

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

CAMILA LEITES REGINATTO

**IMPRESSÃO 3D DE PROTÓTIPOS POLIMÉRICOS BIODEGRADÁVEIS E COM
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Porto Alegre

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

CAMILA LEITES REGINATTO

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto à atividade de ensino “Projeto Tecnológico” do Curso de Química Industrial, como requisito parcial para a obtenção do grau de Química Industrial.

Profa. Dra. Rosane Michele Duarte Soares

Orientadora

Porto Alegre

2021

“Dedico este trabalho aos meus pais, irmã e avós”

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, André e Cristiane por terem me auxiliado e me apoiado na caminhada dos meus estudos possibilitando a realização do meu sonho. Obrigada por serem pais tão dedicados que nunca deixaram me faltar nada, vocês são exemplos do que quero ser.

À minha orientadora professora Dr^a. Rosane Michele Duarte Soares pela confiança depositada em mim para desenvolver este projeto, obrigada por ter me aceitado como bolsista de iniciação científica e por aceitar me orientar no desenvolvimento deste trabalho. Por estar sempre disposta a conversar e tirar minhas dúvidas, pelos conselhos e orientação.

À Joice Scheibel por ter me apresentado a impressão 3D e me auxiliado na caminhada no mundo dos biomateriais, pela ajuda para extrusão dos filamentos utilizados nesse trabalho, pela amizade e por contribuir com seu conhecimento e ajuda sempre que solicitada, às vezes, mesmo estando do outro lado do mundo.

À Marianne Schaeffer, Cláudio Backes e Flávia Sonaglio pelas horas de companhia em laboratório, pelos ensinamentos compartilhados, cafés, pelas discussões científicas, as risadas, as músicas cantadas, mas acima de tudo pela amizade.

Ao Guilherme Belmonte por todo auxílio para estabelecer os parâmetros de impressão 3D do PBAT e ao Felipe Menezes pela ajuda na execução da análise e tratamento de dados de termogravimetria.

A professora Dr^a. Roberta Bussamara pela realização dos testes antimicrobianos e pelas contribuições para este trabalho.

Ao Matheus Camargo pela realização dos testes antimicrobianos e pelas contribuições para este trabalho.

A todos que, de alguma forma, me ajudaram para eu chegar até aqui.

"Um cientista no seu laboratório não é apenas um técnico: é também, uma criança colocada à frente de fenômenos naturais que impressionam como se fossem um conto de fadas." Marie Curie.

RESUMO

O avanço tecnológico atrelado às consequências ambientais, vem conduzindo ao aprofundamento e investigação na área de novos materiais sustentáveis e/ou biodegradáveis. Os polímeros biodegradáveis emergem como uma excelente alternativa, pois além de serem decompostos ao longo do tempo, podem ser aplicados em diversos segmentos, incluindo a área da saúde. Atualmente, o emprego de protótipos poliméricos fabricados por impressão 3D, com ou sem a adição de fármacos, representa uma inovação na regeneração e/ou suporte de tecidos biológicos. No entanto, esta é uma estratégia desafiadora, pois é necessário o conhecimento de condições específicas de processamento do polímero e seu comportamento na interface biomaterial e tecido biológico. Este projeto propõe desenvolver um arcabouço de polibutileno adipato co-tereftalado (PBAT) e incorporar a sua composição, um fármaco com atividade antimicrobiana, sulfato de gentamicina, em diferentes concentrações: 0,5; 2,0; 5,0% (m/m). Os arcabouços foram produzidos por prototipagem 3D através do processo de modelagem por fusão e deposição, através, do qual, um filamento termoplástico é aquecido por uma matriz de extrusão até sua fusão. Em seguida, o material é depositado em uma bandeja que dá forma ao objeto desejado. A temperatura utilizada para impressão foi de 150°C no bico de extrusão e 30°C na mesa coletora. A velocidade de impressão foi de 80% da capacidade total da máquina. Os protótipos foram analisados por técnicas de caracterização como MEV, TGA, FTIR-ATR, WCA e ensaios microbiológicos quantitativos e qualitativos. A análise microscópica revelou que a adição de gentamicina possivelmente alterou o tamanho dos poros dos protótipos. A análise térmica (TGA) mostrou que a adição de gentamicina alterou a estabilidade térmica do material, quando comparada ao polímero puro, sem adição do fármaco. Apesar de não ser possível detectar a adição de gentamicina por FTIR-ATR pode-se verificar que a mesma está presente no material através da mudança da molhabilidade da superfície por WCA. Além disso, os ensaios microbiológicos revelaram que mesmo após 4 meses de armazenamento, os protótipos mantiveram sua capacidade de inibição do crescimento bacteriano. Com isto, pode-se concluir que a produção de protótipos de PBAT com adição de gentamicina por impressão 3D voltado para a regeneração de tecidos, possui potencial para ser implementado como opção de tratamento em saúde.

Palavras-chave: Impressão 3D, Sulfato de gentamicina, biopolímero, PBAT.

ABSTRACT

With the science and society advancement, it was necessary to invest and research for sustainable and biodegradable polymers. Biodegradable polymers are an excellent alternative, they can decompose and have applications in the medical field. The use of polymeric scaffolds by 3D printing with the addition of drugs to their composition can be used for tissue regeneration. The objective of this work is to develop a co-terephthalated polybutylene adipate (PBAT) scaffold with the addition of different concentrations of gentamicin sulfate, 0.5; 2.0; 5.0% (w/w). The scaffolds were produced by 3D printing t by a fusion and deposition process, through which a thermoplastic filament is heated by an extrusion die to melt and be deposited in a tray forming the desired object. The printing temperature was 150 ° C at the extrusion nozzle and 30 ° C at the collecting table. The printing speed was 80% of the machine's total capacity. The prototypes were analyzed by characterization techniques such as SEM, TGA, FTIR-ATR, WCA and quantitative and qualitative microbiological tests. Through SEM it can be verified that the addition of gentamicin to the polymer was able to modify the pore size of the prototype. In TGA the increase in the degradation temperature of the PBAT was observed. It is not possible to detect the addition of gentamicin by FTIR-ATR, but it can be verified that it is present in the material by changing the surface wettability by WCA. In the microbiological tests, the results were favorable, showing that the scaffold has a great capacity to inhibit bacterial growth. In conclusion, the production of PBAT prototypes with the addition of gentamicin by 3D printing for tissue regeneration, can be implemented as a treatment option in the future.

Keywords: 3D printing, gentamicin sulfate, biopolymer, PBAT.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Estrutura química do PBAT por Kashi et al,2016. [16]..... | 3 |
| Figura 2. Estrutura química da Gentamicina.[21]..... | 4 |
| Figura 3. Estrutura do arcabouço em CAD vista isométrica escala (10:1). | 6 |
| Figura 4. Desenho técnico representativo das vistas do arcabouço polimérico, escala (10:1)..... | 7 |
| Figura 5. Representação do dimensionamento dos poros do arcabouço polimérico. | 8 |
| Figura 6. Diagrama esquemático do processo de extrusão e deposição FDM baseado no modelo apresentado por Zein et al.; 2002. [20] | 9 |
| Figura 7. Número de citações entre os anos de 2010 e 2021, empregando as palavras-chave: 3D printing e Tissue Engineering (a) e apenas (b) 3D printing | 11 |
| Figura 8. Número de citações entre os anos de 2010 e 2021, empregando as palavras-chave: <i>3D Printing and PBAT</i> | 11 |
| Figura 9. Aplicação dos arcabouços. | 14 |
| Figura 10. Filamentos obtidos após a extrusão. | 15 |
| Figura 11. Impressora Cliever CL1. | 16 |
| Figura 12. Scaffold produzido. | 17 |
| Figura 13. Ângulo de contato entre gota e superfície por Yuehua Yuan e T.Randall Lee. [16]..... | 19 |
| Figura 14. Fotomicrografias dos arcabouços de de PBAT puro (0% gentamicina) e PBAT/gentamicina nas concentrações 0,5; 2,0 e 5,0% de gentamicina (m/m). | 23 |
| Figura 15. Termograma dos filamentos de PBAT puro e PBAT com concentrações 0,5; 2,0 e 5,0% (m/m) de gentamicina. | 24 |
| Figura 16. Curvas de derivada termogravimétrica (DTG) para as amostras de PBAT puro 0,0% (a) e PBAT com (b) 0,5 %, (c) 2,0 % e (d) 5,0% de gentamicina (m/m). | 25 |
| Figura 17. Ângulo de contato em água (WCA) para as amostras de PBAT com adição de gentamicina 0,5; 2,0 e 5,0% (m/m). | 26 |
| Figura 18. Análise de ângulo de contato, PBAT puro e PBAT com concentrações de gentamicina 0,5; 2,0 e 5,0% (m/m). | 27 |
| Figura 19. Espectro de FTIR para o sulfato de gentamicina e os arcabouços poliméricos processados por impressão 3D de PBAT e PBAT com 0,5; 2,0 e 5,0% gentamicina (m/m). | 28 |
| Figura 20. Placas contendo <i>E-coli</i> e os arcabouços produzidos..... | 29 |
| Figura 21. Porcentagem de turvação do meio em relação ao Controle Positivo para as amostras de arcabouço contendo 0,0; 0,5; 2,0 e 5,0% de gentamicina (m/m). | 30 |
| Figura 22. Placas contendo <i>E-coli</i> e os arcabouços produzidos..... | 31 |
| Figura 23. Porcentagem de turvação do meio em relação ao Controle Positivo após 4 meses de produção dos filamentos. | 32 |
| Figura 24. Bioimpressora 3D capaz de extrusar pellets e pó. | 33 |

LISTA DE ABREVIATURAS

PBAT – Poli(butileno adipato co-tereftalato)

CAD- Projeto e desenho assistidos por computador

G-code -(Código G)

FDM- Modo de extrusão fusão por deposição

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

FTIR-ATR – Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier no Modo Refletância Total Atenuada

WCA – Ângulo de contato com água

TGA- Análise Termogravimétrica

cm- Centímetro

μm - Micrômetro

mm- Milímetro

g- Gramas

kg- Quilograma

3D- Tridimensional

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. ESTADO DA ARTE | 2 |
| 2.1. Poli(Butileno adipato-co-tereftalato) (PBAT) | 2 |
| 2.2. Sulfato de Gentamicina | 4 |
| 2.3. Engenharia de Tecidos | 5 |
| 2.4. Impressão 3D | 8 |
| 3. SITUAÇÃO ATUAL | 10 |
| 4. OBJETIVO GERAL | 12 |
| 4.1 Objetivos específicos | 12 |
| 5. PROPOSTA TECNOLÓGICA | 12 |
| 6. METODOLOGIA | 15 |
| 6.1 Produção dos Filamentos | 15 |
| 6.2 Impressão dos arcabouços poliméricos | 15 |
| 5.2.1. Parâmetros de impressão | 16 |
| 5.4.2. Informações de impressão | 17 |
| 6.3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO | 17 |
| 6.3.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) | 18 |
| 6.3.2. Análise Termogravimétrica (TGA) | 18 |
| 6.3.3. Ângulo de Contato em Água (WCA) | 18 |
| 6.3.4. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier modo Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR) | 19 |
| 6.3.5. Análise qualitativa por ensaio de halos de inibição em placas de petri (antibiograma) | 20 |
| 6.3.6. Análise Quantitativa por inibição de crescimento bacteriano em meio líquido (microdiluição em caldo) | 20 |
| 6.3.6.1. Primeiro método | 20 |
| 6.3.6.2. Segundo método | 21 |
| 7. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 22 |
| 7.1 MEV | 22 |
| 7.2 TGA (Análise Termogravimétrica) | 23 |

| | |
|--|-----------|
| 7.3 WCA (Ângulo de contato em água) | 25 |
| 7.4 FTIR (Infravermelho com transformada de Fourier) | 27 |
| 7.5 Análise Antimicrobiana | 29 |
| 8. ANÁLISE DE CUSTOS PARA PRODUÇÃO INDUSTRIAL | 33 |
| 9. CONCLUSÕES..... | 35 |
| 10. REFERÊNCIAS | 36 |

1. INTRODUÇÃO

O conceito “biomaterial polimérico” representa uma ampla faixa de produtos, de origem natural ou sintética, com potencial de aplicação em diversos setores, dentre estes a área médica. Em medicina regenerativa, os biomateriais podem ser elaborados na forma de matrizes poliméricas (filmes), suportes (próteses), hidrogéis, *stents* coronarianos, etc. No entanto, todos irão atuar para promover a recuperação e regeneração de tecidos lesionados. [1][2]

Os biopolímeros podem ser originários de fontes renováveis, assim conhecidas por ter um ciclo de vida consideravelmente menor em comparação às fontes fósseis; e naturais, como o milho, celulose, batata, cana-de-açúcar. Porém, a denominação biopolímero também pode ser empregada para polímeros originários de fontes fósseis, oriundos do petróleo ou até mesmo de misturas do petróleo com outras fontes de biomassa. Dentre os mais conhecidos, obtidos de fontes fósseis estão as policaprolactonas, poliesteramidas, copoliésteres alifáticos e copoliésteres aromáticos.[3] Vale ainda citar, dentro desta classe, o poli(butileno adipato-*co*-tereftalato) - PBAT, polímero sintético e biodegradável, constituído por unidades de um monômero alifático e um monômero com presença de um grupo aromático.[4]

O emprego de biopolímeros na elaboração de biomateriais, aplicados à regeneração de tecido ósseo é uma alternativa interessante aos tradicionais enxertos, uma vez que não provocam danos ao tecido saudável e reduzem as chances de contaminações bacterianas. [5] As características do biomaterial dependem de seu destino final, porém é possível destacar um conjunto de propriedades frequentemente analisadas para que o emprego do produto seja viável e economicamente atraente.

