



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA

**SÍNTESE DO POLI-ÁCIDO LÁCTICO A PARTIR DO ÁCIDO LÁCTICO
PARA APLICAÇÃO BIOMÉDICA**

Autor: ASTRID JULIANA RINCÓN LASPRILLA

Orientador: Prof. Dr. RUBENS MACIEL FILHO

Campinas - São Paulo
Agosto de 2011



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO
DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS QUÍMICOS

ASTRID JULIANA RINCÓN LASPRILLA

Síntese do Poli-Ácido Láctico a partir do Ácido Láctico para Aplicação Biomédica

Orientador: Prof. Dr. RUBENS MACIEL FILHO

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Engenharia Química como parte
dos requisitos exigidos para a obtenção do título
de Mestre em Engenharia Química.

Campinas - São Paulo
Agosto de 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

R741s Rincón Lasprilla, Astrid Juliana
Síntese do Poli-Ácido Láctico a partir do Ácido
Láctico para Aplicação Biomédica / Astrid Juliana
Rincón Lasprilla. --Campinas, SP: [s.n.], 2011.

Orientador: Rubens Maciel Filho.
Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Biotecnologia. 2. Biopolímeros. 3. Engenharia
tecidual. 4. Biocompatibilidade. 5. Polimerização por
abertura de anel. I. Maciel Filho, Rubens. II.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Engenharia Química. III. Título.

Título em Inglês: Poly (lactid acid) synthesis from lactic acid for application in
biomedical devices

Palavras-chave em Inglês: Biotecnology, Biopolymers, Tissue engineering,
Biocompatibility, Ring opening polymerization

Área de concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos

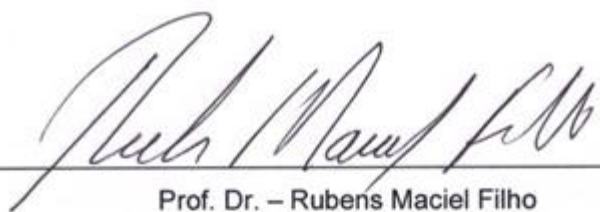
Titulação: Mestre em Engenharia Química

Banca examinadora: Cecilia Amelia de Carvalho Zavaglia, Otávio Cavalette

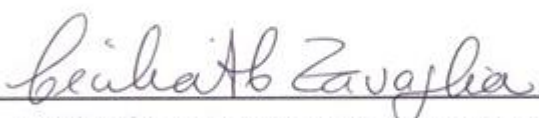
Data da defesa: 24-08-2011

Programa de Pós Graduação: Engenharia Química

Dissertação de Mestrado ou Tese de Doutorado defendida por Astrid Juliana Rincón Lasprilla e aprovada em 24 de agosto de 2011 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



Prof. Dr. – Rubens Maciel Filho

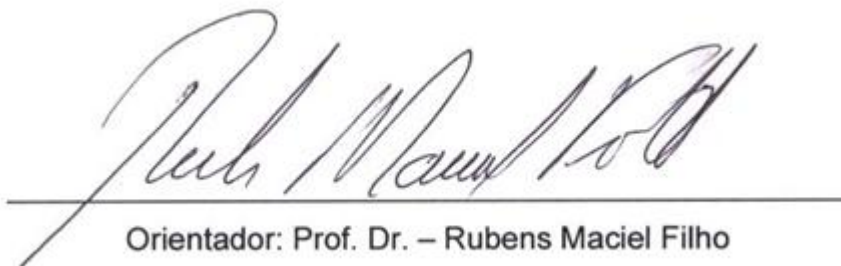


Profª. Drª. Cecília Amelia de Carvalho Zavaglia



Dr. Otávio Cavalette

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado em Engenharia Química.



Orientador: Prof. Dr. – Rubens Maciel Filho

Dedicatória

Dedico este trabalho a:

Deus, por todos os dons e benefícios recebidos na minha vida, por todos os seres especiais que colocou no meu caminho para me ajudar, ensinar e por ter me permitido culminar mais uma etapa com sucesso; como todas as noites, lhe agradeço por minha vida e lhe dedico as minhas conquistas.

Aos meus queridos pais Aurora e George, que me deram a vida e não só o necessário, mas o melhor para vivê-la. A eles devo toda a minha formação, por isso lhes pertence esta vitória.

À minha irmã Carolina e meu irmão Jorge, que sempre curiosos, torceram por mim e me motivaram em todos os momentos.

Ao meu amado “coração”, que cada dia ilumina minha existência e está sempre presente em cada momento, com quem compartilho minhas alegrias e tristezas, ao seu lado, nunca nada é fracasso, dedico-lhe este triunfo.

Aos meus amigos no Brasil, que forneceram condições e incentivo nesta campanha longe de casa, e sempre me fizeram sentir em família, para eles este trabalho.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer sinceramente a todas aquelas pessoas, com as quais sem seu apoio e colaboração não seria possível ser realizado este trabalho.

À *Deus*, pelo proporcionado, começando pela minha vida e a de todos meus seres amados.

Aos *meus pais*, pelo esforço, dedicação e presentes mais valiosos: a vida e o estudo.

Aos *meus irmãos*, pelo apoio incondicional e pelo incentivo em todos os momentos da minha vida.

Ao Guillermo, *meu coração*, pelo amor, carinho e compreensão, por ser amigo, colega e herói, a quem admiro e adoro com toda a minha alma.

Ao *Jaiver*, por ser mais que um colega, mais que um amigo, por ser um irmão, pelo carinho e presença em todo o momento, por aliviar minhas tristezas e festejar minhas alegrias

Ao *Vinicius* e à *Marcele*, meus queridos amigos brasileiros, por compartilhar comigo tantas coisas: almoços, jantas, tardes, noites, finais de semana; tantos momentos, memórias e às suas famílias, que me receberam com tanto carinho.

Às minhas valiosas amigas, *Silvia, Juliana, Albis e Natalia*, que desde longe, estiveram sempre presentes na minha vida com carinho e apoio inestimáveis.

Aos meus amigos da Colômbia no Brasil, *Lia, Kari, Olguita, Natis, Ruben, Hencho, Jairo, Ana Maria, David, Julian, Laura, Jairo T., Mónica, Oscar, Yurany, Luisa, Sergio, Laurita*, entre outros, pela amizade e companhia nesta etapa, pelos bons momentos e lembranças.

Aos meus amigos brasileiros, *Michelle, Ana, Tony, Marcio*, pela amizade e companheirismo durante este tempo que sempre será inesquecíveis.

Aos meus amigos de laboratório *Anderson, Aulus, Ana*, pela amizade e preciosa colaboração, pelas conversas, discussões e conselhos úteis.

À nossas mães na salinha, *Paula e Ingrid*, sempre prontas a ajudar todo em tudo que fosse preciso.

Ao *André*, pela amizade, profissionalismo e conhecimentos transmitidos.

Aos colegas do LOPCA/BIOFABRIS/UNICAMP, *Rodrigo, Milene, Betânia, Fernando, Juliana S., Patrícia F., Profa. Roberta, Caroline P.*, pela amizade, atenção e colaboração.

Ao *professor Rubens*, pela oportunidade, orientação, apoio, confiança e exemplo de profissionalismo.

Aos professores, funcionários da Faculdade de Engenharia Química, Departamento de Processos Químicos/ UNICAMP.

Aos membros da banca, Profa. Dra. Cecília e Dr. Otávio, por ajudar a melhorar e concluir minha dissertação

Hoje quisera ter as palavras de gratidão que gostaria que cada um de vocês ouvissem, mas para expressar um sentimento tão grande, só existe uma simples palavra: **Obrigada ☺.**

*As pessoas mais importantes na nossa vida,
são aquelas que estão sempre perto de nós,
mesmo que não estejam presentes.*

Resumo

Os recentes avanços em biomateriais, como polímeros biodegradáveis e bioreabsorvíveis, juntamente com o desenvolvimento de novas técnicas de biofabricação, estão permitindo criar dispositivos médicos que auxiliam na recuperação de tecidos e/ou órgãos danificados por traumas ou doenças, proporcionando melhor qualidade de vida e saúde pública. O Poli (ácido láctico) (PLA) é, dentre os biomateriais, um dos mais importantes para a produção destes dispositivos, devido às suas propriedades e por ser produzido a partir do ácido láctico, um ácido orgânico de origem biológica, o qual pode ser sintetizado via fermentativa, utilizando açúcares derivados de cana-de-açúcar, no qual o Brasil tem grande destaque mundial. O PLA pode ser obtido por diferentes rotas, mas independente da rota utilizada, requer um rigoroso controle de processo. As condições de operação deste tipo de síntese influenciam amplamente as características finais do produto. Neste contexto, estudar o comportamento do processo de produção de PLA é necessário para desenvolver estratégias de controle que permitam escolher as condições operacionais para obter um produto com as propriedades desejadas. Neste estudo, foi apresentada a síntese e caracterização de PLA por duas rotas convencionais: condensação direta de ácido láctico e síntese por abertura do anel a partir do lactídeo previamente sintetizado a partir de ácido láctico. Também foi realizada a análise das variáveis operacionais (temperatura e tempo de reação), assim como seus efeitos sobre as características do produto, através dos testes de polimerização realizados e da análise das propriedades dos polímeros obtidos. O projeto foi realizado em três partes: síntese do polímero, caracterização deste e comparação dos resultados obtidos pelos dois métodos. As duas rotas de polimerização do ácido láctico resultaram ser adequadas para a obtenção do PLA a partir de ácido láctico nas condições estudadas.

Abstract

Recent advances in biomaterials as biodegradable and bioabsorbable polymers, along with the development of new biomanufacturing techniques, are allowing to create medical devices that assist in tissue and/or organs repair damaged by trauma or disease, providing a better quality of life and public health. The Poly (Lactic Acid) (PLA) is, among the biomaterials, one of the most important for the production of these devices due to its properties and because it is produced from lactic acid, an organic acid of biological origin, which can be synthesized through fermentation using sugars derived from sugar cane, in which Brazil has great global leadership. The PLA can be obtained by different routes, but independent from that used, it requires a rigorous process control. The operating conditions of this kind of synthesis largely influence the final characteristics of the product. In this context, studying the behavior of the production process of PLA is required to develop control strategies that allow choosing the operating conditions for a product with the desired properties. In this study is presented the synthesis and characterization of PLA by two conventional routes: direct condensation of lactic acid and ring opening synthesis of lactide previously synthesized from lactic acid. Also carried out analysis of the operating variables (temperature and reaction time), as well as its effects on the characteristics of the product through of the polymerization tests performed and the analysis of the properties of polymers. The project was undertaken in three parts: polymer synthesis, characterization and comparison of the results obtained by two methods. The two routes of lactic acid polymerization were adequate for obtaining the PLA from lactic acid under the conditions studied.

Sumário

Epígrafe.....	xii
Resumo.....	xv
Abstract.....	xvii
Sumário.....	xix
Listas de Figuras.....	xxv
Listas de Tabelas.....	xxix
Nomenclatura.....	xxxi
Capítulo 1- Introdução.....	33
1.1. Objetivos.....	34
1.2. Organização do Trabalho.....	35
Capítulo 2- Biomateriais e Biofabricação.....	37
2.1 Introdução.....	37
2.2 Desenvolvimento.....	37
2.3 Conclusões.....	51
Capítulo 3 - Conceitos Fundamentais do Poli (ácido láctico).....	53
3.1 Introdução.....	53
3.2 Desenvolvimento.....	53
3.3 Conclusões.....	66
Capítulo 4: Materiais e Métodos.....	67

4.1. Introdução	67
4.2. Metodologia.....	67
4.3. Sistema Experimental para a Polimerização do PLA	68
4.4. Técnicas de Caracterização dos Produtos.....	72
Capítulo 5: Síntese Poli (ácido láctico) por Policondensação	77
5.1. Introdução	77
5.2. Desenvolvimento Experimental.....	77
5.2.1. Montagem do sistema de Policondensação direta	77
5.2.2. Síntese do PLA.....	78
5.3. Resultados da Síntese por DP de Ácido Láctico	79
5.3.1. Resultados dos testes iniciais.....	79
5.3.2. Resultados dos polímeros PLA.....	85
5.4. Conclusões	95
Capítulo 6: Síntese de PLA por Abertura de Anel	97
6.1. Introdução	97
6.2. Desenvolvimento Experimental.....	98
6.3. Resultados da síntese por ROP.....	100
6.4. Conclusões	113
Capítulo 7: Comparação dos polímeros obtidos por PD e ROP	115
7.1. Comparação estrutural via FTIR	115

7.2. Comparação das propriedades térmicas obtidas por DSC	115
7.3. Comparação das análises de MEV/EDS.....	116
7.4. Conclusões	117
Capítulo 8: Conclusões e Sugestões para Próximos Trabalhos.....	119
8.1. Conclusões	119
8.2. Sugestões para Trabalhos Futuros	120
Referências Bibliográficas	122

Listas de Figuras

Figura 1. Diagrama de blocos da metodologia do projeto.	67
Figura 2. Rotas convencionais de obtenção de PLA.	68
Figura 3. Sistema experimental para polimerização do PLA.	69
Figura 4. Sistema experimental para obtenção do Lactídeo.	70
Figura 5. Sistema experimental para obtenção de PLA por ROP.	70
Figura 6. Primeiros produtos obtidos por DP.	81
Figura 7. Reação de DP empregando-se elevada temperatura na produção do pré-polímero e menor temperatura na policondensação.	81
Figura 8. Termograma DSC do PLA DP3.	82
Figura 9. Termograma DSC do PLA DP5.	82
Figura 10. Análises FTIR do ácido láctico PLA DP4 e PLA DP5.	84
Figura 11. Análises FTIR do PLA DP 6h, PLA DP 8h e PLA DP 12h.	85
Figura 12. Micrografias da superfície e fratura do PLA DP.	86
Figura 13. Microanálise elementar MEV/EDS do PLA DP 8h.	87
Figura 14. Sistema experimental de obtenção do lactídeo.	99
Figura 15. Sistema experimental de síntese de PLA por ROP.	100
Figura 16. Sistema experimental de síntese de PLA por ROP.	100
Figura 17. Espectro de massas do L-láctideo obtido pela análise da amostra de produto da segunda etapa de polimerização por ROP.	103

Figura 18. Espectro de massas do L-láctideo obtido pela análise da amostra de produto da segunda etapa de polimerização por ROP.....	103
Figura 19. Cromatograma (GC-FID) obtido da amostra de produto da segunda etapa de polimerização por ROP.	104
Figura 20. Análises FTIR do lactídeo e o ácido láctico.....	105
Figura 21. PLA obtido por ROP em a)130 °C, b) 150 °C, e c) 170 °C.....	106
Figura 22. Análises FTIR do PLA ROP em 130, 150 e 170 °C.	107
Figura 23. Análises FTIR do PLA ROP em 150 para 10, 20 e 30 h.	107
Figura 24. Termograma DSC PLA ROP em 130 °C.....	108
Figura 25. Termograma DSC do PLA ROP em 150 °C.....	108
Figura 26. Termograma DSC do PLA ROP em 170 °C.....	109
Figura 27. Termograma DSC da alíquota do PLA ROP em 150°C tirada em 10h.	110
Figura 28. Micrografias da superfície e fratura do PLA ROP 130 (a e b), PLA ROP 150 (c e d) e PLA ROP 170 (e e f).	112
Figura 29. Microanálise elementar MEV/EDS do PLA ROP 150.....	112
Figura 30. Comparação do FTIR dos polímeros obtidos por policondensação direta (PLA DP 24h) e por abertura de anel (PLA ROP em 150°C e 30h).	115
Figura 31. Comparação do FTIR dos polímeros obtidos por: (a) policondensação direta (PLA DP 160 °C e 24h) e (b) abertura de anel (PLA ROP em 150°C e 30h.	116
Figura 32. Micrografias da superfície e fratura do PLA DP 12 (a e b) e o PLA ROP 150 (c e d).	117

Listas de Tabelas

Tabela 1. Reagentes utilizados na síntese e caracterização do PLA.....	71
Tabela 2. Testes preliminares da síntese de PLA.	80
Tabela 3. Bandas de absorção do PLA DP4, PLA DP5 e o ácido láctico.....	84
Tabela 4. Condições de operação avaliadas na obtenção do Lactídeo.	101
Tabela 5. Porcentagem de lactídeo obtidas nos teste 6, 7 e 8.....	102
Tabela 6. Seletividade dos isômeros formados na policondensação.	104
Tabela 7. Bandas de absorção do Lactídeo e o Ácido Láctico.....	105
Tabela 8. Propriedades térmicas dos polímeros de PLA ROP determinadas via análise DSC.....	109
Tabela 9. Propriedades térmicas dos polímeros de PLA ROP em 150 °C.....	111
Tabela 10. Propriedades térmicas dos polímeros de PLA ROP em 150 °C.....	116

Nomenclatura

PLA: em inglês, Poly (Lactic Acid) ou Poly (Lactide)

AL: em inglês, Lactic Acid

LOPCA: Laboratório de Otimização, Projeto e Controle Avançado

DP: em inglês, Direct Polycondensation

ROP: em inglês, Ring Openig Polimerization

PID: em inglês, Proportional Integral and Derivate Control

DSC: em inglês, Differential Scanning Calorimetry

Tg: Temperatura de Transição Vítreia (Glass transition temperature)

Tc: Temperatura de Cristalização

Tm: Temperatura de fusão (Melting point temperature)

FTIR: em inglês, Fourier Transform Infrared Spectroscopy

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

GC-MS: Gas Chromatography–Mass Spectrometry

GC-FID: Gas Chromatography - Flame Ionization Detector

FDA: em ingles, Food and Drug Administration

SnO: Óxido De Estanho

Sn(oct): Octanoato De Estanho

Mw: em inglês, Molecular Weight

Capítulo 1- Introdução

O desenvolvimento de biomateriais com as características necessárias para fabricar implantes (dispositivos) que auxiliem na recuperação de tecidos humanos danificados por acidentes ou doenças, é um dos maiores desafios de pesquisas que envolvem áreas como medicina e engenharia. No Brasil, estes dispositivos são conseguidos através do mercado internacional, o que, devido ao elevado custo das importações, pode inviabilizar sua utilização em massa (Janho, 2005). Dentre os biomateriais, os polímeros bioabsorvíveis são considerados uma ótima alternativa para o avanço e desenvolvimento de inúmeras aplicações biomédicas (Böstman, 1991; Barbanti *et al.*, 2005).

O poli (ácido lático) ou Poli (Lactídeo) (PLA) é um dos biopolímeros mais promissores devido à sua excelente biocompatibilidade, baixa toxicidade, boas propriedades mecânicas e ao fato de que este polímero pode ser produzido a partir de um ácido orgânico de ocorrência natural, sendo bioreabsorvível (Piaux *et al.*, 2007). O monômero inicial do PLA, o ácido lático (AL) é produzido naturalmente em plantas, animais e microrganismos, sendo que estes últimos podem ser utilizados para a produção industrial de AL, utilizando-se a fermentação de açúcares obtidos a partir de recursos renováveis como a cana-de-açúcar (Lunelli, 2010; Adsul *et al.*, 2007; Datta e Henry, 2006). A partir do AL podem ser sintetizados vários polímeros empregando-se processos diferentes, obtendo produtos com ampla variedade de propriedades químicas e mecânicas (Gupta *et al.*, 2007; Södergard e Stolt, 2002). Por estas características, o PLA e seus copolímeros estão se tornando amplamente utilizados na engenharia de tecidos para restauração da função de tecidos prejudicados (Nampoothiri *et al.*, 2010; Melchels *et al.*, 2010).

Apesar de existirem várias maneiras de fabricar PLA, nenhuma delas, conhecidas atualmente, é simples ou fácil de executar. A síntese de PLA exige rigoroso controle das condições (temperatura e vácuo), uso de catalisadores de polimerização e longos tempos de reação, o que implica em um consumo elevado de energia (Cheng *et al.*, 2009, Auras *et al.*, 2010). Dentre as diversas maneiras de se produzir o PLA, foram

estudados nesta dissertação os métodos mais comerciais: a policondensação direta do AL e a polimerização pela abertura do dímero cíclico do AL (lactídeo) (Dutkiewicz *et al.*, 2003; Auras *et al.*, 2010), levando-se em consideração que para maximizar os benefícios da utilização do PLA, é necessário compreender a relação entre as propriedades do material, o processo de fabricação e as características do produto final. Os dois processos de síntese são desenvolvidos e discutidos detalhadamente nas principais vantagens e desvantagens, dificuldades e desafios encontrados ao longo do projeto.

Através dos desenvolvimentos realizados em nesta dissertação foram obtidos polímeros de PLA a partir de ácido láctico a traves de duas rotas, a policondensação direta e a abertura de anéis.

Uma contribuição relevante deste trabalho foi o início de uma linha de pesquisa de produção de polímeros para utilização biomédica, a partir do desenvolvimento de um sistema e metodologia de síntese do poli (ácido láctico), os quais podem ser utilizados na produção de uma extensa variedade de produtos de diferentes características.

1.1. Objetivos

Alguns dispositivos médicos à base de polímeros bioabsorvíveis encontram-se disponíveis no mercado internacional, mas o alto custo das importações inviabiliza sua expansão no Brasil. Devido ao elevado interesse de empresas brasileiras que trabalham com dispositivos médicos nesta classe de polímeros, e considerando que o grande impedimento para este progresso no país é o custo da matéria-prima, esta dissertação teve como objetivo geral o estudo detalhado da síntese do poli (ácido láctico) a partir de ácido láctico, visando a obtenção de um produto competitivo e economicamente viável.

O Laboratório de Otimização, Projeto e Controle Avançado (LOPCA) da Faculdade de Engenharia Química, da UNICAMP, iniciou pesquisas voltadas ao desenvolvimento de

bioprodutos para área biomédica em 2009, não havendo trabalhos precedentes com este tipo de material. Assim, os objetivos deste projeto foram:

- ◆ Levantamento dos métodos e das condições de polimerização do poli (ácido láctico) (PLA) obtido a partir de ácido láctico.
- ◆ Desenho e elaboração da montagem do processo para polimerização do PLA, em escala de bancada, utilizando a policondensação e abertura de anéis dentro de um processo limpo, sem a utilização de solventes.
- ◆ Produção e caracterização de PLA a partir do monômero pela rota direta (policondensação).
- ◆ Produção e caracterização de PLA a partir do monômero pela rota de abertura de anéis.
- ◆ Comparação dos produtos obtidos pelas duas rotas.
- ◆ Avaliação e estabelecimento das melhores condições operacionais

1.2. Organização do Trabalho

Este trabalho está organizado da seguinte maneira:

O Capítulo 1 apresenta os objetivos gerais e específicos e a própria organização deste trabalho.

O Capítulo 2 descreve os conceitos e informações básicas sobre Biomateriais e Biofabricação. Intitulado “Conceitos Fundamentais sobre Poli (ácido láctico)”.

O Capítulo 3 apresenta uma breve revisão bibliográfica sobre os assuntos de maior importância para o desenvolvimento deste trabalho, tais como, propriedades e

produção de ácido láctico via fermentativa e síntese e características do PLA, assim como suas aplicações como biomaterial na área médica.

No Capítulo 4, “Materiais e Métodos” são apresentadas as etapas da metodologia para o desenvolvimento da síntese e caracterização do PLA, assim como os materiais e reagentes utilizados. Também são descritas as técnicas utilizadas para avaliar as propriedades dos produtos obtidos na síntese do Poli (ácido láctico).

No Capítulo 5, intitulado “Síntese de Poli (Ácido Láctico) por Policondensação Direta”, são apresentados os testes realizados para selecionar as condições de processo da síntese de PLA pela rota de policondensação direta, assim como os resultados obtidos na caracterização dos polímeros obtidos nas condições escolhidas.

Os resultados obtidos no processo de síntese por abertura de anel são considerados no Capítulo 6. Estudos realizados para avaliar a produção de lactídeo a partir do ácido láctico, também são apresentados neste capítulo. A comparação dos produtos obtidos em cada um dos processos de polimerização do ácido láctico, tanto por policondensação direta quanto por abertura de anel, faz parte ainda do deste capítulo.

Para terminar, o Capítulo 7 apresenta as conclusões deste trabalho e sugestões para trabalhos futuros.

Capítulo 2- Biomateriais e Biofabricação

2.1 Introdução

O uso de biomateriais como matéria-prima para as novas técnicas de prototipagem rápida usadas na biofabricação, proporcionou a condição adequada para fazer implantes de forma direta, apresentando excelente conformidade anatômica e podendo ser concebidos especificamente para cada paciente (Mironov *et al.*, 2009; Ma, 2008; Melchels *et al.*, 2010). Este tipo de implante está associado a uma microestrutura porosa tridimensional (*scaffolds*) que contribui para o crescimento dos tecidos que estão sendo substituídos pelo implante temporário o qual é degradado e reabsorvido (Melchels *et al.*, 2009; Barnes *et al.*, 2007). No entanto, para aproveitar ao máximo os benefícios deste processo de fabricação, é necessário entender as relações entre as propriedades dos materiais, o procedimento de fabricação e as características do produto final desejado.

Neste capítulo serão apresentados os principais assuntos relacionados à importância do desenvolvimento de biomateriais para aplicação biomédica. Foi elaborado um artigo de revisão crítica dos avanços em biomateriais, métodos de fabricação e ferramentas para modelagem e simulação, para aplicação em engenharia de tecidos.

2.2 Desenvolvimento

O desenvolvimento deste capítulo foi baseado no artigo intitulado *Advances In Tissue Engineering: Biomaterials And Biomanufacturing Techniques*, submetido ao periódico internacional *Trends In Biotechnology* e atualmente em fase de revisão.

ADVANCES IN TISSUE ENGINEERING: BIOMATERIALS AND BIOMANUFACTURING TECHNIQUES

Guillermo A. R. Martinez^{1,2}, Astrid J. R. Lasprilla^{1,2}, Betânia H. Lunelli^{1,2}, André L. Jardini^{1,2}, Rubens Maciel Filho^{1,2}

¹Laboratory of Optimization, Design and Advanced Control,
School of Chemical Engineering, State University of Campinas, Campinas (SP), Brazil

²Institute of Biofabrication, Campinas (SP), Brazil

Corresponding author: Martinez, G.A.R. (grueda@feq.unicamp.br).

The use of biomaterials as a raw material for new biomanufacturing rapid prototyping techniques has created condition for direct making implants which exhibit excellent anatomical conformity, having been designed specifically for the patient, associated with a microstructure (scaffolds) that contribute to the growth of tissues. However, to take advantage full benefits of this manufacturing procedure is necessary to understand the relationships between the materials proprieties, the manufacture procedure itself and the end product desired characteristics. This paper intends to be a contribution through a critical review of the advances in biomaterials, fabrication methods and tools for modeling and simulation for application in bone tissue engineering. These topics are closed linked as far as rapid and tailor made biomaterials are concerned.

1. Introduction

The advances in modern medicine and engineering techniques, combined with the increase life expectancy, have allowed the development of techniques for biomanufacturing and biomaterials that create a better life quality. These techniques should enable to copy or at least to reproduce closely living structures, both in form and function, making it possible to replace defective or missing tissue. Advanced techniques of rapid prototyping able to manipulate and to deposit living cells in a process of building pieces in a layer by layer, may revolutionize the biomanufacturing procedures. Ultimately, it should be able to produce, or to lead closely to that, direct tissue and even whole organs. The use of biomaterials as a raw material for rapid prototyping has created condition for direct making (without model, defined as functional model) of implants (biomanufacturing). The implants built using such an approach, differently of the conventional procedures, exhibit excellent anatomical conformity, having been designed specifically for the patient, associated with a microstructure (scaffolds) that contribute to the growth of tissues.

Tissue engineering is one of the most important areas of material science, in which multidisciplinary scientists are contributing to human health care, combining knowledge in medicine, biology and engineering integrated technology of cells, engineering materials, and suitable biochemical factors to create artificial organs and tissues, or to regenerate damaged tissues [1]. The advent of tissue engineering has been motivated by the challenge of producing tissue substitutes that can restore the structural features and physiological functions of natural tissues in vivo [2-4].

Beforetime, metallic and ceramic implants (usefully in orthopedic implants), synthetic biocompatible materials, and tissue grafts from human cadavers and other species have been the mainstream choices for restoration of lost tissues and organs [5]. However, metals and ceramics are not biodegradable and their processability is very limited. These conventional “durable” materials for tissue/organ repair have been conceptually challenged by recent advances in developing of biocompatible, biodegradable and bioabsorbable polymers that are capable of accommodating cell-drive tissue formation and undergo degradation [5-7].

