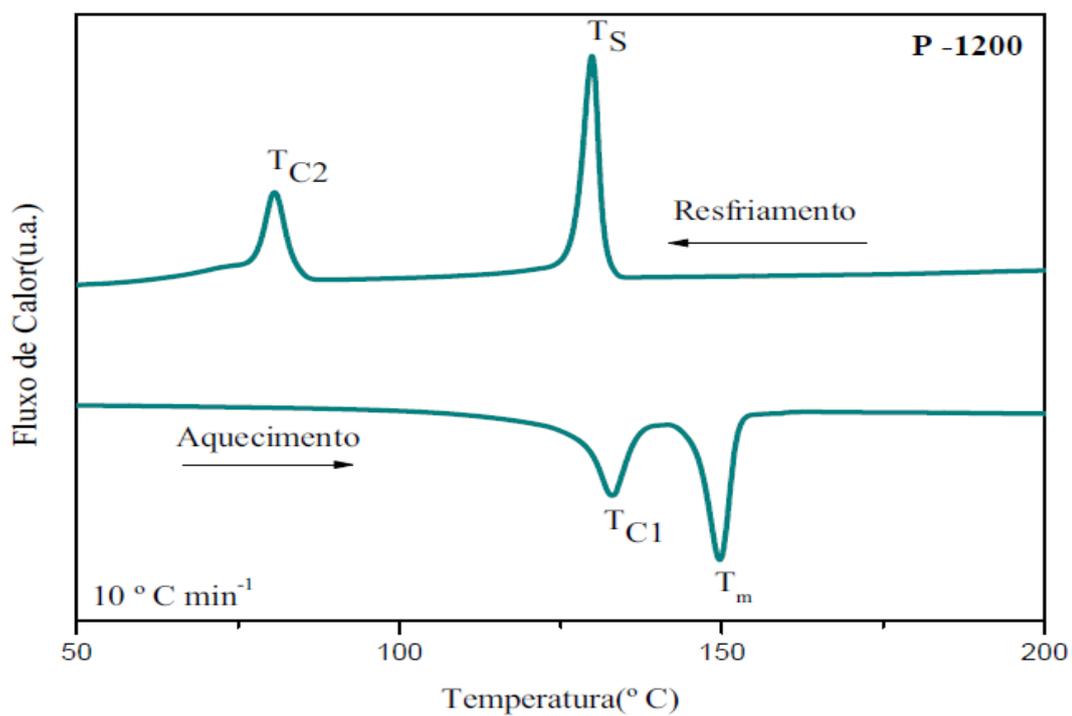
Fonte: Autora

FIGURA 35. Termograma de DSC (aquecimento e resfriamento) para o compósito A-1200. Amostra analisada na forma de membrana.



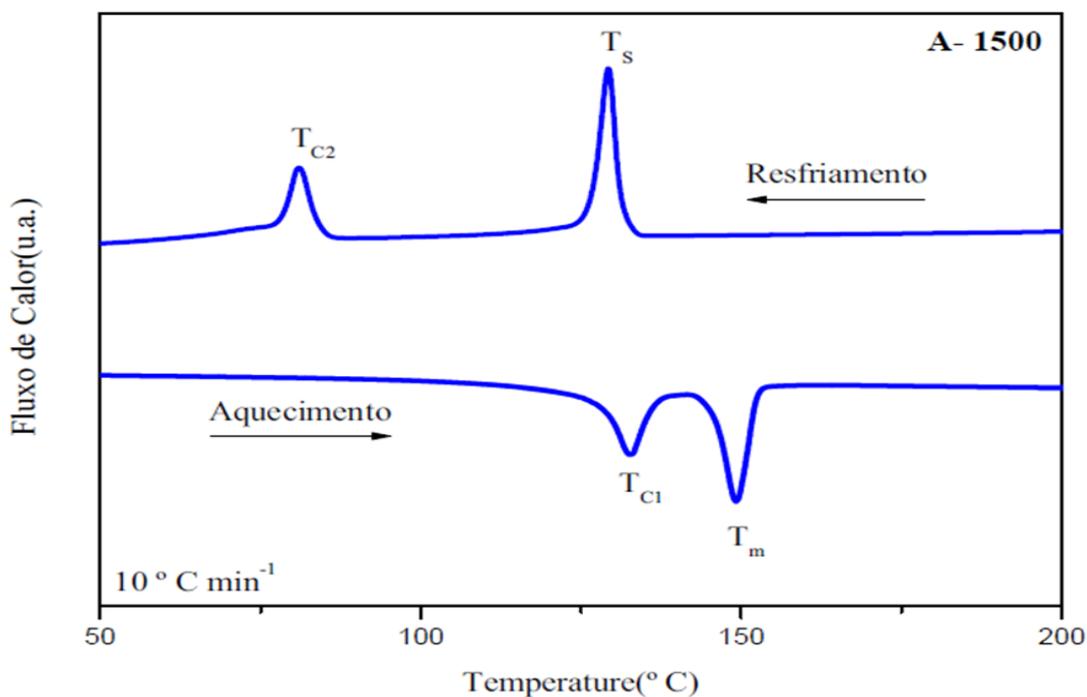
Fonte: Autora

FIGURA 36. Termograma de DSC (aquecimento e resfriamento) para o compósito P-1200. Amostra analisada na forma de membrana.



Fonte: Autora

FIGURA 37. Termograma de DSC (aquecimento e resfriamento) para o compósito A-1500. Amostra analisada na forma de membrana.



Fonte: Autora

De maneira geral, as curvas de DSC mostradas nas Figuras 35, 36 e 37 para os compósitos seguem o comportamento do copolímero P(VDF-TrFE) (Figura 34). A entalpia e a temperatura do pico na transformação de Curie de todos os compósitos foram superiores ao copolímero puro P(VDF-TrFE) como referência (Tabela 8). Este comportamento pode estar relacionado a eventos associativos das fases presentes, já que ambos os materiais (copolímero e cerâmica) apresentam  $T_C$  em temperaturas próximas, sendo a  $T_C$  do BaTiO<sub>3</sub> maior que do PVDF-TrFE (132 °C e 110 °C respectivamente). O mesmo ocorre com a entalpia da transição de fases, que é para PVDF-TrFE igual a 7,66 J.g<sup>-1</sup>, e para os compósitos em média 14,8 J.g<sup>-1</sup>, indicando que houve mais calor requerido para transição de fases pelo sistema devido a presença do BaTiO<sub>3</sub> na matriz.

No termograma da Figura 38 a amostra do copolímero puro P(VDF-TrFE) apresenta dois picos endotérmicos ( $\downarrow$ ) bem definidos. O primeiro pico na temperatura mais baixa condiz com a  $T_C = 110,20^\circ \text{C}$  que corresponde à transição ferroelétrica -