Dentre os requisitos de interesse, pode-se levar em consideração alguns destes fatores, ou sua totalidade, dependendo do local do corpo a ser implantado: biocompatibilidade, hematocompatibilidade (dependendo da aplicação), citotoxicidade (capacidade do material em ser atóxico frente as células humanas), estímulos de adesão e proliferação celular, propriedades físicas como a morfologia da superfície do material, rugosidade, porosidade, permeabilidade, molhabilidade e, por fim, as propriedades mecânicas. As propriedades químicas do material tais como a densidade, estabilidade química, resistência à esterilização e à degradação também precisam ser cuidadosamente avaliados. [2]

Biomateriais aplicados como suporte mecânico, por exemplo, os arcabouços poliméricos, podem atuar estimulando o crescimento de células no local de aplicação. Isso irá ocorrer, pois sua estrutura geralmente é projetada para mimetizar a estrutura tridimensional do meio o qual será inserido. Consequentemente, sua morfologia acaba colaborando para a proliferação tecidual. Outra vantagem deste tipo de biomaterial é a possibilidade que o mesmo atue como veículo de entrega de fármacos no organismo. Assim, poderá combater por exemplo, possíveis infecções ocasionadas por contaminação bacteriana no tecido lesionado.[5]

Uma das formas mais eficientes de construção de biomateriais poliméricos é através da prototipagem rápida, por processo de impressão 3D. Por ser uma técnica rápida e inovadora, permite a criação de diferentes arquiteturas para o biomaterial, ao mesmo tempo em que auxilia na adequação do suporte ao local de aplicação [6]

2. ESTADO DA ARTE

2.1. Poli(Butileno adipato-co-tereftalato) (PBAT)

O PBAT (Fig. 1), poli(butileno adipato-*co*-tereftalato) é um polímero sintético biodegradável, constituído por copoliéster alifático-aromático de cadeia linear e flexível, obtido através da polimerização em etapas do poli(butileno adipato) e poli(butileno tereftalato) [7]. O monômero alifático com sua cadeia linear é responsável por fornecer propriedades de flexibilidade além de influenciar na boa degradabilidade do material, já o monômero aromático representa a boa estabilidade térmica e propriedades mecânicas do material.[4] Comercialmente conhecido como Ecoflex®, o PBAT é comercializado desde a década 90 pela empresa alemã BASF. Pode ser processado como os plásticos convencionais devido a suas propriedades físico-químicas, térmicas e mecânicas sendo utilizado em extrusão de filmes, chapas, monofilamentos, sopro, termoformação a vácuo, injeção e colaminação com papel. [4] Este polímero é totalmente livre de metais pesados, não apresenta toxicidade, em cumprimento com a Food and Drug Administration (FDA), além de ser totalmente biodegradável gerando apenas água, dióxido de Carbono e

biomassa no final do seu rápido processo de decomposição, em comparação com polímeros como o PET, que é favorecido pela sua estrutura linear e presença de heteroátomos e carbonilas. [8], [9]

A degradação do PBAT em solo pode ocorrer por ação de microrganismos, como bactérias e fungos, que secretam enzimas capazes de promover a lise o polímero enquanto se desenvolvem na superfície do material. Além disso, há maior tendência de ocorrer a degradação no monômero alifático. Em filmes de de PBAT a degradação por microrganismos ocorre em 45 dias, e tende a ocorrer por reações de hidrólise das ligações éster na presença de água, além disso, a hidrólise também pode ocorrer em temperaturas entre 150°C e 200°C. [10]

Por ser biodegradável, atóxico e livre de metais pesados, o PBAT apresenta potencial para ser empregado na área da saúde, por exemplo. Porém, como o PBAT processado possui uma superfície hidrofóbica, acaba atuando como um material inerte, sem interação com o ambiente biológico. Por esta razão, dependendo da aplicação e interesse na área da saúde, pode ser útil realizar uma modificação superficial do polímero, a fim de conferir maior hidrofiliabilidade ao material. [11], [12]. Dentre as formas de modificar a superfície, pode-se utilizar a radiação UV fotoinduzida, feixe iônico e utilização de nanopartículas,[13][14] ou ainda, a adição de um componente capaz de modificar a interação da superfície com o meio hidrofílico, como no caso da adição da adição do fármaco nisina ao PBAT observado por Zehetmeyer[15], modificação capaz de alterar a hidrofiliabilidade da superfície do polímero.

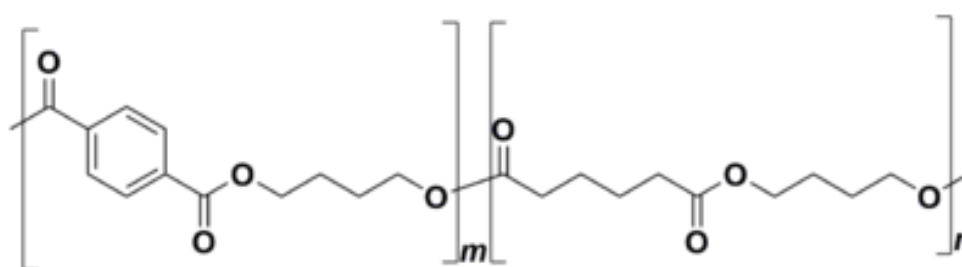


Figura 1. Estrutura química do PBAT por Kashi et al,2016. [16]

O PBAT por ser um termoplástico pode ser utilizado como material de extrusão para a técnica de impressão 3D (fusão por deposição), visando a produção de uma estrutura tridimensional que auxilie na regeneração celular. Estudos realizados por Carrow et al.[17] demonstram que arcabouços (suportes tridimensionais) de blendas de PBAT possuem potencial aplicação para a regeneração de tecidos osseos.

2.2.Sulfato de Gentamicina

Descrita inicialmente em 1963 por Weinstein e colaboradores a gentamicina é um produto da fermentação do actinomiceto *Micromonospora echinospora*. [18] A gentamicina é um aminoglicosídeo, sendo um antibiótico capaz de inibir o crescimento bacteriano abrangendo um largo espectro, ou seja, é capaz de combater bactérias gram-negativas e gram-positivas. Seu mecanismo de ação envolve sua ligação ao RNA bacteriano, esta ligação pode levar ao bloqueio da síntese proteica ou gerar proteínas não funcionais, levando a bactéria a morte. [18]

Sua indicação é realizada para vários tipos de tratamentos como: tratamento de infecções ósseas, endocardite, doença inflamatória pélvica, meningite, pneumonia, infecção do trato urinário e sepse. [19],[11] Também pode ser empregada no tratamento de pacientes imunodeprimidos infectados com bactérias oportunistas, além de poder ser utilizada no combate de algumas células cancerígenas e para o tratamento de algumas doenças hereditárias como as associadas com a parada da leitura prematura do ribossomo. [18]

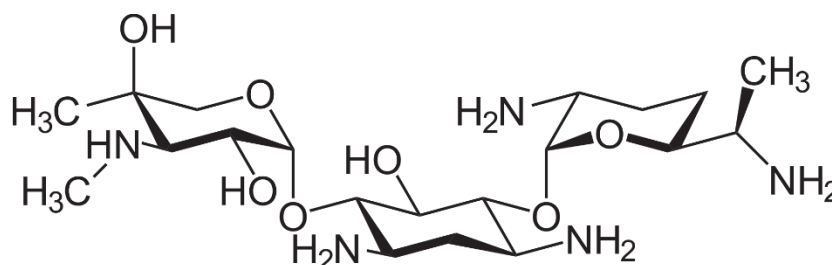


Figura 2. Estrutura química da Gentamicina.[21]

A gentamicina é estável em temperatura ambiente e em uma faixa de pH entre 6 e 8. É considerada um produto insolúvel em água (50 mg/mL), além de ser praticamente insolúvel em álcool e demais solventes orgânicos. Sua fusão pode ocorrer entre o intervalo de temperaturas 218 a 237 °C. [22][23]

Estudos realizados por *Oliveira et al.* [24] indicam que sua aplicação ocorre de forma mais eficiente em meio aeróbio e em pH alcalino, devido a necessidade de oxigênio para o transporte ativo nas células microbianas.[22]

A incorporação de sulfato de gentamicina a um material polimérico, constituindo um sistema de liberação de fármaco, foi estudada por Gemeinder [20]. Onde se avaliou a

liberação do fármaco por meio do material polimérico, para o tratamento de infecções graves, como um possível biomaterial. No estudo realizado por Scheibel [22] foi avaliado o potencial de biomaterial de curativos produzidos com PBAT e incorporados com sulfato de gentamicina, voltados para o tratamento de tecidos lesionados.

2.3. Engenharia de Tecidos

O conceito de Engenharia de Tecido surgiu nos Estados Unidos por volta de 1980 com o objetivo de mitigar com a escassez de doadores de para transplantes de órgãos. [25]

Trata-se de uma ciência multidisciplinar voltada para o desenvolvimento de biomateriais, com bioatividade, focados em estratégias para substituir ou reparar tecidos e/ou órgãos do corpo humano, utilizando conhecimentos de química, física, biologia e engenharias. [12] Essa área vem ganhando destaque na área médica por diversos fatores, dos quais pode-se destacar: o envelhecimento da população mundial, aumento da expectativa de vida, aumento do poder aquisitivo e padrão de vida em países em desenvolvimento, melhorias tecnológicas facilitando o tratamento de enfermidades.[13]

Uma das atuações dentro desta ciência é o desenvolvimento de arcabouços ou suportes que auxiliam na proliferação, diferenciação e migração celular, mimetizando a matriz extracelular de forma a promover a regeneração do tecido lesionado. [14]

Estes suportes/arcabouços podem ser produzidos a partir de cerâmicas, metais, biovidro ou polímeros, naturais ou sintéticos. A etapa de escolha do material que irá compor a estrutura do suporte possui grande importância, pois suas propriedades físicas devem estar adequadas ao ambiente de sua inserção. Neste trabalho, o protótipo produzido para servir como suporte polimérico será empregado para regeneração de tecido ósseo. Neste sentido, o material precisa ser avaliado cuidadosamente, quanto aos seguintes parâmetros: biocompatibilidade, porosidade, propriedades químicas e resistência mecânica compatível com os tecidos em seu ambiente, sendo capaz de suportar tensões *in vivo*. [27],[28]

Com o aumento da expectativa de vida, acabam surgindo doenças ósseas, normalmente relacionadas a sobrecarga da estrutura física.[29] Portanto, a manutenção da qualidade de vida necessita de novas tecnologias que sejam capazes de atender a população de forma rápida, eficiente e barata de forma a minimizar a necessidade de procedimentos cirúrgicos de alta complexidade, como a necessidade de autotransplantes,

que embora reduzam a taxa de rejeição do organismo necessitam que seja retirada uma parte de um tecido saudável do paciente para implantar em área lesionada. De forma a facilitar o procedimento, a utilização de biomateriais voltados para a medicina regenerativa pode ser uma opção viável, pois o biomaterial é projetado especificamente para o meio em que está inserido. Além disso, não deve ser citotóxico e, dependendo da área a ser aplicado, não necessita de substituição ou remoção; o que reduz consideravelmente os riscos de rejeição ao material implantado. [5]

O corpo humano possui 206 ossos. O tecido ósseo é dinâmico e possui vascularização, também apresenta capacidade de renovação e diversas funções, como locomoção, proteção de órgãos, sustentação do corpo e articulações, além de atuar como um importante reservatório de cálcio e fosfato. [30]

Os arcabouços voltados para a aplicação em regeneração de tecidos ósseos devem permitir a proliferação e adesão celular além de se integrarem ao tecido hospedeiro. Para isso, é interessante que os poros (abertura entre as camadas de filamento polimérico) pelos quais as células irão crescer e se multiplicar devem variar entre 20 e 1500 μm . [31][32][33]

Para este projeto, está sendo proposto um modelo de arcabouço, conforme a figura 3. As dimensões são: 0,5 cm de altura e 1,5 cm (de largura e profundidade), a figura 4. apresenta as vistas frontal, superior e lateral do arcabouço, e suas devidas proporções. O espaçamento entre os poros da estrutura é de 0,1 cm por 0,1 cm, ou como demonstrado pela Figura 5. 1mm por 1mm.

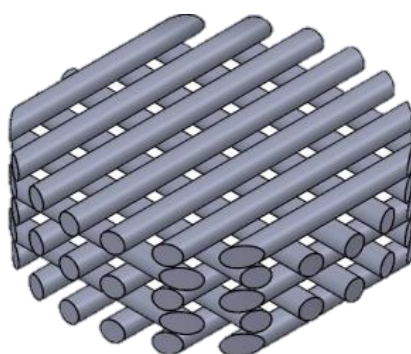


Figura 3. Estrutura do arcabouço em CAD vista isométrica escala (10:1).

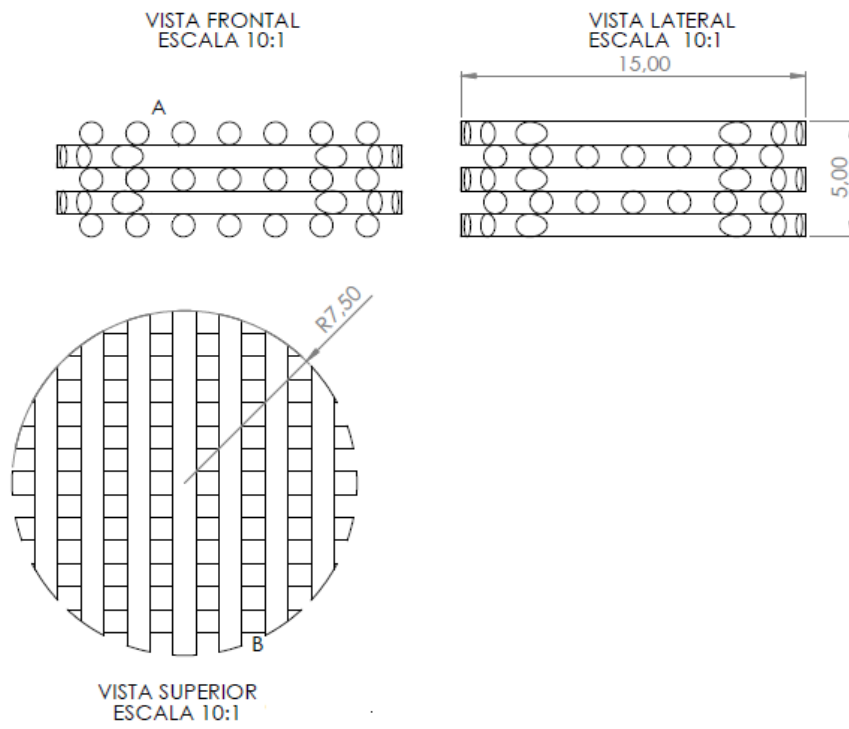


Figura 4. Desenho técnico representativo das vistas do arcabouço polimérico, escala (10:1).