The interest in using the bioabsorbable polymer is mainly because they are degraded by hydrolysis; thereby preventing the patient undergoes a second surgery to remove the device, reducing

cost and trauma. Synthetic polymers can stimulate isolated cells to regenerate tissues. Currently they are being extensively studied as scaffolds for cell transplantation both in vitro and in vivo [1,8-16].

The present review focuses on the recent advances in the tissue engineering, biomaterials applications, techniques for scaffolds production, with the aim of demonstrate the integration of these advanced technologies for biomanufacturing and biomaterials that create a better life quality.

2. Tissue Engineering

Tissue engineering can be defined as the application of biological, chemical and engineering principles toward the repair, restoration or regeneration of living tissues using biomaterials, cells and factors, alone or in combination [1,17]. Over the past decades, the main goal of tissue engineering is to surpass the limitations of conventional treatments based on organ transplantation and biomaterial implantation [18] using cells to regenerate the damage tissue, leaving only natural substances to restore organ function [7,19,20]. Current advances of engineering composite tissue constructs to repair multi-cell lineage tissue and organs represent a beginning rather than an end [5]. Tissue engineering is the most fascinating domain of medical technology where patients with organ defects and malfunctions are treated by using their own cells, grown on a polymer support so that a tissue part is regenerated from the natural cells [21].

Tissue engineering involves the expansion of cells from a small biopsy, followed by the culturing of the cells in temporary three-dimensional scaffolds to form the new organ or tissue. Isolated and expanded cells adhere to the temporary scaffold in all three dimensions, proliferate, and secrete their own extracellular matrices, replacing the biodegrading scaffold [6]. A critical challenge in tissue engineering is to regenerate tissues that grow and/or remodel in concert with the changing needs of the human body [5].

Tissue engineering presents enormous challenges and opportunities for materials science from the perspective of both materials design and processing [7]. Many artificial prosthetic devices are available to replace connective tissues such as joints, heart valves, blood vessels, and breasts, few synthetic devices are able to perform adequately over the lifetime of the patient and devices vary greatly in their abilities to completely replace all the functions of the native tissue [7].

Biodegradable scaffold play an important role in tissue engineering by supplying a three-dimensional (3D) substrate for cell expansion and tissue organization [6,22,23]. Scaffold must provide sufficient mechanical strength and stiffness to substitute initially for wound contraction forces, and later for the remodeling of the tissue [22].

2.1. Biomaterials

Biomaterials are described as derived materials from biological sources or those used for therapies in the human body [7]. The development of bioabsorbable and biodegradable materials with required characteristics for application in tissue engineering is one of the great challenges of research biomedical field.

Emerging applications in tissue engineering and drug delivery rely primarily on materials that resorb or degrade in body fluids so that the device ultimately disappears with no ill effects. Degradable polymers undergo extensive chain scission to form small soluble oligomers or monomers. Degradation may proceed by a biologically active process (e.g. enzymes present in body fluids participate) or by passive hydrolytic cleavage. Resorbable polymers gradually dissolve and are eliminated through the kidneys or other means [7].

Bioabsorbable materials have been used extensively in medicine, since they may lead to less implant morbidity and subsequent stiffness, and they have additional advantages: they are

radiolucent, they eliminate hardware removal procedures, they limit stress shielding, and they incrementally transfer load to healing fractures [24].

Biomaterials used in tissue engineering scaffold fabrication can be divided into broad categories of synthetic or naturally derived, with a middle ground of semi-synthetic materials rapidly emerging [7]. The synthetic polymers can be easily mass-produced and their properties can be tailored for specific applications [19].

With their excellent biocompatibility, important renewable feature, biodegradability, and other important properties, poly-lactones such as poly-lactic acid (PLA), poly-glycolic acid (PGA), and poly-caprolactone (PCL), as well as their copolymers are becoming the most commonly used synthetic biodegradable polymers in the medical application [25,26]. They owe their broad use on their good biocompatibility and non-toxic degradation products (lactic acid and glycolic acid), which are produced by simple chemical hydrolysis (i.e., non-enzymatically; making their degradation rate highly consistent and predictable) and eliminated through normal metabolic pathways. The degradation rate and mechanical modulus of these polymers can easily be regulated by varying the lactide/glycolide ratio and polymerization conditions [27].

While biomaterials prepared from poly(lactic acid) are well tolerated by the body, producing minimal inflammation upon implantation, the lactic acid degradation product that is released and can dissociate to lactate may influence the metabolic function of cells in close proximity to the implant. In addition to its role as an energy substrate for cells, lactic acid has been shown to have antioxidant properties that may serve to protect cells from damage due to free radicals that are naturally produced throughout a cell's life cycle [28].

Lactic acid is a chiral molecule, existing in L and D isomers (the L isomer is the biological metabolite), and thus "poly-lactic acid" actually refers to a family of polymers: pure poly-L-lactic acid (PLLA), pure poly-D-lactic acid (PDLA), and poly-D,L-lactic acid (PDLLA) [7]. PLA is a highly versatile biodegradable polymer which can be tailor-made into different resin grades for processing into a wide spectrum of products. More importantly, the polymer can be processed using the conventional production infrastructure with minimal equipment modification [29].

The L-isomer constitutes the main fraction of PLA derived from renewable sources since the majority of lactic acid from biological sources exists in this form. Depending on the composition of the optically active L- and D, L-enantiomers, PLA can crystallize in three forms (α , β and γ) [29]. The PLLA, has distinguished by their excellent biocompatibility and mechanical properties. However, the long period required for its total degradation, coupled with the high crystallinity of its fragments can cause serious inflammatory reactions in the body. To reduce the crystallinity of PLLA can be used as a material combination of monomers L-lactic and D, L-lactic acid, and the latter is characterized by being rapidly degraded and do not generate crystalline fragments during this process [30].

Poly-caprolactone is a semi-crystalline, bioresorbable polymer belonging to the aliphatic polyester family. It is regarded as a soft and hard tissue-compatible bioresorbable material and has been used as scaffold for tissue engineering [31]. It has similar biocompatibility to PLA and PGA, but a much lower degradation rate [32].

Other important synthetic biodegradable polymers include poly-ortho esters and poly-anhydrides (from non-physiological monomers), with biocompatible and well-defined degradation characteristics. They are primarily designed for controlled drug delivery; however they have also been explored for use in tissue engineering [33]. Poly-propylene fumarate (PPF) is linear polyester that contains multiple unsaturated double bonds that are available for covalent crosslinking of the polymer in the presence of free radical initiators [34], and can degrade through hydrolysis of the ester bonds [35]. An advantage of PPF over many other biodegradable synthetic polymers is that it can be utilized as an injectable system. Crosslinked PPF is biocompatible and osteoconductive, and this osteoinductive property can be improved with calcium phosphates [36].

2.2. Scaffolds

The concept of an implant of key units (cells or proteins) inside a biodegradable porous material is known as a “scaffold” [37]. In theory, tissue scaffolds should be designed to have special characteristics in order to function as true tissue substitutes that satisfy the patient-specific necessities [38].

Tissue engineering holds great promise as a method of providing fully functional organs to counter the growing problem of donor organ shortage. Numerous approaches have been developed to form and process polymers for use in tissue engineering, and each distinct process possesses unique features and utility to form scaffolds for tissue engineering applications [17].

Scaffolds provide the temporary structural framework and initial support for the cells to attach, proliferate and differentiate, and form an extracellular matrix and other functional components in the intended shape and dimensions which provides the structural integrity of new tissue [39]. Upon neogenesis of tissue or organs derived from stem cells, scaffolds undergo degradation [5].

The scaffold also serves as a carrier for cells, growth factors or other biomolecular signals. It is vital for the scaffold to mimic the structure and properties of human tissue to direct the macroscopic process of tissue formation [22,40]. Scaffolds must direct the arrangement of cells in an appropriate three-dimensional configuration and present molecular signals in appropriate spatial and temporal manner so that the individual cells will form the desired tissue structures and will do so in a way that can be carried out reproducibly economically and on a large scale [7].

A successful scaffold should be designed to have special characteristics in order to function as true tissue substitutes that satisfy the patient-specific biological, mechanical and geometrical requirements [21], and balance mechanical function with biofactor delivery, providing a sequential transition in which the regenerated tissue assumes function as the scaffolds degrades [37]. In bone tissue engineering, an ideal scaffold should have the following characteristics: (a) surface: suitable surface for cell attachment, proliferation, and differentiation; (b) architecture: three-dimensional and highly porous with an interconnected pore network for cell migration and transport of nutrients and metabolic waste; (c) mechanical property: a transitional structure with proper mechanical properties to allow the transfer of appropriate amount of biomechanical stress to the seeded cells; (d) degradation property: biocompatible and bioresorbable with a controllable degradation rate to match tissue growth, with degradation products being nontoxic and easily excretable [16,22,38,41].

Bioceramics and biopolymers such as PLA, PGA and their co-polymer PLGA have been extensively used as scaffolds biomaterials for cartilage tissue engineering and for various biomedical applications due to its favorable characteristics, as biocompatibility, biodegradability and mechanical property profile [6,35,42,43]. Example of scaffold used in the tissue engineering is shown in Fig. 1.

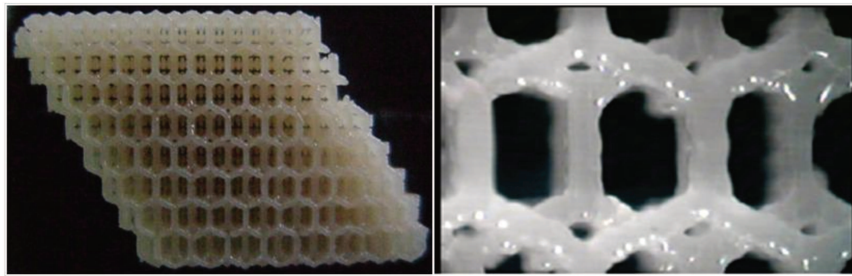


Figure 1. Image of 3D scaffolds used in tissue engineering produced by rapid prototyping [44].

The scaffold attempts to mimic the function of the natural extracellular matrix. The primary roles of scaffold are: (a) to serve as an adhesion substrate for the cell, facilitating the localization and delivery of cells when they are implanted; (b) to provide temporary mechanical support to the newly grown tissue by defining and maintaining a 3D structure and (c) to guide the development of new tissues with the appropriate function [14]. The most common biopolymers used for scaffolds are indicated in Table 1.

Table 1. Biopolymers used for tissue scaffolds.

<i>Polymer</i>	<i>Type</i>	<i>References</i>
<i>Synthetic</i>	Poly-glycolic acid	[38,43]
	Poly-lactic acid	
	Poly-ethylene glycol	
<i>Natural</i>	Collagen	
	Hyaluronic acid	
	Alginate	
	Agarose	

2.3. Bio- manufacturing Techniques to Produce Scaffolds

Many ways to produce scaffolds have been developed [18] and these can be classified in two main groups: conventional techniques [8,17,45-47] and advanced processing methods [48-50]. However theses have inherent limitations in these processing methods, which offer little capability precisely to control pore size, pore geometry, pore interconnectivity, spatial distribution of pores and construction of internal channels within the scaffold.

The technique used to manufacture scaffolds for tissue engineering is dependent on the properties of the polymer and its intended application [51]. It must allow the preparation of scaffolds with complex 3D geometries with controlled porosity and pore size, since these factors are associated with supplying of nutrients to transplanted and regenerated cells and thus are very important factors in tissue regeneration [51,52]. A brief review some of these conventional techniques [17] to produce scaffolds is presented in Table 2.

Table 2. Conventional biomanufacturing techniques for scaffolds.

<i>Technique</i>	<i>Characteristics</i>	<i>Comments</i>	<i>References</i>
<i>Solvent casting</i>	Polymer dissolved in a suitable solvent is poured into a mold. The solvent is then removed, polymer set in the desired shape.	Simple method. This method is limited in the shapes that can be obtained.	[17]
<i>Membrane lamination</i>	Membranes fabricated for phase inversion, thermal gelation, diffusion induced precipitation and post-treatments of dense films.	Investigated to develop implants containing living cells. Membrane strength and transport properties are critical to any implantation systems.	[17]

<i>Freeze-drying</i>	An emulsion is created and rapidly cooling removing the solvent by freeze-drying.	Scaffolds with high porosity, control pore sizes ranging between 20 and 200 μm and possibility to incorporate protein-based growth.	[17]
<i>Polymer-ceramic</i>	Ceramics combined with polymers improve the polymer's strength, porosity, and ability to encourage bony ingrowth.	Polymer/ceramic composite scaffolds have been developed for bone tissue engineering [23]	[17,23]
<i>Phase separation</i>	Polymer solution is carry out by non-solvent, chemically or thermally induced phase separation.	The pore morphology varies depending on the polymer, solvent, concentration of the polymer solution, and the phase separation temperature.	[17]
<i>Polymerization</i>	Poly-ethylene glycol-multi-acrylate and poly-2-hydroxyethyl methacrilate (PHEMA) can be cross linked or polymerized in situ to form scaffolds.	Scaffolds formed by polymerization offer advantages over other scaffolding techniques because of the simplicity of the process. Also, these have demonstrated cell invasion <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> .	[17]
<i>Gas foam</i>	A supercritical fluid of an atmospheric gas (e.g., CO ₂ or N ₂) is injected into the polymer to form pores within.	It has advantages like ability to form scaffolds containing bioactive factors, and eliminating the requirement of organic solvents and high temperatures for fabrication.	[17]

There are inherent limitations in these processing methods, which offer little capability to control size, geometry, interconnectivity and spatial distribution pores and construction of internal channels within the scaffolds [18]. Furthermore these techniques involve the use of toxic organic solvents, long fabrication times and labor intensive processes [53].

To allow greater control over scaffold architecture than isotropic methods, sophisticated techniques have been recently developed [37,54]. These techniques use computer assisted design procedures to create customized 3D structures with well-defined internal architecture. The rapid prototyping (RP) is seen to be a viable alternative for achieving extensive and detailed control over scaffold architecture, and can be coupled to imaging data to approximate the anatomical defect to be repaired.

2.4. Rapid Prototyping (RP)

Rapid Prototyping represents a new group of non-conventional fabrication techniques recently introduced in the medical field. The main advantages are both the capacity to rapidly produce very complex 3D models and the ability to use several raw of biomaterials [44].

RP is a common name for a group of techniques that can generate a physical model directly from computer-aided design data. Using the rapid prototyping technologies, the objects are manufactured by adding the material in successive layers. The right RP technology is chosen according to the purpose of model itself as well as demanding accuracy, surface finish, and visual appearance of internal structures, number of desired colors in the model, strength, material, and mechanical properties. Finally 3D virtual model in STL format should be inputted into the RP commercial software for production of 3D physical model [55]. Figure 2 provide a general overview of the necessary steps to produce rapid prototyping scaffolds for tissue engineering.

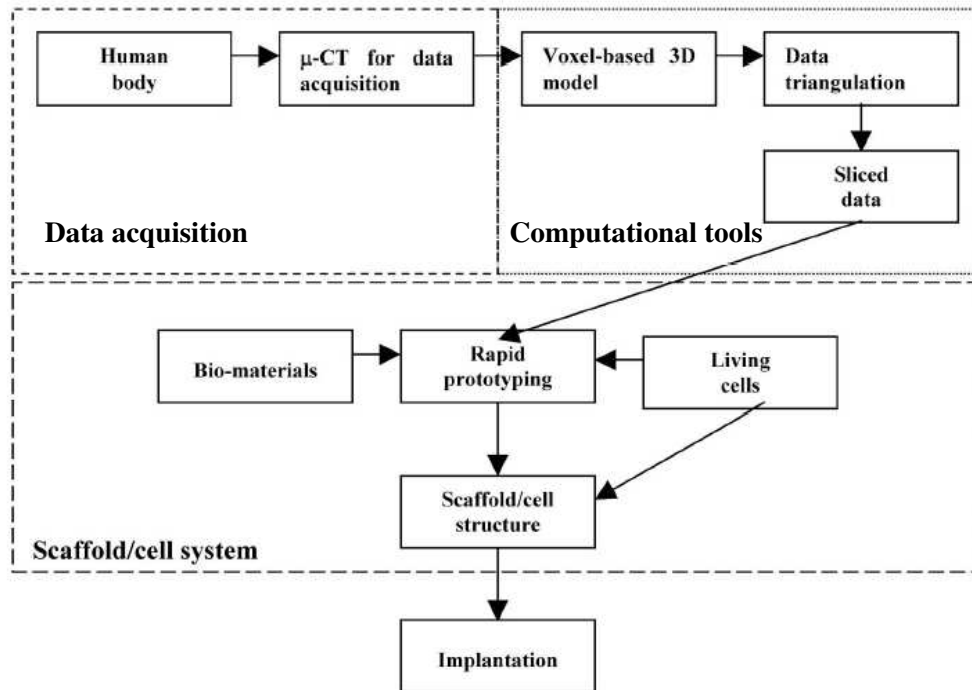


Figure 2. Step by step process for rapid prototyping scaffolds. This process start with the data acquisition of body parts from imaging methods (for example: X-ray micro computer tomography (μ -CT), Nuclear Magnetic Resonance (MRI), and ultrasound (US)). Then, the corresponding computer solid model is generated by either, the aid of 3D CAD software or imported from 3D scanners. The model is then transformed into specific computer language (STL file), and mathematically cut to play for thin layers (model sliced). Finally, the rapid prototyping (RP) systems use the slice data to replicate a physical object layer by-layer. [44].

Rapid prototyping techniques are very specialized technologies in terms of material processability. Its medical models have found application for planning treatment for complex surgery procedures, training, surgical simulation, diagnosis, design and manufacturing of implants as well as medical tools [55]. This fabrication method offers the flexibility and capability to couple the design and development of a bioactive scaffold with the advances of cell-seeding technologies [18]. The scaffold degradation and resorb properties should be improved too, because its dependence on both, structural and chemical features [18,56]. Figure 3 shows the whole cycle of the computer aided tissue engineering technology.

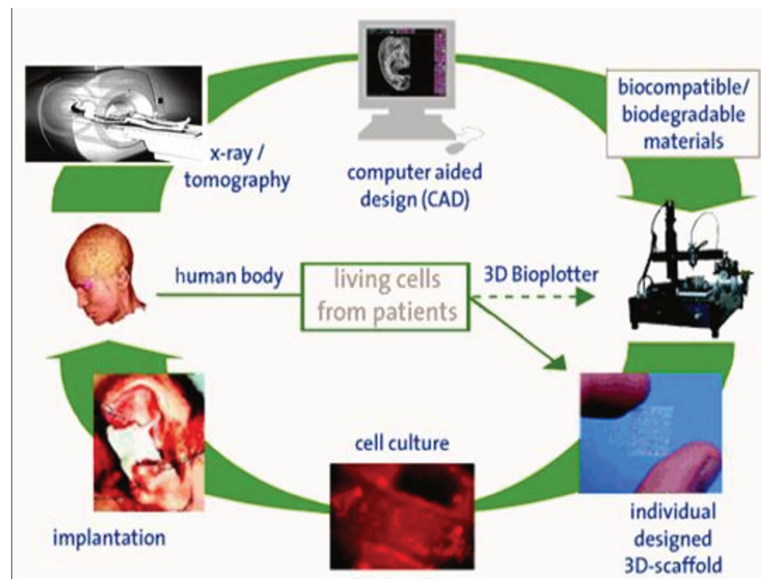


Figure 3. Computer aided tissue engineering technology integration. The new tissue engineering technologies join together medicine, biology and engineering for manufacturing implants according to the patient's specific necessity (see www.envisiontec.de).

The most important rapid prototyping processes are photo-polymerization processes, laser sintering processes, sheet lamination processes, extrusion processes, ink-jet printing [41,44,54,57,58]. The main advantages and limitations of rapid prototyping scaffolds for tissue engineering are listed in Table 3.

Table 3. Advantages and limitations of the rapid prototyping.

<i>Rapid Prototyping</i>	<i>Advantages</i>	<i>Limitations</i>	<i>References</i>
Photo-polymerization Processes	Relative easy to achieve small feature	Limited by the development of photo-polymerisable, biodegradable and biocompatible materials; low geometrical complexity; limited to reactive and mostly toxic resins	[43,53,56,57]
Laser sintering processes	Relative higher scaffold strength; solvent free	Materials trapped in small inner holes is difficult to be removed; high temperatures in the chamber	[40,43,53,56]
Sheet lamination processes	Solvent free	Materials trapped in small inner holes is impossible to be removed	[43,53,56]
Extrusion processes	No materials trapped in the scaffold; solvent free	High heat effect on raw material: low geometrical complexity	[43,53,56]
Ink-jet printing	Low heat effect on raw powder; easy process; low cost	Materials trapped in small inner holes; lack of mechanical properties	[43,53,56,57]

The virtual model of internal structures of human's body, which is needed for final production of 3D physical model, requests very good segmentation with a good resolution and small dimensions of pixels. This demands good knowledge in this field which should help engineers to exclude all structures which are not the subject of interest in the scanned image and choose the right region of interest (separate bone from tissue, include just part of a bone, exclude anomalous structures, noise or other problems which can be faced). Depending on complexity of the problem this step usually demands collaboration of engineers with radiologists and surgeons who will help to achieve good segmentation, resolution and a finally accurate 3D virtual model [59].

3. Applications

The scaffolds advances provide well-defined porous structure and have proved to be excellent support matrixes for the seeding of large variety of cells. One of the most important interests in tissue engineering has been the development of 3D biodegradable scaffolds that guide cells to form functional tissue. For example, PLLA rods with stem muscle cells were used as scaffolds for bone formation in muscle by free tibial periosteal grafts [16,21]. Alternatively, when tissue specific expression is required, scaffolds can be used to facilitate delivery and engraftment of cells into a specific anatomic location for the treatment of cardiovascular, neurological, and orthopedic conditions for instance [27].

Another research involves using islet cells to produce and regulate insulin, particularly in cases of diabetes. Liver protein deficiencies such as the hemophilia and metabolic liver diseases are a major class of monogenic diseases that could benefit from 3D scaffolds. Ectopically implanted gene-engineered cells seeded onto a 3D porous scaffold can provide long-term systemic protein delivery in a safe and potentially reversible manner. These scaffolds have not yet been thoroughly tested in vivo, but the relatively simple tissue architecture and good regenerative properties of the liver should facilitate the development of bioartificial livers for partial liver replacement or ectopic implantation [27].

A wide variety of materials are being developed for tissue engineering applications that involve the delivery of cells. The field of cell and gene therapy for neurological disorders is still very young but already shows great promises. Attempts for in vitro culture of nerve stem cells on porous polymeric nano-fibrous scaffold from PLLA were developed with exciting results [60]. The main challenge remains the identification of an appropriate cell source that could be used clinically. These cells coupled to an appropriate scaffold could direct neural progenitor cells differentiation and fate toward an appropriate phenotype leading to regeneration of the injured tissue [27].

Bone graft is often required to repair lesions caused by cancer, trauma (non-union fractures), for spine fusion, revision total joint arthroplasty, maxillofacial reconstruction, and segmental bone defect [61], studied the design and manufacturing of different bioabsorbable scaffolds for guided bone regeneration and generation to be used as bone fixation devices.

The biology and fate of osteogenic stem cells (MSC) seeded on calcium phosphate ceramics has been thoroughly studied both in vitro and in vivo. MSC seeded on these materials and implanted in bone defects or subcutaneously can recapitulate both developmental processes of bone formation: endochondral ossification and intramembranous ossification [62,63]. Three dimensional porous scaffolds seeded with MSC engineered to produce osteogenic proteins have also been tested in large animal models and showed promising results [64].

Three-dimensional porous scaffolds at the cell-based gene therapy for cardiovascular diseases have mainly been considered for myocardial regeneration after infarction or for peripheral arterial diseases. The scaffold should allow long-term survival, migration, and proliferation of

cardiomyogenic cells, but also support functional (electrical, mechanical, tissular) integration with adjacent tissue and sustain the mechanical stress in the heart [27].

Bioartificial muscle tissues are also needed for the treatment of various myopathies caused by trauma or muscular dystrophies [65]. Different biomaterials have been shown to increase muscle progenitor cells engraftment in skeletal muscle. These include matrigel, collagen gels, fibrin gels, PLA, and PGA [27].

Regeneration of bone and cartilage defects can be accelerated by localized delivery of appropriate growth factors incorporated within biodegradable carriers. Synthetic polymers are the most widely used materials as growth factor delivery carriers in tissue engineering. Culture using scaffolds have been created to obtain large amounts of chondrocytes with a well-maintained phenotype for cartilage tissue engineering [66]. An exciting application, for which biodegradable polymers offer tremendous potential, is drug delivery. The factors that affect the degradation and drug-release rate of bio-erodible polymers have been studied looking for better control in biomedical applications [67].

Nutrient limitation to cells is a major hurdle to overcome in building 3D scaffolds. In 2009, scaffolds of stacked multi-layered porous sheets were developed featuring micro-channels fabricated by phase separation micromolding using poly (L-lactic acid) (PLLA). These porous micropatterned scaffolds can be used for multi-layer tissues (e.g. blood vessels) for culturing different cell types on various layers [68].

4. Conclusion

The growing number of publications has shown the great interest in developing highly porous biodegradable and bioabsorbable scaffolds suitable for use in tissue engineering. Tissue engineering may be considered a fascinating domain of medical technology where patients with organ defects and malfunctions are treated by using their own cells, grown on a polymer support so that a tissue part is regenerated from the natural cells. Numerous approaches have been developed to form and process polymers for use in tissue engineering, and each distinct process possesses unique features and utility to form scaffolds for tissue engineering applications. Among the different techniques for production of tissue scaffold the rapid prototyping represent a new group of non-conventional fabrication techniques with great capacity to produce scaffold with customized external shape and predefined internal morphology, and the ability to use several raw of biomaterials.

Acknowledgements

The authors wish to acknowledge the financial support provide by FAPESP (The Scientific Research Foundation for the State of São Paulo), CNPq (National Council for Scientific and Technological Development) and INCT-BIOFABRIS (National Institute of Science and Technology in Biofabrication).

References

- [1] Langer, R. and Vacanti, J.P. (1993) Tissue engineering. *Science* 260, 920-926.
- [2] Valonen, P.K. et al. (2010) In vitro generation of mechanically functional cartilage grafts based on adult human stem cells and 3D-woven poly(3-caprolactone) scaffolds. *Biomaterials* 31, 2193-2200.
- [3] Freed, L.E. et al. (2009) Advanced material strategies for tissue engineering scaffolds. *Adv. Mater.* 21, 3410-3418.
- [4] Kneser, U. et al. (2006) Tissue engineering of bone: the reconstructive surgeon's point of view. *J. Cell. Mol. Med.* 10,7-19.