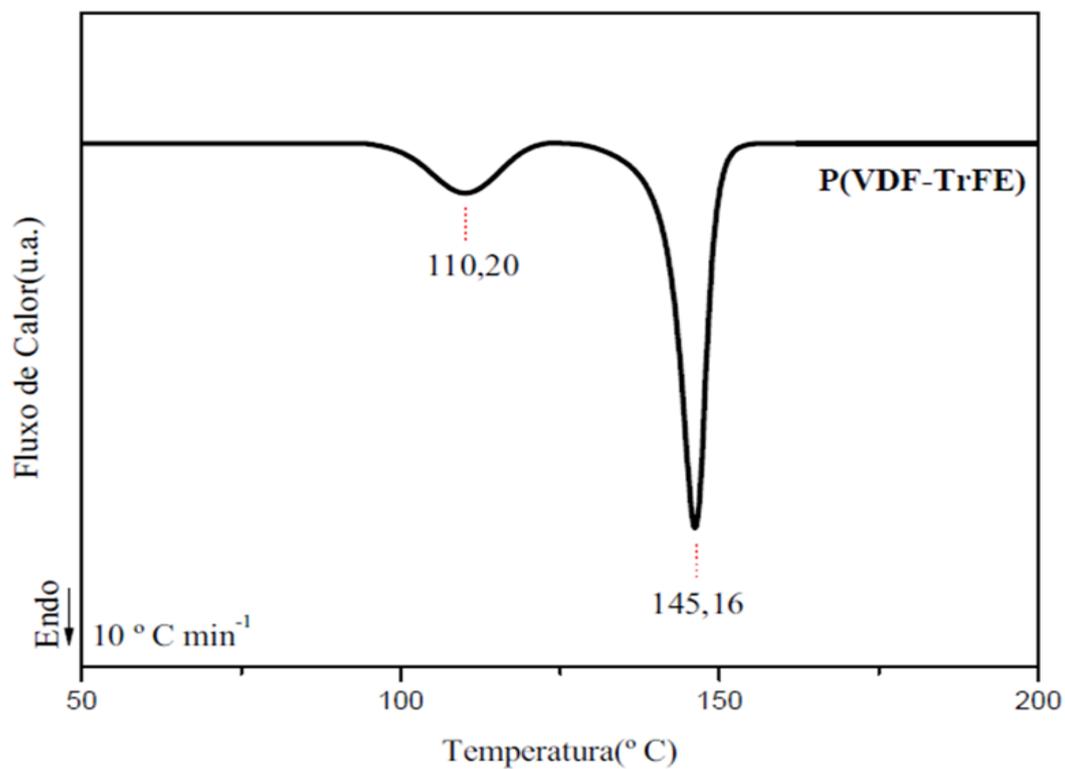
paraelétrica e o um segundo pico relacionado transição de fase de fusão ( $T_m$ ), na temperatura mais elevada do P(VDF-TrFE) da fase paraelétrica de  $T_m = 145,16$  ° C [73,74]. A cristalinidade de todos os compósitos P(VDF-TrFE)/BT obtiveram valores maiores do que a do copolímero puro de P(VDF-TrFE) mostrados na Tabela 8 e nas Figuras 39, 40 e 41. A comparação entre os termogramas dos compósitos P(VDF-TrFE)/BT com o copolímero puro de P(VDF-TrFE) (inserido na figura) é mostrado na Figura 42. Portanto, pode-se atribuir que a adição das partículas da cerâmica BaTiO<sub>3</sub> no material compósito apresenta uma pequena diferença na cristalinidade do material de referência, o copolímero puro P(VDF-TrFE). Pode observar ainda que o compósito A-1500 obteve um valor de  $\Delta H_f$  maior em relação aos compósitos A-1200 e P-1200. Verificado também nas reflexões de DRX.

Tabela 8 - Temperatura características e parâmetros termodinâmicos (DSC) do copolímero P(VDF-TrFE) e compósitos/membranas P(VDF-TrFE)/BT.

	$T_c$ (° C) <sup>a</sup>	$T_m$ (° C) <sup>a</sup>	$\Delta H_c$ (J/g) <sup>a</sup>	$\Delta H_m$ (J/g) <sup>a</sup>	Cristalização (%)
P(VDF-TrFE)	110,20	145,16	7,66	16,36	36,35
A-1200	132,62	149,14	14,16	16,83	37,4
P-1200	132,64	149,21	14,76	17,46	38,8
A-1500	132,67	149,25	15,52	19,55	43,44

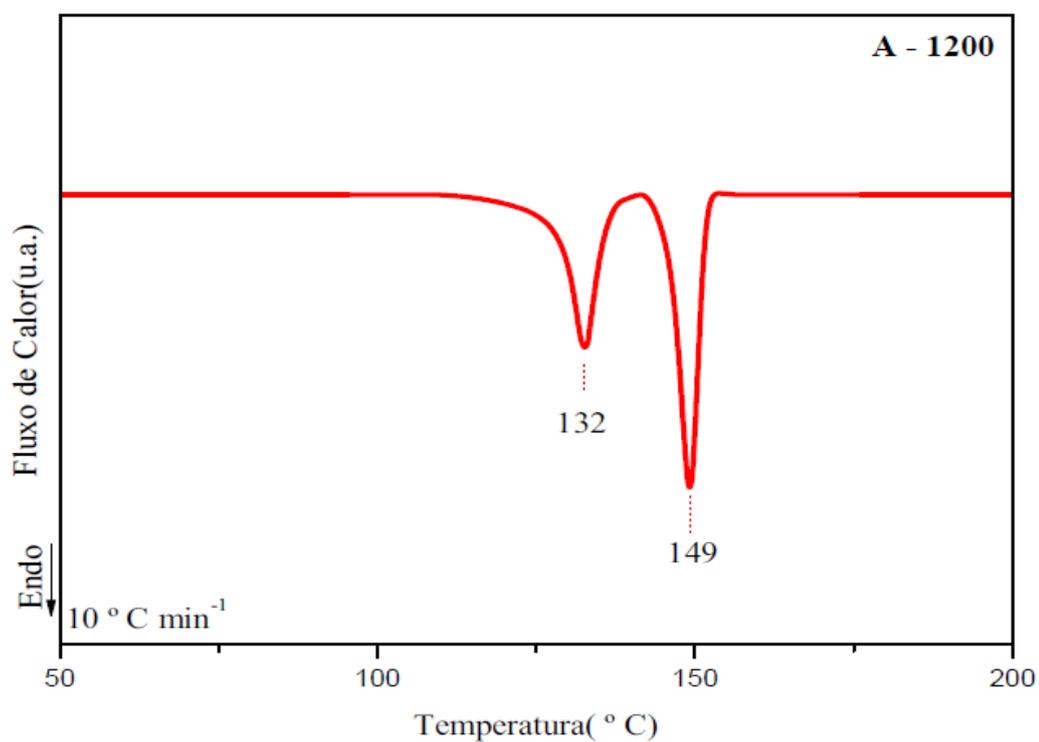
<sup>a</sup>  $T_c$ : Temperatura Curie;  $T_m$ : Temperatura de fusão;  $\Delta H_c$ : Entalpia de transição Curie;  $\Delta H_m$ : Entalpia de fusão.

FIGURA 38. Curvas de DSC, no aquecimento, do copolímero P(VDF-TrFE).



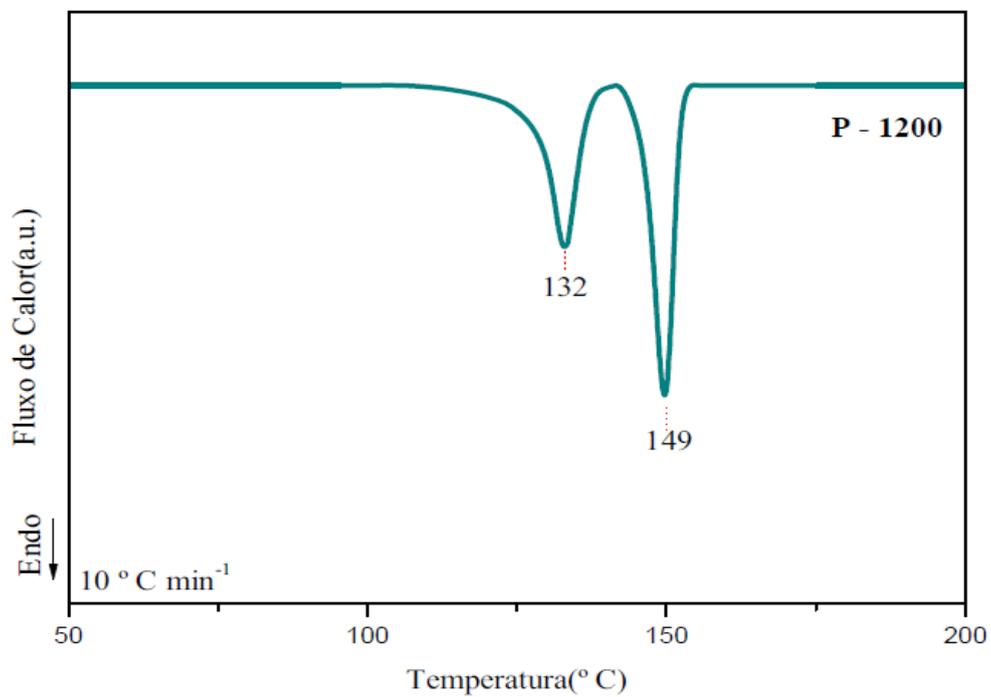
Fonte: Autora

FIGURA 39. Curvas de DSC, no aquecimento, do compósito A-1200. Amostra analisada na forma de membrana.