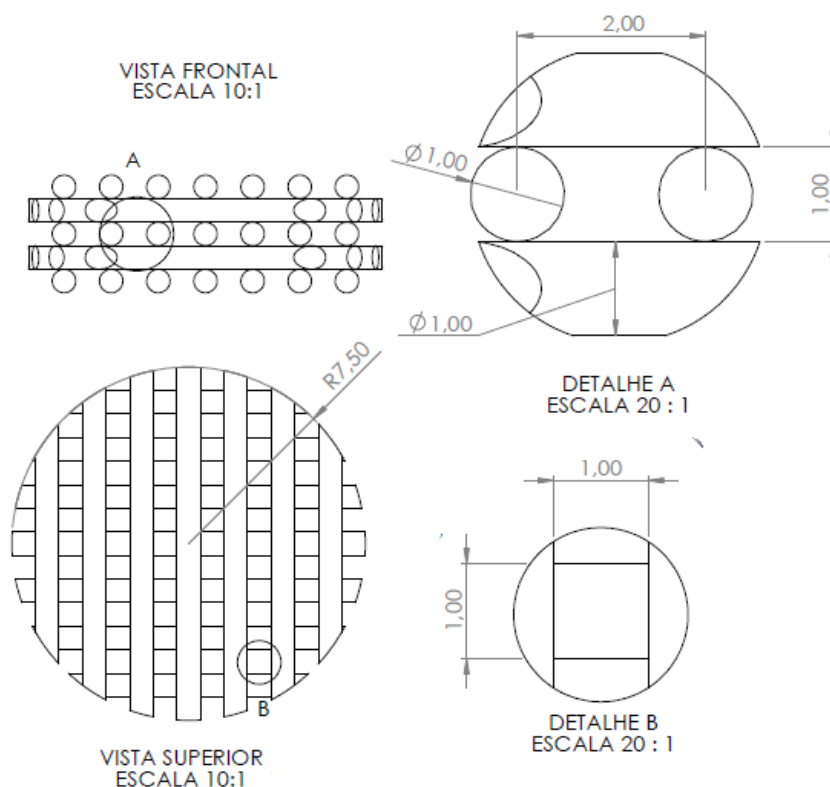


Figura 5. Representação do dimensionamento dos poros do arcabouço polimérico.

2.4. Impressão 3D

A obtenção dos arcabouços pode ser realizada através da da impressão 3D. As evoluções que vem ocorrendo nesta tecnologia tem atraído um interesse significativo de pesquisadores, pois além de agregar as propriedades de interesse é possível fabricar dispositivos em pequenos intervalos de tempo e com baixo custo. [17]

A impressão 3D pode ser considerada um dos elementos da quarta revolução industrial, surgida em 1984 e desenvolvida por Charles Hull, a chamada estereolitografia, consistia em um processo onde laminas de resinas poliméricas eram curadas por luz U.V e adicionadas sucessivamente, camada por camada, até formar um objeto tridimensional. O primeiro objeto a ser criado desta forma foi uma lâmpada a base de resina. [34]

Nos anos 90 surgiram aperfeiçoamentos de hardware e software que permitiram a impressão 3D chegar a novos espaços, como a área médica, onde próteses e órteses poderiam ser obtidas facilmente para auxiliar no tratamento de pacientes. Em 1998 Scott

Crump elaborou um método de impressão 3D que gerava modelos tridimensionais baseado em um processo de extrusão, chamado método de fusão por deposição (FDM). O método consiste em fundir um material termoplástico na cabeça da impressora que é depositado através de um bico de extrusão, camada por camada em uma bandeja receptora (podendo esta estar aquecida ou não), obtendo o modelo 3D proposto por programas de computador, como o CAD (desenho assistido por computador). O arquivo gerado no programa de sólidos deve ser convertido para o formato .stl (linguagem padrão de triângulos). Pois nesse formato as superfícies da peça são descritas por superfícies triangulares que possuem seus vértices descritos pelas coordenadas x,y e z ortogonais, que quando lidas pelo software da impressora são fatiadas sempre em relação paralela a um plano de referência e transformadas em linguagem G-code (código G) que instrui a impressora a imprimir linha a linha, superfície a superfície. Quanto maior o fatiamento realizado pelo programa operacional da impressora maior será a capacidade de precisão de impressão, obtendo um objeto mais similar ao modelado por computador e com menores imperfeições. [35]

Uma das vantagens da impressão FDM é que além de ser uma das técnicas de impressão 3D mais acessíveis e baratas, este método não requer a utilização de solventes para a produção do modelo tridimensional.[36]

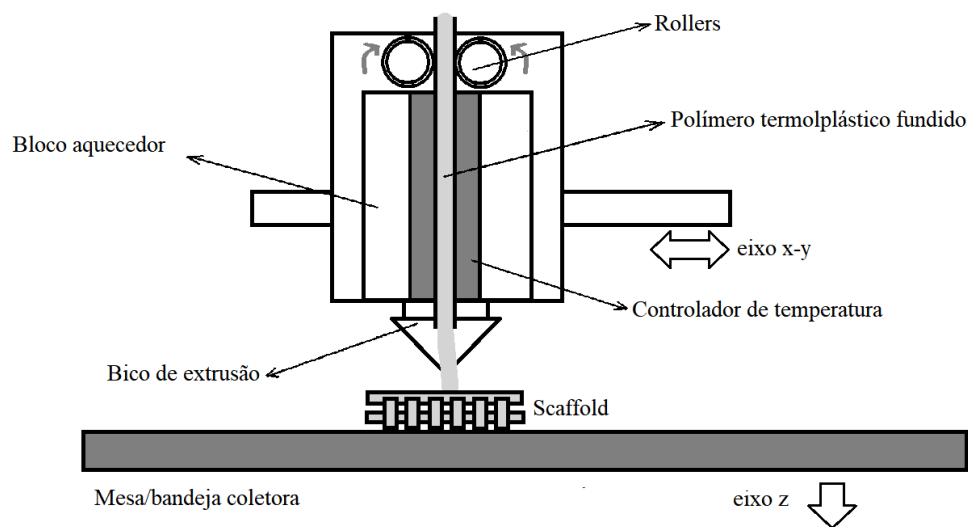


Figura 6. Diagrama esquemático do processo de extrusão e deposição FDM baseado no modelo apresentado por Zein et al.; 2002. [20]

O equipamento de impressão 3D FDM é constituído por duas unidades, uma das unidades é o cabeçote, onde ficam localizados o bloco aquecedor que irá fundir o material plástico e o bico de extrusão responsável por depositar o termoplástico fundido sobre a

mesa coletora, como demonstrado na figura 6. O cabeçote da impressora é responsável pelos movimentos nos eixos x e y do equipamento, sendo capaz de fazer o desenho das superfícies de cada camada que irão constituir o sólido. A outra unidade do equipamento é responsável pelos movimentos da mesa coletora que se move no eixo z, a função desta unidade é se movimentar conforme o material vai sendo depositado, se distanciando da altura do bico conforme cada camada é depositada, permitindo assim, que a nova camada seja depositada sobre a camada anterior. [38]

As peças 3D produzidas por esse método de impressão possuem certas características, uma delas é que se pode-se verificar a interface entre as camadas, podendo ser observada a olho nu, possuindo uma forma levemente arredondada devido a forma como o filamento sai pelo bico de extrusão, esse efeito aumenta a rugosidade da superfície externa do objeto impresso. [38]

Já a partir de 2010 a impressão 3D alcançou patamares mais elevados, podendo ser aplicada em larga escala, como na linha de produção de grandes empresas como General Motors e a Mercedes-Benz. Adicionalmente, a tecnologia passou a ser empregada para a obtenção de arcabouços para regeneração celular, obtenção de órgãos artificiais e funcionais e próteses. [39]

Portanto, por ser uma técnica altamente versátil, a impressão 3D permite a obtenção de objetos simples e aprimorados, pequenos e grandes, que vão desde um simples suporte polimérico, passando pelo desenvolvimento de órgãos artificiais e chegando até a “impressão” de uma casa. [40]

3. SITUAÇÃO ATUAL

A impressão 3D é uma técnica muito versátil, que pode ser aplicada em vários segmentos, tanto em pesquisa básica quanto aplicada. Na área acadêmica, tem sido cada vez mais proeminente o uso de impressão 3D com distintas aplicações em engenharia tecidual. Consultando a base de dados *Web of Science*, Figura. 7, podemos constatar que a utilização de impressão 3D na engenharia de tecidos está em processo de ascensão. Ao empregar as palavras-chave: *3D Printing and Tissue Engineering*, observa-se que nos últimos 11 anos, foram encontradas 3.106 publicações.

Ao realizar uma segunda busca apenas com a palavra-chave: *3D Printing*, foram encontradas 35.722 publicações. Dentre as áreas em destaque, aparece a Ciência dos Materiais, responsável por 20,79% das publicações.

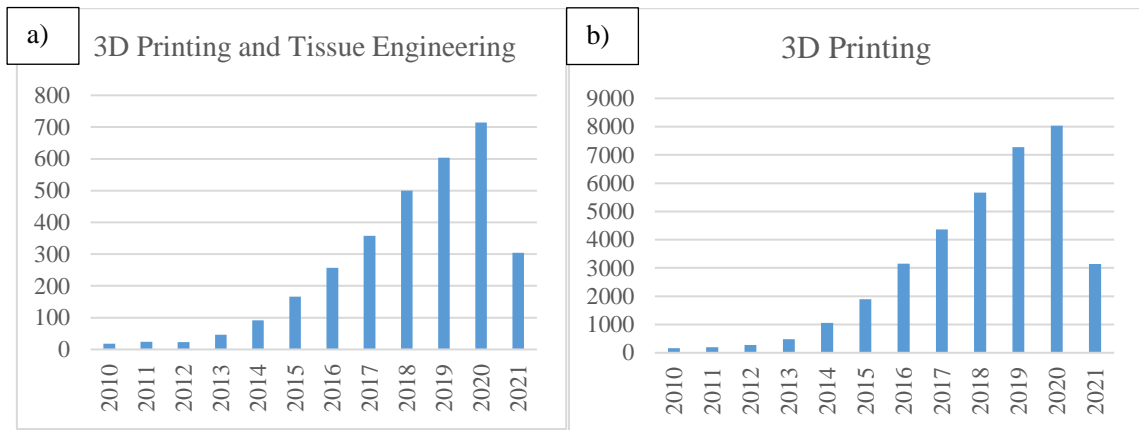


Figura 7. Número de citações entre os anos de 2010 e 2021, empregando as palavras-chave: 3D printing e Tissue Engineering (a) e apenas (b) 3D printing

Fonte: Web of Science acesso em 24/05/2021.

Ao realizar a busca empregando as palavras *3D Printing* e PBAT, na base de dados do *Web of Science* o número de citações e publicações no período de 2010 a 2021 é consideravelmente menor, contendo o total de 15 publicações sobre o tópico, o que pode revelar um assunto em iminente ascensão (Figura. 8).

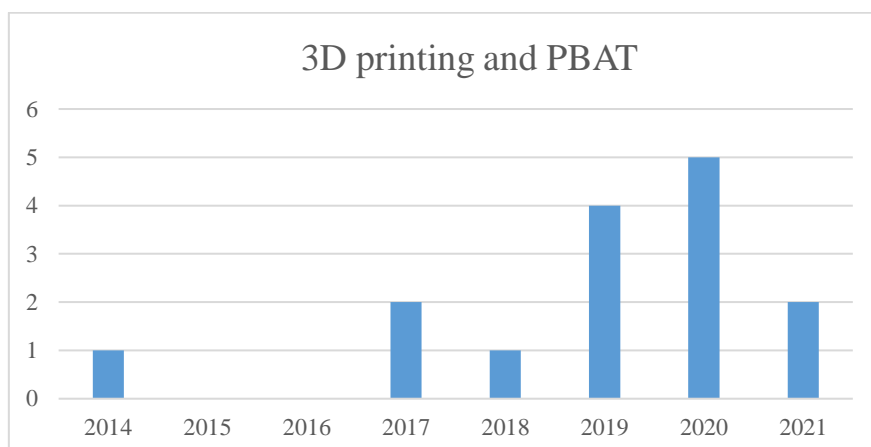


Figura 8. Número de citações entre os anos de 2010 e 2021, empregando as palavras-chave: *3D Printing and PBAT*.

Fonte: Web of Science acesso em 24/05/2021.

Também foram realizadas buscas empregando a palavra-chave *Gentamicin Sulfate*, porém, não foram encontradas referências para o tópico, o que pode indicar o pioneirismo deste projeto ao produzir um biomaterial composto pelo polímero PBAT e sulfato de gentamicina através da técnica de impressão 3D FDM.

4. OBJETIVO GERAL

Este projeto tem por objetivo a obtenção de arcabouços poliméricos por impressão 3D, constituídos por PBAT e com incorporação de fármaco com atividade antibacteriana.