- [5] Rahaman, M.N. and Mao, J. J. (2005) Stem cell-based composite tissue constructs for regenerative medicine. *Biotechnol. Bioeng.* 91, 261-284.
- [6] Chen, G. et al. (2002) Scaffold design for tissue engineering. *Macromol. Biosci.* 2, 67-77.
- [7] Griffith, L.G. (2000) Polymeric biomaterials. *Acta Mater.* 48, 263-277.
- [8] Doroski, D.M. et al. (2007) Techniques for biological characterization of tissue-engineered tendon and ligament. *Biomaterials* 28, 187-202.
- [9] Ma, Z. et al. (2005) Potential of nanofiber matrix as tissue-engineering scaffolds. *Tissue Eng.* 11, 101-109.
- [10] Dai, W. et al. (2010) The influence of structural design of PLGA/collagen hybrid scaffolds in cartilage tissue engineering polymers. *Biomaterials* 31, 2141-2152.
- [11] Wang, C. et al. (2007) The alteration of cell membrane charge after cultured on polymer membranes. *Biomaterials* 28, 625-631.
- [12] Toyokawa, N. et al. (2010) Electrospun synthetic polymer scaffold for cartilage repair without cultured cells in an animal model. *Arthroscopic* 26, 375-383.
- [13] Hu, J. et al. (2010) Porous nanofibrous PLLA scaffolds for vascular tissue engineering. *Biomaterials* 31, 7971-7977.
- [14] Kulkarni, M. et al. (2010) Liposomal gene delivery mediated by tissue-engineered scaffolds. *Trends Biotechnol.* 28, 28-36.
- [15] Soletti, L. et al. (2010) A bilayered elastomeric scaffold for tissue engineering of small diameter vascular grafts. *Acta Biomater* 6, 110-122.
- [16] Chen, Y. et al. (2006) PLLA scaffolds with biomimetic apatite coating and biomimetic apatite/collagen composite coating to enhance osteoblast-like cells attachment and activity. *Surf. Coat. Technol.* 201, 575-580.
- [17] Atala, A. and Lanza, R.P., eds (2002) *Methods of tissue engineering*, Elsevier.
- [18] Yeong, W.Y. et al. (2004) Rapid prototyping in tissue engineering: challenges and potential. *Trends Biotechnol.* 22, 643-652.
- [19] Hacker, M.C. and Mikos, A.G. (2010) Synthetic Polymers. In *Principles of Regenerative Medicine* (2nd Edn), (Atala, A., Lanza, R.P., Thomson, J.A. and Nerem, R., eds), pp. 587-622, Elsevier Inc
- [20] Chiu, L.L.Y et al. (2010) Tissue engineering. *Compr. Nanosci. Technol.* 2, 175-211.
- [21] Gupta, B. et al. (2007) Poly(lactic acid) fiber: An overview. *Prog. Polym. Sci.* 34, 455-482.
- [22] Liu, C.Z. and Czernuszka, J. T. (2007) Development of biodegradable scaffolds for tissue engineering: a perspective on emerging technology. *Mate. Sci Technol.* 23, 379-391.
- [23] Nejati, E. et al. (2009) Needle-like nano hydroxyapatite/poly(L-lactide acid) composite scaffold for bone tissue engineering application. *Mater. Sci. Eng.,C* 29, 942-949.
- [24] Hughes, T.B. (2006) Bioabsorbable implants in the treatment of hand fractures: an update. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 445, 169-174.
- [25] Cheng, Y. et al. (2009) Polylactic acid (PLA) synthesis and modifications: a review. *Front. Chem.China* 4, 259-264.
- [26] Nair, L.S. and Laurecin, C.T. (2007) Biodegradable polymers as biomaterials. *Prog. Polym. Sci.* 32, 762-798.
- [27] Coutu, D.L. et al. (2009) Three-dimensional porous scaffolds at the crossroads of tissue engineering and cell-based gene therapy. *J. Cell. Biochem.* 108, 537-546.
- [28] Lampe, K.J. et al. (2009) Impact of lactic acid on cell proliferation and free radical induced cell death in monolayer cultures of neural precursor cells. *Biotechnol. Bioeng.* 103, 1214-1223.
- [29] Lim, L.T. et al. (2008) Processing technologies for poly(lactic acid). *Prog. Polym. Sci.* 33, 820-852.
- [30] Hirata, M. and Kimura, Y. (2008) Thermomechanical properties of stereoblock poly(lactic acid)s with different PLLA/PDLA block compositions. *Polymer.* 49, 2656-2661.
- [31] Luetzow, K. et al. (2007) Formation of poly(ϵ -caprolactone) scaffolds loaded with small molecules by integrated processes. *J.Biomech.* 40, S80-S88.
- [32] Valonen, P. K. et al. (2007) In vitro generation of mechanically functional cartilage grafts based on adult human stem cells and 3D-woven poly(ϵ -caprolactone) scaffolds. *Biomaterials* 31, 2193-2200.
- [33] Liu, C. et al. (2007) Design and Development of Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering. *Chem. Eng. Res. Des.* 86, 1051-1064.
- [34] Cai, Z. et al. (2009) Poly(propylene fumarate)/(calcium sulphate/ β -tricalcium phosphate) composites: Preparation, characterization and in vitro degradation. *Acta Biomater* 5, 628-635.
- [35] Peter, S.J. et al. (1998) Polymers concepts in tissue engineering. *J.Biomed. Mater. Res.* 43, 422-427.
- [36] Zhu, X. et al. (2010) Effects of composite formulation on mechanical properties of biodegradable poy(propylene pumarate)/bone Fiber Scaffolds. *Int. J. Polym. Sci.* 10, 1155-1161.

- [37] Hollister, S.J. (2005) Porous scaffold design for tissue engineering. *Nat. Materials* 4, 518–524.
- [38] Fang, Z. et al. (2005) Computer-aided characterization for effective mechanical properties of porous tissue scaffolds. *Comp.-Aided Des.* 37, 65-72.
- [39] Sachlos, E. and Czernuszka, J.T. (2003) Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *Eur.Cell Mater.* 5, 29-39.
- [40] Chen, G. et al. (2004) Silk fibroin modified porous poly(ϵ -caprolactone) scaffold for human fibroblast culture in vitro. *J. Mater. Sci., Mater. Med.* 15, 671-677.
- [41] Leong, K.F. et al. (2003) Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissue and organs. *Biomaterial* 24, 2363-2378.
- [42] Amass, W. et al. (1999) A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyester, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. *Polym. Int.* 47, 89-144.
- [43] Temenoff, J.S. and Mikos, A.G. (2000) Review: tissue engineering for regeneration of articular cartilage. *Biomaterials* 21, 431-440.
- [44] Bártolo, P., Mendes, A. and Jardini, A. L. (2004), “Bio-prototyping”, *Design & Nature II*, M.W. Collins & C.A. Brebbia (Editors), WIT Press.
- [45] Budyanto, L. et al. (2008) Fabrication of porous poly(L-lactide) (PLLA) scaffolds for tissue engineering using liquid–liquid phase separation and freeze extraction, *J. Mater. Sci., Mater. Med.* 20, 105–111.
- [46] Mikos, A.G. et al. (2007) Laminated three-dimensional biodegradable foams for use in tissue engineering. *Biomaterials* 28, 187-202.
- [47] Hosseinkhani, H. et al. (2007) Bone regeneration through controlled release of bone morphogenetic protein-2 from 3-D tissue engineered nano-scaffold. *J. Control. Release* 117, 380–386.
- [48] Bártolo, P.J. et al. (2009) Biomanufacturing for tissue engineering: Present and future trends. *Virtual and Physical Prototyping* 4, 203-216.
- [49] Mironov, V. et al. (2009) Biofabrication: a 21st century manufacturing paradigm. *Biofabrication* 1, 1-16.
- [50] Engel, E. et al. (2008) Nanotechnology in regenerative medicine: the materials side. *Trends Biotechnol.* 26, 39-47.
- [51] Barnes, C.P. et al. (2007) Nanofiber technology: Designing the next generation of tissue engineering scaffolds. *Adv. Drug. Deliver. Rev.* 59, 1413-1433.
- [52] Ma, P. X. (2008) Biomimetic materials for tissue engineering. *Adv. Drug. Deliver. Rev.* 60, 184-198.
- [53] Hutmacher, D.W. et al. (2007) State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 1, 245-260.
- [54] Yang, S. et al. (2002) The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part II. Rapid prototyping techniques. *Tissue Eng.* 8, 1–11.
- [55] Maciel Filho, R. et al. (2009) Bio-fabrication integrated computational tools in: *10th International Symposium on Process Systems Engineering – PSE.*
- [56] Bacakova, L. et al. (2004) Cell adhesion on artificial materials for tissue engineering. *Physiol. Res.* 53, 35-45.
- [57] Cheah, C.M. (2003) Development of a tissue engineering scaffold structure library for rapid prototyping, Part 1: investigation and classification. *Int. J. Adv. Manuf. Tech.* 21, 291-301.
- [58] Landers, R. et al. (2002) Fabrication of soft tissue engineering scaffolds by means of rapid prototyping techniques. *J. Mater. Sci.* 37, 3107-3116.
- [59] Milovanović, J. and Trajanović, M. (2007) Medical applications of rapid prototyping. *Mechanical Eng.* 5, 79-85.
- [60] Yang, F. et al. (2005) Electrospinning of nano/micro scale poly(L-lactic acid) aligned fibers and their potential in neuraltissue engineering. *Biomaterials* 26, 2603-2610.
- [61] Kellomäki, M. et al. (2000) Bioabsorbable scaffolds for guided bone regeneration and generation. *Biomaterials*, 21, 2495–2505.
- [62] Behonick, D.J. et al. (2007) Role of matrix metalloproteinase 13 in both endochondral and intramembranous ossification during skeletal regeneration. *PLoS ONE* 2, 1-10.
- [63] Caplan, A.I. (2009) New era of cell-based orthopedic therapies. *Tissue Eng., Part B: Review* 15, 195-200.
- [64] Cancedda, R., et al. (2007) A tissue engineering approach to bone repair in large animal models and in clinical practice. *Biomaterials* 28, 4240-4250.
- [65] Scime, A. et al. (2009) Advances in myogenic cell transplantation and skeletal muscle tissue engineering. *Front.Biosci.* 14, 3012–3023.

- [66] Lee, S.H. and Shin, H. (2007) Matrices and scaffolds for delivery of bioactive molecules in bone and cartilage tissue engineering. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59, 339–359.
- [67] Alexis, F. (2005) Factors affecting the degradation and drug-release mechanism of poly (lactic acid) and poly-[(lactic acid)-co-(glycolic acid)]. *Polym. Int.* 54, 36-46.
- [68] Papenburg, B.J. et al. (2009) Development and analysis of multi-layer scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials* 30, 6228-6239.

2.3 Conclusões

O crescente número de publicações tem demonstrado o grande interesse no desenvolvimento de dispositivos médicos altamente porosos (*scaffolds*), biodegradáveis e bioabsorvíveis, adequados para uso em engenharia tecidual. A engenharia tecidual pode ser considerada uma área fascinante da tecnologia médica, possibilitando melhorar/reverter o quadro clínico de pacientes que apresentam mau funcionamento ou defeitos em algum órgão, por meio da utilização de células vivas do próprio paciente, cultivadas em um suporte polimérico, de modo que uma parte do tecido seja regenerada a partir de células naturais. Numerosos estudos têm sido desenvolvidos para sintetizar e processar polímeros para uso em engenharia de tecidos. Cada material obtido possui características únicas para formar implantes com aplicações na engenharia de tecidos. Entre as diferentes técnicas para produção de *scaffolds*, a prototipagem rápida representa um novo grupo de técnicas não convencionais de fabricação, proporcionando grande capacidade para produzir este tipo de implantes com forma externa personalizada e morfologia interna pré-definidas. Além disso, a prototipagem rápida poderia, em um futuro próximo, utilizar como matérias-primas, diversos biomateriais, como polímeros bioabsorvíveis que estimulam a regeneração de tecidos.

Capítulo 3 - Conceitos Fundamentais do Poli (ácido lático)

3.1 Introdução

Os polímeros bioabsorvíveis têm sido identificados como materiais alternativos para várias aplicações biomédicas. Devido à sua excelente biocompatibilidade e propriedades mecânicas, o PLA e seus copolímeros estão se tornando os mais comumente utilizados na engenharia tecidual para restaurar e reconstruir a função dos tecidos prejudicados (Södergard e Stol, 2002; Freed *et al.*, 2009). O PLA vem sendo um dos biopolímeros mais promissores devido ao fato de ser produzido a partir do ácido lático, um ácido orgânico de origem biológica, que pode ser produzido por fermentação de açúcares obtidos a partir de recursos renováveis como a cana-de-açúcar (Cheng *et al.*, 2009; Gupta *et al.*, 2007; Auras *et al.*, 2004). Este polímero tem demonstrado de forma convincente a sua possível utilização como polímero bioabsorvível para dispositivos de fixação, placas e parafusos reabsorvíveis (Kneser *et al.*, 2006; Freire *et al.*, 2010).

Este capítulo apresenta uma breve revisão bibliográfica sobre os assuntos de maior importância para o desenvolvimento deste trabalho, tais como, propriedades e produção de ácido lático via fermentativa, síntese e características do PLA, bem como suas aplicações na forma de biomaterial pela área médica.

3.2 Desenvolvimento

O desenvolvimento deste capítulo é apresentado a seguir no artigo intitulado *Poly-Lactic Acid Production From Brazilian Renewable Feedstock For Application In Biomedical Devices*, apresentado e publicado nos anais do COLAOB – The 6th Latin American Congress of Artificial Organs and Biomaterials, 2010.

POLY-LACTIC ACID PRODUCTION FROM BRAZILIAN RENEWABLE FEEDSTOCK FOR APPLICATION IN BIOMEDICAL DEVICES

Betânia H. Lunelli¹, Astrid J. R. Lasprilla¹, Guilherme A. R. Martinez¹,
Maria I. R. Barbosa¹, André L. Jardini^{1,2}, Rubens Maciel Filho^{1,2}
¹Laboratory of Optimization, Design and Advanced Control,
School of Chemical Engineering, State University of Campinas, Campinas (SP), Brazil
²Institute of Biofabrication, Campinas (SP), Brazil
E-mail: betania@feq.unicamp.br

Abstract. Bioabsorbable polymers have been identified as alternative materials for several biomedical applications. Due to their excellent biocompatibility and mechanical properties, poly-lactic acid (PLA) and their copolymers are becoming the most commonly used in tissue engineering for restore and reconstruct the function of impaired tissues. Because PLA is produced from lactic acid, a naturally occurring organic acid that can be produced by fermentation of sugars obtained from renewable resources as such sugarcane; it's one of the most promising biopolymer. PLA has convincingly demonstrated the proof of concept for using in bioabsorbable polymer for the fixation devices such resorbable plates and screws. In this paper, the lactic acid fermentative production and PLA synthesis to biomaterials preparation are reviewed.

Keywords: Sugarcane, Lactic acid, Biomaterials, Renewable resources, Bioabsorbable polymer

1. INTRODUCTION

The development of biomaterials and biodegradable materials with required characteristics for application in tissue engineering is one of the great challenges of research biomedical field. Biodegradable and bioabsorbable polymers offer a possible alternative to traditional non-biodegradable polymers in a number of bulk applications. With their excellent biocompatibility, polylactones such as poly-lactic acid (PLA), poly-glycolic acid (PGA), and poly-caprolactone (PCL), as well as their copolymers are becoming the most commonly used synthetic biodegradable polymers as fixation devices materials for biomedical devices (Cheng et al, 2009; Pensler, 1997). These polymers are degraded by simple hydrolysis of the ester bonds do not requiring the presence of enzymes to catalyze such reaction, which similarly does not incite an inflammatory reaction yet, is another advantage to the absorbable systems. These hydrolytic products are then further degraded into carbon dioxide and water through normal cellular activity, namely, the Krebs cycle.

Bioabsorbable fixation devices have been used by decades as dissolvable suture meshes and, recently by orthopedic surgeons. During the past decade, bioabsorbable fixation systems (plates and screws) have become available for use by craniomaxillofacial surgeons for cranial vault remodeling. The absorbable plating systems have many advantages when compared with alloy and titanium plates. One advantage is that they do not erode bone when placed in human. Erosion is a commonly documented problem with traditional metallic alloys. Resorbable plates are also advantageous during subsequent medical imaging evaluations, because once resorbed, they do not obscure computed tomography (CT) scans. The absorbable system is composed of a variety of mesh panels and geometric plate designs. The systems use screws of 1.5 and 2.0 mm nominal diameter, respectively (Fig. 1).



Figure 1: Demonstration of the different types of absorbable plates and mesh on the skull and face, and bone fixation screws of different sizes (Lorenz, 2010).

Placement of the resorbable plates and screws was consistently reported to be uncomplicated, other than the need for hand-tapping of the screw threads before their insertion. The flexibility of the resorbable plates and the curvilinear shape of the cranial vault did not usually require any complex plate bends that the inherent flexibility of the plates did not allow. Heating of the plates through a water bath or water-activated heat pack allowed any shape to be obtained, but this was very rarely used. As experience with the resorbable implants increased, some authors more frequently used longer plates to join more distant bone segments (Fig. 2). a b c



Figure 2. Occipital cranial vault reconstruction in a 10-month-old boy with a severe unilateral occipital deformational plagiocephaly after failed helmet therapy. (a) Preoperative view; (b) 6-year postoperative view; (c) intraoperative view (Lorenz, 2010)

The use of synthetic degradable polyesters in surgery as suture materials and bone fixation devices has three decades of history. Back in 1973, lactic acid and glycolic acid were proposed as degradable matrices for the sustained of bioactive substances (Auras *et al.*, 2004). Poly-lactic acid (PLA) is at present one of the most promising biodegradable polymers for this purpose and has convincingly demonstrated the proof of concept for using in bioabsorbable polymer as bone fixation devices, owing to its mechanical property profile, thermoplastic possibility and biological properties, such as biocompatibility and biodegradability (Gupta *et al.*, 2007; Auras *et al.*, 2004; Ahola *et al.*, 2003; Slager and Domb, 2003).

Tailoring new materials within a perspective of eco-design or sustainable development is a philosophy that is applied to more and more materials. PLA it is produced from lactic acid, a naturally occurring organic acid that can be produced by fermentation of sugars obtained from renewable resources as such sugarcane. Considering that sugarcane bagasse is a waste material available, this biomass can be used to produce cellulose and then sugars, as well as the sugarcane molasses, an abundant residue of the sugar industrial production can be fermented to product lactic acid and, finally polymerized it to obtain PLA bioabsorbable for biomedical devices applications. This review summarizes information about the poly-lactic acid properties and characteristics, different synthesis methods and applications. Lactic acid process production from renewable resources also is reviewed.

2. LACTIC ACID

Lactic acid (2-hydroxypropionic acid), is a simple chiral molecule which exists as two enantiomers, L- and D-lactic acid (Fig. 3), differing in their effect on polarized light. The optically inactive D, L or meso form is an equimolar (racemic) mixture of D(-) and L(+) isomers (Gupta *et al.*, 2007). It is considered the most potential monomer for chemical conversions, because it contains a carboxylic group and a hydroxyl group (Varadarajan and Miller, 1999).

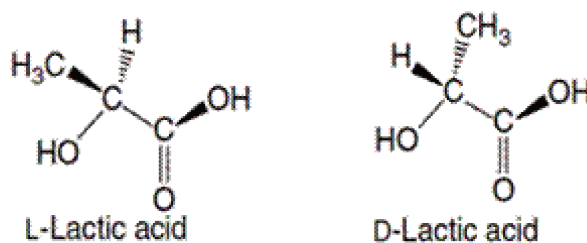


Figure 3. Optical isomers of lactic acid (Avérous, 2008)

Lactic acid production has a prime position due to its versatile applications in food, pharmaceutical, textile, leather, and chemical industries (John *et al.*, 2009) and as monomer in the production of biodegradable polymers (PLA) (Adsul *et al.*, 2007; Vickroy, 1985; Kharas *et al.*, 1994; Litchfield, 1996). Lactic acid can influence the metabolic function of cells; it can serve as an energy substrate for cells; it is uncharged and small enough to permeate through the lipid membrane; lactate is capable of entering cells via the monocarboxylate transporter (MCT) protein shuttle system (Philp *et al.*, 2005). Once inside the cell, lactate can serve as a source of energy in the Cori cycle by converting to glucose. In addition to its role as an energy substrate for cells, lactic acid has been shown to have antioxidant properties that may serve to protect cells from damage due to free radicals that are naturally produced throughout a cell's life cycle (Lampe *et al.*, 2009).

Lactic acid can be produced by fermentative or chemical synthesis. The chemical synthesis is mainly based on the hydrolysis of lactonitrile by strong acid, where a racemic mixture of the two forms (D(-) and L(+)) lactic acid is produced. The biotechnological production of lactic acid has received a significant interest, since it is an attractive process in terms of environmental viewpoint as well as economic, due the combination of the low cost of production from sugarcane fermentation, reduction of dependency of fossil based feedstock, reduced CO₂ emission, biocatalyst use and, high specificity of the product (Lunelli et al, 2010) and production of optically pure L- or D-lactic acid, depending on the strain selected (Adsul et al, 2007).

Approximately 90% of the total lactic acid produced worldwide is made by bacterial fermentation and the rest is produced synthetically by the hydrolysis of lactonitrile. The petrochemical scheme of monomer production was prevalent until about 1990 when a more economic fermentation approach was developed (Gupta et al, 2007; Adsul *et al.*, 2007).

The fermentation processes to obtain lactic acid can be classified according to the type of bacteria used. In the heterofermentative process equimolar amounts of lactic acid, acetic acid, ethanol and carbon dioxide are formed from hexose, and in the homofermentative process only lactic acid is produced as the end product of hexose metabolism (Auras *et al.*, 2004; Thomas *et al.*, 1979; Garvie, 1980; Holvendahl and Hahn-Hägerdal, 2000). Figure 4 shows the catabolic pathways for the lactic acid production using lactic acid bacteria.

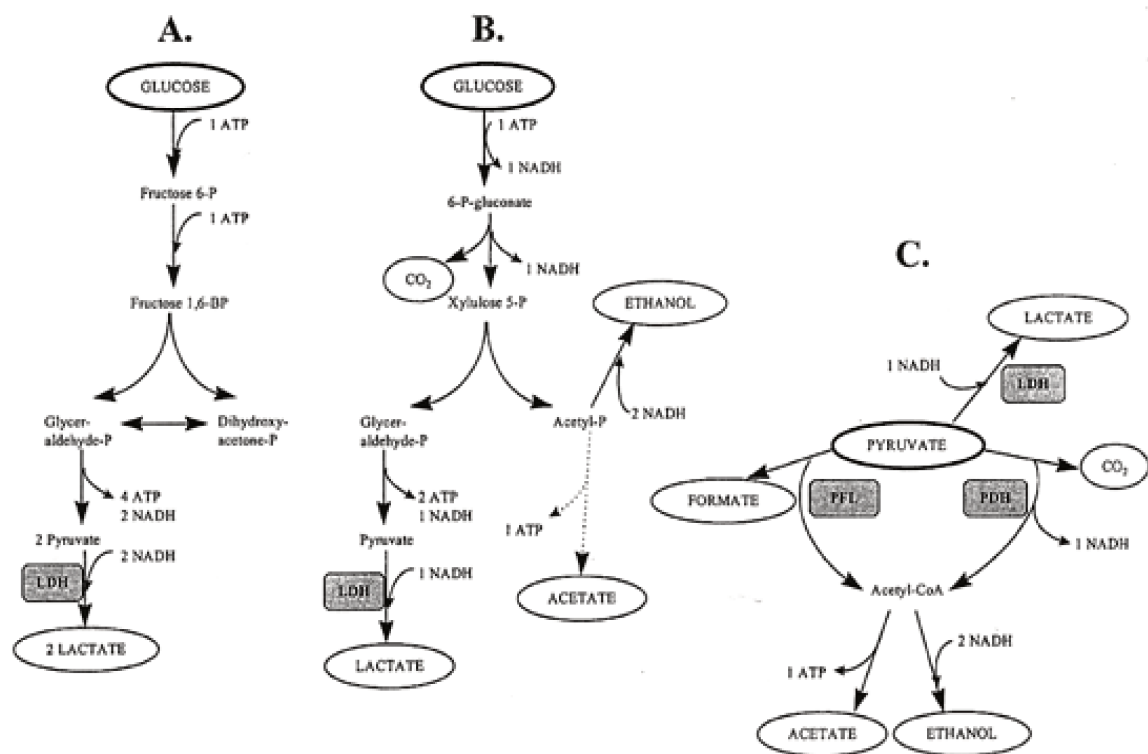


Figure 4. Catabolic pathways in lactic acid bacteria. (A) homofermentation; (B) heterofermentation; (C) mixed acid fermentation. (Hofvendahl and Hahn-Hägerdal, 2000)

The carbon source for microbial production of lactic acid can be either sugar in pure form such as glucose, sucrose, lactose or sugar containing materials such as molasses, whey, sugarcane bagasse, cassava bagasse, and starchy materials from potato, tapioca, wheat and barley. Sucrose-

containing materials such as molasses are commonly exploited raw materials for lactic acid production because represent cheaper alternatives (John et al, 2007; Lunelli *et al.*, 2010). Sugarcane bagasse is reported to be used as support for lactic acid production by *Rhizopus oryzae* and *Lactobacillus* in solid-state fermentation (SSF) by supplementing sugars or starch hydrolysates as carbon source (Rojan *et al.* 2005).

Brazil is the world's largest sugarcane producer country producing 648'921.280 million tons per year in 2008, which generate about 130 million tons of bagasse on dry weight basis, according FAO Statistics Division (2010). Considering that sugarcane bagasse is a waste material available in abundance, this biomass can be used to produce cellulose and then sugars, which can be fermented to product lactic acid and finally polymerized it to obtain PLA bioabsorbable for biomedical devices applications in Brasil.

3. POLY-LACTIC ACID

Poly-lactic acid (PLA) is a polymer derived from lactic acid, and has been widely studied for use in medical applications because of its bioresorbable and biocompatible properties in the human body (Duek *et al.*, 1999; Auras *et al.*, 2004; Nejati *et al.*, 2008; Ignjatovic and Uskokovic, 2004; Baraúna, 2007; Bergsma *et al.*, 1995; Mooney *et al.*, 1996; Yang *et al.*, 2004). Polymers made of lactic acid achieved their first commercial success as fiber materials for resorbable sutures. After this, a number of different prosthetic devices were developed (Auras *et al.*, 2004).

PLA was discovered in 1932 by Carothers (DuPont) who produced a low molecular weight product by heating lactic acid under vacuum. In 1954 Du Pont produced the polymer with a molecular weight greater and patented. In 1968 Santis and Kovacs reported on the pseudo orthorhombic crystal structure of PLLA. The crystal structure was reported to be a left-handed helix conformation for the α -form (Södergard and Stolt, 2002).

The chemistry of PLA involves the processing and polymerization of lactic acid monomer. Since, lactic acid is a chiral molecule, PLA has stereoisomers, such as poly(L-lactide) (PLLA), poly(D-lactide) (PDLA), and poly(DL-lactide) (PDLLA). Isotactic and optically active PLLA and PDLA are crystalline, whereas relatively atactic and optically inactive PDLLA is amorphous (Bouapao et al, 2009). Monomer dyads in the PLA chain may contain identical stereocenters (L:L or D:D) or enantiomeric stereocenters (L/D). With special catalysts isotactic and syndiotactic content with different enantiometric units can be controlled (Gupta et al, 2007).

The US Food and Drug Administration (FDA) and European regulatory authorities have approved the PLA resins for all food type applications and some chirurgical applications such as drug releasing systems (Lampe *et al.*, 2009).

3.1 Poly-lactic acid synthesis

PLA can be prepared by polymerization process of lactic acid, and the polymerization can be realized by direct condensation, ring opening polymerization and enzymatic polymerization. Currently, direct polymerization and ring opening polymerization are the most used production techniques. Figure 5 shows the main methods of PLA synthesis.

Direct condensation polymerization (polycondensation) includes solution polycondensation and melts condensation, and is the least expensive route. However, it is very difficult to obtain a solvent-free high molecular weight poly-lactic acid (Auras *et al.*, 2004). In direct condensation, solvent is used under high vacuum and temperatures for the removal of water produced in the condensation. The resultant polymer is a low to intermediate molecular weight material, which can be

used as is, or coupled with isocyanates, epoxides or peroxide to produce a range of molecular weights (Gupta et al, 2007). Polycondensation method produces oligomers with average molecular weights several tens of thousands. The properties of lactic acid oligomers can be controlled by the use of different catalysts and functionalization agents, as well as by varying the polymerization conditions (Mehta et al, 2005). The direct polycondensation of lactic acid in bulk is not applied on a greater scale, because of the competitive reaction of lactide formation and the simultaneously occurring degradation process (Dutkiewicz et al, 2003).

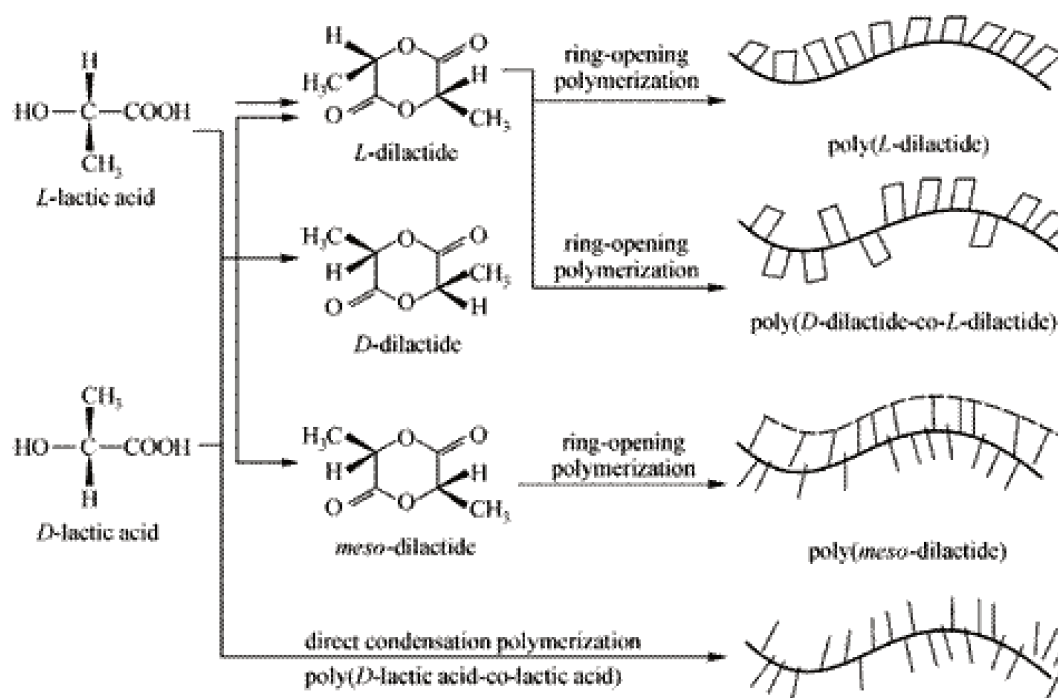


Figure 5. PLA synthesis methods (Cheng *et al.*, 2009)

Achmad *et al.* (2009), report the synthesis of PLA by direct polymerization without catalysts, solvents and initiators by varying the temperature from 150 to 250°C and the pressure from atmosphere pressure to vacuum for 96 h. The Mitsui Toatsu Chemical Company polymerized poly-DL-lactic acid (PDLA) using direct solution polycondensation, in which lactic acid, catalysts, and organic solvent with high boiling point were mixed in a reactor. The resultant product shows a molecular weight (MW) of about 300000 (Cheng *et al.*, 2009).