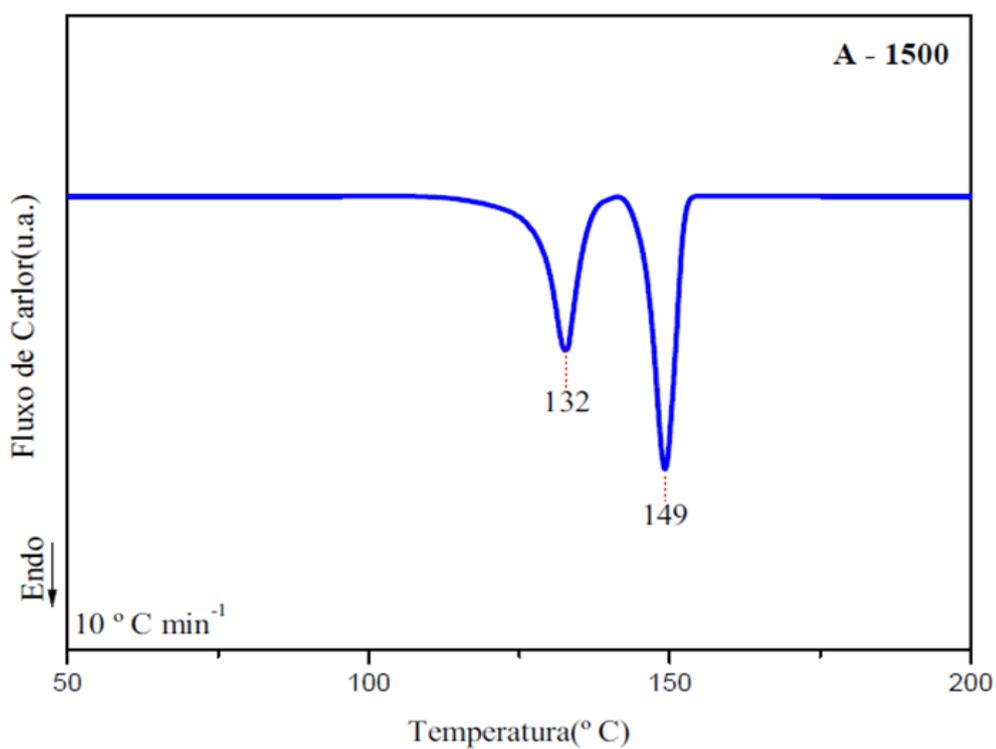
Fonte: Autora

FIGURA 40. Curvas de DSC, no aquecimento, do compósito P-1200. Amostra analisada na forma de membrana.



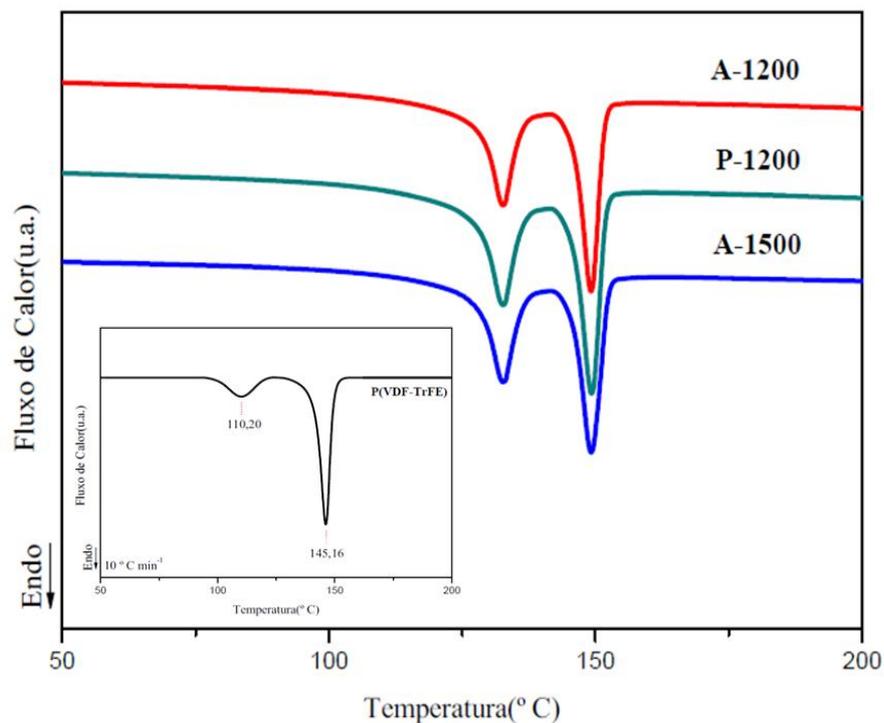
Fonte: Autora

FIGURA 41. Curvas de DSC, no aquecimento, do compósito A-1500. Amostra analisada na forma de membrana.



Fonte: Autora

FIGURA 42. Curvas de DSC, no aquecimento, do compósito A-1200, P-1200, A-1500 e inserido na figura curva DSC do copolímero P(VDF-TrFE).



Fonte: Autora

## 5.5 Ângulos de Contato ( $\theta$ )

As medidas de ângulo de contato são importantes na avaliação de um material que visa aplicações médicas, já que esta medida determina a molhabilidade da superfície, a qual pode estar relacionada com o potencial de adesão celular, e espreadimento das células durante o crescimento e diferenciação.

A espessura das amostras, bem como medidas de ângulo de contato dos compósitos de P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> obtidos na forma de membrana, foram organizados na Tabela 9 e 10 respectivamente. Os dados de ângulo de contato em função do tempo de contato com a gota de MEM estão apresentados na Figura 43 a qual expõe o comportamento do ângulo de contato para as diferentes amostras empregando-se o MEM num período de 50 min.

Tabela 9- Espessura dos compósitos de P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>.

<b>Membrana</b>	<b>Espessura (µm)</b>
A-1200	49,8 ± 0,002
A-1500	49 ± 0,002
P-1200	52,6 ± 0,001

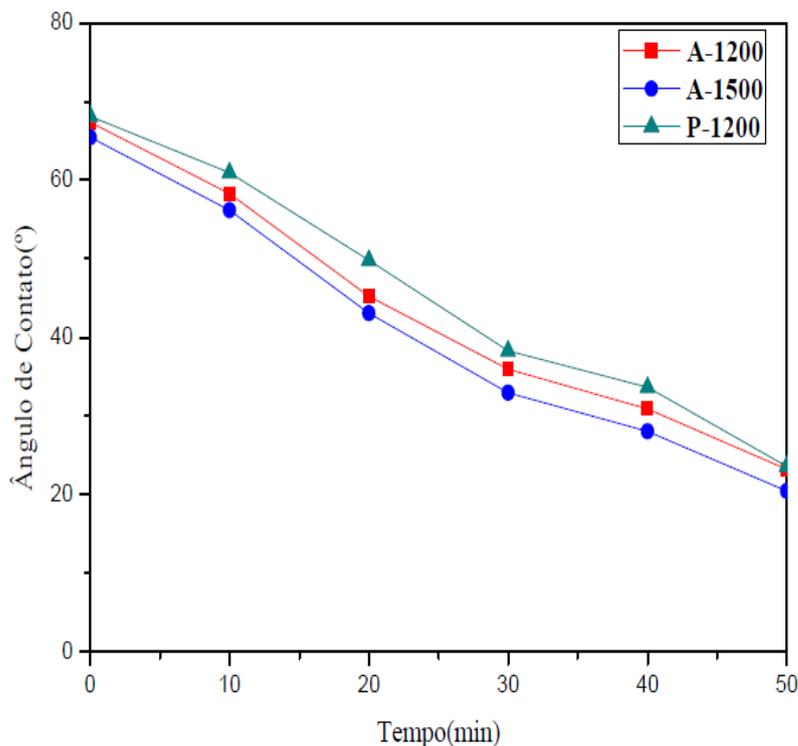
Fonte: Autora

Na Figura 43, verifica-se que as amostras por terem estruturas químicas similares apresentaram valores do ângulo de contato próximos, apresentando valores entre 65 a 68 °.

Nossos dados de ângulos de contato para as amostras A-1200, A-1500 e P-1200, em solução de MEM, estão organizados na Tabela 10. Para tal, avaliaram-se os ângulos de contato no intervalo de tempo entre 0 a 50 min, podendo ser observado o desvio padrão para os seis experimentos realizados, após a deposição da gota na superfície dos compósitos.

As medidas obtidas na amostra A-1200 Figura 44 mostram o gráfico e a imagem das gotas após a deposição da gota na superfície nos respectivos tempos de 0 a 50 min, apresentando superfícies hidrofílicas com ângulos de contato variando de 23,2 a 58,3° como relatado na Tabela 10. As superfícies com  $\theta < 90^\circ$  são classificadas como hidrofílicas, aquelas com ângulo de contato entre  $90^\circ < \theta < 150^\circ$  são classificadas como hidrofóbicas e aquelas  $\theta > 150^\circ$  são consideradas superhidrofóbicas [75,76].