4.1 Objetivos específicos

- Desenvolver filamentos poliméricos a partir do polímero sintético poli(butileno adipato-*co*-tereftalato) (PBAT) e o fármaco sulfato de gentamicina, empregando uma extrusora Haake;
- Obter arcabouços poliméricos a partir dos filamentos, empregando a técnica de impressão 3D;
- Realizar ensaios biológicos para avaliação qualitativa e quantitativa da atividade antimicrobiana;
- Realizar o estudo de custos para viabilizar a produção dos protótipos poliméricos por impressão 3D.

5. PROPOSTA TECNOLÓGICA

Uma das consequências do aumento da expectativa de vida da população mundial é a sobrecarga dada ao tecido ósseo. Os problemas ósseos podem se originar a partir de várias condições, como traumas, doenças ósseas, envelhecimento e tumores. Neste ínterim, algumas infecções podem ser difíceis de tratar, pois o processo de cura através de métodos tradicionais pode ser demorado e dolorido ao paciente.

Em se tratando de medicina convencional onde são utilizadas reconstruções cirúrgicas e substituições, apesar de serem técnicas consideradas eficazes, possuem limitações. Muitas vezes o processo cirúrgico ou o uso de próteses, por exemplo, pode gerar rejeição ou até mesmo não atender as funcionalidades biológicas do tecido que necessita ser regenerado. A engenharia de tecidos busca o emprego de diversos materiais que possam se adaptar ao corpo humano de forma a promover a regeneração de uma área lesionada ou a substituição completa através do uso de próteses. Neste sentido, o principal foco de um biomaterial é fazê-lo de forma a superar os limites que o tratamento convencional fornece, criando materiais que possam ser implantados no paciente, sem rejeição e com o crescimento celular necessário para a formação do novo tecido. Neste caminho, um fator a ser considerado é a química de superfície do material. Nesta interface ocorre a interação entre o arcabouço e meio biológico: o polímero funciona como um substrato para as células ao mesmo tempo que propicia meio para a adesão e proliferação celular.[41] Além da superfície, o biomaterial precisa ser biocompatível e possuir poros com dimensões que permitam o desenvolvimento do tecido. Portanto, precisa coexistir uma harmonia entre arquitetura, resistência mecânica e atividade química e biológica. [42]

O PBAT por ser um polímero biodegradável é capaz de se degradar rapidamente em relação a outros polímeros, sendo livre de metais pesados. Também vem demonstrando um alto potencial para a aplicação em engenharia de tecidos, pois se mostra atóxico frente ao crescimento celular. [12]

Dentre as técnicas de processamento, a impressão 3D apresenta-se como uma proposta viável, promissora e com e baixos custos de manutenção. Seu emprego através do método de FDM permite a fabricação de arcabouços poliméricos com adição de fármaco, tornando estes suportes uma alternativa funcional e inovadora frente às tecnologias tradicionais. Este projeto visa a produção de arcabouços poliméricos, os quais serão processados com a incorporação de um fármaco antibacteriano.

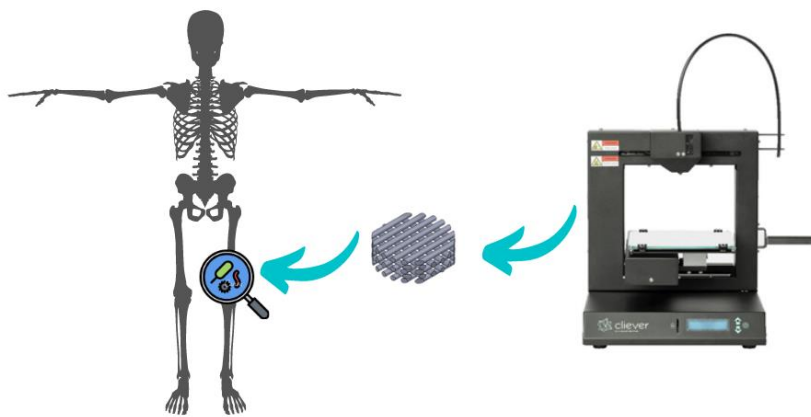


Figura 9. Aplicação dos arcabouços.

O arcabouço constituído por PBAT com adição de sulfato de gentamicina terá o propósito de servir como suporte ao mesmo tempo em que inibe a possibilidade de proliferação bacteriana no local lesionado. A proposta deste projeto é que o sistema arcabouço/fármaco seja integrado ao meio biológico e o fármaco seja liberado diretamente no local lesionado, combatendo possíveis infecções causadas por bactérias. Para o polímero em questão (PBAT), não foram encontrados indícios de toxicidade frente às células humanas, segundo Rodrigues *et al.*[11] que investigou a viabilidade de fibras de PBAT para crescimento celular. Portanto, existe a possibilidade que o material implantado seja parcialmente degradado até que sua remoção seja realizada. Neste período, o biomaterial deverá servir como suporte por tempo determinado, como exemplo de aplicação: placas cranianas com atividade antimicrobiana.

6. METODOLOGIA

6.1 Produção dos Filamentos:

A extrusão é o processo mais utilizado na fabricação de artigos poliméricos. É um processo que consiste na fusão e homogeneização de *pellets* de material polimérico a determinadas temperaturas. O material fundido é empurrado através de roscas mecânicas do equipamento, a carga viscosa é então forçada a passar através de um orifício da matriz e se solidificar em formato de filamento, ao entrar em contato com a água em temperatura ambiente. O filamento deve ser extraído da matriz de forma contínua a fim de se manter o diâmetro desejado para o mesmo. [43]

Foram utilizados pellets do polímero Ecoflex® juntamente com diferentes concentrações de sulfato de gentamicina: 0,5; 2,0 e 5,0% de gentamicina em uma relação à massa do polímero PBAT. Foram obtidas misturas sólidas que foram depositadas lentamente e de forma contínua em uma extrusora Haake dupla rosca aquecida previamente a 150°C em todas regiões da extrusora. O filamento foi extrusado e mergulhado em um tanque de água para resfriamento. Em seguida, foi removido manualmente e continuamente a fim de se obter um filamento de diâmetro homogêneo e adequado para a utilização em impressora 3D. O diâmetro do filamento foi averiguado com o auxílio de um paquímetro, para que fosse mantido em 1,75 mm.

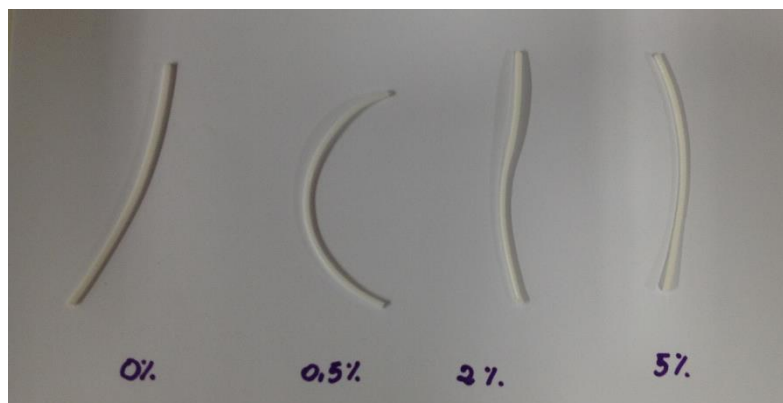


Figura 10. Filamentos obtidos após a extrusão.

6.2 Impressão dos arcabouços poliméricos

Para a obtenção dos arcabouços poliméricos foi utilizada uma impressora 3D da marca Cliever, modelo CL1 que está demonstrado pela figura 11. O modelo digital dos arcabouços foi elaborado utilizando o software SolidWorks, e a escolha dos mesmos foi baseada em modelos previamente descritos na literatura. A temperatura durante as impressões do material foi de 150°C no bico de extrusão e 30°C na mesa coletora. A velocidade não ultrapassou 80% da capacidade total da máquina. Foram obtidos 10 arcabouços poliméricos para cada concentração de gentamicina (0,5; 2,0 e 5,0% m/m) e 10 de PBAT puro para fins de comparação.



Figura 11. Impressora Cliever CL1.

Para a impressão dos arcabouços de PBAT e PBAT com diferentes concentrações de gentamicina foram realizados uma série de ensaios preliminares e foram criados padrões de processamento, conforme descrição a seguir:

5.2.1. Parâmetros de impressão:

- Densidade (%): 99%
- Espessura das paredes: 2
- Diâmetro do bico (mm): 0,3
- Altura entre camadas (mm): 0,14
- Espessura da base: 2
- Espessura do topo: 2
- Velocidade de impressão (%): 80%

- Diâmetro do filamento (mm): 1,75
- Correção de altura z (mm): 7,4
- Temperatura do extrusor: 150°C
- Temperatura bandeja coletora primeira camada: 30°C
- Temperatura bandeja coletora demais camadas: 30°C

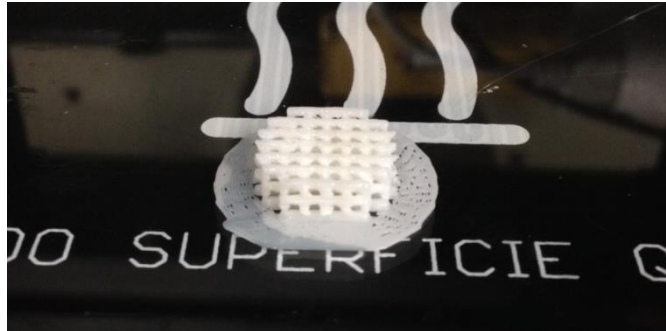


Figura 12. Scaffold produzido.

Durante o processo de impressão, a máquina delimita o comprimento de filamento que será utilizado para a construção da peça, bem como o tempo que o processo de impressão levará e o valor de custo para produção de cada peça.

5.4.2. Informações de impressão:

- Comprimento total (mm): 15,02
- Largura total (mm): 15,02
- Altura total (mm): 5,45
- Filamento gasto (mm): 265,50
- Tempo estimado: 27 minutos e 34 segundos

6.3 TECNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

A seguir são descritas as técnicas utilizadas para a caracterização dos arcabouços, bem como os equipamentos utilizados e os parâmetros de análise.

6.3.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de Varredura é uma técnica que fornece informações sobre a topografia da amostra. Seu princípio é baseado na incidência de um feixe de elétrons acelerado, sob vácuo, até chegar na amostra, transmitindo um sinal que resulta da interação do feixe incidente com a superfície do material analisado. Esse processo emite fótons e elétrons secundários que serão detectados e convertidos em sinal de vídeo. [44]

Realizou-se a análise de microscopia eletrônica de varredura utilizando o equipamento JSM 6060 do Centro de Microscopia e Microanálise da UFRGS. Os arcabouços foram analisados através da Microscopia Eletrônica de Varredura para verificação do espaçamento presente entre seus poros, a superfície dos filamentos produzidos e também avaliar a presença do sulfato de gentamicina e a possível interferência do fármaco no protótipo produzido.

A amostra foi preparada recortando aproximadamente 1/4 de cada arcabouço, o qual foi adaptado em suportes metálicos. As amostras foram recobertas por uma fina camada de ouro e as imagens analisadas com magnificação de 27 vezes. Os espaçamentos e dimensões dos poros foram determinados utilizando o software livre de análise de imagens Image J.

6.3.2. Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica mede a variação de massa da amostra em função do aumento controlado de temperatura. O equipamento é constituído de uma microbalança, um forno onde a amostra será submetida a altas temperaturas, um programador de temperatura e um computador. [45]

Os filamentos produzidos foram analisados a fim de se averiguar os efeitos da adição da gentamicina na estabilidade térmica do material. As amostras (entre 11 e 20 mg) foram pesadas e submetidas a variação de temperatura, de 25°C até 700°C utilizando uma rampa de aquecimento de 20°C/min, em uma atmosfera inerte de nitrogênio.

6.3.3. Ângulo de Contato em Água (WCA)

A análise de WCA foi realizada para verificar a influência da adição de sulfato de gentamicina na molhabilidade da superfície do protótipo produzido por impressão 3D. Esta técnica consiste na análise do ângulo de contato em água em relação a uma superfície. É considerada uma análise simples e confiável onde se analisa a molhabilidade do material, medindo o espalhamento de uma gota de água sobre a superfície do mesmo.[46] Os dados podem ser avaliados através da equação de Young, levando em consideração as tensões interfaciais entre as fases líquido-vapor, sólido-vapor, sólido-líquido. Quanto mais baixo o ângulo de contato θ , mais hidrofílico é o material. [47] Para ser possível depositar a gota sobre a superfície do material PBAT e PBAT/gentamicina, foi impresso um protótipo em forma de paralelepípedo.

$$\cos \theta = \frac{\gamma_{sv} - \gamma_{sl}}{\gamma_{lv}}$$

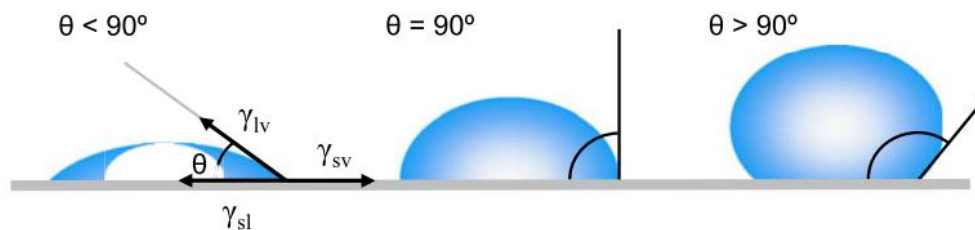


Figura 13. Ângulo de contanto entre gota e superfície por Yuehua Yuan e T.Randall Lee. [16]

6.3.4. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier modo Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR)

A Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho é utilizada para identificar grupos funcionais através da análise de frequências de vibrações específicas relacionadas às ligações químicas presentes na superfície do material analisado. A radiação eletromagnética na região do infravermelho é incidida sobre a superfície da amostra, as moléculas da superfície absorvem a energia e respondem a esse estímulo com vibrações, estiramentos e torções. [48] O resultado pode ser representado através de um gráfico de absorbância versus o número de onda. A refletância total atenuada consiste em utilizar as reflexões internas de um cristal que recebe o feixe de radiação de Infravermelho

que irá percorrer o cristal, que está em contato com a amostra, criando uma onda evanescente. Parte da radiação é absorvida pela amostra e a onda evanescente é atenuada. A faixa de penetração do feixe na amostra pode variar de 0,5-3 μm e depende do comprimento de onda e da amostra. [49]

Os arcabouços constituídos de PBAT e PBAT/Sulfato de gentamicina, bem como o fármaco puro, foram analisados através do equipamento Alpha-P (Bruker), que utiliza prisma de Diamante, a 45° , entre 4000cm^{-1} a 500cm^{-1} com 24 varreduras com resolução de 4cm^{-1} .