To achieve high molecular weight the preparation must be carried out by ring-opening polymerization of the cyclic dimer of lactic acid in the presence of various catalysts, which is relatively complicated and expensive. Catalytic ring-opening polymerization of the lactide intermediate results in PLA with controlled molecular weight (Kim *et al.*, 2009). By controlling residence time and temperatures in combination with catalyst type and concentration, it is possible to control the ratio and sequence of D- and L-lactic acid units in the final polymer (Gupta et al, 2007).

Ring-opening polymerization of lactide can be carried out in melt, bulk, or in solution and by cationic, anionic, and coordination-insertion mechanisms depending on the catalyst. Various types of initiators have been successfully tested, but among them, stannous octoate is usually preferred because it provides high reaction rate, high conversion rate, and high molecular weights, even under

rather mild polymerization conditions (Mehta, 2006). Lactide, the cyclic dimer of lactic acid, is formed by the condensation of two lactic acid molecules as follows: L-lactide (two L-lactic acid molecules), D-lactide (two D-lactic acid molecules) and meso-lactide (an L-lactic acid and D-lactic acid molecule), according to Fig. 6. D-lactide mp = 97°C, L-lactide mp = 97°C and meso-lactide mp = 52°C

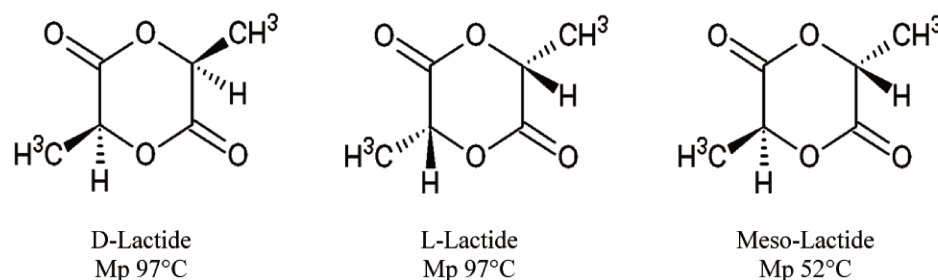


Figure 6. Chemical structure of L and D-lactic acid (mp – melting point) (Garlotta, 2001)

Enzymatic polymerization emerges as one of the most viable alternatives and is an environmentally benign method that can be carried out under mild conditions and can provide adequate control of the polymerization process (Cheng et al, 2009), but the literature about enzymatic polymerization is absent.

3.2 Poly-lactic acid properties

Poly(lactide) is one of the most promising biodegradable polymers owing to its mechanical property profile, thermoplastic processability and biological properties, such as biocompatibility and biodegradability (Gupta et al, 2007). In order for biopolymers to be useful, it is necessary to be able to tune the material properties to satisfy engineering constraints (Broz et al, 2003).

PLA is commercially and largely available in a wide range of grades. It has a reasonable price and some remarkable properties to different applications. It is difficult to obtain a material with all the properties required for an application, but the diversification of PLA applications is such that a single polymer may prove useful in many applications by simple modifications of its physical-chemical structure, resultant of chirality of lactic acid molecule with two asymmetric centers existing in four different forms. Properties can be both modified through the variation of isomers (L(+)/D(-) ratio) and the homo and (D(-), L(+))copolymers relative contents (Cheng et al, 2009).

PLA can be produced totally amorphous or up to 40% crystalline. PLA resins containing more than 93% of L-lactic acid are semicrystalline while PLA with 50-93% L-lactic acid is strictly amorphous (Auras *et al.*, 2004). For amorphous PLA, the glass transition temperature (T_g) is one the most important parameters since dramatic changes in polymer chain mobility take place at and above T_g . For semicrystalline PLA, both T_g and melting temperature (T_m) are important physical parameter for predicting PLA behaviour (Auras *et al.*, 2004; Yamane and Sasai, 2003; Bouapao *et al.*, 2009). The melt enthalpy estimated for an enantiopure PLA of 100% crystallinity (ΔH_{0m}) is 93 J/g, it is the value most often referred to in the literature although higher values (up to 148 J/g) also have been reported. The melting temperature and degree of crystallinity are depended on the molar mass, thermal history and purity of the polymer (Södergard and Stolt, 2002).

Few stereocomplex such as PLA can be produced by enantiomers with the identical chemical composition but different steric structure. Since discovery in 1987, the stereocomplex between

poly(L-lactide) (PLLA) and poly(D-lactide) (PDLA) have been intensively studied by preparations, structural, functional properties and applicability (Quynh et al, 2008).

PLA also can be tailored by formulation involving co-polymerizing of the lactide with other lactones-type monomers, a hydrophilic macro-monomers (polyethylene glycol (PEG)), or other monomers with functional groups (such as amino and carboxylic groups, etc.), and blending PLA with other materials (Cheng et al, 2009). Blending can radically alter the resultant properties, which depend sensitively on the mechanical properties of the components as well as the blend microstructure and the interface between the phases (Broz et al, 2003).

Broz *et al.* (2003) prepared series of blends of the biodegradable polymers poly(D,L-lactic acid) and poly(ϵ -caprolactone) by varying mass fraction across the range of compositions. Polymers made from ϵ -caprolactone are excellent drug permeation products. However, mechanical and physical properties need to be enhanced by copolymerization or blending (Auras *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 1999).

PLA degrades primarily by hydrolysis, after several months exposure to moisture. Polylactide degradation occurs in two stages. First, random non-enzymatic chain scission of the ester groups leads to a reduction in molecular weight. In second stage, the molecular weight is reduced until the lactic acid and low molecular weight oligomers are naturally metabolized by microorganisms to yield carbon dioxide and water (Oyama *et al.* 2009; Auras *et al.*, 2004).

The polymer degradation rate is mainly determined by polymer reactivity with water and catalysts. Any factor which affects the reactivity and the accessibility, such as particle size and shape, temperature, moisture, crystallinity, % isomer, residual lactic acid concentration, molecular weight, water diffusion and metal impurities from the catalyst, will affect the polymer degradation rate (Auras *et al.*, 2004; Cha and Pitt, 1990; Bleach *et al.*, 2001; Drumright *et al.*, 2000; Tsuji and Ishida, 2003). The *in vivo* and *in vitro* degradation have been evaluated for polylactide surgical implants. *In vitro* studies showed that the pH of the solution does play a role in the *in vitro* degradation and that an *in vivo* study can be used as a predictor of the *in vivo* degradation of PLA (Mainil-Varlet *et al.*, 1997; Auras *et al.*, 2004).

3.3 Poly-lactic acid applications

Poly-lactic acid offers unique features of biodegradability, biocompatibility, thermoplastic processability and eco-friendliness that offer potential applications as commodity plastics, as in packaging, agricultural products, disposable materials and medical textile industry. Because of its favorable characteristics, PLA has been utilized as ecological material as well as surgical implant material and drug delivery systems, and also as porous scaffolds for the growth of neo-tissue (Gupta et al, 2007; Yamane and Sasai, 2003). The use of poly-lactic acid in these applications is not based solely on its biodegradability nor because it is made from renewable resources. PLA is being used because it works very well and provides excellent properties at a low price (Drumright et al, 2000). The applications of biotextiles range from pharmaceuticals to suture materials, implantable matrices and organ reconstruction. Various devices have been prepared from different PLA types including degradable sutures, drug releasing microparticles, nanoparticles, and porous scaffolds for cellular applications. Three-dimensional porous scaffolds of PLA have been created for culturing different cell types, using in cell-based gene therapy for cardiovascular diseases; muscle tissues, bone and cartilage regeneration and other treatments of cardiovascular, neurological, and orthopedic conditions (Coutu, *et al.*, 2009; Kellomäki *et al.*, 2000; Papenburg *et al.* 2009).

An exciting application, for which the PLA offer tremendous potential, is bone fixation devices. Osteogenic stem cells seeded on scaffolds of this material and implanted in bone defects or

subcutaneously can recapitulate both developmental processes of bone formation: endochondral ossification and intramembranous ossification (Behonick *et al.*, 2007; Caplan, 2009).

The diversification of PLA applications is such that a single polymer may prove useful in many applications by simple modifications of its physical-chemical structure. In many cases the polymer can be blended or copolymerized with other polymeric or non-polymeric components to achieve the desired behavior (Gupta *et al.*, 2007; Cheng *et al.*, 2009). The surface properties of materials play a critical role in determining their applications, especially for biomaterials in biocompatibility. Different surface modification strategies, such as physical, chemical, plasma, and radiation induced methods, have been employed to create desirable surface properties of PLA biomaterials. In recent years, many studies have focused on coating or grafting bioactive molecular on the polymer surface in order to mediate the cell attachment and cell growth (Cheng *et al.*, 2009).

4. CONCLUSION

According to the text reported above can perceive that the biodegradable and bioabsorbable polymer synthesis from renewable resources for biomedical devices application has attracted much attention of researchers and industry. Lactic acid, a product of industrial importance for production of several chemicals and as monomer for PLA production, can be produced by fermentation of the sucrose contained in sugarcane molasses, a by-product of sugar manufacture, and from sugarcane bagasse that is a waste available in abundance in Brazil. PLA is a well-known synthetic polymer, and it is one of the most promising biodegradable polymers used for various biomedical applications due to its biocompatibility and biodegradability. The diversification of PLA applications is such that a single polymer may prove useful in many applications by simple modifications of its physical-chemical structure, resultant of chirality of lactic acid molecule with two asymmetric centers existing in four different forms. The Brazil has great potential for PLA production from renewable sources, considering its large production of sugarcane and its high technology in fermentative process.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to acknowledge the financial support provide by FAPESP (The Scientific Research Foundation for the State of São Paulo), CNPq (National Council for Scientific and Technological Development) and INCT-BIOFABRIS (National Institute of Science and Technology in Biofabrication).

REFERENCES

- Achmad, F., Yamane, K., Quan, S. and Kokugan, T. (2009), "Synthesis of polylactic acid by direct polycondensation under vacuum without catalysts, solvents and initiators", *Chemical Engineering Journal*, 151(13), 342-350.
- Adsul, M. G., Varmab, A. J. and Gokhale, D. V. (2007), "Lactic acid production from waste sugarcane bagasse derived cellulose", *Green Chemistry*, 9, 58-62.
- Ahola, N., Rich, J., Karjalainen, T. and Seppala, J. (2003), "Release of ibuprofen from poly(epsilon-caprolactone-co-D,L-lactide) and simulation of the release", *Journal of Applied Polymer Science*, 88(5), 1279-1288.
- Auras, R., Harte, B. and Selke, S. (2004), "An overview of polylactides as packaging materials", *Macromolecular Bioscience*, 4, 835-864.
- Avérous, L. (2008), "Polylactic acid: synthesis, properties and applications", in: Monomers, Polymers and Composites from renewable resources, Belgacem N. et Gandini A. (Eds), Elsevier Limited Publication. Chap. 21, 433-450.
- Baraúna, G. S. (2007), "Obtention and characterization of PLDLA membranes for application as peripheral nervous regeneration prosthesis", *Thesis (MSc)*, School of Mechanical Engineering, UNICAMP, Campinas, SP.

- Behonick, D. J., Xing, Z., Lieu, S., Buckley, J. M., Lotz, J. C., Marcucio, R. S., Werb, Z., Miclau, T., Colnot, C. (2007), "Role of matrix metalloproteinase 13 in both endochondral and intramembranous ossification during skeletal regeneration", *PLoS ONE*, 2(11), 1-10.
- Bergsma, J. E., Bruijn, W. C., Rozema, F. R., Bos, R. R. M and Boering, G. (1995), "Late degradation tissue response to poly(L-lactide) bone plates and screws", *Biomaterials*, 16(1), 25-31.
- Bleach, N. C., Tanner, K. E., Kellomäki, M. and Tormala, P. (2001), "Effect of filler type on the mechanical properties of self-reinforced polylactide-calcium phosphate composites", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 12, 911-915.
- Bouapao, L., Tsuji, H., Tashiro, K., Zhang, J. and Hanesaka, M. (2009), "Crystallization, spherulite growth, and structure of blends of crystalline and amorphous poly(lactide)s", *Polymer*, 50(16), 4007-4017.
- Broz, M. E., VanderHart, D. L. and Washburn, N. R. (2003), "Structure and mechanical properties of poly(D, L - lactic acid)/poly(ϵ -caprolactone) blends", *Biomaterials*, 24(23), 4181-4190.
- Caplan, A. I. (2009), "New era of cell-based orthopedic therapies", *Tissue Engineering Part B: Review*, 15(2), 195-200.
- Cha, Y. and Pitt, C. G. (1990), "The biodegradability of polyester blends", *Biomaterials*, 11(2), 108-112.
- Cheng, Y., Deng, S., Chen, P. and Ruan R. (2009), "Polylactic acid (PLA) synthesis and modifications: a review", *Frontiers of Chemistry in China*, 4(3), 259-264.
- Coutu, D. L., Yousefi, A. M. and Galipeau, J. (2009), "Three-dimensional porous scaffolds at the crossroads of tissue engineering and cell-based gene therapy", *Journal of Cellular Biochemistry*, 108(3), 537-546.
- Drumright, R. E., Gruber, P. R. and Henton, D. E. (2000), "Polylactic acid technology", *Advanced Materials*, 12(23), 1841-1846.
- Duek, E. A. R., Zavaglia, C. A. C. and Belangero, W. D. (1999), "In vitro study of poly(lactic acid) pin degradation", *Polymer*, 49(23), 6465-6473.
- Dutkiewicz, S., Grochowska-Lapienis, D. and Tomaszewski, W. (2003), "Synthesis of Poly(L+) Lactic Acid by Polycondensation Method in Solution", *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 11 (4), 66-70.
- FAO Statistics Division, (2010), Available at: <http://www.faostat.fao.org>. Accessed: April 2010.
- Garlotta, D. (2001), "A literature review of poly(lactic acid)", *Journal of Polymers and the Environment*, 9(2), 63-84.
- Garvie, E. L. (1980), "Bacterial lactate dehydrogenases", *Microbiological Reviews*, 44, 106-139.
- Gupta, B., Revagade, N. and Hilborn, J. (2007), "Poly(lactic acid) fiber: An overview", *Progress in Polymer Science*, 34(4), 455-482.
- Hofvendahl, K. and Hahn-Hägerdal, B. (2000), "Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources", *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 87-107.
- Ignjatovic, N. and Uskokovic, D. (2004), "Synthesis and application of hydroxyapatite/polylactide composite biomaterial", *Applied Surface Science*, 238, 314-319.
- John, R. P., Nampoothiri, K. M. and Pandey, A. (2007), "Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(3), 524-534.
- John, R. P., Nampoothiri, K. M. and Pandey, A. (2009), "Direct lactic acid fermentation: Focus on simultaneous saccharification and lactic acid production", *Biotechnology Advances*, 27(2), 145-152.
- Kharas, G. B., Sanchez-Riera, F. and Severson, D. K. (1994), "Polymers of lactic acid". In: *Plastics from microbes: microbial synthesis of polymers and polymer precursors*. Munich: Hanser Publishers.
- Kellomäki, M., Niiranen, H., Puumanen, K., Ashammakhi, N., Waris, T. and Törmälä, P. (2000), "Bioabsorbable scaffolds for guided bone regeneration and generation", *Biomaterials*, 21(24), 2495-2505.
- Kim, E., Shin, E. W., Yoo, I. K. and Chung, J. S. (2009), "Characteristics of heterogeneous titanium alkoxide catalysts for ring-opening polymerization of lactide to produce polylactide", *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 298, 36-39.
- Lampe, K. J., Namba, R. M., Silverman, T. R., Bjugstad, K. B. and Mahoney, M. J. (2009), "Impact of lactic acid on cell proliferation and free radical-induced cell death in monolayer cultures of neural precursor cells", *Biotechnology and Bioengineering*, 103(6), 1214-1223.
- Litchfield, J. H. (1996), "Microbiological production of lactic acid", *Advances in Applied Microbiology*, 42, 45-95.
- Lorenz, W. (2010), "Walter Lorenz Surgical Inc", Available at: www.lorenzsurgical.com. Accessed: April 2010.
- Lunelli, B. H., Andrade, R. R., Atala, D. I. P., Wolf Maciel, M. R., Mauger Filho, F. and Maciel Filho, R. (2010), "Production of lactic acid from sucrose: strain selection, fermentation, and kinetic modeling", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 161, 227-237.

- Mainil-Varlet, P., Curtis, R. and Gogolewski, S. (1997), "Effect of *in vivo* and *in vitro* degradation on molecular and mechanical properties of various low-molecular-weight polylactides", *Journal of Biomedical Materials Research*, 36(3), 360-380.
- Mehta, R. (2006), "Modeling and Simulation of Poly(Lactic Acid) Polymerization", *Thesis (PhD)*, Thapar Institute of Engineering and Technology, India.
- Mehta, R., Kumar, V., Bhunia, H. and Upadhyay, S. N. (2005), "Synthesis of Poly(Lactic Acid): A Review", *Polymer Reviews*, 45(4), 325-349.
- Mooney, D. J., Baldwin, D. F., Suh, N. P., Vacanti, J. P. and Langer, R. (1996), "Novel approach to fabricate porous sponges of poly(D,L – lactic-co-glycolic acid) without the use of organic solvents", *Biomaterials*, 17(14), 1417-1422.
- Nejati, E., Mirzadeh, H. and Zandi, M. (2008), "Synthesis and characterization of nano-hydroxyapatite rods/poly(l-lactide acid) composite scaffolds for bone tissue engineering", *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 39(10), 1589-1596.
- Oyama, H. T., Tanaka, Y. and Kadosaka, A. (2009), "Rapid controlled hydrolytic degradation of poly(l-lactic acid) by blending with poly(aspartic acid-co-l-lactide)", *Polymer Degradation and Stability*, 94(9), 1419-1426.
- Papenburg, B. J., Liu, J., Higuera, G. A., Barradas, A. M. C., Boer, J., van Blitterswijk, C. A., Wessling, M. and Stamatialis, D. (2009), "Development and analysis of multi-layer scaffolds for tissue engineering", *Biomaterials*, 30(31), 6228-6239.
- Pensler, J. (1997), "Role of resorbable plates and screws in craniofacial surgery", *The Journal of Craniofacial Surgery*, 8, 129-134.
- Philp, A., Macdonald, A. L. and Watt, P. W. (2005), "Lactate – a signal coordinating cell and systemic function", *The Journal of Experimental Biology*, 208, 4561-4575.
- Quynh, T. M., Mitomo, H., Zhao, L. and Asai, S. (2008), "The radiation crosslinked films based on PLLA/PDLA stereocomplex after TAIC absorption in supercritical carbon dioxide", *Carbohydrate Polymers*, 72(4), 673-681.
- Rojan, P.J., Nampoothiri, K.M., Nair, A.S. and Pandey, A. (2005), "L-Lactic acid production using *Lactobacillus casei* in solid-state fermentation", *Biotechnology Letters*, 27, 1685–1688.
- Slager, J. and Domb, A. J. (2003), "Heterostereocomplexes prepared from d-poly(lactide) and leuprolide. I. Characterization", *Biomacromolecules*, 4(5), 1308-1315.
- Södergard, A. and Stolt, M. (2002), "Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition", *Progress in Polymer Science*, 27(6), 1123-1163.
- Thomas, T. D., Ellwood, D. C. and Longyear, M. C. (1979), "Change from homo-to-heterolactic fermentation by *Streptococcus lactis* resulting from glucose limitation in anaerobic chemostat cultures", *Journal of Bacteriology*, 138(1), 109-117.
- Tsuji, H. and Ishida, T. (2003), "Poly(L-lactide).X. Enhanced surface hydrophilicity and chain scission mechanisms of poly(L-lactide) film in enzymatic, alkaline, and phosphate-buffered solutions", *Journal of Applied Polymer Science*, 87(10), 1628-1633.
- Varadarajan, S. and Miller, D. J. (1999), "Catalytic upgrading of fermentation-derived organic acids", *Biotechnology Progress*, 15, 845-854.
- Vickroy, T. B. (1985), "Lactic acid" in: Blanch HW, Drew, S., Wang, D. I. C. editors. *The practice of biotechnology: commodity products*. Elmsford, NY, Pergamon Press.
- Wang, S., Nishide, H. and Tsuchida, E. (1999), "Oxygen permeability of biodegradable copolycaprolactones", *Polymers for Advanced Technologies*, 10(5), 282-286.
- Yamane, H. and Sasai, K. (2003), "Effect of the addition of poly(D-lactic acid) on the thermal property of poly(L-lactic acid)", *Polymer*, 44(8), 2569-2575.
- Yang, F., Murugan, R., Ramakrishna, S., Wang, X., Ma, Y. X. and Wang, S. (2004), "Fabrication of nano-structured porous PLLA scaffold intended for nerve tissue engineering", *Biomaterials*, 25(10), 1891-1900.

3.3 Conclusões

A síntese de PLA como polímero biodegradável e bioabsorvível, a partir de recursos renováveis para aplicação em dispositivos biomédicos, tem atraído muita atenção de pesquisadores e indústrias. O ácido láctico é um produto de importância industrial para produção de vários produtos químicos e como monômero para a produção de PLA. Este ácido pode ser produzido por fermentação dos açúcares contidos no bagaço e/ou melaço de cana-de-açúcar (co-produtos da indústria açucareira), que estão disponíveis em abundância no Brasil. O PLA é um polímero sintético e um dos polímeros biodegradáveis mais promissores usados em várias aplicações biomédicas devido à sua biocompatibilidade e biodegradabilidade. A diversificação de aplicações do PLA está relacionada ao fato de que simples modificações em sua estrutura físico-química podem torná-lo útil em diferentes áreas. O Brasil tem grande potencial para a produção de PLA a partir de fontes renováveis, considerando sua grande produção de cana-de-açúcar e alto desenvolvimento tecnológico do processo fermentativo.

Capítulo 4: Materiais e Métodos

4.1. Introdução

Os polímeros à base de ácido lático (PLA) são uma das categorias mais promissoras de polímeros obtidos de fontes renováveis. No entanto, o uso destes bioplásticos permanece limitado devido aos custos de produção (Achmad *et al.*, 2009; Nampoothiri *et al.*, 2010). Entre as diversas rotas de obtenção do PLA apresentadas no Capítulo 2, as mais utilizadas atualmente na indústria são a policondensação direta do ácido livre (em inglês, DP – Direct Polycondensation) e a polimerização por abertura do anel do dímero cíclico do ácido (lactídeo) (em inglês, ROP – Ring Opening Polymerization). Neste trabalho foram estudadas cada uma destas rotas, visando a obtenção do PLA de baixo custo e características favoráveis para aplicação como biomaterial.

Neste capítulo, serão apresentadas as etapas da metodologia para o desenvolvimento da síntese e caracterização do PLA, bem como os materiais e reagentes utilizados. Também serão descritas as técnicas utilizadas para avaliar as propriedades dos produtos obtidos na síntese do Poli (ácido lático).

4.2. Metodologia

Na Figura 1 é apresentado o diagrama de blocos da metodologia de trabalho utilizada para realização deste projeto.

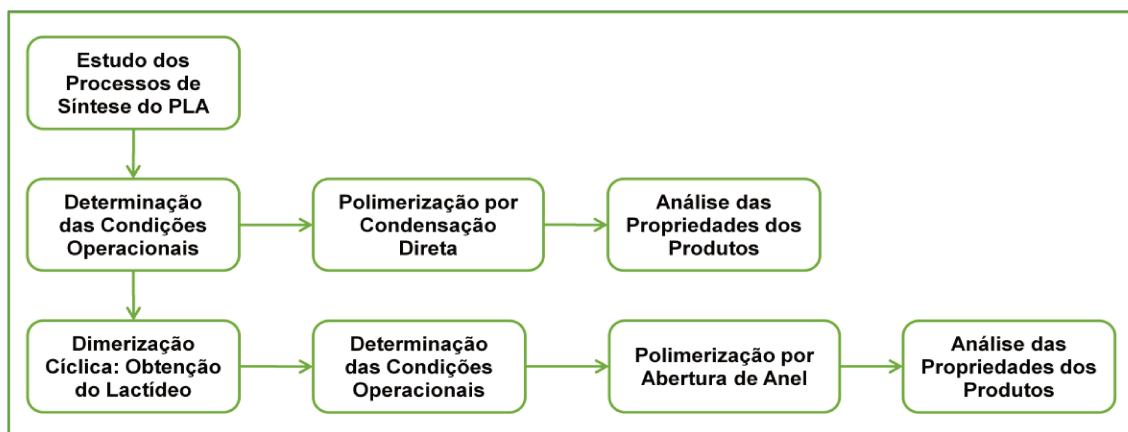


Figura 1. Diagrama de blocos da metodologia do projeto.

Inicialmente, foi realizada uma revisão da literatura na área de desenvolvimento de biomateriais para compreender melhor o contexto do projeto e um profundo estudo da química, propriedades e obtenção do PLA, de grande importância para apoiar o início da linha de pesquisa em materiais para aplicação biomédica no LOPCA. Isso permitiu o entendimento das particularidades da síntese deste biopolímero e a importância do desenvolvimento deste tipo de material.

Posteriormente, foi realizado um estudo teórico das rotas de produção de PLA, onde foram escolhidas as duas rotas convencionais para sintetizá-lo, devido ao menor custo de implantação (Cheng *et al.*, 2009). Isto em concordância com o objetivo do projeto, considerando o uso de matéria-prima renovável e de baixo custo para transformá-la em produtos de valor agregado. Baseado nestas informações, a matéria prima escolhida foi ácido láctico nacional da ECIBRA, de 85 % de pureza e sem prévias etapas de purificação.

4.3. Sistema Experimental para a Polimerização do PLA

Nas duas rotas de síntese do PLA escolhidas, o processo de polimerização do ácido láctico inicia-se através da desidratação do monômero, a qual gera um pré-polímero que consiste em cadeias de oligômeros e PLA de baixa massa molar (Figura 2).

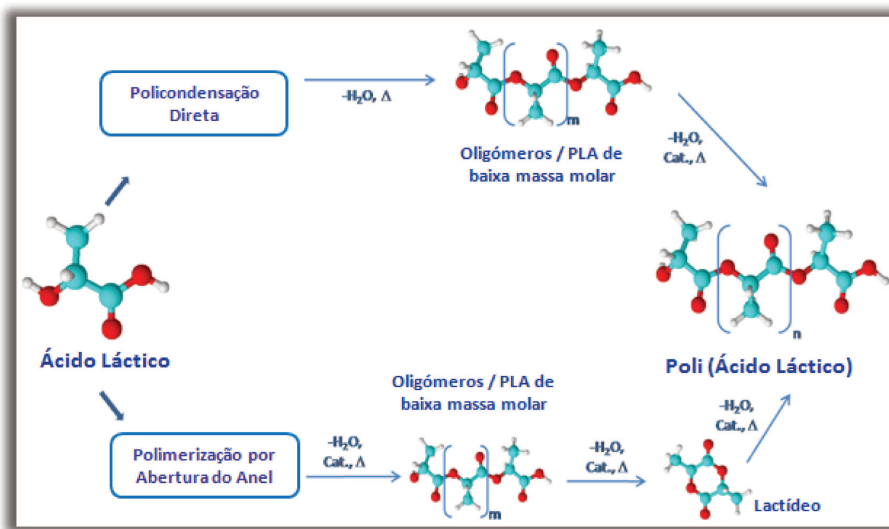


Figura 2. Rotas convencionais de obtenção de PLA.

Analisando as rotas escolhidas para realizar a polimerização do PLA, foi desenvolvido um sistema experimental geral, apresentado na Figura 3. Posteriormente, algumas modificações foram feitas segundo a síntese, visando melhor desempenho do processo.