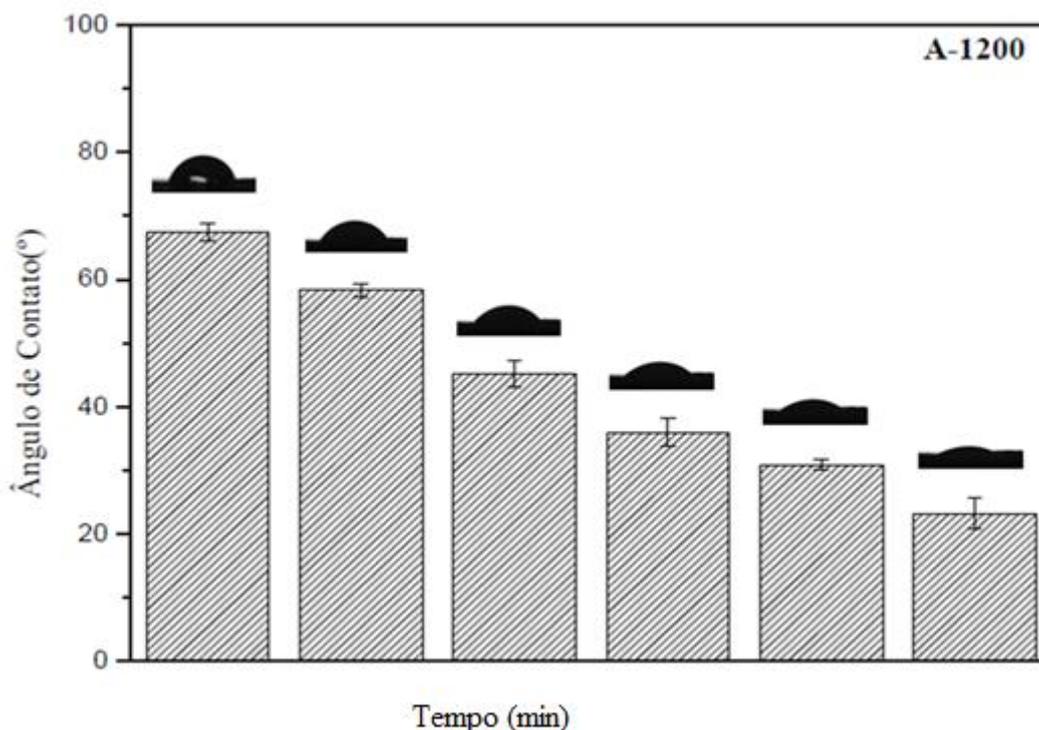
FIGURA 43. Medidas de Ângulo de Contato para os compósitos. Amostras analisadas na forma de membrana.



Fonte: Autora

Os compósitos A-1200 e P-1200 apresentaram valores muito próximos com um  $\theta$  de 67,38 °, para amostra A-1200 um  $\theta$  de 68,09 °. O compósito A-1500 apresentou valor de ângulo de contato entre a gota e o filme de 65,43 ° obtendo o menor valor de  $\theta$  referentes às demais amostras o que pode estar relacionado à espessura da amostra (Tabela 9). De acordo com os resultados (Figura 49), pode se concluir que todas as apresentam superfícies hidrofílicas, constatou-se uma tendência a aumentar da hidrofiliidade de acordo com o aumento do tempo (h) podendo ser observado na Tabela 10, onde o valor do  $\theta$  diminui gradativamente de 0 a 50 min de exposição da gota. Valores semelhantes foram encontrados nas pesquisas de Tseng (2013) [77]. Analisando esses resultados, presume-se que os compósitos apresentam comportamento receptível com o meio biológico.

FIGURA 44. Medidas de Ângulo de Contato para o compósito A-1200. Amostra analisada na forma de membrana.



Fonte: Autora

### 5.6 Adsorção do peptídeo OGP e a liberação de OGP nas membranas P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub>

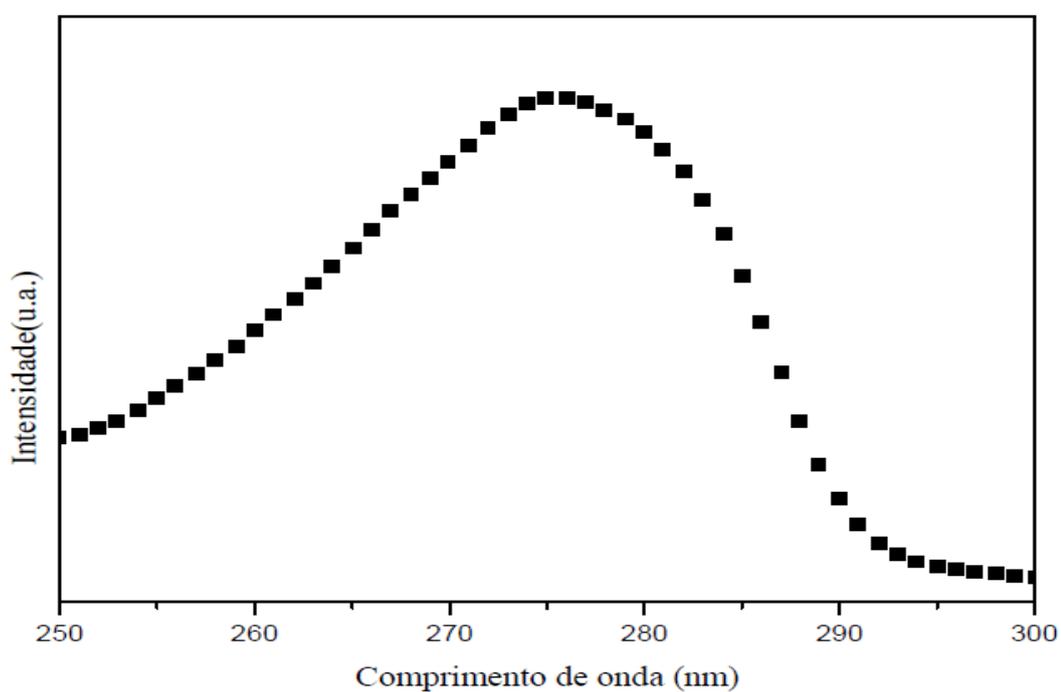
Um espectro de fluorescência do peptídeo OGP livre para determinar o comprimento de onda máximo de emissão a fim de determinar o comprimento de onda máximo de emissão (Figura 45), sendo fixado o monocromador uma excitação com comprimento de onda de 220 nm (obtido por espectrofotometria UV-Vis). Fixando os comprimentos de onda de excitação a 220 nm e de emissão a 280 nm, foi obtida uma curva padrão de fluorescência do OGP (Figura 46) foi obtida a curva padrão de fluorescência do OGP (em solução aquosa contendo 10% (v/v) de etanol absoluto, pH 7,4 a temperatura ambiente). Assim, foi possível obter a linearidade do método de quantificação do OGP adsorvido nos materiais analisados.

Tabela 10 - Ângulo de contato com MEM das membranas de P(VDF-TrFE)/B aTiO<sub>3</sub>.

Tempo de exposição da gota (min)	A - 1200	A -1500	P -1200
0	67,38 ± 1,41	65,43 ± 0,39	68,09 ± 1,07
10	58,28 ± 1,07	56,18 ± 0,25	60,94 ± 1,14
20	45,21 ± 2,04	43,04 ± 0,35	49,83 ± 3,37
30	35,96 ± 2,21	32,97 ± 0,48	38,29 ± 1,07
40	30,91 ± 0,88	28,06 ± 0,28	33.66 ± 0,93
50	23,24 ± 2,41	20,47 ± 0,52	23,61 ± 0,81