6.3.5. Análise qualitativa por ensaio de halos de inibição em placas de petri (antibiograma)

Os arcabouços de PBAT incorporados com sulfato de gentamicina foram avaliados quanto a sua eficiência de inibir o crescimento de bactérias, através do ensaio de halos de inibição em placas de petri utilizando bactéria *Escherichia coli* inoculada em meio de cultura Luria Bertani que é constituído por triptona 10 g/L, NaCl 10 g/L, extrato de levedura 5 g/L e água destilada. O meio foi previamente esterilizado em uma autoclave a uma temperatura de 120°C e a pressão de 1 atm, enquanto os arcabouços foram esterilizados com álcool 70°GL e expostos a luz UV. Após, os arcabouços foram dispostos em placas de petri contendo o meio e a cultura bacteriana. As placas foram armazenadas em uma estufa a uma temperatura de 37°C por 24h, em seguida, verificou-se a formação ou ausência de halos ao redor dos arcabouços.

Esta análise foi realizada em colaboração com o grupo de pesquisa da professora Roberta Bussamara da UFRGS.

6.3.6. Análise Quantitativa por inibição de crescimento bacteriano em meio líquido (diluição em caldo)

6.3.6.1. Primeiro método

Para quantificar a capacidade de inibição dos arcabouços produzidos foi realizado o teste de turvação do meio bacteriano através da microdiluição em caldo. Foi utilizada a bactéria *Escherichia coli* em meio Lúria Bertani líquido previamente esterilizado em uma autoclave com temperatura de 120°C e a pressão de 1 atm. Foram transferidos $100\mu\text{L}$ de inóculo contendo a bactéria para placas de microdiluição contendo $1000\mu\text{L}$ de meio Lúria

Bertani Líquido, onde foram alocados os arcabouços produzidos e previamente esterilizados com álcool 70°C e luz UV. Separou-se um poço para o controle positivo e um poço para o controle negativo em cada extremidade das placas. As placas foram armazenadas por 24h em estufa com temperatura de 37°C, após este tempo foi realizada a leitura de densidade ótica a 600nm em espectrofotômetro (Model 550-BioRad), a turvação do meio indica a quantidade de bactérias presentes.

Esta análise foi realizada em parceria com o grupo de pesquisa da professora Roberta Bussamara da UFRGS.

6.3.6.2.Segundo método.

Para quantificar a capacidade de inibição dos arcabouços produzidos foi realizado o teste de turvação do meio bacteriano através da microdiluição em caldo. Foi utilizada a bactéria *Escherichia coli* em meio Lúria Bertani líquido previamente esterilizado em uma autoclave com temperatura de 120°C e a pressão de 1 atm. A análise foi realizada em tubos falcon de 50 mL, onde foram inseridos 25 mL da solução de meio líquido e um arcabouço com determinada concentração, previamente esterilizado 3.3.6.1, juntamente com a bactéria inoculada *Escherichia coli*. A análise foi realizada em triplicata, 3 tubos para cada concentração de gentamicina, novamente foi criado um Controle Negativo (CN) e um Controle Positivo (CP) como forma de acompanhar o crescimento da bactéria.

Os tubos falcon foram armazenados por 24h em estufa com temperatura de 37°C, após este tempo foi realizada a leitura de densidade ótica a 600nm em espectrofotômetro (Model 550-BioRad), a turvação do meio indica a quantidade de bactérias presentes.

Esta análise foi realizada em parceria com o grupo de pesquisa da professora Roberta Bussamara da UFRGS.

7. RESULTADOS E DISCUSÃO

7.1 MEV

As fotomicrografias dos arcabouços produzidos demonstram que as estruturas de PBAT puro e as com concentração 0,5; 2,0 e 5,0% de gentamicina (m/m) apresentam superfície lisa, também é possível verificar um pequeno defeito de impressão causado pelo arraste do bico de extrusão no arcabouço de PBAT puro, que poderia ser facilmente corrigido ajustando a altura do bico extrusor. Através do software Image J foi possível constatar a alteração no tamanho dos poros dos arcabouços em que houve adição de sulfato de gentamicina. Para o arcabouço de PBAT puro (0,0% gentamicina) o tamanho médio dos poros verifica pelo software corresponde a $1,2 \text{ mm} \pm 0,09$, para a concentração 2,0% o tamanho médio dos poros é $1,02 \text{ mm} \pm 0,05$, a maior alteração foi observada nas concentrações 0,5% e 5,0% que possuem poros com tamanho de $0,99 \text{ mm} \pm 0,10$ e $0,99 \text{ mm} \pm 0,06$, respectivamente. Apesar de ser constatada a diminuição dos poros dos arcabouços que possuem gentamicina, não é possível afirmar que tal alteração seja significativa pois as avaliações estatísticas necessárias não foram realizadas. Porém a diminuição dos poros não apresenta problemas para a aplicação do arcabouço como suporte para favorecer o crescimento de células em tecido ósseo. A diminuição dos poros dos arcabouços com a adição de gentamicina pode ser associada a estabilidade térmica fornecida pela gentamicina ao PBAT.

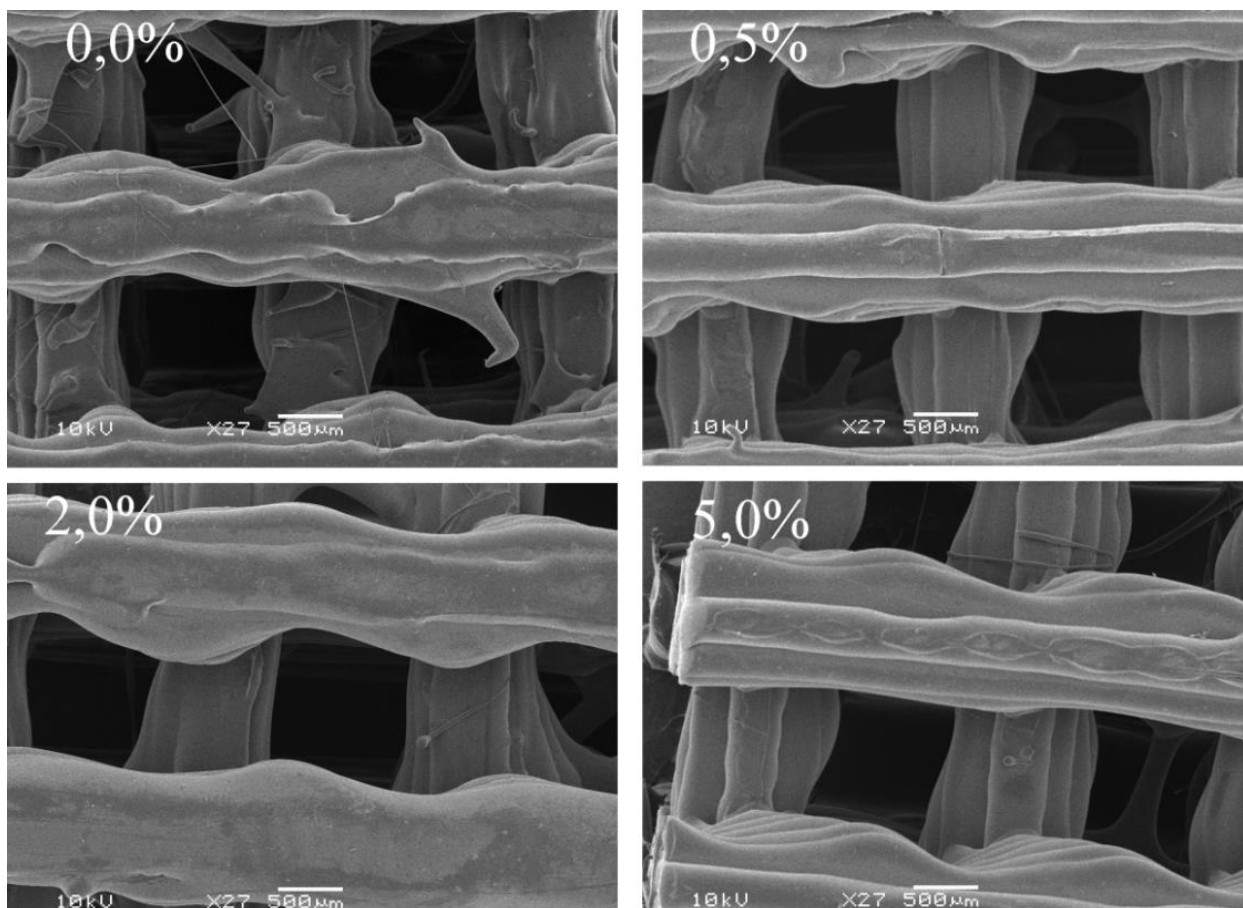


Figura 14. Fotomicrografias dos arcabouços de de PBAT puro (0% gentamicina) e PBAT/gentamicina nas concentrações 0,5; 2,0 e 5,0% de gentamicina (m/m).

7.2 TGA (Análise Termogravimétrica)

A Figura 15 mostra a degradação do PBAT puro e as misturas com o fármaco. O PBAT apresenta duas temperaturas de decomposição, a primeira é referente ao copoliéster alifático e ocorre entorno de 340 a 400°C, enquanto a segunda temperatura é mais elevada devido a ser a decomposição do aromático tereftalato que ocorre em torno de 600°C.[15] O fármaco adicionado também possui duas faixas de degradação, uma em 120°C (água livre e ligada) e outra em torno de 430°C e 560°C[50]. Também pode ser observado o efeito do aumento de temperatura máxima de degradação do polímero com a adição do sulfato de gentamicina. Para o PBAT puro a temperatura máxima de degradação é de 414,2°C. Já as amostras com PBAT/sulfato de gentamicina tiveram um aumento em sua estabilidade térmica. A amostra PBAT com 0,5% de gentamicina (m/m) teve sua temperatura máxima de degradação em 442,1°C, enquanto que as amostras com 2,0% de gentamicina (m/m) e 5,0% de gentamicina (m/m), tiveram suas temperaturas

máximas de degradação em 446,1°C e 443,9°C, respectivamente, conforme verificadas no TDG (Curvas de derivada termogravimétrica) das amostras apresentadas na figura 16.

Este aumento na estabilidade térmica pode ser atribuído ao possível efeito de proteção térmica exercido pela carga de fármaco adicionado, o que acaba requerendo uma maior energia térmica para que ocorra a degradação do polímero, os mesmos efeitos foram ser observados por Chen *et al.*[51] com a adição de argila orgânica ao PBAT. Outro estudo promovido por Zehetmeyer. [15] também constatou o aumento da temperatura de degradação do PBAT com a adição de carga (nisina).

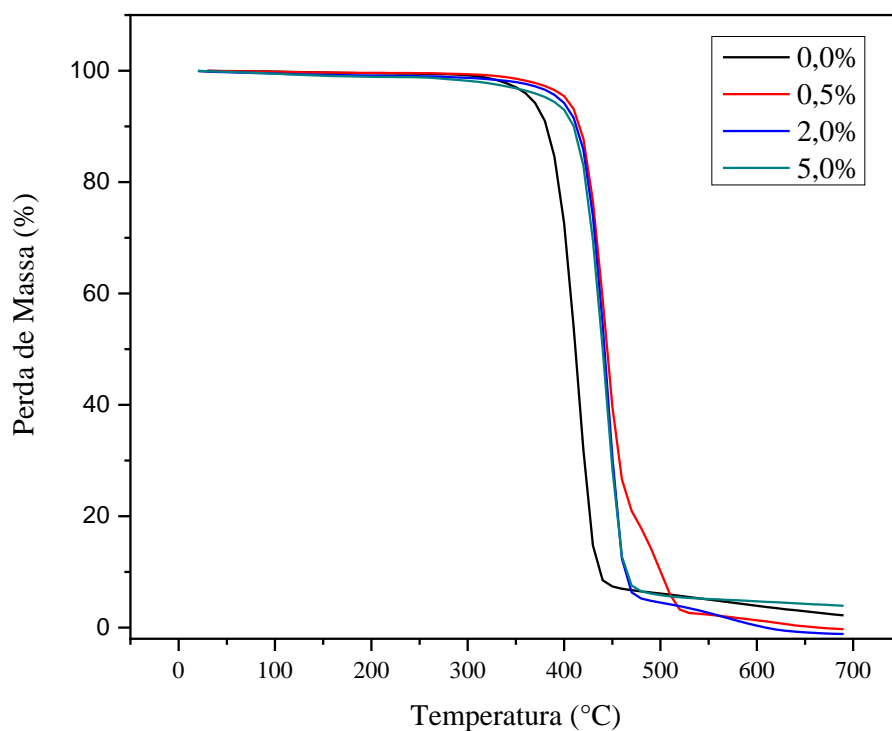


Figura 15. Termograma dos filamentos de PBAT puro e PBAT com concentrações 0,5; 2,0 e 5,0% (m/m) de gentamicina.