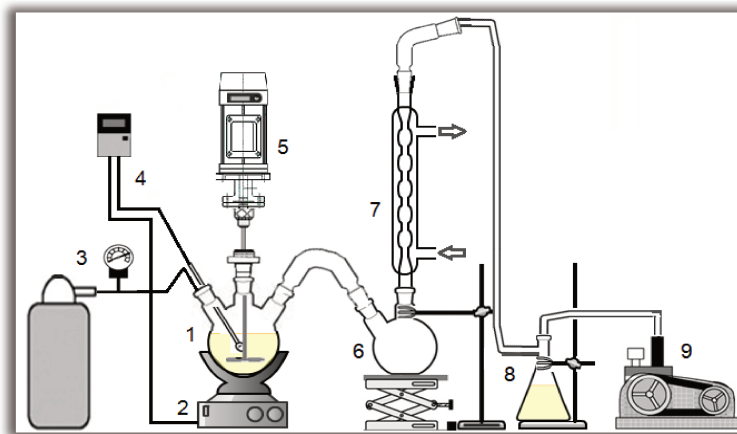


Figura 3. Sistema experimental para polimerização do PLA. (1) Reator de polimerização, (2) Manta de aquecimento, (3) Gás inerte (4) Controlador de temperatura, (5) Agitador, (6) Trap de condensado, (7) Condensador, (8) Trap fria, (9) Bomba de vácuo.

As reações de polimerização do ácido lático consistem basicamente na união das moléculas do monômero sob o efeito de temperatura e pressão reduzida para retirar a água formada (Auras *et al.*, 2010). Assim, o sistema desenvolvido inicialmente consistia de um balão de fundo redondo de três bocas, provido de um agitador mecânico e um condensador conectado a um *trap* de condensados em uma linha de vácuo. Cada saída do balão exercia uma função: na primeira saída utilizava-se uma rolha de borracha perfurada com dois furos, sendo um para injeção de N₂ e outro para a entrada do sensor de temperatura; a segunda, para a instalação do agitador mecânico e a terceira permitia a saída dos vapores arrastados pelo vácuo para o condensador. Um sensor foi utilizado para medir a temperatura da solução no reator em conjunto com um controlador PID, para o controle da temperatura dentro do balão. A pressão no sistema era reduzida usando uma bomba de vácuo conectada em um *trap* frio, evitando assim, o arraste de substâncias para o interior da bomba. As polimerizações por DP e a primeira etapa da polimerização por ROP foram realizadas neste sistema. O sistema foi testado com e sem uso de gás inerte, visando reduzir os custos de obtenção do PLA.

A segunda etapa da polimerização por ROP, que consistia na produção do lactídeo, foi conduzida alterando o condensador do sistema anterior, imediatamente após o balão de reação, o qual foi aquecido para recuperar o produto em estado líquido, conforme pode ser observado na Figura 4.

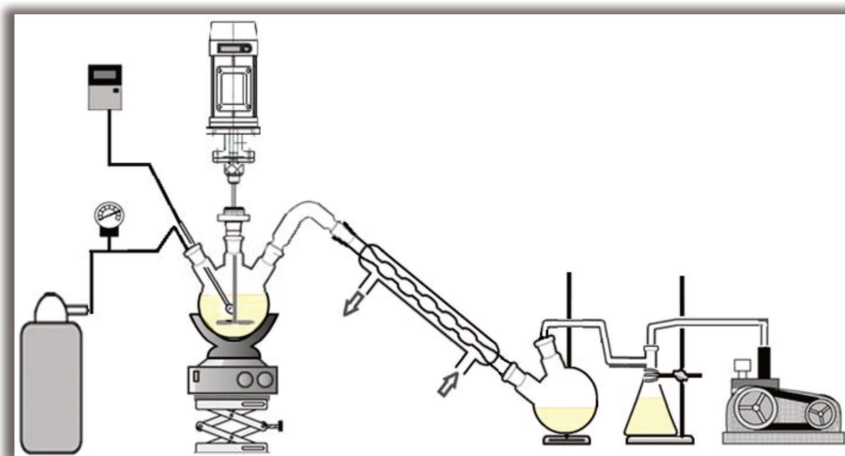


Figura 4. Sistema experimental para obtenção do Lactídeo.

Na terceira e última parte da síntese de PLA por ROP, o sistema inicial foi modificado retirando o condensador e o *trap* de condensado, visto que nesta parte do processo, a reação não produz mais água ou outros vapores. O *Trap* frio foi mantido para garantir a segurança da bomba de vácuo (Figura 5).

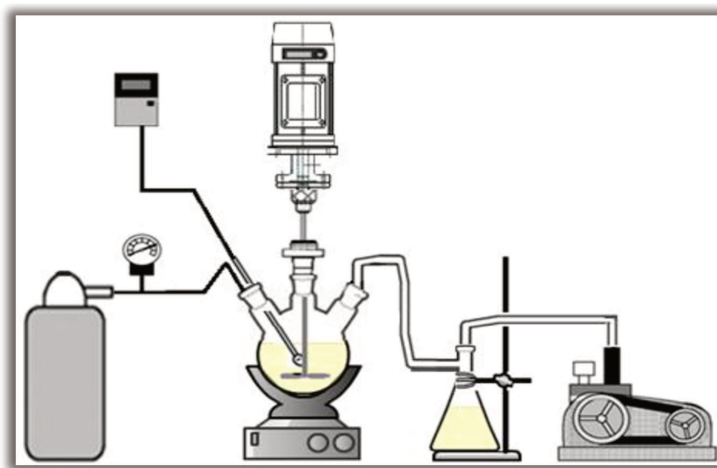


Figura 5. Sistema experimental para obtenção de PLA por ROP.

Para o desenvolvimento deste projeto, foram utilizados os seguintes materiais que se adequaram as necessidades de projeto do equipamento:

- Manta de Aquecimento marca Fisatom, Classe 300 - Modelo 52, utilizada em conjunto com um Regulador de Temperatura PID automático da Contemp, modelo TCM99 com sensor J;
- Bomba de vácuo marca Tecnal, Modelo TE-0581, Compressor 1/4 HP com pistão revestido em teflon, isento de óleo .
- Agitador Mecânico marca Fisatom, mod. 713, especial para polímeros, com haste com hélice basculante modelo 200.410;
- Banho Maria Ultratermostático marca Cienlab de 30 litros;
- Bateria de vidraria e outros elementos necessários para a montagem dos processos de síntese do PLA listados mais adiante em cada método descrito.

Os reagentes utilizados nas sínteses dos pré-polímeros, lactídeo e PLA, bem como os reagentes utilizados nas análises dos mesmos, encontram-se listados na Tabela 1.

Tabela 1. Reagentes utilizados na síntese e caracterização do PLA.

Produto	Fornecedor	MM (g/mol)	Pureza/Características
Ácido láctico	ECIBRA	90,08	85 %
2-Etilhexanoato de Sn (II) Sn(Oct)2	SIGMA/ALDRICH	405,11	1,251 g/ml
Óxido de Sn SnO	SIGMA	134,69	6,45 g/ml
Tetrahidrofurano (THF)	VETEC	72,11	Grau Analítico

4.4. Técnicas de Caracterização dos Produtos

4.4.1. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Os produtos obtidos pela síntese do PLA foram avaliados pela técnica de Calorimetria Diferencial de Varredura, também denominada Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC-Differential Scanning Calorimetry). Esta técnica é útil para acompanhar as transições associadas aos processos exotérmicos e endotérmicos, medindo as mudanças de propriedade física de uma substância em função da temperatura e do tempo, enquanto a substância é submetida a uma programação controlada de temperatura.

As medidas de DSC foram realizadas em um equipamento METTLER TOLEDO DSC modelo 823e através de dois aquecimentos no intervalo de varredura de 20 a 200 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C/min, e um resfriamento até 0 °C, com taxa de 10 °C/min, sob atmosfera de nitrogênio. Foram avaliados os valores da temperatura de transição vítrea (T_g), cristalização (T_c) e temperatura de fusão (T_m) dos polímeros sintetizados com base na varredura do segundo aquecimento. Amostras de massas diferentes (5-10 mg) foram colocadas em cadinhos de alumínio selados, sendo realizadas duas leituras por amostra.

4.4.2. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Esta técnica de espectroscopia de absorção examina a interação dos níveis de energia vibracional de ligações covalentes com a radiação infravermelha. Esta técnica é utilizada para identificar a presença de grupos funcionais de um composto. Cada grupo funcional pode gerar uma ou mais absorções em comprimentos de onda diferentes, dependendo do tipo de vibração (tensão ou flexão) de cada grupo de *links*.

O infravermelho é uma técnica experimental muito utilizada na caracterização de polímeros e se baseia na análise dos movimentos de vibração e rotação característicos da molécula, quando estas atingem um determinado nível de energia, cuja frequência

de radiação é classificada em: próxima (10.000 a 4.000 cm^{-1}), média (4.000 a 200 cm^{-1}) e distante (200 a 10 cm^{-1}). A faixa de maior uso para a caracterização de polímeros é a do infravermelho médio, pois nesta região as bandas de absorção são características de movimentos localizados de pequenos grupos de átomos (Guillio, 2005). A técnica de infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) vem sendo aplicada como método de caracterização devido a sua rapidez, sensibilidade e capacidade de avaliar biomateriais de modo não destrutivo (Angelo, 2000) .

Amostras dos produtos obtidos foram preparadas utilizando a técnica de disco de KBr pressionado e caracterizadas em um espectrômetro infravermelho de transformada de Fourier Thermo Scientific Nicolet IR 100. Os espectros foram analisados no intervalo de infravermelho médio de 4000 a 400 cm^{-1} , obtido a partir das intensidades de absorção das bandas das moléculas expressas em valores de transmitância.

4.4.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Um microscópio eletrônico de varredura utiliza um feixe de elétrons no lugar de fótons utilizados em um microscópio óptico convencional. O MEV é um aparelho que pode fornecer rapidamente informações sobre a morfologia do material, composição química e determinação da estrutura atômica de uma amostra sólida. A determinação das porcentagens dos elementos por microanálise de raios-X é uma operação possível no microscópio eletrônico.

Devido à necessidade de interação do feixe eletrônico com a amostra, alguns elétrons são absorvidos pela amostra, que deve conduzi-los ao fio terra, fazendo-se necessário que as amostras sejam condutoras. Caso isto não ocorra, é possível torná-las condutoras através de vários processos físicos como evaporação ou deposição de íons. Geralmente, o mais utilizado é o recobrimento por deposição de íons metálicos de ouro (Au).

Fragmentos da superfície superior de amostras dos produtos e da superfície de fratura das mesmas foram fixados em um suporte metálico e recobertos com uma fina camada de ouro, utilizando-se um metalizador de amostras Sputter Coater POLARON, modelo

SC7620 da VG Microtech (Uckfield, Inglaterra). Para obtenção das micrografias e o microanálise elementar as amostras recobertas foram analisadas em um Microscópio Eletrônico de Varredura com Detector de Energia Dispersiva de raios X (Modelo MEV: Leo 440i e Modelo EDS: 6070) da marca MEV/EDS: LEO Electron Microscopy/Oxford (Cambridge, Inglaterra), sob tensão de aceleração igual a 20 kV e corrente do feixe igual a 100 pA, para obtenção das micrografias, e 600 pA, para obtenção dos espectros de raio X.

4.4.4. Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massa (GC-MS)

A Cromatografia Gasosa é uma técnica para separação e análise de misturas cujos constituintes tenham pontos de ebulição de até 300 °C e que sejam termicamente estáveis. A amostra é vaporizada e introduzida em um fluxo de gás de arraste ou fase móvel específico para cada detector. Este fluxo de gás com a amostra vaporizada passa por um tubo contendo a fase estacionária (coluna cromatográfica), onde ocorre a separação da mistura. As substâncias separadas saem da coluna dissolvidas e passam por um detector; dispositivo que gera um sinal elétrico proporcional à quantidade de material eluido. O registro deste sinal em função do tempo é o cromatograma, sendo que as substâncias aparecem nele como picos com área proporcional à sua massa, o que possibilita a análise quantitativa. Em um sistema de cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas (GC-MS) (Gas Chromatography–Mass Spectrometry) as amostras provenientes do cromatógrafo a gás, no estado gasoso, são bombardeadas por elétrons e são quebradas gerando íons positivos, negativos e radicais e a partir da diferença entre massa/carga dos íons gerados irá separá-los (Skoog *et al.*, 2009; Ewing, 2002; Vogel *et al.*, 2002).

Para a análise por GC-MSm foi utilizado um cromatógrafo, acoplado a um espectrômetro de massas Agilent 7890/5975C; coluna de Polietileno glicol (30 m x 250 µm x 0,25 µm) com um injetor split/splitless (Temperatura – 250 °C, Pressão – 16,0 psi, Split – 40:1), e seletor de massas com ionização por impacto de elétrons, quadrupolo e detecção por célula eletromultiplicadora; hélio de alta pureza foi empregado como gás de arraste. O espectrômetro de massas foi utilizado nas condições descritas abaixo:

- **Temperaturas:**

Interface – 200 °C

Fonte de íons – 200 °C

- **Programações:**

Corte do solvente – 1,0 min

Modo – Scan (de 30 à 350 m/z)

A amostra do produto obtido na segunda etapa de polimerização de LA por ROP foi dissolvida em acetato de etila. A programação de temperatura no forno foi: 150 °C; 250 °C à 10 °C.min⁻¹, por 2,0 min.

4.4.5. Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chama (GC-FID)

Na cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID) (Gas Chromatography - Flame Ionization Detector), o princípio de funcionamento do detector baseia-se na geração de um sinal elétrico a partir da combustão da amostra na chama. O FID é um dos detectores mais usados devido ao fato de responder a praticamente todos os compostos orgânicos, e não responder a impurezas como H₂O, CO₂ e O₂ (Skoog *et al.*, 2009; Ewing, 2002; Vogel *et al.*, 2002).

Para a análise foi utilizado um cromatógrafo gasoso (Agilent 6850), com um injetor split/splitless e detector de ionização de chama. A amostra foi dissolvida em acetato de etila e 1 µL da solução foi analisada com uma programação de temperatura de 150 °C por 6 min; 250 °C à 10 °C.min⁻¹, por 2,0 min, nas condições descritas abaixo.

- **Injetor:**

Temperatura – 250 °C

Pressão – 7,3 psi

Split – 40:1

- **Detector:**

Temperatura – 350 °C

Fluxo de H₂ – 40 mL.min⁻¹

Fluxo de Ar – 450 mL.min⁻¹

Fluxo de N₂ (make up)

≈ 30 mL.min⁻¹

- **Coluna:**

Poli-(Cianopropilfenil-50%)-
dimetilsiloxano - (25 m x
320 µm x 0,25 µm)

Gás de arraste (N₂) –

Fluxo de – 1,2 mL.min⁻¹

Capítulo 5: Síntese Poli (ácido láctico) por Policondensação

5.1. Introdução

O PLA pode ser obtido a partir do ácido láctico, um ácido bifuncional (possui uma função álcool e uma função ácido carboxílico) que pode ser convertido em polímero por muitas rotas (Janho *et al.*, 2006). O objetivo deste capítulo foi investigar a síntese de PLA pela rota de policondensação direta de ácido láctico em escala de laboratório, visando a obtenção e caracterização do produto com possível utilização biomédica. Neste capítulo são apresentados os testes realizados para selecionar as melhores condições de operação e as propriedades dos produtos obtidos por esta rota de obtenção de PLA. A caracterização por DSC, FTIR e MEV dos polímeros obtidos foi realizada para determinar as propriedades dos produtos e sua provável aplicação como biomaterial.

5.2. Desenvolvimento Experimental

5.2.1. Montagem do sistema de Policondensação direta

Foi montado um sistema de polimerização direta de ácido láctico em escala de bancada, conforme descrito no Capítulo 3 (Figura 3). O sistema foi composto por um balão de três bocas com volume de 500 mL, usado como reator de polimerização. O balão foi colocado sobre uma manta de aquecimento, utilizada em conjunto com um regulador de temperatura PID automático. Cada saída do balão tinha uma função: a primeira utilizada junto a uma rolha de borracha com dois furos, sendo um para injeção de N₂ e outro para a entrada do sensor de temperatura; a segunda para a instalação do agitador mecânico e a terceira que permitia a saída dos vapores arrastados pelo vácuo ao condensador. A temperatura do condensador foi controlada com o auxílio de um banho ultratermostático. Na parte inferior do condensador foi acoplado um balão de duas saídas, uma delas conectada ao reator para coletar o condensado.

5.2.2. Síntese do PLA.

A obtenção de PLA por policondensação foi realizada em três etapas consecutivas: (a) remoção do conteúdo de água livre, (b) formação do pré-polímero (oligômeros) e (c) policondensação do PLA.

- a) A primeira etapa é a desidratação do ácido láctico pela retirada de água por destilação. A evaporação da água livre requer um sistema com boa transferência de calor e pode ser feita com pressão atmosférica. Devido ao equilíbrio do ácido láctico e a água, uma baixa quantidade de oligômeros de ácido láctico (dímero linear, trímero linear, entre outros) podem ser formados nesta fase (Auras *et al.*, 2010). Para evitar a reação do ácido nesta etapa, a temperatura de destilação da água foi alcançada por uma taxa de aquecimento gradual de 20 em 20 °C. Esta fase ocorre até que o produto, no interior do balão, atinja 140 °C, em um intervalo de tempo de, aproximadamente, 40 à 60 minutos. Para esta temperatura, a maior parte da água livre é recuperada no balão de condensado.
- b) Na segunda etapa, o ácido láctico é convertido em PLA de baixa massa molar ou oligômeros do ácido láctico. Após o reagente no balão atingir, aproximadamente 140 °C, obteve-se por policondensação, o pré-polímero do ácido láctico, em uma temperatura T_{rx1} durante um tempo de reação t_{rx1} . Nesta etapa, foram testadas três temperaturas: 160, 180 e 200 °C e tempos de 3 e 4 horas. A remoção da água do produto da reação de condensação foi realizada à pressão atmosférica e também empregando o uso de atmosfera inerte de N_2 .
- c) Na terceira etapa, obteve-se o polímero PLA, a partir do pré-polímero. Nesta fase, a remoção de água se torna crítica (Auras *et al.*, 2010). Para aumentar a reação de policondensação, a água formada na mistura de reação deve ser removida eficientemente. Para melhorar a transferência de massa e de calor, a reação de policondensação deve ser com agitação intensa, a fim de homogeneizar a mistura de reação (Auras *et al.*, 2010). A polimerização foi realizada em *bulk* sob atmosfera reduzida (50 mmHg) em uma linha de vácuo-

gás inerte, utilizando-se octanoato de estanho ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$) como catalisador. Foram testadas para esta etapa temperaturas de 160, 170, 180 e 200 °C.

Todos os experimentos foram desenvolvidos utilizando 450 g de ácido lático sintético (85 %) da ECIBRA.

Os catalisadores mais eficientes, com relação à massa molar do PLA, são os de transesterificação de estanho. Os mais utilizados são o óxido de estanho (SnO) e o octanoato de estanho, este último foi escolhido neste projeto por ter aprovação da FDA (Food and Drug Administration) por sua baixa toxicidade.

Foram desenvolvidos alguns testes preliminares com a finalidade de avaliar o comportamento da reação. Uma vez realizados estes testes, a parte superior do reator e a conexão com o balão de condensado foram recobertas com espuma de polietileno para isolamento térmico, visando aumentar a superfície de aquecimento e impedir condensação. Após determinar as condições de operação para a policondensação, foram sintetizados e caracterizados os polímeros a partir de ácido lático.

5.3. Resultados da Síntese por DP de Ácido Lático

5.3.1. Resultados dos testes iniciais

Em comparação com a polimerização por abertura do anel, a polimerização por condensação direta tem menos etapas de fabricação e menor custo, tornando-se mais fácil de manipular e comercializar (Cheng *et al.*, 2009). A principal desvantagem deste método é a baixa massa molar do polímero resultante, que ocorre devido ao equilíbrio entre o ácido livre, oligômeros e água produzida durante a reação (Auras *et al.*, 2010). A reação de desidratação do ácido lático e seus ésteres exigem alto controle das condições operacionais, pois devido à alta reatividade do ácido lático em uma reação à elevada temperatura, podem ser produzidos produtos não desejados como ácido acrílico (reação de desidratação), acetaldeído e CO_2 (reação de descarboxilação) e ácido propiônico (reação de redução) (Lunelli, 2010). Segundo Auras e col 2010, poucos estudos têm avaliado a influência do catalisador na preparação de PLA de alta

massa molar através da reação de policondensação direta em *bulk*. Feitas estas considerações, os testes preliminares para avaliar o comportamento da solução foram realizados nas condições apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Testes preliminares da síntese de PLA.

Testes Preliminares	2ª Etapa: Formação do Pre-polímero		3ª Etapa: Policondensação		Uso de N ₂	
	T _{rx1} (°C)	t _{rx1} (h)	T _{rx2} (°C)	t _{rx2} (h)	2ª Etapa	3ª Etapa
PLA DP1	150	3	170	3	×	✓
PLA DP2	150	3	180	4	×	✓
PLA DP3	160	4	180	12	×	✓
PLA DP4	160	4	200	4	✓	✓
PLA DP5	200	4	160	4	✓	✓

Nas primeiras condições de síntese por DP determinadas (PLA DP1 e PLA DP2), obteve-se um líquido verde viscoso, que não era o produto esperado, mesmo aumentando as temperaturas e os tempos de reação no PLA DP3. Na Figura 6 são apresentados os primeiros produtos obtidos. No entanto, pode-se observar no terceiro produto (Figura 6c), a formação de um sólido esbranquiçado que se precipitou da mistura obtida, podendo ser um polímero resultante da reação.

Na síntese de PLA DP4, realizada utilizando atmosfera de N₂ na etapa da oligomerização, o produto foi um sólido de cor verde claro (Figura 7a). A partir deste teste, foi verificado que o uso do nitrogênio favoreceu o arraste da água gerada na formação dos oligômeros, auxiliando na reação. Segundo Kopinke e colaboradores (1996), elevadas temperaturas de policondensação dos oligômeros de PLA, podem

levar à formação de ciclos dos mesmos e à sua degradação, podendo ser relacionado à cor do polímero obtido. A forma de resfriamento do produto final também pode influenciar na coloração, dependendo da rapidez do resfriamento as moléculas do polímero vão se arrumar de diferentes formas, desde uma temperatura alta, vai tomar maior tempo para resfriar o produto. Assim, para o quinto experimento, foi avaliada uma temperatura maior (200 °C) para a produção do pré-polímero e uma temperatura menor (160 °C) para a policondensação deste. A Figura 7b apresenta o produto obtido nestas condições, que corresponde melhor às características do PLA, o qual é comercializado como um sólido de coloração branca.

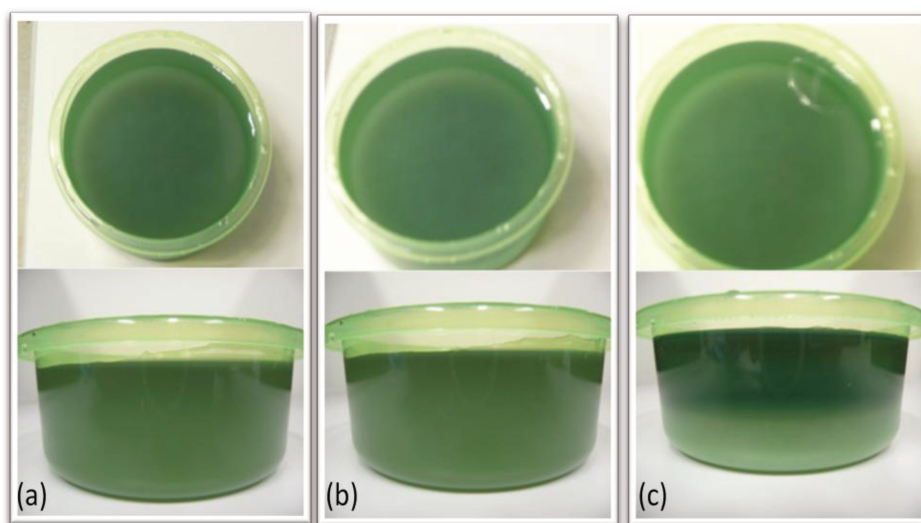


Figura 6. Primeiros produtos obtidos por DP. (a) PLA DP1, (b) PLA DP2 e (c) PLA DP3.

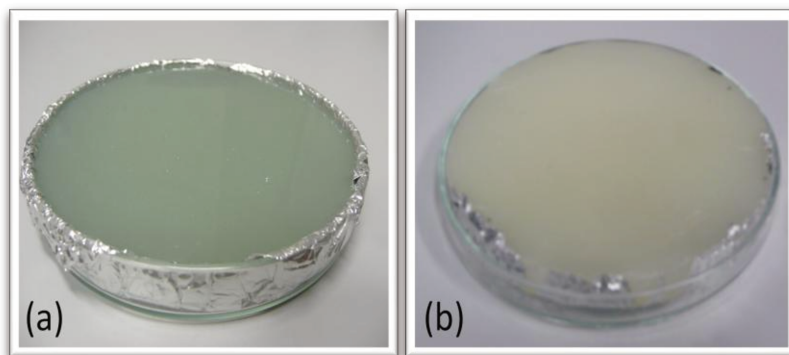


Figura 7. Reação de DP empregando-se elevada temperatura na produção do pré-polímero e menor temperatura na policondensação do (a) PLA DP4 e (b) PLA DP5.

Análises de DSC foram realizadas nos produtos obtidos, encontrando-se que no caso, por exemplo, do PLA DP3 (Figura 8), foi observado no primeiro aquecimento, uma série de picos de possíveis reações que ainda estavam ocorrendo e que portanto, quantidades significativas do monômero ou oligômeros não reagiram. Após a etapa de resfriamento, visando apagar a história térmica do material, pôde-se observar, no segundo aquecimento, um desvio da linha base, o qual foi atribuído à T_g do material em aproximadamente 43-45 °C.

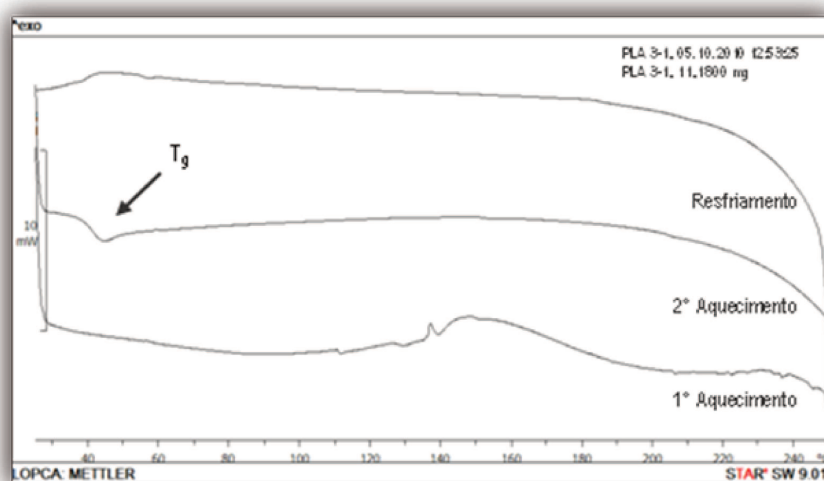


Figura 8. Termograma DSC do PLA DP3.

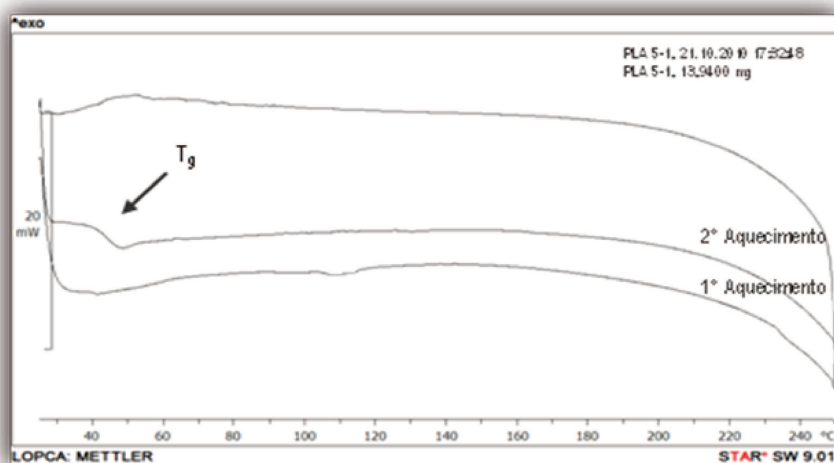


Figura 9. Termograma DSC do PLA DP5.

Na Figura 9 é apresentado o termograma obtido no DSC para o PLA DP5, podendo-se concluir que o primeiro aquecimento não apresentou picos de possíveis reações semelhantes aos obtidos para o PLA DP3, indicando que o produto formado apresentou características de polímero. No segundo aquecimento, foi observado um aumento do desvio, identificado como Tg de aproximadamente 46-48°C.