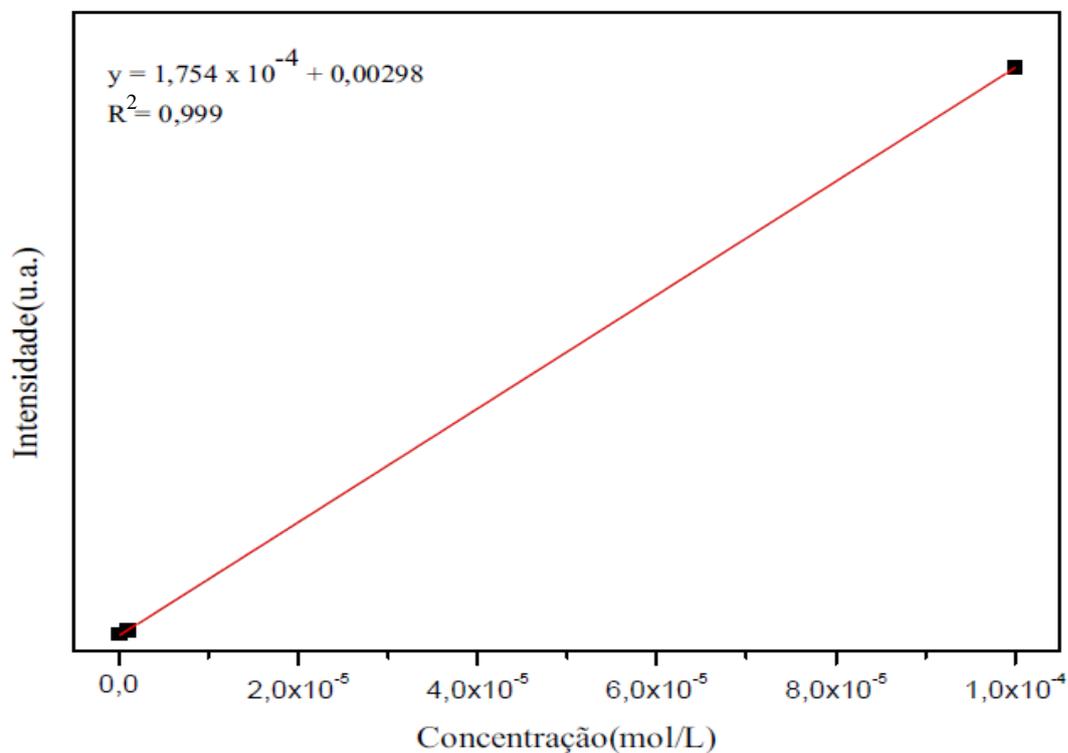
Fonte: Autora

FIGURA 45. Espectro de fluorescência do Peptídeo OGP.



Fonte: Autora

FIGURA 46. Curva analítica do OGP em meio de etanol.



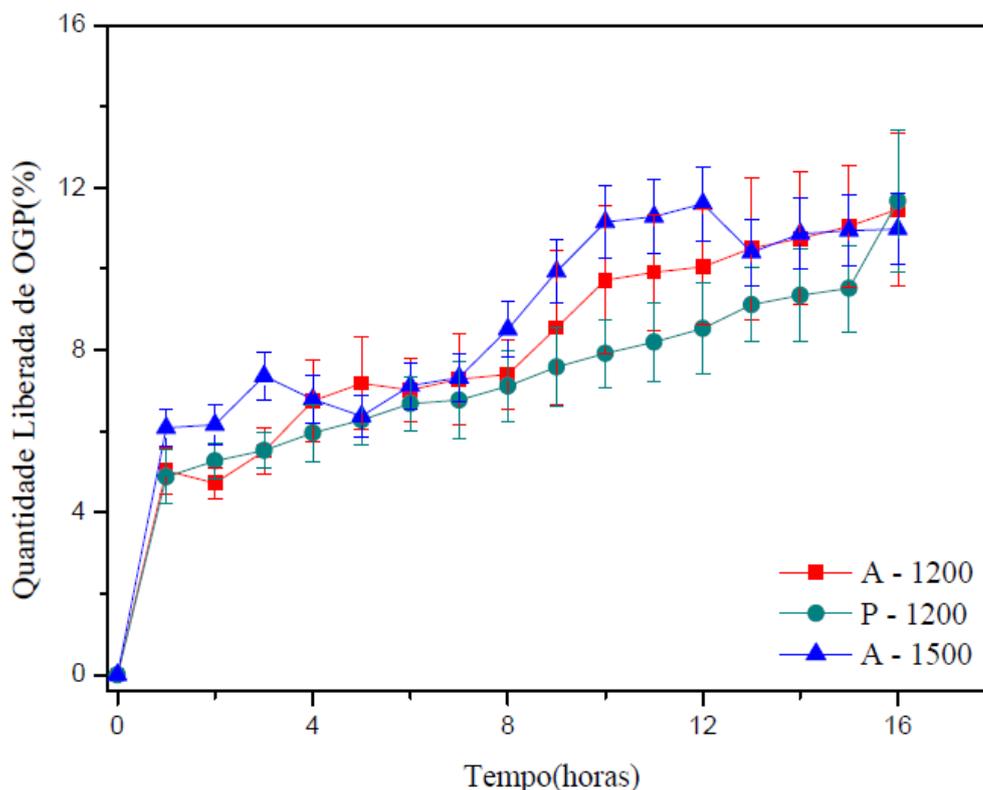
Fonte: Autora

Os perfis de liberação do OGP a partir dos compósitos A-1200, P-1200 e A-1500 (amostras analisadas na forma de membranas) foram registrados em função do tempo, e retratados na Figura 47.

Verifica-se (Figura 47) o perfil de liberação de OGP, no qual nota-se uma liberação acelerada do peptídeo na primeira hora, alcançando um aproveitamento médio de aproximadamente de 5% do valor incorporado para os compósitos A-1200, e P-1200, e de 6% para compósito A-1500; a partir desse período, observa-se uma liberação mais lenta do peptídeo até às 16h, com liberação máxima de 11,5% para o compósito A-1200, de 11,7% para o compósito P-1200 e de 10,9% para o compósito A-1500. No entanto, quando se compara as amostras dos compósitos A-1200, A-1500 e P-1200,

observar-se que o compósito P-1200 segue uma liberação mais uniforme apresentando uma linearidade no perfil de liberação sem sofrer oscilações.

FIGURA 47. Perfil de liberação OGP incorporada nos compósitos A-1200, P-1200 e A-1500 no intervalo de 0 a 16 horas.

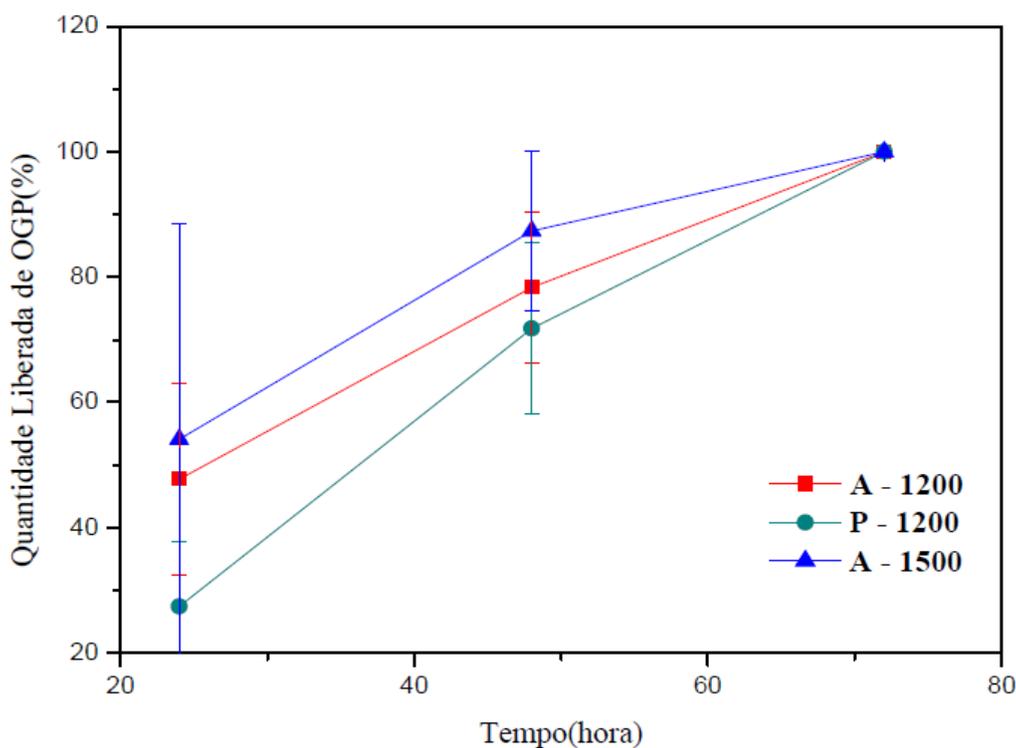


Fonte: Autora

Na Figura 48 verifica-se o perfil de liberação para intervalos de tempo maiores entre as medições. Pode-se observar que a quantidade liberada de OGP difere entre as três amostras. Com 24 horas de liberação o compósito A-1500 apresentou maior liberação de OGP entre as amostras A-1200 e P-1200, atingindo mais de 50% de OGP liberado, em quantidade menor, mas acima de 36% segue o perfil de liberação para o compósito A-1200, e para o compósito P-1200 foi à amostra que a liberação de OGP foi menor, atingindo 27%. Ao atingir 48 horas segue uma distribuição de 78% para o compósito A-1200, aproximadamente 72% para o compósito P-1200 e de 87% para o compósito A-1500. De acordo com os resultados apresentados a liberação do peptídeo OGP atingiram 100% de liberação para os compósitos testados, no período de 72 horas (três dias). Este fato evidenciou a capacidade de obter um sistema apto para liberação do

peptídeo OGP empregando as membranas A-1200, A-1500 e P-1200. Na Tabela 11 encontram-se detalhamento dos valores da quantidade em porcentagem de OGP liberado durante as 72 horas de análise para os compósitos A-1200, P-1200 e A-1500.