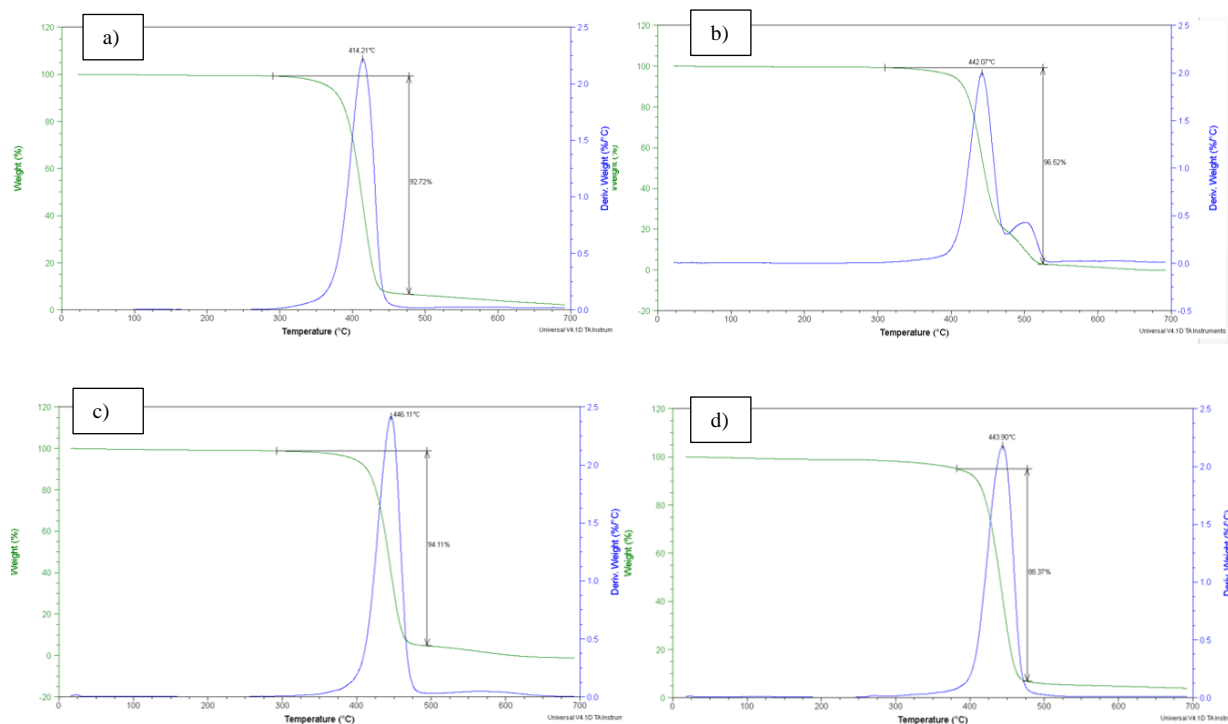


Figura 16. Curvas de derivada termogravimétrica (DTG) para as amostras de PBAT puro 0,0% (a) e PBAT com (b) 0,5 %, (c) 2,0 % e (d) 5,0% de gentamicina (m/m).

O filamento contendo 5,0% (m/m) de sulfato de gentamicina apresentou maior concentração de resíduo ao término da análise, quando comparado às demais amostras. Este resíduo possivelmente está relacionado a presença do sulfato presente no fármaco.

7.3 WCA (Ângulo de contato em água)

Os resultados das análises de WCA estão apresentados na Figura 17. O PBAT puro apresenta caráter hidrofóbico, possivelmente devido à presença de um mero com presença de fenila e carbonila. Quando o sulfato de gentamicina é adicionado ao PBAT, pode-se observar um aumento do caráter hidrofílico do material Figura.17, o que pode ser explicado pela presença dos grupamentos (OH) e (NH₃) presentes na molécula de gentamicina, os quais podem promover interações intermoleculares do tipo ligações de hidrogênio com a água.

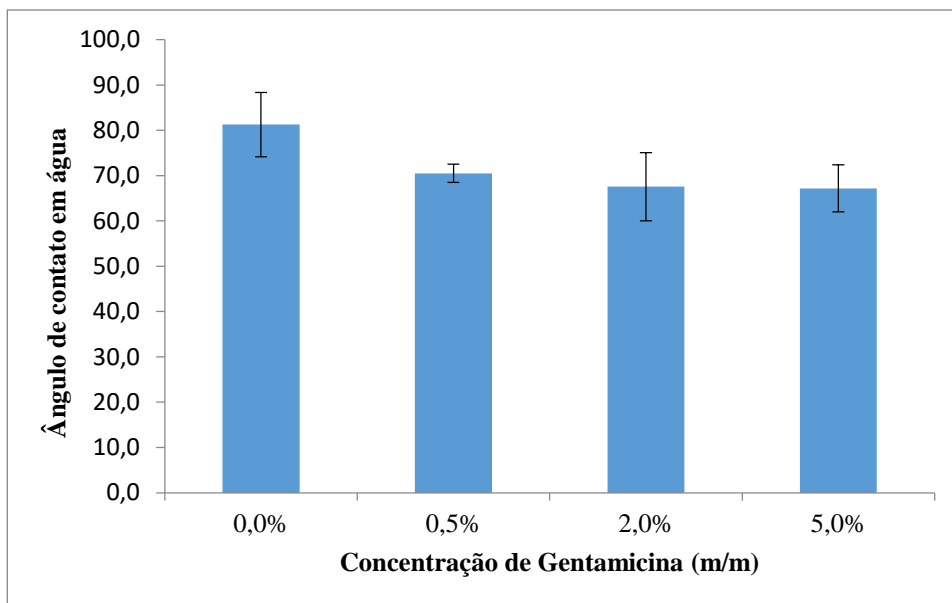


Figura 17. Ângulo de contato em água (WCA) para as amostras de PBAT com adição de gentamicina 0,5; 2,0 e 5,0% (m/m).

A Figura. 18 mostra que no ângulo de contato em água, a gota se espalha com maior facilidade na superfície do suporte polimérico que contem sulfato de gentamicina em sua composição. Desta forma, há uma redução no ângulo de contato com a superfície do material o que corrobora com os resultados encontrados por Scheibel que incorporou sulfato de gentamicina em microfibras de de PBAT[22].

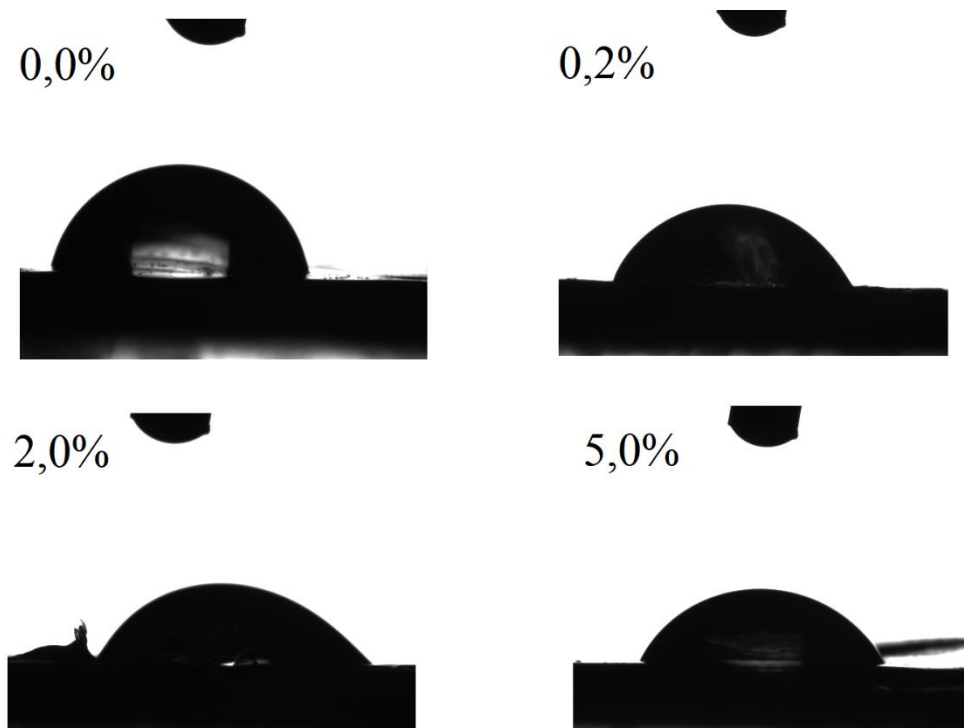


Figura 18. Análise de ângulo de contato, PBAT puro e PBAT com concentrações de gentamicina 0,5; 2,0 e 5,0% (m/m).

7.4 FTIR (Infravermelho com transformada de Fourier)

Os resultados obtidos por Infravermelho (FTIR-ATR), figura 19. demonstram que a adição de gentamicina ao polímero, não produz alterações químicas na amostra. Não houve deslocamento ou surgimento de novas bandas que pudessem indicar a ocorrência de ligação química entre o PBAT e a gentamicina. Com relação à ausência de vibrações características que identifiquem a presença de sulfato de gentamicina nos espectros referentes ao material PBAT/Gentamicina, este comportamento pode ser explicado pela pequena proporção de fármaco na amostra. A proporção de PBAT presente no suporte é muito maior que a quantidade de gentamicina e a técnica FTIR-ATR não possui sensibilidade suficiente para caracterizar a presença da mesma, nas concentrações empregadas neste trabalho.

Os espectros de PBAT/gentamicina apresentam as mesmas características do espectro FTIR do PBAT puro como a presença da banda em 3000 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C-H de aromático, também está presente o pico de alta intensidade, característico de ligação C=O de éster, na faixa $1750\text{--}1730\text{ cm}^{-1}$ e em 1300 cm^{-1} sinal referente ao estiramento da ligação C-O presente em éster. O espectro FTIR referente somente ao sulfato de gentamicina apresenta bandas de absorção referentes ao alongamento de amins primárias (R-NH_2) e secundárias ($\text{R}_2\text{-NH}$) nos comprimentos de onda de $3000\text{ a }3400\text{ cm}^{-1}$ e uma banda intensa em 1044 cm^{-1} característica da deformação axial dos grupos NH.

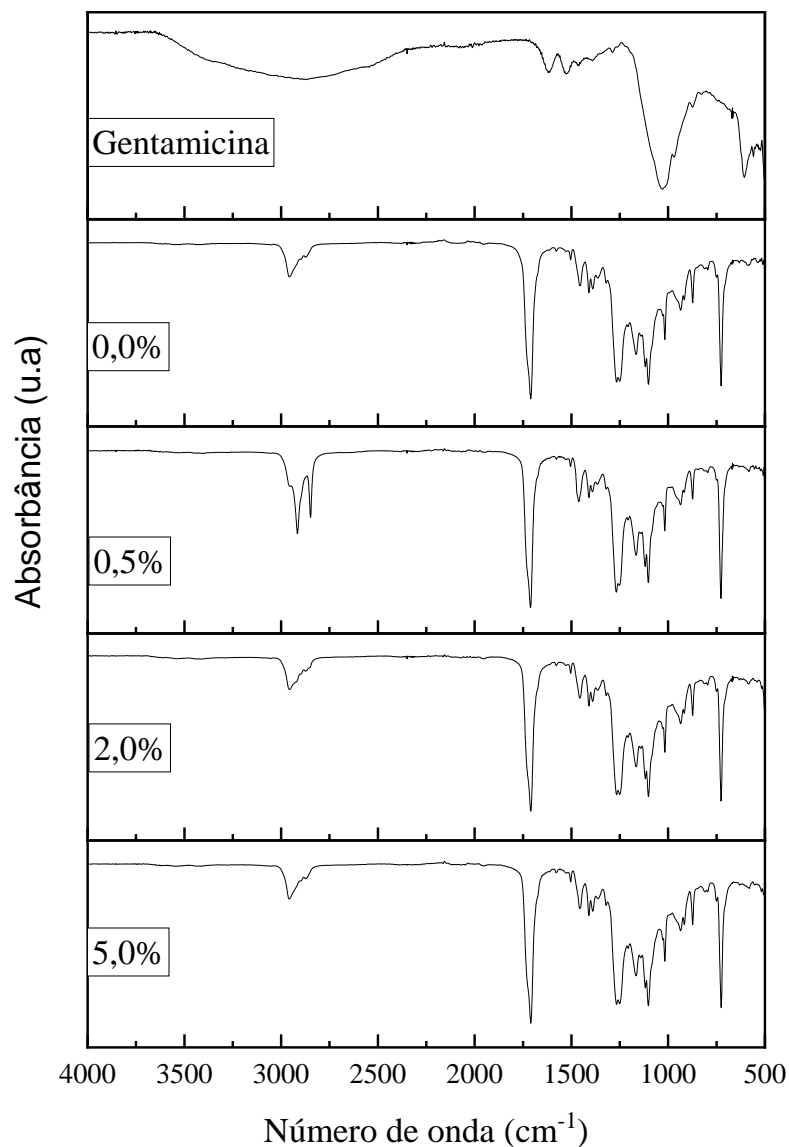


Figura 19. Espectro de FTIR para o sulfato de gentamicina e os arcações poliméricos processados por impressão 3D de PBAT e PBAT com 0,5; 2,0 e 5,0% gentamicina (m/m).

A partir destes resultados, pode-se considerar que ocorreu uma adsorção física do fármaco no material polimérico. Este processo é realizado por interações fracas do tipo forças de *Van der Waals*, as quais podem ser rompidas e facilitar a interação do fármaco com o tecido.