De acordo com a literatura consultada, o grau de cristalinidade e a temperatura de fusão (Tm), bem como a temperatura de transição vítrea (Tg) dos polímeros, estão diretamente relacionados à massa molar que estes apresentam (Auras *et al.*, 2010; Motta, 2002). Segundo Bendix (1998) *apud* Barbanti (2005), devido à distribuição aleatória das unidades dos isômeros L e D na cadeia polimérica, o polímero racêmico (mesmas quantidades de unidades L e D) do PLA, não possui domínios cristalinos, sendo um material amorfo e com propriedades mecânicas significativamente menores quando comparado ao semicristalino PLLA (poli (L-ácido láctico)). O PLA semicristalino tem temperaturas de transição vítrea e de fusão ligeiramente mais elevadas do que o PLA amorfo (Fang e Hanna, 1999). As análises de DSC dos primeiros produtos indicaram características de um polímero amorfo, identificado pela presença de Tg, com valores baixos, entre 35 e 45 °C, obtidas no segundo aquecimento e pela ausência de Tm, formando PLA racêmico de baixa massa molar e propriedades mecânicas e térmicas.

As análises de infravermelho na região média foram realizadas para determinar os grupos funcionais dos produtos obtidos e comprovar a formação do polímero. Na Figura 10 apresentam-se o espectro do ácido láctico e dos primeiros polímeros produzidos. A zona de interesse da análise se concentra onde ocorrem as maiores alterações nas bandas das amostras analisadas, variando em um comprimento de onda de aproximadamente 800 até 1500 cm⁻¹. Caso a amostra ou o equipamento não estejam rigorosamente protegidos da umidade, poderá ser visualizada, no espectro, uma banda em torno de 3500 cm⁻¹, o qual representa o grupo OH correspondente à água (Motta e Duek, 2006).

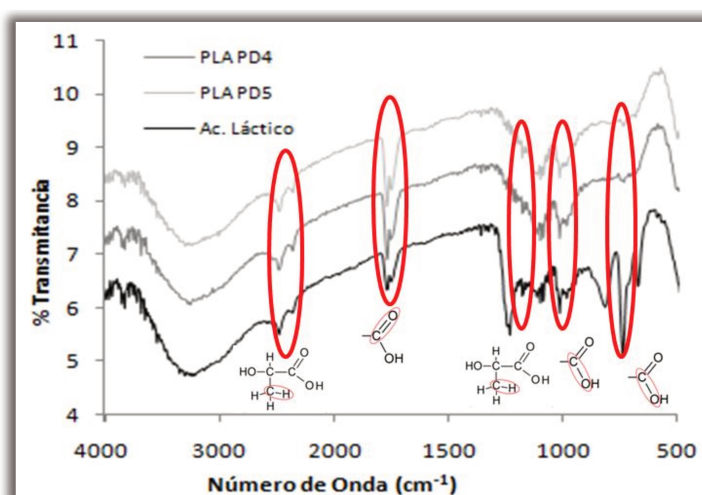


Figura 10. Análises FTIR do ácido láctico PLA DP4 e PLA DP5.

A Tabela 3 demonstra os valores das bandas de grupos funcionais que se deslocam do ácido láctico para o PLA, indicando que houve a formação do polímero. Essas atribuições são análogas às descritas na literatura (Motta e Duek, 2006; Nikolic *et al.*, 2010; Jahno *et al.*, 2006).

Tabela 3. Bandas de absorção do PLA DP4, PLA DP5 e o ácido láctico.

Bandas de absorção (cm ⁻¹)	Ác. Láctico	PLA DP4	PLA DP5
Vibrações de valência do C-H do CH ₃ (simétrica; assimétrica)	2626,01;	2633,72;	2631,79;
	2635,65	2649,07	2651,08
Vibrações de valência do C=O do COO	1741,96	1750,39	1767,03
Vibrações de flexão C-H do CH ₃ (simétrica; assimétrica)	1324,54;	1286,26;	1286,26;
	1432,19	1345,81	1345,81
Vibrações de valência do C-O do COO (simétrica; assimétrica)	1014,25;	1014,42;	1014,53;
	964,79	1010,41	1009,14
Vibração de alongamento do COO	868,60	855,98	854,76

A partir dos resultados obtidos nesta primeira etapa de testes, foram selecionadas como condições de operação para a polimerização de PLA por DP: temperatura e tempo de reação, na etapa de formação do pré-polímero, de 200 °C e 4 h respectivamente, e temperatura na etapa de polimerização de 160 °C. O tempo de polimerização foi aumentado para 6, 8, 12 e 24 h, visando obter polímeros com melhores propriedades.

5.3.2. Resultados dos polímeros PLA

Durante a realização da síntese de PLA aumentando o tempo de polimerização, obteve-se grande dificuldade com a viscosidade da mistura de reação, que aumentou durante o tempo até se solidificar na haste, ocasionando, em alguns casos, a parada dos experimentos. Para a temperatura de 160 °C o maior tempo foi de 24 h, alcançado antes de paralisar o experimento devido à viscosidade da mistura.

Análises de espectroscopia na região do infravermelho demonstraram que para os produtos obtidos em 6, 8 e 12 h, todos os polímeros apresentaram as mesmas bandas de absorção, sendo 1730 cm^{-1} (valência C=O do COO), 1360 cm^{-1} e 1415 cm^{-1} (simétrica e assimétrica de flexão C-H do CH₃), 1130 e 1040 cm^{-1} (simétrica e assimétrica de valência do C-O do COO), 860 cm^{-1} (alongamento do COO) (Motta e Duek, 2006; Nikolic *et al.*, 2010; Jahno *et al.*, 2006). Nas análises, pôde-se observar que o tempo de policondensação não influenciou ou favoreceu a estrutura orgânica do polímero obtido, visto que as bandas dos três polímeros permaneceram nas mesmas faixas (Figura 11).

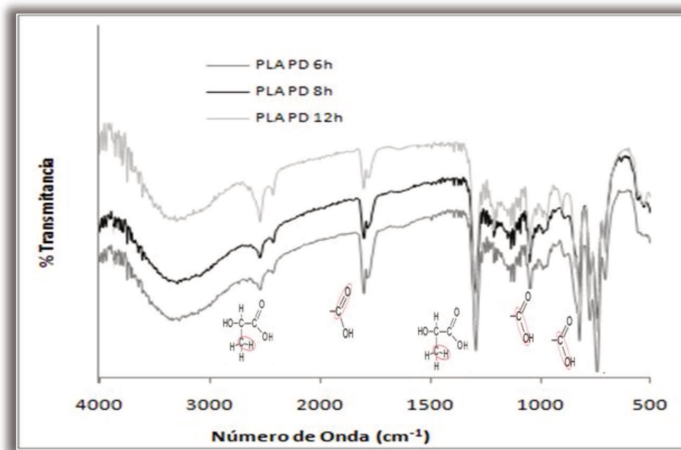


Figura 11. Análises FTIR do PLA DP 6h, PLA DP 8h e PLA DP 12h.

A morfologia dos polímeros produzidos por DP foi observada por MEV. Na Figura 12 é apresentada as micrografias da superfície e da superfície de fratura dos produtos obtidos em 6, 8 e 12 h de polimerização.

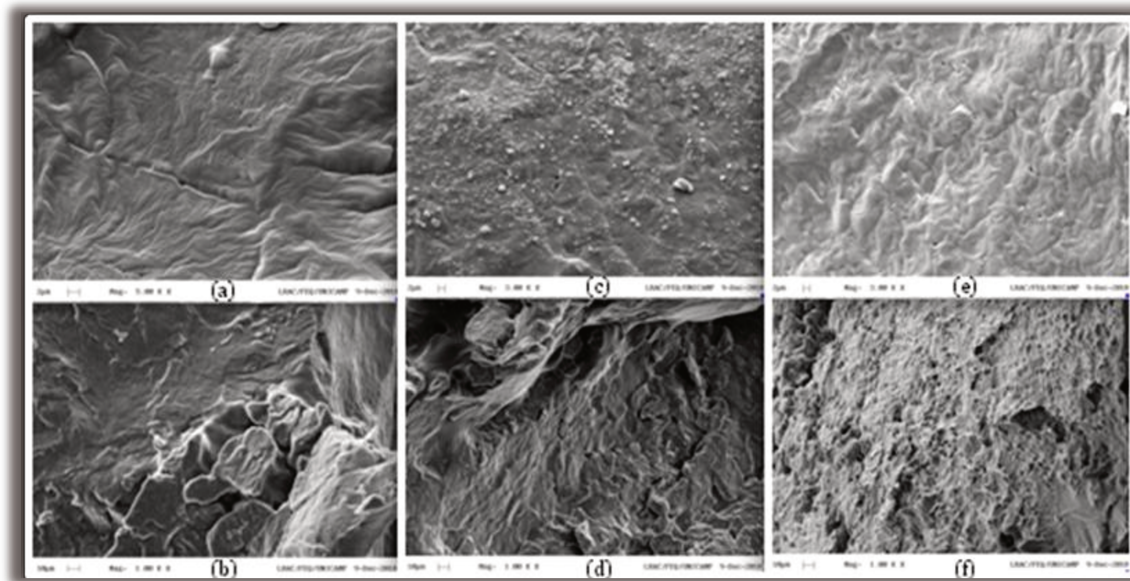


Figura 12. Micrografias da superfície e fratura do PLA DP 6h (a e b), PLA DP 8h (c e d) e PLA DP 12h (e e f).

Os materiais para fabricação de implantes devem ter características morfológicas que proporcionem adesão e crescimento celular (Barnes et al, 2007). Nas micrografias dos polímeros sintetizados nesta parte do projeto, pode-se observar que as superfícies destes são irregulares e rugosas, o qual, para um eventual uso biomédico, auxiliaria na adesão celular. Os produtos não apresentaram porosidade, propriedade fundamental para o crescimento celular. Porém, existem tecnologias de processamento de biomateriais para auxiliar na formação desta característica (Freed *et al.*, 2009; Budyanto *et al.*, 2009; Ma, 2007; Melchels *et al.*, 2010).

O possível uso biomédico dos polímeros obtidos foi comprovado pela determinação das porcentagens dos elementos a partir de microanálise elementar em um Microscópio Eletrônico de Varredura com Detector de Energia Dispersiva de raios X, as quais demonstraram que o PLA obtido apresentou baixos conteúdos de metal, possivelmente provenientes do resíduo de catalisador, em sua composição química ($\text{Sn} \leq 0,80\%$,

Figura 13). Todos os PLAs sintetizados nesta etapa possuíam semelhante tendência na composição. Outros metais como cálcio, ferro e alumínio foram encontrados em algumas amostras dos polímeros, sendo atribuídos provavelmente aos resíduos de impurezas do monômero. Porém, estes não representaram um padrão na composição e permaneceram em porcentagens ainda menores quando comparado com o estanho, portanto não encontrando evidências de metais tóxicos nos polímeros obtidos. De esta forma estes poderiam ser utilizados em um possível uso biomédico sem mais purificações para retirar elementos não desejados.

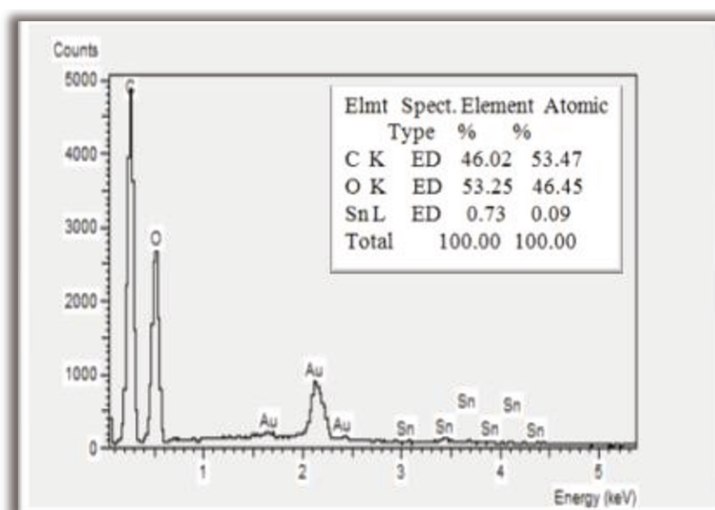


Figura 13. Microanálise elemental MEV/EDS do PLA DP8h.

Os resultados da síntese do PLA em 24 h de polimerização por policondensação direta de ácido láctico estão apresentados a seguir, conforme artigo intitulado *Synthesis and Characterization of Poly (Lactic Acid) for Use in Biomedical Field*, apresentado no ICheaP-10 – The 10th Italian Conference on Chemical and Process Engineering e publicado na Chemical Engineering Transactions (v. 24, p. 985-990, 2011).

Synthesis and Characterization of Poly (Lactic Acid) for Use in Biomedical Field

Lasprilla, A. J. R.^{1,2}, Martinez, G. A. R.^{1,2}, Lunelli, B. H.^{1,2}, Figueroa, J. E. J.¹, Jardini, A. L.^{1,2}, Maciel Filho, R.^{1,2}

¹Laboratory of Optimization, Design and Advanced Control, Department of Chemical Processes, School of Chemical Engineering, State University of Campinas

²Institute of Biofabrication

University City “Zeferino Vaz”, Av. Albert Einstein, 500, ZIP: 13083-852, Campinas, SP, Brazil

The development of biomaterials for application in medicine is one of the great challenges of research in material science. Bioabsorbable polymers have been identified as alternative materials for biomedical applications, since these polymers are degraded by simple hydrolysis to products that can be metabolized by the human body. Among the biomaterials (biopolymers) used in the medical field, the poly (lactic acid) (PLA) has received significant attention. It is produced from lactic acid, a naturally occurring organic acid that can be produced by fermentation. PLA and its copolymers are being used in biomedical area in the form of implants or devices due to its excellent biocompatibility and biodegradability. The objective of this study was to investigate the PLA synthesis in laboratory scale in order to characterize the PLA according the needs for biomedical use. Characterization by DSC and FTIR of the PLA obtained was made to know the required properties for biomedical use.

Introduction

Biomaterials are substances of natural or synthetic origins that can interact with biological systems on a temporary or permanent. These offer a possible alternative to treat and to repair the loss of tissues and organs from trauma or diseases. There are a lot of biomedical applications in which biomaterials are been used as a drug delivery system, cell scaffold and suture in tissue engineering, prostheses for tissue replacements like intraocular lens, dental implant, and breast implant, and artificial organs for temporary or permanent assist (e. g. artificial kidney, artificial heart, and vascular graft) (Y. Cheng et al, 2009). Moreover, biomaterials are derived from biological sources in an eco-friendly way. Biosourced materials will gradually replace the currently existing family of oil-based polymers as they become cost- and performance-wise competitive (Lunelli et al, 2010).

Variety materials have been used for medical care including metals, ceramics and polymers. Biodegradable and bioabsorbable polymers have excellent characteristics for certain applications. Resorbable polymers gradually dissolve and are eliminated through the kidneys or other means. Among the main polymers used in medicine there are the poly (α -hydroxy acids). Poly (lactic acid) or polylactide (PLA) is becoming to be the most important bio-based polyester due to its favorable properties widely investigated as support material for tissue regeneration. The attractive price and commercial availability of lactic acid are important reasons for PLA development.

In this work, the reaction mechanism PLA synthesis was investigated in order to find useful information for determining the kinetic parameters of the process. For the polymerization were used intermediate temperatures, nitrogen atmosphere, vacuum and short reactions times. Some properties of the PLA synthesized were studied to determinate the possible applications for biomedical area.

PLA chemistry

The basic building block of PLA is the lactic acid (LA). It is a simple chiral molecule which exists as two enantiomers, L- and D-lactic acid, optically active. It is can be produced by fermentative or chemical synthesis. The petrochemical scheme of monomer production was prevalent until about 1990. Today the most popular route is fermentation, in which sugars and starches are converted into lactic acid by bacterial fermentation using an optimized strain of *Lactobacillus* (Gupta et al, 2007; Adsul *et al.*, 2007).

The PLA is a semi-crystalline polymer with glass transition temperature around 55 to 59°C and melting point 174-184 ° C. It shows a good mechanical strength, high Young's modulus, thermal plasticity and has good processability (Auras et al, 2010). It is relatively hydrophobic polyester, unstable in wet conditions, which can undergo chain disruption in the human body and degrades into nontoxic byproducts, lactic acid, carbon dioxide and water which are subsequently eliminated through the Krebs cycle and in the urine.

PLA synthesis

There are two important methods for PLA synthesis: direct polycondensation (DP) of lactic acid and ring opening polymerization of lactic acid cyclic dimer, known as lactide. Figure 1 shows the reaction mechanism for both of them. In direct condensation, solvent is used and higher reaction times are required. The resulting polymer is a material of low to intermediate molecular weight.

Ring-opening polymerization (ROP) of the lactide needs catalyst but results in PLA with controlled molecular weight (Gupta et al, 2007). Depending on monomer used and controlling reactions conditions, it is possible to control the ratio and sequence of D- and L-lactic acid units in the final polymer. This polymerization route was select for this study.

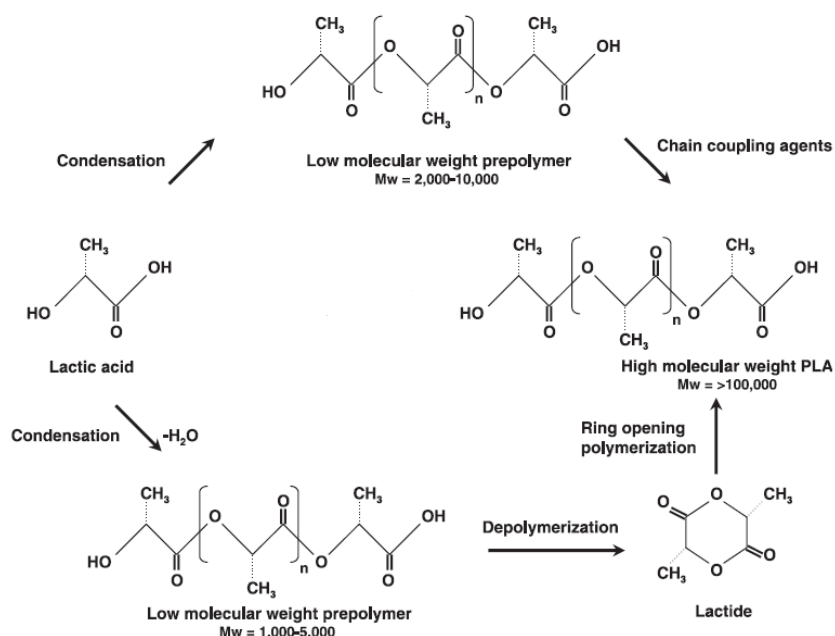


Figure 1. PLA synthesis methods (Gupta et al, 2007)

Materials and Methods

Lactic acid (LA reagent grade) with 85 wt% of purity was used in the polymerization process, and Stannous octoate ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$) was used as catalyst.

The polymerization process was carried out in a bench top system (see Fig. 3), composed by two flasks of 0.5 L, a mechanical stirrer, temperature control system, condenser connected to a vacuum pump. The reaction was conducted with and without nitrogen gas to control the system inert atmosphere.

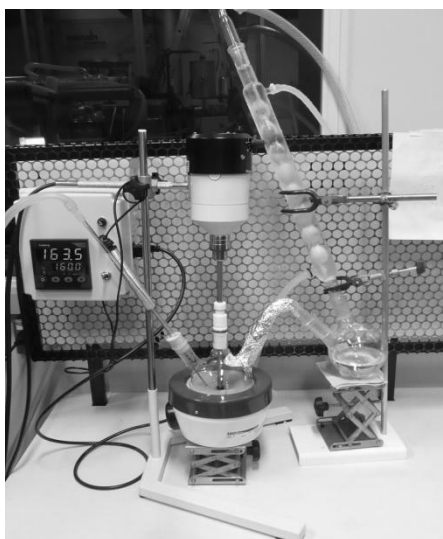


Figure 2. Polymerization experimental system

Differential Scanning Calorimetric (DSC) was used to obtain thermal transitions and properties of products. This procedure was performed using a first heating ramp to reach 200°C followed by a cooling to 25°C to erase the thermal history, then a second heating was made to 200°C. Heating and cooling rate was always of 10°C/min under nitrogen flow of 40 ml/min. The functional groups of PLA and LA were analyzed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR).

Results and Discussion

PLA polymerization by DP from lactic acid was carried out in two steps. In the first part of the synthesis occurs the pre-polymer formation, in which lactic acid is heated and, vacuum is used to remove water generated by the union of the monomer molecules. Second part is the union of short chains of pre-polymer to form the polymer. In this step stannous octoate ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$) was used as catalyst to promote the esterification reaction.

There is not a standard methodology to synthesize PLA, therefore several experiments were made with different conditions in order to determine suitable reaction temperature for each stage. The conditions were set as 200°C and 4 hr for first step and 160°C and 24 hr for the second one. For each trial around 450 grams of LA was added to the flask then, the monomer was heated to first step temperature gradually to avoid degradation of the reagent. The total condensate was measured at the end of each stage. At the end of the reaction, the product was deposited in a Petri dish and cooled to room temperature. Throughout the process it was observed that most of the condensate was obtained in the first stage, indicating the pre-polymer formation and its subsequent polymerization in the second stage.

During tests we observed that when the reaction was carried out without nitrogen, the water removal was slower, i.e., the nitrogen flow helped in removing the water vapor formed in reactor.

DSC analysis made of products obtained show similar thermal behavior for all samples. Figure 3 shows typical thermograms of DSC run. From the graph can observe a deviation from the baseline that was attributed to the glass transition temperature (T_g) of the material around 46-48 °C. On the other hand, sign of crystallization temperature (T_c) and melting temperature (T_m) were observed around 106 °C and 142 °C respectively.

FTIR analyses were made to determine the functional groups of the products obtained in order to understand more deeply what happens in the polymerization of lactic acid. A qualitative analysis of absorption bands with reaction time shows a decrease in the intensity of some bands and, the formation of new ones, indicating the end groups which decrease and those formed due to the polymerization reaction progress.

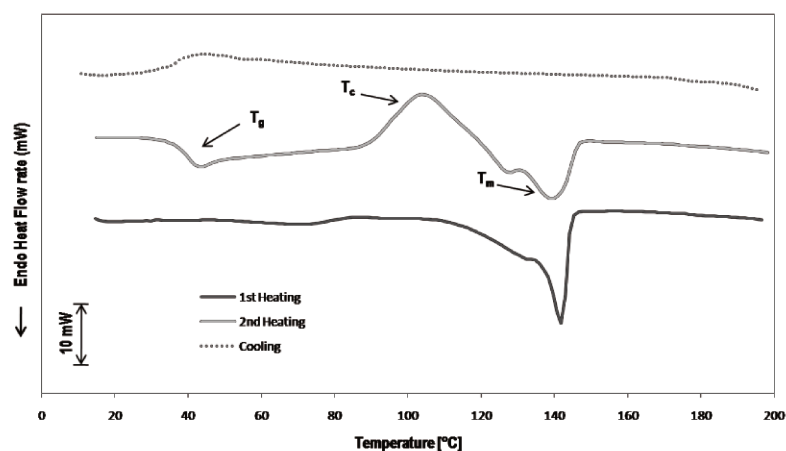


Figure 3. DSC thermogram

Figure 4 shows the FTIR spectrums of the monomer and the poly(D,L-lactic acid) which was obtained from 24h of reaction. The PLA spectrum shows the bands at $2,754.94$ and $2,766.51\text{ cm}^{-1}$ from symmetric and asymmetric valence vibrations of C-H from CH_3 , respectively. It is possible to observe a band shift related to the C=O stretch in the monomer in $1,727.06$ to $1,757.92\text{ cm}^{-1}$ in the polymer. These bands that show shifts of monomer to polymer also show a difference in the peak intensity which suggests the arrangement of molecules in the polymer chain. Bands corresponding to bending vibrations of CH_3 (asymmetric and symmetric) were found in $1,433.94$ and $1,511.08\text{ cm}^{-1}$ in the polymer spectrum as greater intensity peaks compared with those from monomer found in $1,408.87$ and $1,476.37\text{ cm}^{-1}$. C-O-C asymmetrical and symmetrical valence vibrations were found at $1,250.73$ and $1,200.59\text{ cm}^{-1}$ respectively; at $1,333.68\text{ cm}^{-1}$ is detected the C-O-C stretching vibration. The band around 3200 cm^{-1} is related to the stretching of OH group and this decreases from the monomer to the polymer due to reaction polyesterification that consumes the OH groups when they react with the acid groups to form the ester bond. These statements are similar those described by Nikolic *et al.*, 2010 and Jahno *et al.*, 2006.

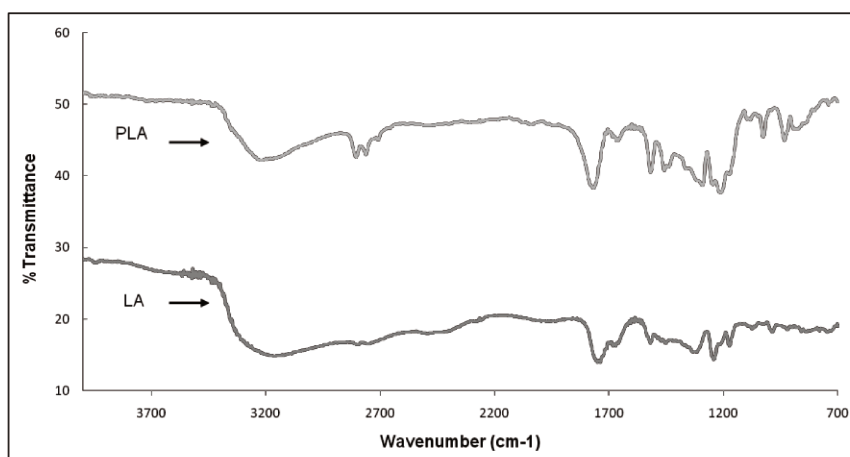


Figure 4. FTIR of PLA and lactic acid

Conclusion

Lactic acid polymerization by direct polycondensation (DP) was performed in two steps, at 200 °C for 4 hours in step 1 followed by 160 °C for 24 hours in step 2, resulting in a polymer with $T_g = \sim 48$ °C and $T_m = \sim 142$ °C. The use of nitrogen provided an inert atmosphere favorable to the occurrence of the polymerization reaction. By means of FTIR spectra comparisons, it was possible to observe the formation of poly-lactic acid from the monomer.

References

- Adsul, M. G., Varmab, A. J. and Gokhale, D. V., 2007, Lactic acid production from waste sugarcane bagasse derived cellulose. *Green Chemistry*, 9, 58-62.
- Auras, R., Lim, L. T., Selke, S. E. M. and Tsuji, H., 2010, *Poly(Lactic Acid) : Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications*, Wiley & Sons, Inc.
- Cheng, Y., Deng, S., Chen, P. and Ruan, R., 2009, Polylactic acid (PLA) synthesis and modifications: a review. *Frontiers of Chemistry in China*, 4(3), 259-264.
- Gupta, B., Revagade, N. and Hilborn, J. 2007, Poly(lactic acid) fiber: An overview. *Progress in Polymer Science*, 34(4), 455-482.
- Jahno, V. D., Ligabue, R., Einloft, S., Ribeiro, G. B. M., Santos, L.A., Ferreira, M. R. W. F., Bombonato-Prado, K. F., 2010, Síntese e Caracterização do Poli (Ácido L-Láctico) e sua Avaliação em Culturas de Osteoblastos Humanos. In: *Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais*.
- Lunelli B. H., Lasprilla, A. J. R., Martinez G. A. R., Jardim A. L., and Maciel Filho R., 2010, Poly-Lactic Acid Production from Brazilian Renewable Feedstock for Application in Biomedical Devices. In: *Latin American Congress of Artificial Organs and Biomaterials*, v. 216-2.3.
- Nikolic, L., Ristic, I., Adnadjevic, B., Nikolic, V., Jovanovic, J. and Stankovic, M., 2010, Novel Microwave-Assisted Synthesis of Poly(D,L-lactide): The Influence of Monomer/Initiator Molar Ratio on the Product Properties. *Sensors*, 10, 5063-5073.

5.4. Conclusões

Nas condições de 140 °C durante 3 horas (etapa 1), seguido da etapa 2 utilizando-se 160 °C durante 4 horas, ambas sob vácuo de 200 mmHg, não foram obtidos os resultados esperados quanto à polimerização, formando um produto viscoso e de coloração esverdeada.