FIGURA 48. Perfil de liberação OGP incorporada nos compósitos A-1200, P-1200 e A-1500 de 24 a 72 horas.



Fonte: Autora

Este comportamento é característico de um sistema de liberação controlada, pela qual a liberação inicial mais acelerada se aplica ao fato de uma ligeira solubilidade do OGP em meio aquoso, que faz com que as moléculas mais externas sejam liberadas mais rápidas. Após esse comportamento inicial segue uma liberação lenta, nas quais podem permitir que as moléculas do peptídeo pudessem estar interagindo fortemente com o compósito que apresenta uma estrutura de superfície irregular, com saliências e reentrâncias (discutido no item 5.1 (*Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)*)), ou seja, uma característica importante que mostra que esse tipo de estrutura também poder

ter um caráter de armazenamento, as quais poderiam ter capacidade de regeneração óssea aumentada em função da liberação controlada de OGP.

Tabela11. Porcentagem de OGP liberada a partir dos compósitos.

<b>Tempo de liberação</b>	<b>A-1200 % Liberada</b>	<b>P-1200 % Liberada</b>	<b>A-1500 % Liberada</b>
0	0	0	0
1	5,03 ± 0,57	4,85 ± 0,66	6,08 ± 0,46
2	4,72 ± 0,38	5,09 ± 0,69	6,16 ± 0,49
3	5,51 ± 0,56	5,39 ± 0,61	7,36 ± 0,58
4	6,75 ± 1,01	5,83 ± 0,84	6,79 ± 0,57
5	7,18 ± 1,14	6,15 ± 0,76	6,37 ± 0,50
6	7,02 ± 0,80	6,55 ± 0,80	7,12 ± 0,56
7	7,29 ± 1,13	6,76 ± 0,89	7,33 ± 0,58
8	7,41 ± 0,85	7,07 ± 0,88	8,51 ± 0,67
9	8,55 ± 1,90	7,53 ± 0,96	9,93 ± 0,78
10	9,73 ± 1,82	7,73 ± 1,06	11,16 ± 0,89
11	9,91 ± 1,42	8,00 ± 1,18	11,29 ± 0,90
12	10,05 ± 1,43	8,47 ± 1,17	11,60 ± 0,92
13	10,51 ± 1,75	8,89 ± 1,74	10,40 ± 0,83
14	10,76 ± 1,65	9,29 ± 1,15	10,86 ± 0,86
15	11,05 ± 1,49	9,41 ± 1,15	10,94 ± 0,87
16	11,47 ± 1,89	9,96 ± 1,40	10,99 ± 0,87
24	47,73 ± 15,24	27,56 ± 10,28	54,12 ± 34,34
48	78,34 ± 12,00	71,81 ± 13,74	87,34 ± 12,80
72	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00

Fonte: Autora

## 6. CONCLUSÕES

Neste trabalho, foram sintetizados compósitos do copolímero P(VDF-TrFE) e a cerâmica  $\text{BaTiO}_3$  calcinada em diferentes temperaturas. A partir dos ensaios de caracterizações mostrou que os compósitos obtidos apresentaram propriedades como estruturas irregulares, com saliência e reentrâncias (superfície do material), um material maleável, e com uma determinada molhabilidade o que auxilia a interação entre células e superfície dos compósitos. Além disso, foi possível observar que a funcionalização dos compósitos não apresentaram modificações significativas de cristalinidade e morfologia, nem variações expressivas na estabilidade térmica dos compósitos funcionalizados.

Os estudos da cinética de liberação revelam que os compósitos mostraram-se eficaz na liberação em três dias do peptídeo osteogênico de crescimento.

Dessa forma, tem-se um compósito incorporado ao OGP um sistema promissor para liberação sustentada do peptídeo osteogênico de crescimento em compósitos de P(VDF-TrFE)/ $\text{BaTiO}_3$  produzidos por pulverização poderão serem utilizados como um material em potencial para a técnica de regeneração óssea guiada.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] R. Dimitriou; E. Jones; D. M. C. Gonagle; P.V. Giannoudis. Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Med.*, v. 9, p. 66, 2011.
- [2] A. Turri; I. Elgali; F. Vazirisani ; A. Johansson; L. Emanuelsson; C. Dahlin; P. Thomsen; O. Omar. Guided bone regeneration is promoted by the molecular events in the membrane compartment. *Biomaterials* 84 (2016) 167e183.
- [3] C. Dahlin; A.R Linde; J. Gottow; J. F. Gottlow; S. Nyman. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg.* n. 81, p. 672-676, 1988.
- [4] N. Bazrafshan; I. Darby. Retrospective success and survival rates of dental implants placed with simultaneous bone augmentation in partially edentulous patients. *Clin. Oral Impl. Res.* 00, 2013, 1–6 doi: 10.1111/clr.12185.
- [5] A. S. Gerzson; P. D. J. Ribeiro; M. A. Matsumoto; M. A. H. Duarte; P. H. Weckwerth. Membranas para barreira utilizadas em ROG: características e indicações. *Journal of Clinical Dentistry & Research* . Oct-Dec2016, Vol. 13 Issue 4, p120-125. 6p. 2 Charts.
- [6] J. A. J. Oshiro. Membranas híbridas do tipo Ureasil-poliéster contendo peptídeo de crescimento ósseo para técnica de regeneração óssea guiada. 129 f.:il. Araraquara, 2017.
- [7] Y. C. Chen; A. Muhlrاد; A. Shteyer; M. Vidson; I. Bab; M. Chorey. Bioactive Pseudopeptidic Analogues and Cyclosteroisomers of Osteogenic Growth Peptide C-Terminal Pentapeptide, OGP(10-14). *J. Med. Chem.* 2002, 45, 1624-1632.
- [8] S. C. Pigossi; M. C. Medeiros; S. Saska; J. A. Cirelli; R. M. Scarel-Caminaga. Role of Osteogenic Growth Peptide (OGP) and OGP(10–14) in Bone Regeneration: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17, 1885; doi: 10.3390/ijms17111885.
- [9] I. Bad; D. Gazit; M. Chorev; A. Muhlrاد; A. Shteyer; Z. Greenberg; M. Namdar; Kahn. Histon H4-related osteogenic growth peptide (OGP): a novel circulating stimulator of osteoblastic activity. *EMBO J.* 1992; 11:1867-73.