7.5 Análise Antimicrobiana

Os resultados são apresentados na figura 20, onde é possível perceber que o PBAT puro não é capaz de formar halos de inibição sobre a colônia de bactérias, mas com o acréscimo da gentamicina, isto passa a ser possível e quanto maior a quantidade de antibiótico presente no protótipo maior o halo formado, sendo assim, os melhores resultados foram dos protótipos com 5,0 % de gentamicina presente. Também foi confeccionado um arcabouço com concentração extrapolada de gentamicina, 10 % (m/m), em relação aos utilizados no trabalho. Porém não foi possível reproduzir testes com este arcabouço já que sua impressão resultou no entupimento do bico extrusor da impressora 3D.

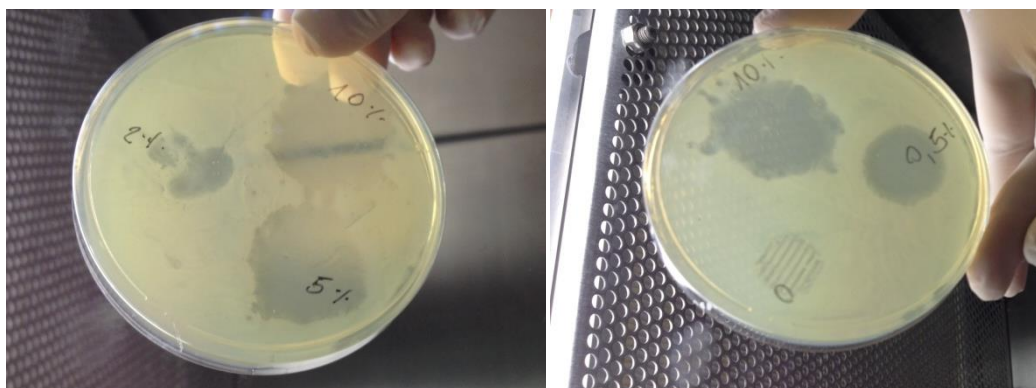


Figura 20. Placas contendo *E-coli* e os arcabouços produzidos.

O teste quantitativo foi realizado em meio líquido, em placas de microdiluição onde os scaffold's e a bactéria *Escherichia coli* foram inseridos em 100 mL de meio Luria Bertani, foram criados na placa um Controle Negativo (CN) e um Controle Positivo (CP) como forma de acompanhar o crescimento da bactéria. O crescimento dos microorganismos é verificado pela turvação do meio, quanto maior o valor de turvação, maior o crescimento microbiano no meio. A seguir pode-se verificar o gráfico referente aos valores e turvação do meio contendo os protótipos impressos.

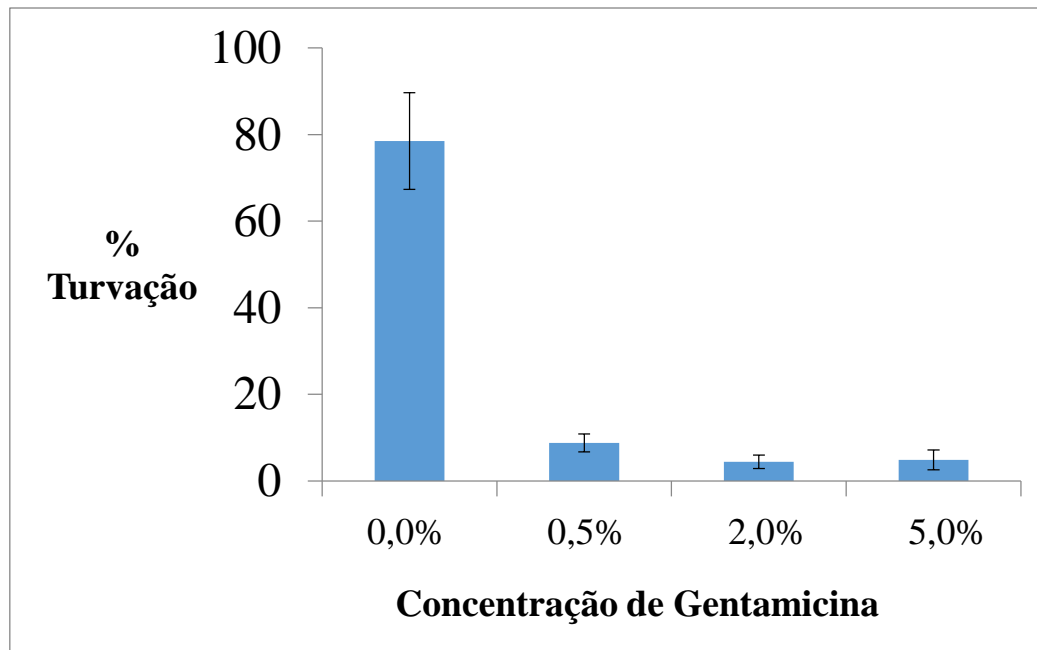


Figura 21. Porcentagem de turvação do meio em relação ao Controle Positivo para as amostras de arcabouço contendo 0,0; 0,5; 2,0 e 5,0% de gentamicina (m/m).

Como pode-se perceber os melhores resultados, menor turvação, foram apresentados pelos arcabouços contendo 2,0% e 5,0% de gentamicina, já o arcabouço com 0,5% apresentou uma turvação um pouco mais elevada (maior presença de microorganismos). Como esperado o PBAT puro foi a maior turvação por não conter fármaco. Uma hipótese para a concentração de 0,5% obter uma maior turvação, seria devido a sua menor quantidade de fármaco presente, que embora pouco, ainda se mostra eficiente para a inibição da *E.coli*.

É interessante notar que as análises foram repetidas após 4 meses, mantendo os mesmos parâmetros. Novamente foi elaborado um meio sólido constituído de Luria Bertani e Ágar onde incubou-se a bactéria *Escherichia coli* e adicionou-se os arcabouços contendo 0,0%, 0,5%, 2,0% e 5,0% de gentamicina como mostram as imagens a seguir.

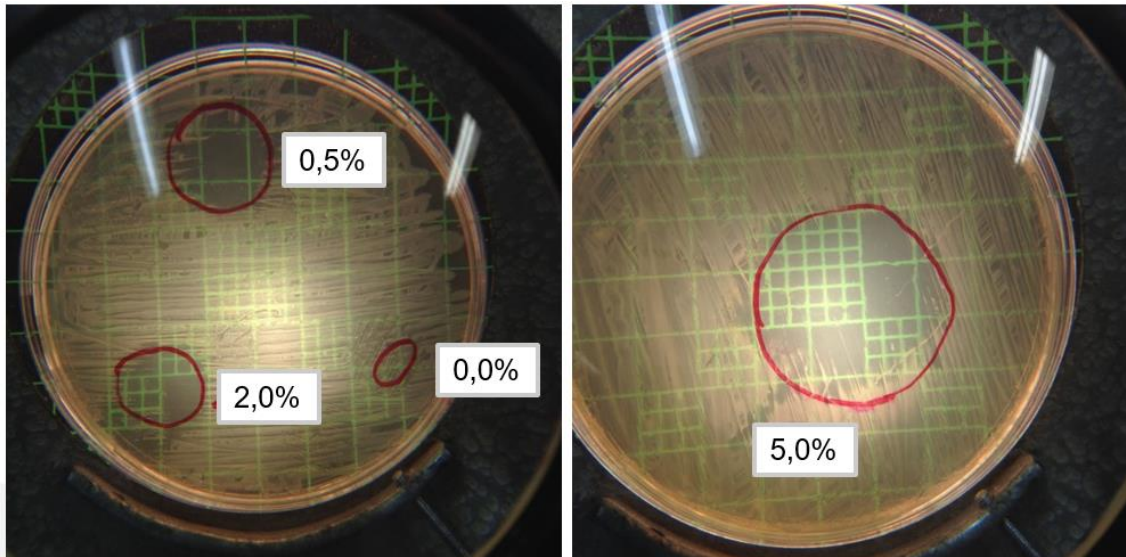


Figura 22. Placas contendo *E-coli* e os arcabouços produzidos.

As imagens mostram que o arcabouço contendo PBAT puro, novamente não é capaz de promover a inibição ao crescimento bacteriano, diferente do resultado apresentado pelos arcabouços que possuem gentamicina, mesmo o polímero contendo a menor concentração de gentamicina, 0,5%, foi capaz de criar halo de inibição frente a bactéria escolhida. O halo formado pelo arcabouço contendo 2,0% de gentamicina se apresenta um pouco menor em comparação aos demais, uma hipótese para esta ocorrência, seria uma degradação da gentamicina, não somente em relação ao tempo de armazenamento, mas também em relação a uma possível degradação sofrida durante a extrusão do filamento e posteriormente, a nova fusão para a construção do protótipo em impressora 3D. Como esperado a maior concentração de gentamicina 5,0% apresenta maior circunferência em seu alo de inibição.

O teste quantitativo também foi feito, utilizando novamente o meio Luria Bertani líquido, porém desta vez, em vez de utilizar placa de poços, a análise foi realizada em tubos falcon de 50 mL, onde foram inseridos 25 mL da solução de meio líquido e um arcabouço com determinada concentração juntamente com a bactéria inoculada *Escherichia coli*. A análise foi realizada em triplicata, 3 tubos para cada concentração de gentamicina, novamente foi criado um Controle Negativo (CN) e um Controle Positivo (CP) como forma de acompanhar o crescimento da bactéria. Os resultados podem ser observados no gráfico a seguir:

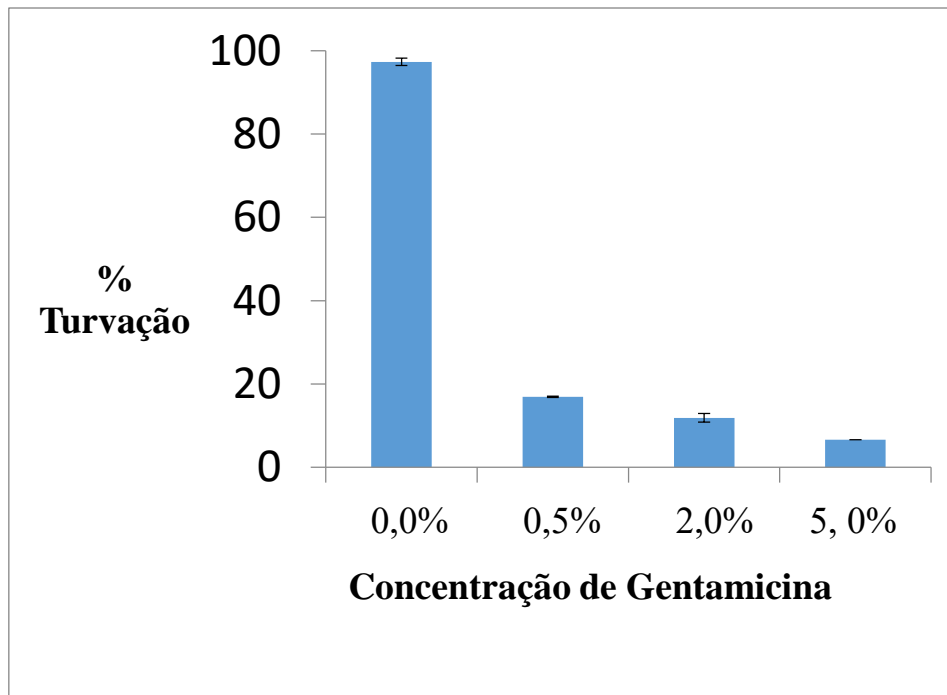


Figura 23. Porcentagem de turvação do meio em relação ao Controle Positivo após 4 meses de produção dos filamentos.

Mesmo após 4 meses da extrusão do material para posterior impressão dos arcabouços, o resultado apresentado se mantém satisfatório, pois os protótipos mantiveram a capacidade de inibir o crescimento bacteriano, se mostrando efetivo no combate a *E. coli*. Porém é perceptível que a concentração de gentamicina após 4 meses, possui maior influência nos resultados obtidos, quanto maior a concentração, menor a turvação do meio, conseqüentemente menor concentração de bactérias presente.

8. ANÁLISE DE CUSTOS PARA PRODUÇÃO INDUSTRIAL

Para o cálculo de custo do material desenvolvido, levou-se em consideração o preço das matérias primas envolvidas e o preço dos equipamentos necessários para o desenvolvimento do produto.

A impressora 3D, modelo CL1 fabricada pela empresa nacional Cliever pode ser encontrada com preços que variam entre R\$ 2.890,00 e R\$ 4.199,00. Porém os filamentos de impressão precisam ser processados por uma extrusora dupla rosca para misturar as cargas de materiais utilizados na composição dos arcabouços. Uma Extrusora dupla rosca de escala industrial com capacidade de processamento de 200 kg/h e potência de 15 W possui preço em torno de R\$ 145.000,00. Porém uma alternativa mais barata seria a utilização de uma impressora 3D capaz de extrusar pellets de polímeros juntamente com o pó do medicamento, como no caso da Bioimpressora 3D Genesis II, assim além de ser mais econômica monetariamente, se reduz o tempo necessário para se produzir o filamento.



Figura 24. Bioimpressora 3D capaz de extrusar pellets e pó.

Os valores de materiais necessários estão disponíveis na tabela a seguir:

Tabela 1. Materiais e valores estipulados.

| Material | Quantidade | Valor |
|----------|------------|-------|
|----------|------------|-------|

| | | |
|-------------------------------|--------------|---------------|
| Bioimpressora 3D | 1 | R\$ 24.900,00 |
| Sulfato de Gentamicina | 50g | R\$ 1.090,64 |
| PBAT | 3 kg | R\$ 339,00 |
| - | TOTAL | R\$ 26.329,64 |

O custo calculado pelo Software da impressora para a produção de um arcabouço equivale a R\$ 0,10. Por ser uma peça pequena e com poucos detalhes o gasto de filamento para a produção do biomaterial proposto é baixo, gastando apenas 265,50 mm de filamento por arcabouço produzido, o que equivale a 26,55 cm de filamento.