Quando a temperatura foi modificada para 200 °C e o tempo para 4 horas na etapa 1, seguido de 160 °C durante 4 horas na etapa 2, ocorreu a polimerização, obtendo-se um polímero amorfo com T_g de aproximadamente 43 °C.

A utilização de nitrogênio, garantindo uma atmosfera inerte, foi favorável para ocorrer a reação de polimerização.

Nas condições de temperatura de 200 °C e tempo de 4 horas na etapa 1, seguido de 160 °C e tempos maiores (6, 8, 12 e 24) na etapa 2, foi possível produzir PLA, obtendo-se um poliéster termoplástico semicristalino com T_g e T_m de aproximadamente 48 °C e 142 °C, respectivamente.

Pela análise de FTIR, concluiu-se que houve a formação de PLA comparando-se os espectros do monômero e polímero.

As análises morfológicas e de composição por MEV demonstraram que os polímeros obtidos por policondensação direta possuem potencial para uso biomédico quanto às suas características de superfície e composição química. Uma vez que estes apresentam superfície rugosa e na composição química, determinada por MEV/EDS, não há presença de compostos tóxicos.

Capítulo 6: Síntese de PLA por Abertura de Anel

6.1. Introdução

O PLA é um polímero amplamente conhecido na área dos biomateriais. Na época de sua descoberta, em 1932 por Carothers, não teve grande sucesso como plástico, devido à sua degradação hidrolítica. Porém, 30 anos atrás, desde seu início em aplicações médicas, vem sendo amplamente desenvolvido e investigado (Lunt, 1998). O PLA preparado a partir da policondensação direta tem baixa massa molecular e propriedades mecânicas e, portanto, é utilizado somente em algumas aplicações como liberação controlada de drogas, suturas cirúrgicas e suportes para cultivo de células, não sendo adequado para outras aplicações como implantes, parafusos, placas, etc (Kricheldorf e Lee, 1995). O método mais eficiente para a preparação de PLA de alta massa molar é a polimerização por abertura de anel do dímero cíclico do ácido lático, conhecido como lactídeo (ROP-Ring Openning Polymerization) (Yu *et al.*, 2010; Yang and Liu, 2008). Esta rota é uma reação de três etapas que normalmente envolve passos de purificação adicional e, portanto, relacionada à custos mais elevados (Auras *et al.*, 2010; Lunt, 1997). Durante as duas últimas décadas, esforços consideráveis têm sido feitos para melhorar o processo de produção de lactídeo, visando à redução do seu custo de produção (Yang and Liu, 2008).

Grande parte da literatura baseada no ROP de PLA apresenta principalmente a reação a partir do lactídeo de alta pureza. Somente algumas descrições do processo completo, que inicia-se desde o ácido lático até a obtenção do PLA, podem ser encontradas na literatura (Auras *et al.*, 2010). De maneira semelhante, é difícil encontrar estudos com maiores volumes de reação, sendo, na maioria dos casos, esta síntese investigada em ampolas. Isto pode estar relacionado ao alto custo do lactídeo e longos tempos de reação. Feita estas considerações, neste capítulo é apresentada a síntese e caracterização de PLA por ROP a partir de seu monômero inicial, o ácido lático. Serão discutidas questões do processo de obtenção do lactídeo e seu posterior processo de polimerização em PLA.

6.2. Desenvolvimento Experimental

O processo geralmente aplicado para ROP de PLA, partindo-se do ácido láctico, envolve três etapas distintas: policondensação, obtenção do lactídeo, e polimerização por abertura de anel. Os três processos devem lidar com uma série de etapas críticas, sendo algumas delas relacionadas à natureza da molécula do ácido láctico, enquanto outras geradas como resultado das condições do processo (Auras *et al*, 2010).

6.2.1. Policondensação

No capítulo anterior, a policondensação foi estudada para a produção do PLA como polímero. Nesta parte do projeto, a policondensação foi empregada para formar um produto intermediário na obtenção de lactídeo, conhecido como oligômeros de ácido láctico. A fabricação do lactídeo é realizada por despolimerização de PLA de baixa massa molar (oligômeros), de preferência com massa molar (M_w) entre 400-2500 g/mol (Yoo e Kim, 2006; Auras *et al.*, 2010). Nesta etapa, entre 450 e 500 gramas de ácido L-láctico (85 % em massa) foram desidratadas para produzir oligômeros de PLA em temperaturas de 170 a 200 °C, sob atmosfera de nitrogênio, utilizando o sistema de reação apresentado no Capítulo 3 (Figura 3). Diferentes tempos de reação foram testados para produzir oligômeros de várias massas molares. O uso de catalisador em diferentes quantidades também foi avaliado.

6.2.2. Obtenção do Lactídeo

Várias tecnologias para a fabricação de lactídeo em batelada ou contínuo e com o uso de diferentes catalisadores são encontradas na literatura. Um processo de fabricação, comumente encontrado em escala industrial, envolve o aquecimento entre 130 e 230 °C sob pressão reduzida, na presença de 0,05 a 1,0 % em massa de estanho em pó ou um composto derivado de estanho, de tal forma que o lactídeo seja produzido e destilado (Yoo e Kim, 2006; Yang e Liu, 2008).

O produto obtido na etapa anterior (policondensação) foi misturado a uma quantidade predeterminada do catalisador no balão de reação (Yoo e Kim, 2006). O recipiente foi

aquecido e reduzido a uma temperatura e pressão previamente determinadas, a fim de que o lactídeo produzido pudesse ser recuperado por destilação e recolhido no balão de condensado (Figura 14). Inicialmente, o receptáculo e o condensador foram mantidos em aproximadamente 90 °C, visando impedir a solidificação do produto. Também foi avaliado o sistema de recuperação do lactídeo em fase sólida, resfriando-se o balão de condensado com gelo e nitrogênio líquido. A reação de destilação foi concluída até finalizar a produção do destilado. O produto bruto foi lavado com água fria, separado por filtração e em seguida, seco sob vácuo durante a noite (16 h aprox.) à temperatura de 40 °C. Técnicas de GC-MS, GC-FID e FTIR foram utilizadas para analisar o lactídeo produzido.

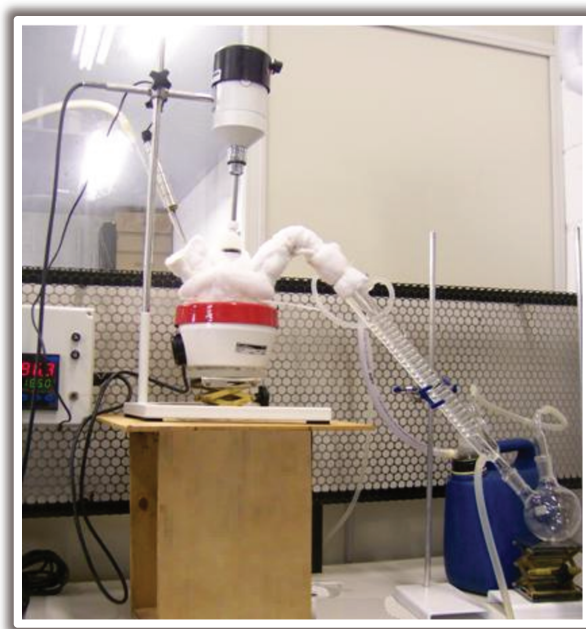


Figura 14. Sistema experimental de obtenção do lactídeo.

6.2.3. Polimerização por ROP

As reações de polimerização foram realizadas em um balão de três bocas, mantido sob agitação e controle da temperatura em um sistema de atmosfera de nitrogênio-vácuo, como apresentado na Figura 15. O balão foi aquecido em um banho de glicerina e isolado para garantir perfeita distribuição de temperatura no interior. Três temperaturas de polimerização foram testadas: 130, 150 e 170 °C. A massa total de lactídeo foi de 50

g. O catalisador usado foi o octanoato de estanho 0.1 % em massa, visto que nesta proporção foram produzidos PLA de boas características e com rendimentos satisfatórios em trabalhos anteriores (Noda e Okuyama, 1999; Yoo e Kim, 2006).

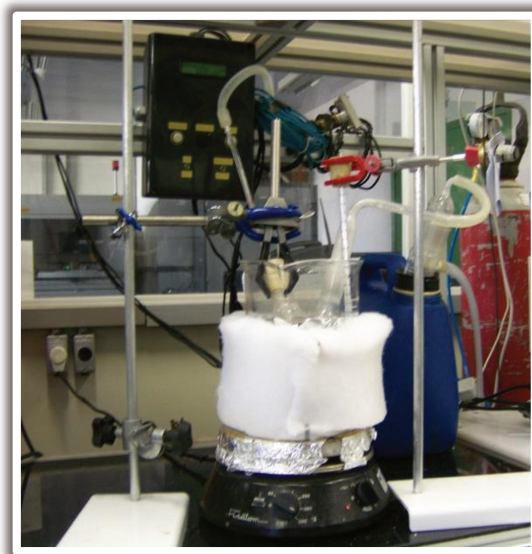


Figura 15. Sistema experimental de síntese de PLA por ROP.

6.3. Resultados da síntese por ROP

6.3.1. Resultados da síntese do lactídeo

Na química da síntese do lactídeo, uma transesterificação intramolecular, ou seja, uma reação de “back-biting” do oligômero de PLA ocorre para produzir o lactídeo, o qual deve ser retirado por destilação da mistura de reação para favorecer a reação do lado da produção do lactídeo (Figura 16).

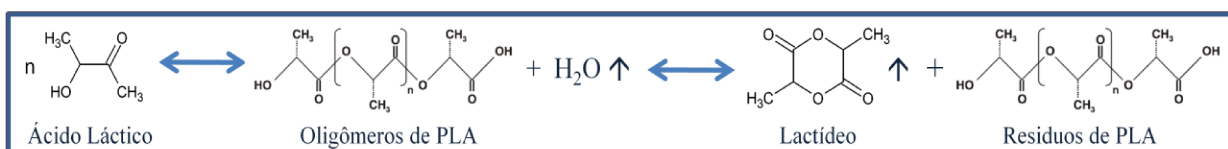


Figura 16. Sistema experimental de síntese de PLA por ROP.

A obtenção do lactídeo foi realizada em três etapas consecutivas, sendo duas de formação dos oligômeros: desidratação do ácido láctico e policondensação; e outra da

obtenção do lactídeo. A formação dos oligômeros de PLA foi realizada inicialmente à 200 °C e pressão atmosférica sem catalisador, conforme processo descrito por Yoo e Kim (2006). Porém, os resultados na etapa da síntese do lactídeo não foram os esperados, sendo, portanto, modificadas as condições e diferentes testes foram realizados com o objetivo de obter maior quantidade de produto (Tabela 4).

Tabela 4. Condições de operação avaliadas na obtenção do Lactídeo.

Testes	Oligomerização							Formação do Lactídeo			
	Desidratação			Policondensação							
	T (°C)	P (mmHg)	t (h)	T (°C)	P (mmHg)	Cat. (%w)	t (h)	T (°C)	P (mmHg)	Cat. (%w)	t (h)
1	200	760	2	200	200	2 SnO	3	200	100	2 SnOct	12
2	200	760	3	200	360	0,1 SnO	2	200	160	2 SnOct	12
3	200	760	3	200	200	2 SnOct	3	200	100	0,1 SnO	6
4	200	760	3	200	200	2 SnOct	3	200	150	1 SnOct	6
5	170	760	3	200	200	0,1 SnO	3	200-230	200-100	0,1 SnOct	6
6	170	760	2	200	200	0,1 SnOct	2	200-240	200-100	2 SnO	12
7	170	760	2	200	400	2 SnOct	2	200-240	200-100	0,1 SnO	12
8	170	760	2	200	150	1 SnOct	2	200-240	150-100	0,1 SnO	12

Uma das questões de maior desafio no projeto foi a obtenção do lactídeo, mais exatamente na recuperação deste produto, após sua saída da mistura de reação por destilação. Os dois primeiros testes (1 e 2) foram desenvolvidos utilizando, em todas as etapas, um condensador de bolhas aquecido à 90 °C para obter o produto líquido (temperatura de fusão do lactídeo = ~95 °C). No entanto, a transferência de calor através das paredes do condensador não foi eficiente e devido ao vácuo utilizado, o

produto gasoso acabou sendo arrastado para fora do condensador, promovendo a cristalização nas partes da linha de vácuo, onde se tinha maior resistência. Se o processo era feito com menor vácuo, a retirada do lactídeo da mistura de reação não era efetiva.

Nos testes 3, 4 e 5, um condensador de espiral foi utilizado nas três etapas da síntese, mas acabou apresentando problemas na parte da oligomerização devido à água que ficava retida nos espirais. Portanto, foi testado o uso do condensador em espiral somente na última etapa e o condensador de bolhas nas etapas da oligomerização, o que tornou possível recuperar o lactídeo produzido. As maiores quantidades de produto foram obtidas quando o catalisador octanoato de estanho foi utilizado na etapa da formação dos oligômeros e, o catalisador óxido de estanho foi usado na etapa da formação do lactídeo. Assim, os testes 6, 7 e 8 foram realizados dessa maneira. Foi necessário o uso de nitrogênio líquido para resfriar o balão de condensado, garantindo assim, que lactídeo não fosse arrastado pelo vácuo até a bomba.

A porcentagem de lactídeo no produto (Tabela 5) foi expressa pela Equação (1):

$$\% \text{ lactídeo no produto} = \frac{\text{Quantidade de lactídeo bruto produzido (g)}}{\text{Quantidade de PLA inicial no reator (g)}} \times 100 (\%) \quad (1)$$

Tabela 5. Porcentagem de lactídeo obtidas nos teste 6, 7 e 8.

Teste	Quantidade de PLA inicial no reator (g)	Lactídeo bruto produzido (g)	Rendimento (%)
6	310,78	77,40	24,9051
7	306,68	98,72	38,9494
8	312,76	93,34	29,8440

O lactídeo foi produzido com baixos rendimentos (25-40%) relacionado à quantidade utilizada de PLA obtido na primeira etapa. No entanto, o lactídeo foi produzido com alta pureza, conforme pode ser observado em sua caracterização.

Através da análise de GC-MS da amostra do produto obtido no teste 7, constatou-se a existência de dois dos três isômeros do lactídeo: isômero L-lactídeo e o meso-lactídeo, como pode ser observado nas Figuras 17 e 18.

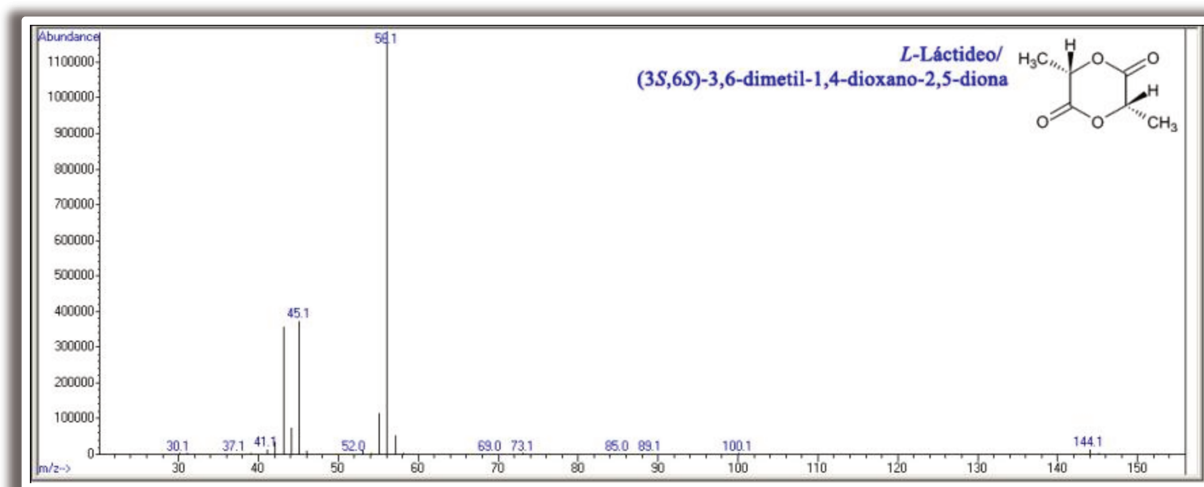


Figura 17. Espectro de massas do L-lactídeo obtido pela análise da amostra de produto da segunda etapa de polimerização por ROP.

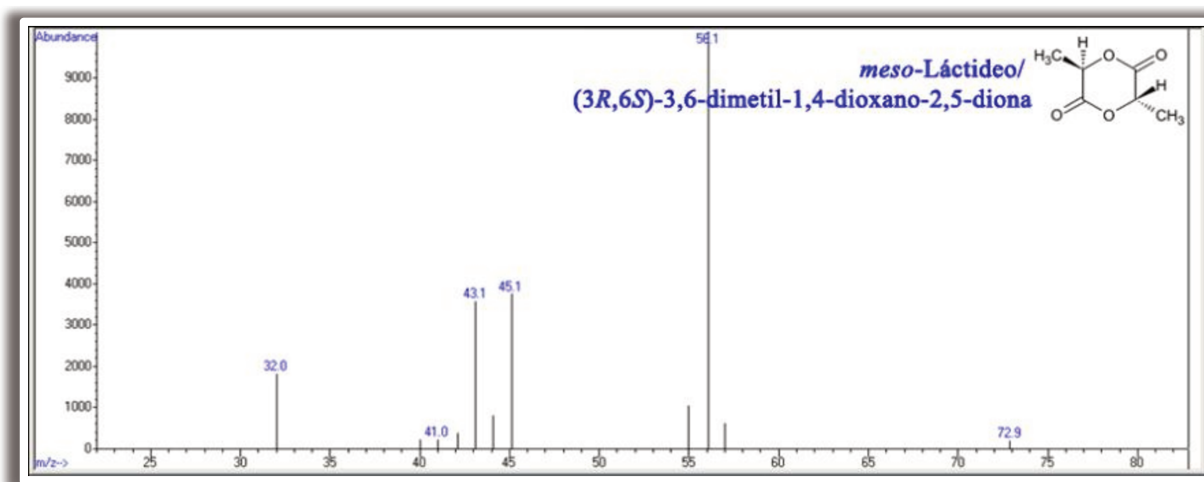


Figura 18. Espectro de massas do L-lactídeo obtido pela análise da amostra de produto da segunda etapa de polimerização por ROP.

Por GC-FID, determinou-se a porcentagem e a seletividade dos isômeros formados na policondensação, sendo o isômero L-lactídeo majoritário com 97,7 % e o isômero meso com 2,3 % (Tabela 6). No cromatograma (Figura 19) não foi observado a presença de nenhum outro composto, o que indica uma alta pureza do lactídeo sintetizado na condensação.

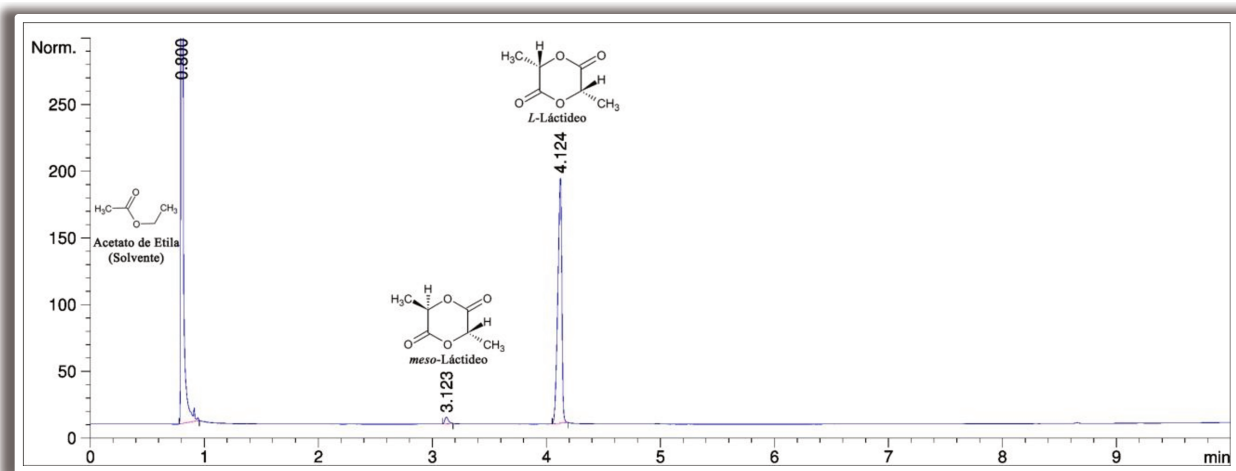


Figura 19. Cromatograma (GC-FID) obtido da amostra de produto da segunda etapa de polimerização por ROP.

Tabela 6. Seletividade dos isômeros formados na policondensação.

Condições	Área do Pico	%
L-lactídeo	447,9707	97,6978
Meso-lactídeo	10,5795	2,3022
Total	458,5502	100

A análise do espectro de infravermelho da amostra do produto obtido no teste 7 nos permite observar a formação do lactídeo sintetizado, verificando as bandas características do material. A Figura 20 apresenta o espectro do lactídeo obtido comparado ao do ácido láctico e a Tabela 6 contém as atribuições para os espectros de

cada um deles. Pela Figura 20, pode-se observar a banda em torno de 3500 cm^{-1} , que diminui do ácido ao anel láctico, assim como as bandas características do anel, indicando que houve formação do lactídeo.

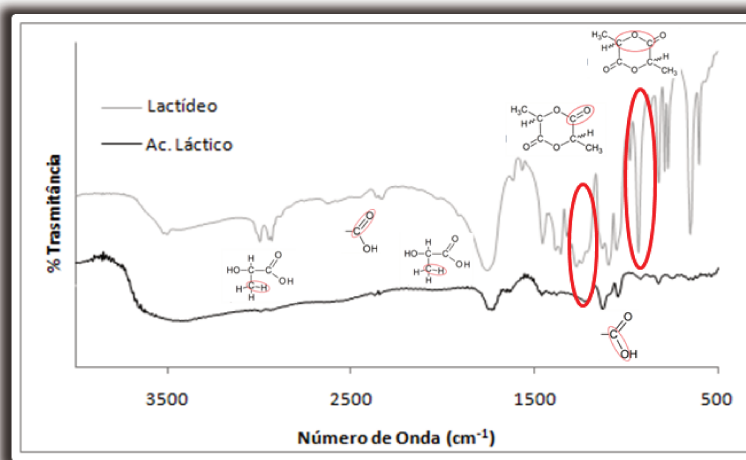


Figura 20. Análises FTIR do lactídeo e o ácido láctico.

Tabela 7. Bandas de absorção do Lactídeo e o Ácido Láctico.

Bandas de absorção (cm^{-1})	Ác. Láctico	Lactídeo
Vibrações de valência do C-H do CH_3 (assimétrica;simétrica)	2946,69; 2881,13	2938,98; 2925,48
Vibrações de valência do C=O do COO	1704,76	1727,90
Vibrações de flexão C-H do CH_3 (simétrica ; assimétrica)	1332,57; 1415,49	1351,85; 1446,35
Vibrações de valência do COC no anel (assimétrica;simétrica)	-	1232,29; 1081,37
Vibrações de valência do C-O do COO (simétrica ; assimétrica)	1029,80; 892,88	1043,30; 950,73
Vibração de alongamento do COO no anel	-	931,45

6.3.2. Resultados do PLA obtido por ROP

Os polímeros produzidos a partir do lactídeo fabricado na etapa anterior são apresentados na Figura 21.

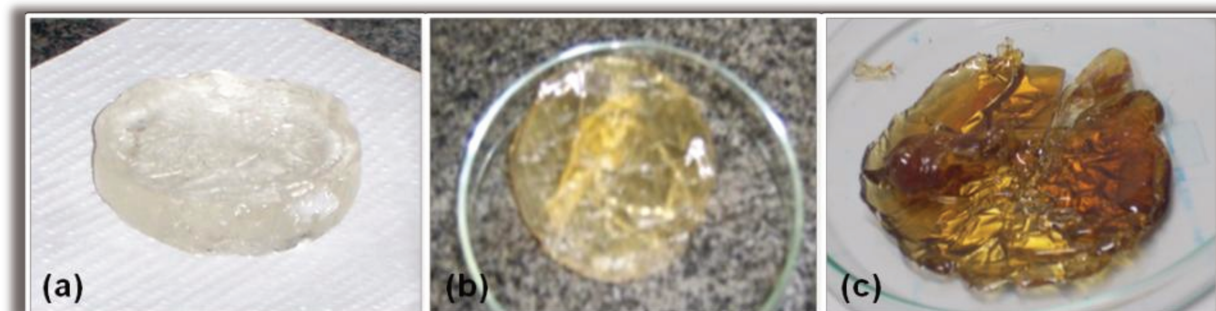


Figura 21. PLA obtido por ROP em a) 130 °C, b) 150 °C, e c) 170 °C.

Estes produtos foram analisados estruturalmente por meio de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) para confirmar a formação do poli (ácido láctico). A Figura 22 representa os espectros de IR dos polímeros PLA ROP sintetizados à 130, 150 e 170 °C durante 30 h. Observa-se que todos os polímeros apresentaram bandas semelhantes de absorção do PLA, anteriormente mencionadas, tais como 2850 e 2950 cm^{-1} (ν C-H), 1750 cm^{-1} (ν C=O do COO), 1450 cm^{-1} e 1350 cm^{-1} (δ CH₃), 1130 e 1090 cm^{-1} (ν C-O do COO) cm^{-1} (Nikolic *et al.*, 2010; Motta e Duek, 2006). A banda em 3650 cm^{-1} (ν OH) corresponde ao OH da água e indica que a amostra ou o equipamento, no momento da análise, não estava protegido de umidade. O PLA produzido a partir do lactídeo não teve formação de água, como aconteceu na reação de policondensação. Portanto, a umidade pode ser atribuída ao equipamento e ao ambiente em que foram realizadas as análises.

Ainda pela Figura 22, observou-se que a única diferença entre os espectros dos três polímeros foi a intensidade das bandas, visto que nos espectros do PLA ROP à 130 °C e em 150 °C os picos das bandas são mais definidos comparados àquele do PLA ROP à 170 °C, indicando que menores temperaturas favorecem esta reação, provavelmente na acomodação das cadeias na rede polimérica. Assim, a vibração das moléculas foi mais ordenada, originando bandas mais intensas e picos mais definidos no FTIR. Estes resultados estão em concordância com a literatura, na qual a reação de PLA por ROP é

favorecida em temperaturas entre 140 e 160 °C. Um estudo termodinâmico de polimerização por abertura de anel realizado por Kulagina *et al.*, 1982 (*apud* Hyon *et al.* 1997) revelou que a temperatura máxima superior da síntese foi em torno de 157 °C.

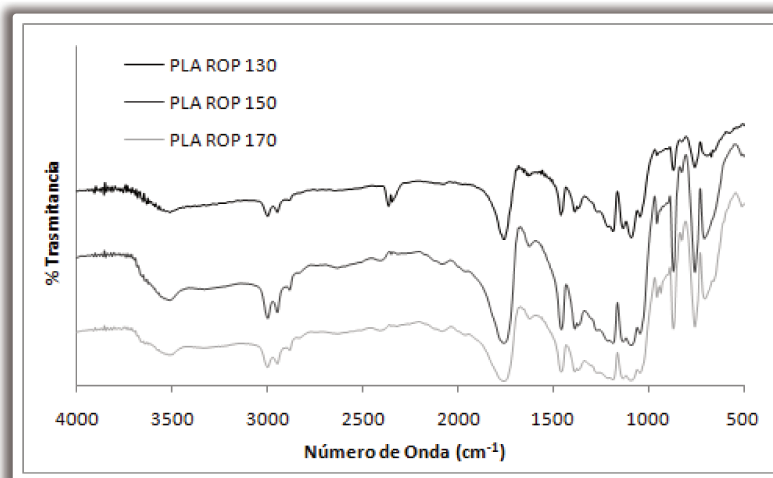


Figura 22. Análises FTIR do PLA ROP em 130, 150 e 170 °C.

Foram realizadas análises de FTIR das alíquotas dos polímeros retiradas em 10, 20 e 30 horas de reação. A Figura 23 corresponde aos espectros IR das amostras do PLA ROP na temperatura de 150 °C em 10, 20 e 30 h. Nesta Figura, observa-se que o tempo de reação por ROP também não afetou ou favoreceu a estrutura orgânica dos polímeros obtidos, visto que as bandas dos três polímeros permaneceram nas mesmas faixas anteriormente mencionadas.