- [10] O. R. G. Oliveira; S. P. R. Martins; W. G. Lima; M. M. Gomes. The use of bone morphogenetic proteins (BMP) and pseudarthrosis, a literature review. <https://doi.org/10.1016/j.rbo.2016.03.017>.
- [11] G. Freitas; H. Lopes; A. Almeida; R. Abuna; R. Gimenes; L. Souza; D. Covas; M. M. Beloti; A.L. Rosa. Potential of Osteoblastic Cells Derived from Bone Marrow and Adipose Tissue Associated with a Polymer/Ceramic Composite to Repair Bone Tissue Calcified Tissue International, 2017, Vol.101(3), pp.312-320.
- [12] H. B. Lopes; E. P. Ferraz; P. Florio; R. Gimene; A. L. Rosa; M. M. Beloti. Participation of MicroRNA-34a and RANKL on bone repair induced by poly(vinylidene-trifluoroethylene)/barium titanate membrane. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, p. 1-21, 2016.
- [13] P. H. Scalize; K. F. Bombonato-Prado; L. G. Sousa; A. L. Rosa; M. M. Beloti; M. Semprini; R. Gimenes; A. L. G. Almeida; F. S. Oliveira; S. C. H. Regalo; S. Siessere. Poly(Vinylidene Fluoride-Trifluorethylene)/barium titanate membrane promotes de novo bone formation and may modulate gene expression in osteoporotic rat model. Journal of Materials Science. Materials in Medicine, v. 27, p. 180, 2016.
- [14] S. Saska; R. M. Scarel-Caminaga; L. N. Teixeira; L. P. Franchi; R. A. Santos; A. M. M. Gaspar; P. T. Oliveira; a. L. Rosa; C. s. Takahashi; Y. Messaddeq; S. J. L. Ribeiro; R. Machetto. Characterization and inn vitro evaluation of bacterial celulose membranes functionalized with osteogenic growth peptide for bone tissue engineering. J. Mater Sci: Mater Med (2012) 23:2253-2266.
- [15] W. D. Jr. Callister, Materials science and engineering: an introduction. Eighth Edition, John Wiley & Sons, Inc, Chaper 3, United States of America, p. 76, 2012.
- [16] E. B. Mano; L. C. Mendes. Introdução a Polímeros. Ed. Edgard Blücher. p. 14, 2004.
- [17] S. V. Jr. Canevarolo. Ciências dos Polímeros. 2ª Edição. Ed. Artliber, p. 17, 2006
- [18] T. SrichanA; A. J. Domb. Polymeric Biomaterials. In. NARAYAN, R. Biomedical Materials. 1<sup>st</sup> Ed. Springer Science Business Media, LLC, 2009.

- [19] S.I Zhang; R. J. Klein; K. Ren; B. Chu; X. Zhang; J. Runt. Normal ferroelectric to ferroelectric relaxor conversion in fluorinated polymers and the relaxor dynamics *Journal of Materials Science* 41 (2006) 271–280.
- [20] H. Kawai. The Piezoelectricity of Poly(vinylidene fluoride). *Japan. J. APPL. PHYS.* (1969) 975-976.
- [21] T. Soulestin; V. Ladmiral; T. Lannuzel; F. D. Santos; B. Ameduri. Importance of Microstructure Control for Designing New Electroactive Terpolymers Based on Vinylidene Fluoride and Trifluoroethylene. *Macromolecules*, 2015, 48 (21), pp 7861–7871.
- [22] J-H. Bae; S-H. Chang. Characterization of an electroactive polymer (PVDF-TrFE) film-type sensor for health monitoring of composite structures. *Composite Structures* 131(2015) 1090-1098.
- [23] N. Meng; R. Mao; W. Tu, X. Zhu; R. M. Wilson; E. Bilotti; M. J. Reece. Processing and characterization of free standing highly oriented ferroelectric polymer films with remarkably low coercive field and high remnant polarization. *Polymer* 100 (2016) 69-76.
- [24] Gimenes R. “Síntese e Caracterização de Compósitos Poli(fluoreto de vinilideno-triofluoretileno)/Titanato de Bário para uso em Regeneração Tecidual Guiada”. Dissertação (Doutorado). Instituto de Química da Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara, 2005.
- [25] A. A. Prab; K. J. Kima; C. Park. Effect of thickness on the crystallinity and Curie transition behavior in P(VDF/TrFE) (72/28) copolymer thin films using FTIR transmission spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*. v. 49, p. 101-109, 2009.
- [26] N. Mega; R. Di Mundo; G. Carbone. Soft blasting of fluorinated polymers: The easy way to superhydrophobicity. *Materials and Design*. 121 (2017) 414-420.
- [27] F. Jona; G. Shirane. *Ferroelectric Crystals*. 2. ed. New York: Dover Publications, v. I, 1993.

- [28] A. A. Khort; K. B. Podbolotov. Preparation on BaTiO<sub>3</sub> nanopowders by the solution combustion method. *Ceramics International* 43 (2016) 14343-15348.
- [29] M. P. Pechini. Method of preparing lead and alkaline earth titanates and niobates and coating method using the same from a capacitor. U.S. Patent. 3330697 (1967).
- [30] A. J. Moulson. *Electroceramics: Materials Properties Applications*. 2<sup>st</sup>. Wiley, 2003.
- [31] Z.Z Larevic, M. Vijatovic, Z. Dohcevic-Mitrovic, N.Z. Romcevic, M.J. Romcevic., N. Paunovic, B. D. Stojanovic. The characterization of the barium titanate ceramic powders prepared by the Pechini type reaction route and mechanically assisted synthesis. *Journal of European Ceramic Society* 30 (2010) 623-628.
- [32] H. Zarkoob; S. Ziaei-Rad; M. Fathi; H. Dadkhah. Synthesis, Characterization and Bioactivity Evaluation of Porous Barium Titanate with Nanostructured Hydroxyapatite Coating for Biomedical Application. *Advanced Engineering Materials*, June 2012, Vol.14(6), pp.B322-B329.
- [33] U. Valiyaneerilakkal; A. Singh; K. Singh ;C. K. Subash; S. M. Abbas • R. Komaragiri; S. Varghese. Ferroelectric characteristics of MFIS structure with P(VDF–TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> nanocomposite as ferroelectric layer. *Appl. Phys. A* (2014) 117:1535–1540.
- [34] T. Siponkoski; M. Nelo; J. Peräntie; J. Juuti; H. Jantunen. BaTiO<sub>3</sub>–P(VDF–TrFE) composite ink properties for printed decoupling capacitors. *Composites: Part B* 70 (2015) 201-205.
- [35] X. Hou; S. Choon Ng;J. Zhang; J. S. Chang. Polymer nanocomposite dielectric based on P(VDF–TrFE)/PMMA/BaTiO<sub>3</sub> for TIPs-pentacene OFETs. *Organic Electronics* 17 (2105) 247-252.
- [36] W. Zhang; C. Feng; G. Yang; G. Li; X. Ding; S. Wang; Y. Dou; Z. Zhang; J. Chang; C. Wu; X. Jiang. 3D-printed scaffolds with synergistic effect of hollow-pipe structure and bioactive ions for vascularized bone regeneration. *Biomaterials* 135 (2017) 85-95.

- [37] B. A. Gultekin; E. Cansiz; M. O. Borahan. Clinical and 3-Dimensional Radiographic Evaluation of Autogenous Iliac Block Bone Grafting and Guided Bone Regeneration in Patients With Atrophic Maxilla. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* Volume 75, Issue 4, April 2017, Pages 709-722.
- [38] A. Turri; I. Elgali; F. Vazirisani; A. Johansson; L. Emanuelsson; C. Dahlin; P. Thomsen; O. Omar. Guided bone regeneration is promoted by the molecular events in the membrane compartment. *Biomaterials* 84 (2016) 167-183.
- [39] J. Malmström; J. Anderud; P. Abrahamsson; D.-Å . Wälivaara; S.G. Isaksson; E. Adolfsson. Guided bone regeneration using individualized ceramic sheets. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2016; 45: 1246–1252.
- [40] Y. D. Rakhmatia; Y. Ayukawa; A. Furuhashi; K. Koyano. Current barrier membranes: Titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications. *Journal of Prosthodontic Research* 57 (2013) 3–14.
- [41] Z. X. Chen; M. Chang; Y. L. Peng; L. Zhao; Y. R. Zhan; L. J. Wang; R. Wang. Osteogenic growth peptide C-terminal pentapeptide [OGP(10-14)] acts on rat bone marrow mesenchymal stem cells to promote differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. *Regulatory Peptides*, v. 142, n. 1-2, p. 16-23, 2007.
- [42] I. Bab; M. Chorev. Osteogenic growth peptide: from concept to drug design. *Biopolymers*, v. 66, p. 33-48, 2002.
- [43] H. Gavish; I. Bab; A. Tartakovsky; M. Chorev; N. Mansur; Z. Greenberg; M. Namdar-Attar; A. Muhrad. Human alpha(2)-macroglobulin is an osteogenic growth peptide binding protein. *Biochemistry*, v. 36, n. 48, p. 14883-14888, 1997.
- [44] Z. Greenberg; H. Gavish; A. Muhrad; M. Chorev; A. Shteyer; M. AttarNamdar; et al. Isolation of osteogenic growth peptide from osteoblastic MC3T3 E1 cell cultures and demonstration of osteogenic growth peptide binding proteins. *J Cell Biochem.* 1997; 65(3): 359-67.
- [45] Z. Greenberg; M. Chorev; A. Muhrad; A. Shteyer; M. Namdar-Attar; N. Casap; A. Tartakovsky; M. Vidson; I. Bab. Structural and functional characterization of

osteogenic growth peptide from human serum - identity with rat and mouse homologs. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 80, n. 8, p. 2330-2335, 1995.