Para a produção dos filamentos foram adicionadas cargas de 50g na extrusora. Foram estipulados os valores de PBAT e gentamicina relacionados a massa de cada componente na mistura, referente a concentração dos mesmos na carga. Definindo os valores de cada filamento produzido como mostra a tabela a seguir:

Tabela 2. Valores de produção dos filamentos de PBAT com adição de 0,5;2,0 e 5,0% de sulfato de gentamicina (m/m)

| | 0,5% | 2,0% | 5,0% |
|-------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| PBAT | 49,75g | 49,00g | 47,50g |
| Sulfato de Gentamicina | 0,25g | 1,00g | 2,5g |
| Valor (R\$) | 11,07 | 27,35 | 59,90 |

Aplicando o valor de cada filamento no Software da impressora é possível obter o valor de produção unitário dos arcabouços. O arcabouço contendo concentração de 0,5% de sulfato de gentamicina possui um custo de produção de R\$ 0,20, para o arcabouço de concentração 2,0% de sulfato de gentamicina o custo foi calculado em R\$0,48 e para o arcabouço de maior concentração, 5,0% de sulfato de gentamicina, o custo de produção por impressão 3D é de R\$ 1,06.

9. CONCLUSÕES

Os resultados deste projeto mostram que a utilização da impressora 3D para a obtenção dos arcabouços foi viável por ser uma técnica rápida e versátil.

O fármaco adicionado provocou alterações no protótipo polimérico alterando o tamanho dos poros. No entanto, essa alteração não prejudica os arcabouços, pois os valores continuam dentro da faixa estipulada para aplicação desejada e o processo pode ser otimizado em testes futuros.

A adição do fármaco levou ao aumento da estabilidade térmica do material e altera a molhabilidade da superfície do material.

Embora as análises de FTIR não tenham detectado a presença da gentamicina, não houve alterações na estrutura química do PBAT, o que confirma que ocorre apenas uma adsorção física do fármaco com o polímero.

Os ensaios microbiológicos mostraram que os arcabouços de PBAT com gentamicina são capazes de inibir a presença de microrganismos. As análises revelaram ainda que após meses de armazenamento, os arcabouços são capazes de manter sua efetividade contra o crescimento bacteriano o que mostra o grande potencial deste biomaterial como alternativa viável ao mercado.

Finalmente, este projeto traz à tona algumas perspectivas pertinentes a efetividade do projeto, dentre estas pode-se citar: futura realização de ensaios mecânicos, análise térmica (DSC) para averiguar a alteração de cristalinidade dos materiais, ensaios de degradação e citotoxicidade. Além disso, acredita-se fortemente que o mesmo projeto possa ser realizado para impressão 3D de outros polímeros biodegradáveis e biocompatíveis.

10. REFERÊNCIAS

- [1] DE SOUSA. R. C, VIANA.V. G. F, CARVALHO L. F. M, e VASCONCELOS D. F. P. **Uso de Poli-hidroxibutirato e Norbixina como Biomaterial para Regeneração Óssea: um mapeamento tecnológico.** *Cad. Prospecção*, vol. 13, no. 3, p. 805, May 2020.
- [2] PIRES A. L. R, BIERHALS A. C. K, MORAES Â. M. **Biomateriais: Tipos, aplicações e mercado.** *Quim. Nova*, vol. 38, no. 7, pp. 957–971, 2015.
- [3] BRITO G. F, AGRAWAL P, ARAÚJO E, MÉLO T. J. A. **Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes.** *International dental journal*, vol. 59, no. 5, pp. 289–96, 2009.
- [4] GUO G. *et al.* **Structure and property of biodegradable soy protein isolate/PBAT blends.** *Ind. Crops Prod.*, vol. 74, pp. 731–736, Nov. 2015.
- [5] OLIVEIRA F. L. S, OLIVEIRA C. S, MACHADO A. P. L, ROSA F. P. **Biomateriais com aplicação na regeneração óssea – método de análise e perspectivas futuras.** *Rev. Ciências Médicas e Biológicas*, vol. 9, no. 1, p. 37, 2010, doi: 10.9771/cmbio.v9i1.4730.
- [6] GUVENDIREN M, MOLDE J, SOARES R. M. D, KOHN. **Designing Biomaterials for 3D Printing.** *Physiol. Behav.*, vol. 176, no. 5, pp. 139–148, 2017.
- [7] CHIVRAC F, KADLECOVÁ Z, POLLET E, AVÉROUS L. **Aromatic copolyester-based nano-biocomposites: Elaboration, structural characterization and properties.** *J. Polym. Environ.*, vol. 14, no. 4, pp. 393–401, Oct. 2006.
- [8] OJEDA T. **Biodegradabilidade de materiais poliméricos.** 2008. 128 f. Tese (Doutorado em Ciências do Solo)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
- [9] HARADA J. **Linha de Plásticos Biodegradáveis, Compostáveis e de Fontes Renováveis.** 2011. Disponível em: <https://docplayer.com.br/50203874-Linha-de-plasticos-biodegradaveis-compostaveis-e-de-fontes-renovaveis-normas-instituto-de-energia-nuclear-ipen-usp-abril-2011.html> Acesso em maio 2021.
- [10] COSTA R.D.MA. **Extensão de cadeia do Poli(butileno-adipato-tereftalato)**

- utilizando aditivo polifuncional epoxídico.** 2015. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais)-Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2015.
- [11] RODRIGUES B. V. M, SILVA A. S, MELO G. F. S, VASCONSCELLOS L. M. R, MARCIANO F. R, LOBO A. O. **Influence of low contents of superhydrophilic MWCNT on the properties and cell viability of electrospun poly (butylene adipate-co-terephthalate) fibers.** *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 59, pp. 782–791, Feb. 2016.
- [12] JAO W. C, LIN C. H, HSIEH J. Y, YEH Y. H, LIU C. Y, YANG M. C. **Effect of immobilization of polysaccharides on the biocompatibility of poly(butylene adipate-co-terephthalate) films.** *Polym. Adv. Technol.*, vol. 21, no. 8, pp. 543–553, Aug. 2010.
- [13] BELMONTE G. K. **Modificação superficial de polímeros fotoinduzida por radiação UV, VUV e EUV.** 2015. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.
- [14] AVANCI M. A. **Modificação superficial de polietileno visando aumento de hidrofobicidade.** 2018.115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.
- [15] ZEHETMEYER G. **Desenvolvimento E Caracterização De Embalagens Ativas Compostas De Pbat Com Incorporação De Nisina.** 2016. 200 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Materiais)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.
- [16] KASHI S, GUPTA R. K, BAUM T, KAO N, BHATTACHARYA S. N. **Dielectric properties and electromagnetic interference shielding effectiveness of graphene-based biodegradable nanocomposites.** *Mater. Des.*, vol. 109, pp. 68–78, Nov. 2016.
- [17] Carrow J. K. et al. **3D-printed bioactive scaffolds from nanosilicates and PEOT/PBT for bone tissue engineering.** *Regen. Biomater.*, vol. 6, no. 1, pp. 29–37, 2019.
- [18] ARAUJO N. **Estudo estrutural de enzimas relacionadas com a modificação nas posições C3' e C6' da biossíntese de gentamicina** Dissertação. 2018. 35 f.

- Dissertação (Mestrado em Microbiologia)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.
- [19] “Gentamicin (Systemic) Monograph for Professionals - Drugs.com.” Disponível em: <https://www.drugs.com/monograph/gentamicin-systemic.html> Acesso em maio de 2021.
- [20] GEMEINDER J. L. **Desenvolvimento e avaliação de um sistema de liberação sustentada de gentamicina em biomembranas de látex natural.** 2016. 60 f. Dissertação (Mestrado em Biociências)-Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Assis, 2016.
- [21] ROSENKRANTZ B. E. et al. **Gentamicin Sulfate.** *Anal. Profiles Drug Subst. Excipients.* 1981.
- [22] SCHEIBEL J. M. **Curativos biodegradáveis à base de Poli(butileno adipato-co-tereftalato) com incorporação de gentamicina.** 2017. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.
- [23] “**Gentamicin sulfate salt** .” Disponível em: https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma-Aldrich/Product_Information_Sheet/g8648pis.pdf Acesso em maio de 2021.
- [24] OLIVEIRA et al. **Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos.** *Braz J Cardiovasc Surg,* 2006.
- [25] ROSA et al. **Engenharia de tecidos.** *Dent. Mater.,* vol. 28, no. 4, pp. 341–348, Apr. 2012.
- [26] PAIM Á. **Desenvolvimento de Biomateriais Eletrofiados , Biorreatores e Modelos Fenomenológicos para a Engenharia de Tecidos.** 2017. 35 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.
- [27] BRAGHIROLI D. I. **Produção de Scaffolds contendo células-tronco para o uso na Engenharia de Tecidos através da associação das técnicas de Eletrospinning e Bio-electrospraying.** 2012. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

- [28] SALGADO A. J, COUTINHO O. P, REIS and R. L. **Bone tissue engineering: State of the art and future trends.** *Macromolecular Bioscience*, vol. 4, no. 8. Macromol Biosci, pp. 743–765, Aug. 09, 2004.
- [29] GUASTALDI A. C, APARECIDA A. H. **Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos.** *Quim. Nova*, vol. 33, no. 6, pp. 1352–1358, 2010, doi: 10.1590/s0100-40422010000600025.
- [30] COCO A. M. A. **Síntese e caracterização de Scaffolds de hidroxiapatita para aplicações na regeneração óssea.** 2018. 71 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Materiais)-Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.
- [31] NEHRER S. *et al.* **Matrix collagen type and pore size influence behaviour of seeded canine chondrocytes.** *Biomaterials*, vol. 18, no. 11, pp. 769–776, Jun. 1997.
- [32] AMINI A. R, LAURENCIN C. T, NUKAVARAPU S. P. **Bone tissue engineering: Recent advances and challenges.** *Crit. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 40, no. 5, pp. 363–408, 2012.
- [33] MURPHY C. M, HAUGH M. G, O'BRIEN F. J. **The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen-glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering.** *Biomaterials*, vol. 31, no. 3, pp. 461–466, Jan. 2010.
- [34] **When Was 3D Printing Invented? The History of 3D Printing** - Disponível em: <https://www.bcn3d.com/the-history-of-3d-printing-when-was-3d-printing-invented/> Acesso em maio de 2021.
- [35] TAKAGAKI L. K. **Tecnologia de impressão 3D.** *Rev. Inovação Tecnológica*, vol. 2, no. 2, pp. 28–40, 2012.
- [36] AUGUSTO B, COUTINHO S. **Prótese modular de antebraço com auxílio de impressão 3D.** 2018. 76 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Mecatrônica)-Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Divinópolis, 2018.
- [37] ZEIN I, HUTMACHER D. W, TAN K. C, TEOH S. H. **Fused deposition**

- modeling of novel scaffold architectures for tissue engineering applications.** *Biomaterials*, vol. 23, no. 4, pp. 1169–1185, 2002, doi: 10.1016/S0142-9612(01)00232-0.
- [38] FOGGIATTO J. A. **Utilização do processo de modelagem por fusão e deposição (FDM) na fabricação rápida de insertos para injeção de termoplásticos.** 2005. 182 f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- [39] **Montadoras mergulham na tecnologia, com impressão 3D e realidade virtual** . Estadão. Disponível em: <https://economia.estadao.com.br/noticias/geral,montadoras-mergulham-na-tecnologia,70003020952> Acesso em maio de 2021.
- [40] ASSIS M. A. P. **Impressão 3D, modelos de negócio e novos cenários para a propriedade intelectual.** 2018. 128 f. Dissertação (Mestrado em Inovação Tecnológica e Propriedade Intelectual)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.
- [41] RESENDE R. R. *et al.* **Scale/topography of substrates surface resembling extracellular matrix for tissue engineering.** *Journal of Biomedical Nanotechnology*, vol. 10, no. 7. American Scientific Publishers, pp. 1157–1193, 2014.
- [42] ROOHANI-ESFAHANI S. I. *et al.* **Unique microstructural design of ceramic scaffolds for bone regeneration under load.** *Acta Biomater.*, vol. 9, no. 6, pp. 7014–7024, Jun. 2013.
- [43] PESSI F, PAGLIOSA T. A. **Projeto e construção de uma mini extrusora de filamentos.** 2018. 67 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Mecânica)- Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2018.
- [44] DEDAVID B. A, GOMES C. I, MACHADO G. **MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA - Aplicações e preparação de amostras - Materiais Poliméricos, metálicos e semicondutores.** Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007, p.60.
- [45] LUCAS E. F, SOARES B. G, MONTEIRO E. E. C. **Caracterização de**

- Polímeros: Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica.** Rio de Janeiro: E-Papers, 2001, p. 366
- [46] WEIBE D.E . **Polymer Assisted Surface Modification by Photons.** New York: Nova Science Publishers, 2011, p. 119.
- [47] YUAN Y, LEE T. R. **Contact angle and wetting properties.** *Springer Ser. Surf. Sci.*, vol. 51, no. 1, pp. 3–34, 2013.
- [48] PAVIA D. L, LAMPMAN G. M, KRIZ G. S, VYVYAN J. R. **Introdução à espectroscopia.** Cengage Learning: São Paulo, 2010, p. 367
- [49] **Espectrômetros FT-IR | Bruker.** Disponível em: <https://www.bruker.com/content/bruker/int/pt/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-ir-routine-spectrometer.html> Acesso em maio de 2021.
- [50] PANDEY H, PARASHAR V, PARASHAR R, PRAKASH R, RAMTEKE P. W, PANDEY A. C. **Controlled drug release characteristics and enhanced antibacterial effect of graphene nanosheets containing gentamicin sulfate.** *Nanoscale*, vol. 3, no. 10, pp. 4104–4108, Oct. 2011.
- [51] CHEN J. H, YANG M. C. **Preparation and characterization of nanocomposite of maleated poly(butylene adipate-co-terephthalate) with organoclay.** *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 46, pp. 301–308, 2015.