[46] G. M. Policastro; M. L. Becker. Osteogenic growth peptide and its use as a bio-conjugate in regenerative medicine applications. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomed Nanobiotechnol.*, v. 8, n. 3, p. 449–464, 2015.

[47] M. A. Brager; M. J. Patterson; J. F. Connolly; Z. Nevo. Osteogenic growth peptide normally stimulated by blood loss and marrow ablation has local and systemic effects on fracture healing in rats. *Journal of Orthopaedic Research*, v. 18, n. 1, p. 133-139, 2000.

[48] O. Gurevitch; S. Slavin; A. Muhrad; A. Shteyer; D. Gazit; M. Chorev.; M. Vidson.; M. Namdar-Attar; E. Berger; I. Bleiber; I. Bab. Osteogenic growth peptide increases blood and bone marrow cellularity and enhances engraftment of bone marrow transplants in mice. *Blood*, v. 88, p. 4719-4724, 1996.

[49] S. Panseri; L. Russo; M. Montesi; F. Taraballi; C. Cunha; M. Maracci; L. Cipolla. Bioactivity of surface tethered Osteogenic Growth Peptide motifs. *RS Chem.*, v. 5, p. 899-903, 2014.

[50] F. R. Maia; M. Barbosa; D. B. Gomes; N. Vale; P. Gomes; P. L. Granja; C. C. Barrias. Hydrogel depots for local co-delivery of osteoinductive peptides and mesenchymal stem cells. *J Control Rel.*, n. 189, v. 158–168, 2014.

[51] S. C. Pigossi; G. J. P. L. Oliveira; L. S. Finoti; R. Nepomuce; L. C. Spolidorio; C. Rossa-JR; S. J. L. Ribeiro; S. Saska; Scarel-Carminaga. R.M.Bacterial cellulose-hydroxyapatite composites with osteogenic growth peptide (OGP) or pentapeptide OGP on bone regeneration in critical-size calvarial defect model. *Soc Biomater.*, p. 3397-3406, 2015..

[52] Y. Q. Sun; D. E. Ashhurst. Osteogenic Growth Peptide Enhances the rate of fracturehealing in rabbits. *Cell Biol. Int.*, v. 22, n. 4, p. 313-319, 1998.

[53] L. M. Silva. Preparo e Caracterizações Físicas do Compósito Bioativo PVDF-HAp com Potencial de Implante Ósseo. Maringa, 2015.

- [54] B. A. Dedavid; C. I. Gomes; G. Machado. Microscopia de Eletrônica de Varredura: Materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. EDIPUCRS. Porto Alegre, 2007.
- [55] H. Kahn. Difração de Raios X, São Paulo, 2002, 18 p. Apostila do Curso de Difração de Raios X - Método do pó - Escola politécnica da USP.
- [56] G. Lawes. Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis. London. John Wiley & Sons 1987.
- [57] F. Holler; D. A. Skoog, S. R. Crouch. Princípios de Análise Instrumental - Tradução Célio Pasquini [coordenação]; Jarbas José Rodrigues Rohwedder et al. 6ª ed. – Porto Alegre: Bookman, 2009.
- [58] R. M. Silverstein; F. X. Webster; D. J. Kiemle. Espectrometric Identification of Organic Compounds in United States: John Wiley & Sons, 2005.
- [59] Thermo Nicolet Corporation © Disponível em <http://mmrc.caltech.edu/FTIR/FTIRintro.pdf> [Consultado em Janeiro de 2019]
- [60] M. Iosanoshiro; I. Giolito. Nomenclatura, Padrões e Apresentação dos Resultados em Análise Térmica. **Cerâmica**, São Paulo, v. 26, n. 17, p. 65-74, ago. 1980.
- [61] Yee-Shuan Lee; G. Collins, T. L. Arinzeh. Neurite extension of primary neurons on electrospun piezoelectric scaffolds. *Acta Biomaterialia*. 7 (2011) 3877–3886.
- [62] A. Spreafico; B. Frediani; C. Capperucci; A. Leonini; D. Gambera; P. Ferrata; S. Rosini; A. Di Stefano; M. Galeazzi; R. Marcolongo. Osteogenic Growth Peptide Effects on Primary Human Osteoblast Cultures: Potencial Relevance for the Treatment of Glucocorticoid—nduced Osteoporosis. *Journal of Cellular Biochemistry* 98:1007-1020 (2006).
- [63] M. R. Abramoff; P. J. Magalhães; S. J. Ram. “Image Processing with ImageJ”, *Biophotonics Int.*, vol. 11, p. 36–42, 2004.
- [64] R. H. Upadhyay; A. P. Argekar; R. R. Deshmukh. Characterization, dielectric and electrical behavior of BaTiO<sub>3</sub> nanoparticles prepared via titanium (IV) triethanolaminate

isopropoxide and hydrated barium hydroxide. *Bull Mater. Sci.*, Vol. 37, No. 3. May 2014, pp. 481-489.

[65] T. Siponkoski; M. Nelo; J. Peräntie; J. Juuti; H. Jantunen. BaTiO<sub>3</sub>-P(VDF-TrFE) composite ink properties for printed decoupling capacitors. *Composites: Part B* 70 (2015) 201–205.

[66] Y. Jiang; L. Gong; X. Hu; Y. Zhao; H. Chen; L. Feng; D. Zhang. Aligned P(VDF-TrFE) Nanofibers for Enhanced Piezoelectric Directional Strain Sensing. *Polymers*. 25 March 2018.

[67] C. M. Costa; M. N. Tamanõ Machiavello; J. L. Gomez Ribelles; S. Lanceros-Méndez. Composition-dependent physical properties of poly[(vinylidene fluoride)-co-trifluoroethylene]-poly(ethylene oxide) blends. *J Mater Sci* (2013) 48:3494–3504.

[68] G. Botelho; S. Lanceros-Mendez; A.M. Gonçalves; V. Sencadas; J.G. Rocha. Relationship between processing conditions, defects and thermal degradation of poly(vinylidene fluoride) in the b-phase. *Journal of Non-Crystalline Solids* 354 (2008) 72–78.

[69] V. Sencadas; S. Lanceros-Méndez; J. F. Mano. Thermal characterization of a vinylidene fluoride-trifluoroethylene (75–25) (%mol) copolymer film. *Journal of Non-Crystalline Solids* 352 (2006) 5376–5381

[70] S. D. Vacche; Fabiane, Oliveira; Y. Leterrier; V. Michaud; D. Damjanovic ; Jan-Anders E. Månson. The effect of processing conditions on the morphology, thermomechanical, dielectric, and piezoelectric properties of P(VDF-TrFE)/BaTiO<sub>3</sub> composites. *J Mater Sci* (2012) 47:4763–4774.

[71] V. D. Araújo; F. V. Motta ; A. P. A. Marques; C. A. Paskocimas; M. R. D. Bomio; E. Longo; J. A. Varela. Effect of calcium on the structural properties of Ba(12x)Ca<sub>x</sub>TiO<sub>3</sub> particles synthesized by complex polymerization method. *J Mater Sci* (2014) 49:2875–2878.

[72] S. Khalameida; V. Sydoruk; J. Skubiszewska-Zieba; R. Leboda; V. Zazhigalov. Synthesis, thermoanalytical, and spectroscopical studies of dispersed barium titanate. *Therm Anal Calorim* (2010) 101:779–784.

[73] N. Meng, R. Mao, W. Tu, X. Zhu, R. M. Wilson, E. Bilotti, M. J. Reece. Processing and characterization of free standing highly oriented ferroelectric polymer films with remarkably low coercive field and high remnant polarization. *Polymer* 100 (2012) 69-76.

[74] M. Baniasadi, Zhe Xu, S. Moreno, S. Daryadel, J. Cai, M. Naraghi, M. Minary-Jolandan. Effect of thermomechanical post-processing on chain orientation and crystallinity of electrospun P(VDF-TrFE) nanofibers. *Polymer* 118 (2017) 223 e 235.

[75] M. C. F. Costa. Grafeno e seus derivados: estudo das propriedades de superfície e processos de transferência para substratos poliméricos. Dissertação (Engenharia de Materiais) - Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, 2017.

[76] H. J. Tseng; W. C. Tian; W. J. Wu. P(VDF-TrFE) Polymer-Based Thin Films Deposited on Stainless Steel Substrates Treated Using Water Dissociation for Flexible Tactile Sensor Development. *Sensors*, vol. 13, p. 14777-14796, 2013.