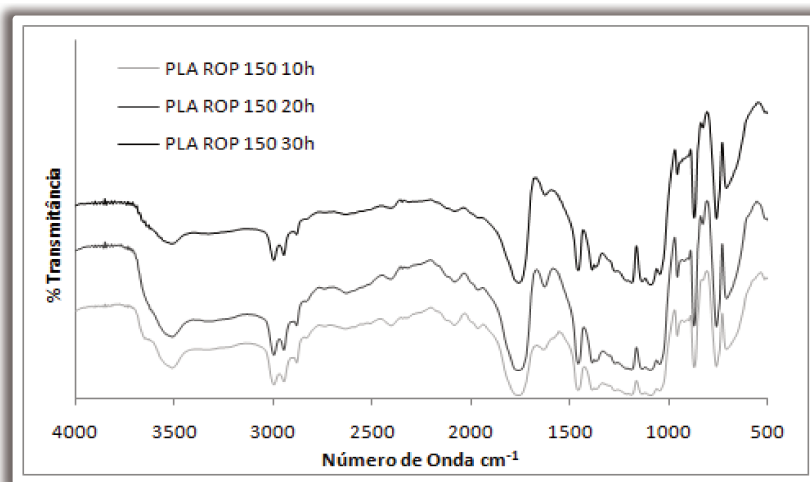


Figura 23. Análises FTIR do PLA ROP em 150 para 10, 20 e 30 h.

Por meio das análises de DSC realizadas nos produtos obtidos foram avaliadas suas propriedades e comportamento térmico, encontrando-se uma tendência similar no comportamento térmico dos PLA ROP produzidos à 130, 150 e 170 °C, Figuras 24, 25 e 26, nas quais pode ser claramente visualizado as transições ocorridas, no primeiro e segundo aquecimentos, identificadas como T_g , T_c e T_m . A partir dos dados obtidos nas análises de DSC encontrou se que estes produtos são polímeros de PLLA, semicristalinos, caracterizados pela presença de T_m , que se apresenta como um pico bem acentuado no intervalo de 130-184 °C (Grossman, 2010). Os valores obtidos de cada uma das propriedades térmicas são apresentados na Tabela 8.

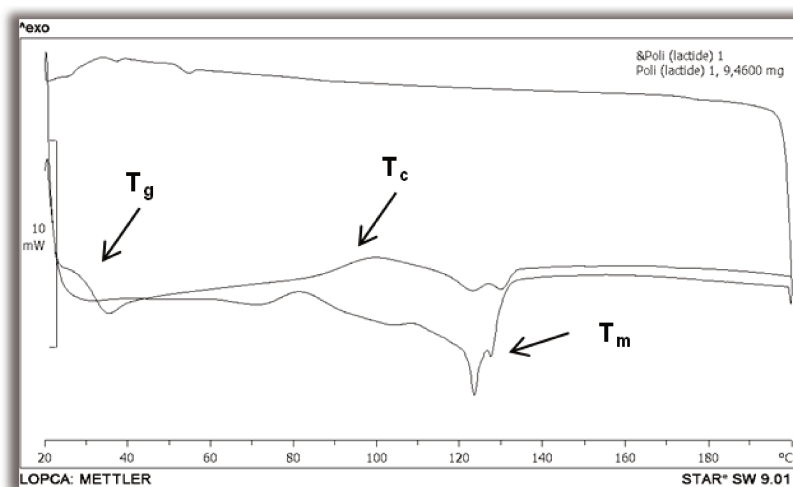


Figura 24. Termograma DSC PLA ROP em 130 °C.

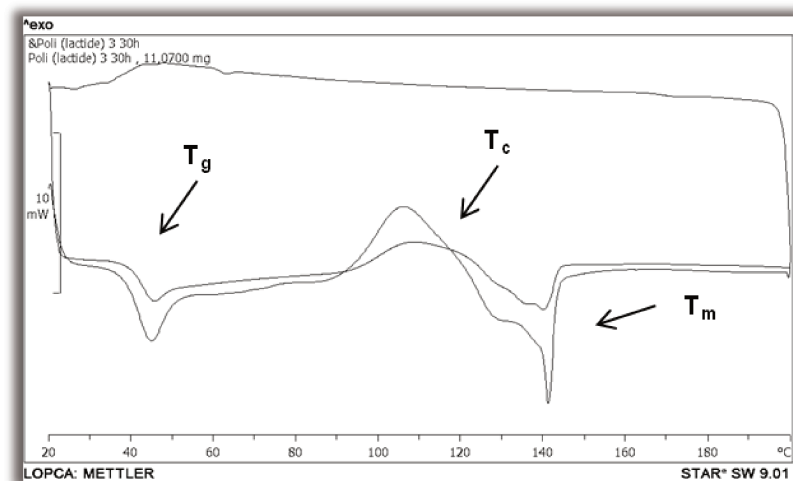


Figura 25. Termograma DSC do PLA ROP em 150 °C.

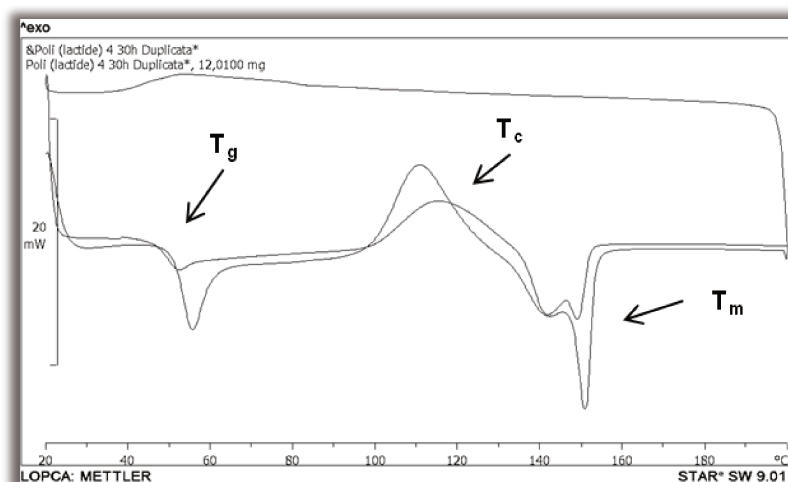


Figura 26. Termograma DSC do PLA ROP em 170 °C.

Dos valores da entalpia de fusão (ΔH_c) e entalpia de cristalização (ΔH_m) obtidos a partir das análises de DSC, foram calculados os valores do grau de cristalinidade (Tabela 8), para estes polímeros, segundo a Equação 2:

$$X = \frac{(\Delta H_m - \Delta H_c) * 100}{\Delta H_m^\circ} \quad (2)$$

Onde: ΔH_m = entalpia de fusão (J/g^{-1}); ΔH_c = entalpia de cristalização (J/g^{-1}); $\Delta H_m^\circ = 93,7 J/g$, que é a entalpia de fusão supondo o polímero 100 % cristalino (Motta e Duek, 2006).

Tabela 8. Propriedades térmicas dos polímeros de PLA ROP determinadas via análise DSC.

AMOSTRA	1er Aquecimento				2do Aquecimento					Xc (%)
	Tc (°C)	Tf (°C)	ΔH_c (J/g^{-1})	ΔH_m (J/g^{-1})	Tg (°C)	Tc (°C)	Tf (°C)	ΔH_c (J/g^{-1})	ΔH_m (J/g^{-1})	
130°C - 30 h	82,4	123,25	-11,02	28,84	35,2	99,09	130,04	-9,27	1,77	11,78
150°C - 30 h	106,46	140,79	-31,75	8,08	46,01	110,24	143,12	-44,72	21,43	70,59
170°C - 30 h	111,01	150,29	-97,42	40,5	50,17	115,77	148,83	-46,06	27,46	78,46

Como já foi mencionado, o PLLA possui propriedades mecânicas significativamente maiores quando comparado ao PLA amorfo (Auras *et al.*, 2010; Bendix, 1998 *apud* Barbanti, 2005). O PLA semicristalino tem temperaturas de transição vítrea e de fusão ligeiramente mais elevadas do que o PLA amorfo (Fang e Hanna, 1999), neste caso foram de 35-50 °C e 130-148 °C respectivamente.

Uma análise de DSC foi realizada da alíquota do PLA ROP 150 retirada em 10 horas para avaliar as mudanças térmicas devidas ao tempo de reação. A Figura 27 corresponde ao termograma do PLA ROP na temperatura de 150 °C em 10 h. Nesta Figura, observa-se que o tempo de reação na polimerização do PLA por ROP, afeta as propriedades térmicas do material, evidenciado por menores valores de T_g , T_c e T_m do polímero obtido com somente 10 h de reação quando comparado com o obtido depois de 30 h re reação (Tabela 9).

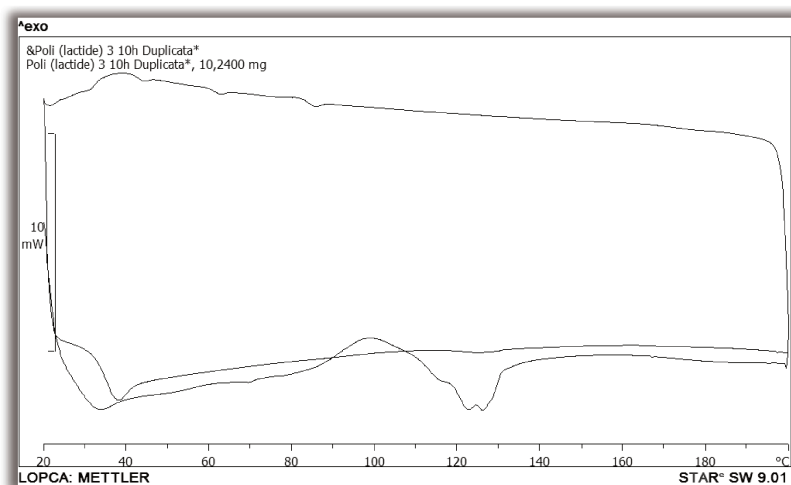


Figura 27. Termograma DSC da alíquota do PLA ROP em 150°C tirada em 10h.

Dos valores do grau de cristalinidade calculados dos polímeros de PLA ROP em 150 °C (Tabela 8) é possível observar que a cristalinidade do material aumenta com o tempo de polimerização. Isto é devido ao acomodamento das cadeias poliméricas com o decorrer do tempo de reação.

Tabela 9. Propriedades térmicas dos polímeros de PLA ROP em 150 °C.

AMOSTRA	1er Aquecimento				2do Aquecimento					Xc (%)
	Tc (°C)	Tf(°C)	ΔH_c (J/g ⁻¹)	ΔH_m (J/g ⁻¹)	Tg (°C)	Tc (°C)	Tf (°C)	ΔH_c (J/g ⁻¹)	ΔH_m (J/g ⁻¹)	
150°C - 10 h	-	-	-	-	39,78	99,11	124,04	-11,24	7,31	19,80
150°C - 30 h	106,46	140,79	-31,75	8,08	46,01	110,24	143,12	-44,72	21,43	70,59

Análises MEV da superfície normal e de fratura dos polímeros obtidos por ROP permitiram observar as características morfológicas destes. Na Figura 28 se apresentam as micrografias geradas dos produtos obtidos nas temperaturas de polimerização de 130, 150 e 170 °C. Nestas imagens pode-se observar que as superfícies dos polímeros sintetizados nesta parte do projeto vão variando com a temperatura de polimerização, para o polímero obtido em T=130 °C as superfícies são irregulares e rugosas, já para o polímero sintetizado em 150 °C as superfícies se tornam menos rugosas e quase são lisas no polímero feito em 170 °C. Estes polímeros também não apresentaram porosidade. Por tanto, para eventual uso biomédico, os polímeros poderiam ser submetidos a tratamentos de superfície para melhorar suas características de superfície e porosidade e assim promover a adesão e crescimento celular.

A partir de microanálise elementar MEV EDS, foram determinadas as porcentagens dos elementos presentes nos polímeros produzidos por ROP. Estes análises mostraram que estes polímeros apresentam em sua composição química de forma geral somente carbono (C) e oxigênio (O). Conteúdos de estanho provenientes do resíduo de catalisador, não apareceram em geral nas amostras analisadas como se observa na Figura 29. Outros elementos como cálcio (Ca), potássio (K) e cloro (Cl) foram encontrados em algumas amostras dos polímeros, sendo atribuídos provavelmente aos resíduos de impurezas do monômero. Devido ao baixo conteúdo destes elementos não foram quantificáveis e não houve necessidade de medição das porcentagens de

composição dos mesmos. Os PLAs sintetizados nesta etapa do projeto possuíam semelhante tendência na composição e nenhum outro metal, ou elemento tóxico, foi encontrado nas análises. Portanto, enquanto a sua composição, estes poderiam ser utilizados em um possível uso biomédico, sem purificações posteriores, devido que os componentes deste material não afetariam a viabilidade celular.

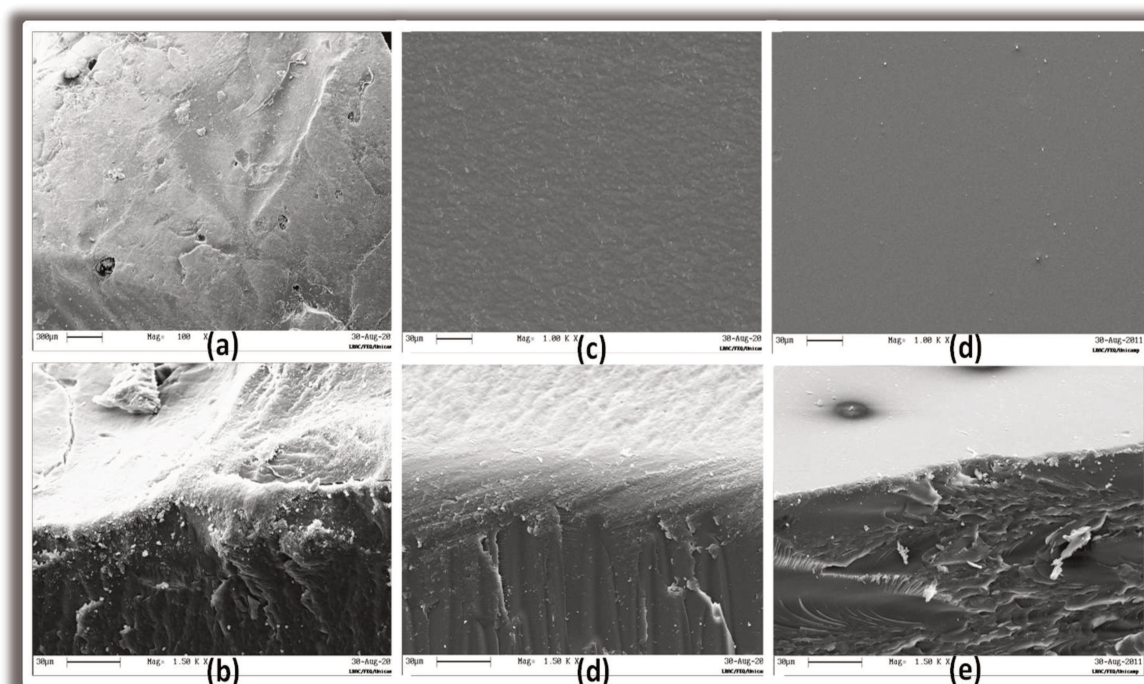


Figura 28. Micrografias da superfície e fratura do PLA ROP 130 (a e b), PLA ROP 150 (c e d) e PLA ROP 170 (e e f).

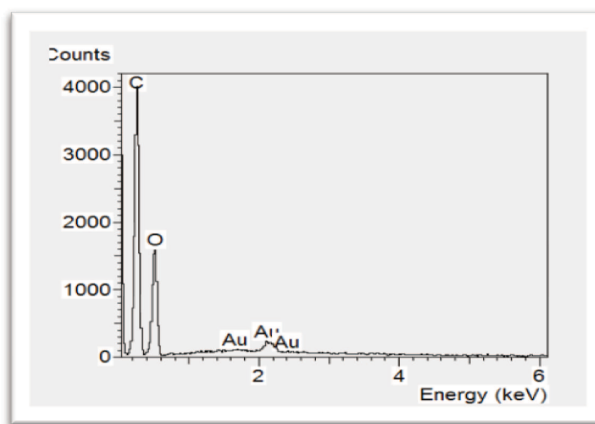


Figura 29. Microanálise elemental MEV/EDS do PLA ROP 150.

6.4. Conclusões

Através das análises por FTIR e GC-MS verificou-se a obtenção de lactídeo na segunda etapa de polimerização por ROP nas condições de $T = 200-240\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P = 150-100\text{ mmHg}$ e 0,1 % SnO usado como catalizador. Por GC-FID determinou-se a porcentagem e a seletividade dos isômeros formados na policondensação, sendo o isômero L-lactídeo majoritário com 97,7 % e o isômero meso com 2,3 %. O lactídeo sintetizado é de alta pureza, verificada pela ausência de outros compostos.

Nas condições de 130, 150 e 170 $^{\circ}\text{C}$ em 30 horas sob vácuo de 100-150 mmHg, utilizando octanoato de estanho como catalisador na etapa 3 da síntese, foram obtidos polímeros do ácido láctico pela rota de polimerização por abertura de anel.

Os resultados obtidos das análises de FTIR, dos polímeros sintetizados por ROP, mostram-se semelhantes aqueles apresentados na literatura pesquisada, permitindo concluir que houve a formação de PLA.

A partir das análises de DSC dos produtos, foi possível determinar que os polímeros do PLA, obtidos nesta parte do projeto, são semicristalinos (PLLA) e tem temperaturas de transição vítrea e de fusão de 35-50 $^{\circ}\text{C}$ e 130-148 $^{\circ}\text{C}$ respectivamente.

Das análises de MEV/EDS foi avaliado o potencial para uso biomédico, quanto às suas características de composição química, dos polímeros obtidos por ROP. Encontrando-se que não há presença de compostos tóxicos na sua composição.

Capítulo 7: Comparação dos polímeros obtidos por PD e ROP

7.1. Comparação estrutural via FTIR

A Figura 30 apresenta a comparação dos polímeros obtidos por policondensação direta e por abertura de anel, analisados pela técnica de FTIR. No cromatograma do FTIR, observa-se a semelhança estrutural dos produtos obtidos nas bandas características do PLA, do qual se pode concluir que existe formação de polímero pelas duas rotas.

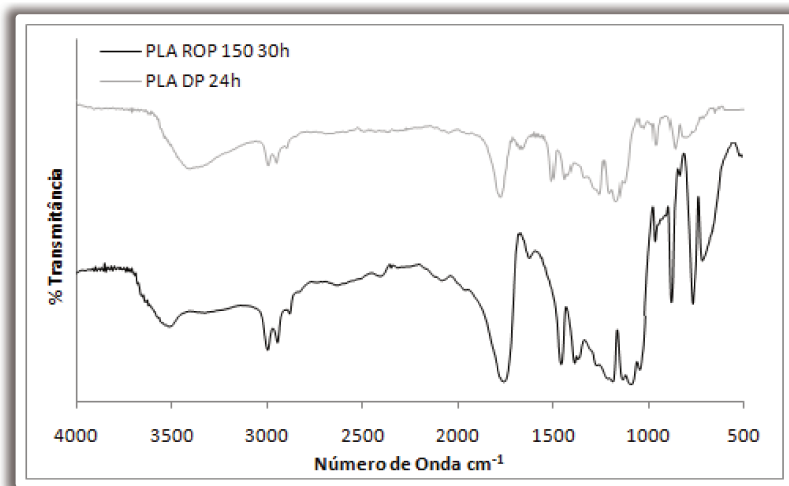


Figura 30. Comparação do FTIR dos polímeros obtidos por policondensação direta (PLA DP 24h) e por abertura de anel (PLA ROP em 150°C e 30h).

7.2. Comparação das propriedades térmicas obtidas por DSC

No caso do comportamento térmico do material foram encontradas, a través das análises de DSC dos polímeros obtidos pelas duas rotas de polimerização, as transições ocorridas como T_g, T_m, T_c, decorrentes dos 1o e 2o aquecimentos. Entre tanto, estas transições somente foram observadas para o polímero obtido por DP após 24 h de reação, em comparação os polímeros por ROP, nos quais foram observadas para todas as condições estudadas. Comparando o termograma obtido para o PLA DP 160 °C e 24 h, com o termograma do PLA ROP 150 °C e 30 h, pode ser claramente observado o aumento nos valores das temperaturas T_g, T_m, T_c (Figura 31). Estes

valores são apresentados na Tabela 10 junto com o grau de cristalinidade, calculado a partir dos valores de ΔH_c e ΔH_m .

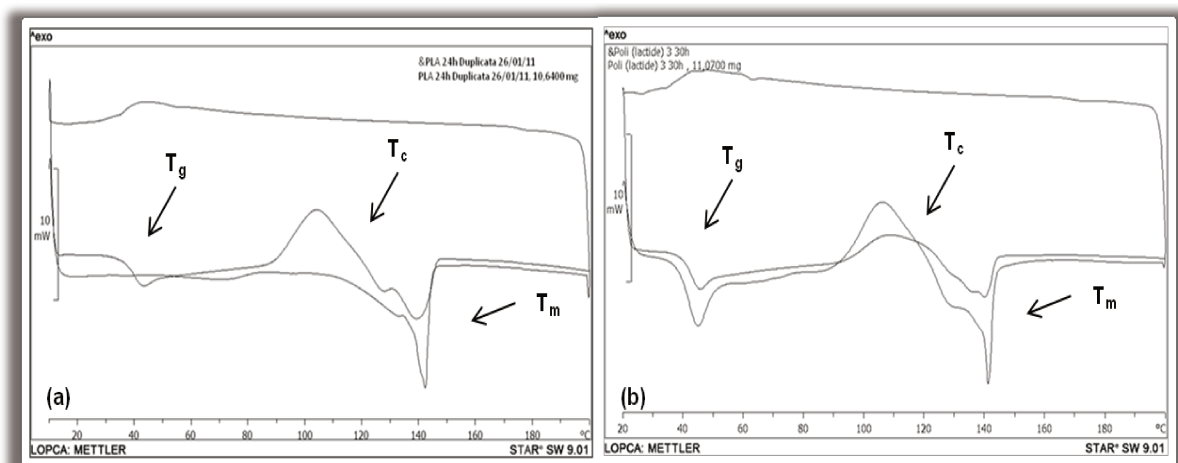


Figura 31. Comparação do FTIR dos polímeros obtidos por: (a) policondensação direta (PLA DP 160 °C e 24h) e (b) abertura de anel (PLA ROP em 150°C e 30h).

Tabela 10. Propriedades térmicas dos polímeros de PLA ROP em 150 °C.

AMOSTRA	1er Aquecimento				2do Aquecimento					Xc (%)
	Tg (°C)	Tf (°C)	ΔH_c (J/g ⁻¹)	ΔH_m (J/g ⁻¹)	Tg (°C)	Tc (°C)	Tf (°C)	ΔH_c (J/g ⁻¹)	ΔH_m (J/g ⁻¹)	
PLA DP 160 °C - 24h	-	143,37	-2,79	50,85	42,94	108,16	142,93	-50,17	20,46	75,37
PLA ROP 150 °C - 30 h	45,32	140,79	-31,75	8,08	46,01	110,24	143,12	-44,72	21,43	70,59

Por tanto pela rota de ROP pode ser obtido PLA semicristalino em tempos de reação e temperaturas menores quando obtido pela rota de DP.

7.3. Comparação das análises de MEV/EDS

As micrografias MEV da superfície normal e de fratura dos polímeros obtidos por DP permitiram observar superfícies mais rugosas e irregulares quando comparadas com as

micrografias dos polímeros obtidos por ROP (Figura 32). Por tanto, os polímeros obtido pela rota de DP poderiam apresentar maior adesão celular num posterior estudo citotoxicidade.

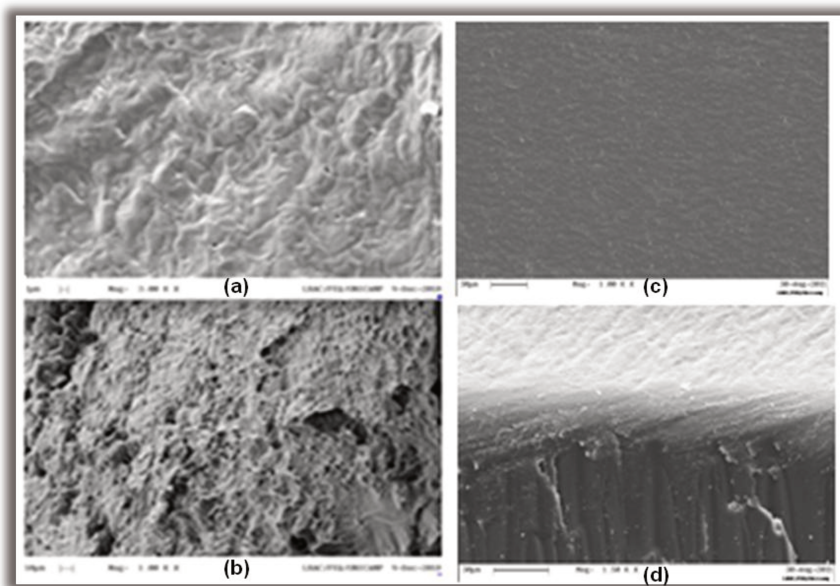


Figura 32. Micrografias da superfície e fratura do PLA DP 12 (a e b) e o PLA ROP 150 (c e d).

No entanto, o microanálise elementar MEV/EDS mostraram que os polímeros produzidos por DP apresentam em sua composição química alguns resíduos de elementos como Sn, Ca e Fe, provenientes do catalisador o do monômero. Os polímeros obtidos por ROP não apresentaram resíduos de outros elementos, indicando maior pureza na sua composição química, isto devido ao processo de obtenção do lactídeo puro, (a partir do qual é realizada a etapa de polimerização), onde se retiram as impurezas do ácido lático.

7.4. Conclusões

As duas rotas de polimerização do ácido lático resultaram ser adequadas para a obtenção do PLA a partir de ácido lático nas condições apresentadas.

A rota de polimerização por abertura de anéis resultou em polímeros com melhores propriedades térmicas, em um menor tempo de polimerização, a diferença da rota de policondensação direta. No entanto o processo por ROP partindo do ácido lático

possui mais uma etapa (obtenção do lactídeo), levando a um maior tempo total de produção do PLA.

Tendo em conta a morfologia de superfície dos polímeros sintetizados, aqueles que foram produzidos pela rota de DP, apresentaram superfícies mais irregulares e rugosas, que aqueles produzidos por ROP. Porém, o PLA obtido por ROP não apresentou dentre sua composição elementos residuais como Sn, Ca, Fe, que foram encontrados nos polímeros obtidos por DP.

Capítulo 8: Conclusões e Sugestões para Próximos Trabalhos

8.1. Conclusões

Numerosos estudos têm sido desenvolvidos para sintetizar e processar polímeros biodegradáveis e bioabsorvíveis para uso biomédico, demonstrando o grande interesse no desenvolvimento deste tipo de materiais, os quais, em um futuro próximo, poderão ser utilizados como matérias-primas em técnicas não convencionais de biofabricação como a prototipagem rápida. Isto pode favorecer a capacidade desta técnica em produzir implantes com forma externa e morfologia interna personalizadas, além da habilidade destes materiais em auxiliar na regeneração de tecidos.

O PLA é um polímero biodegradável e bioabsorvível e um dos polímeros sintéticos mais promissores para aplicação em dispositivos biomédicos, visto que pode ser obtido a partir de recursos renováveis como a cana de açúcar. A diversificação de aplicações de PLA está relacionada ao fato de que simples modificações em sua estrutura físico-química podem torná-lo útil em diferentes áreas. O Brasil tem grande potencial para a produção de PLA a partir de fontes renováveis, considerando sua grande produção de cana de açúcar e alto desenvolvimento tecnológico do processo fermentativo.

Pela rota da policondensação direta, nas condições de 140°C durante 3 horas (etapa 1), seguido da etapa 2 utilizando-se 160°C durante 4 horas, ambas sob vácuo de 200 mmHg, não foram obtidos polímeros de PLA. Quando a temperatura foi modificada para 200°C e tempo de 4 horas na etapa 1, seguido de 160°C e tempos maiores (6, 8, 12 e 24) na etapa 2, , foi possível produzir PLA, obtendo-se um poliéster termoplástico semicristalino com T_g e T_m de aproximadamente 48°C e 142°C, respectivamente .

A utilização de nitrogênio, garantindo uma atmosfera inerte, foi favorável para ocorrer a reação de polimerização.

As análises morfológicas e de composição por MEV demonstraram que os polímeros obtidos por policondensação direta possuem potencial para uso biomédico quanto às suas características de superfície e composição química.

Através das análises por FTIR e GC-MS verificou-se a obtenção de lactídeo na segunda etapa de polimerização por ROP nas condições de $T = 200-240^{\circ}\text{C}$, $P = 150-100\text{ mmHg}$ e 0,1% SnO como catalizador. Por GC-FID, determinou-se a porcentagem e a seletividade dos isômeros formados na policondensação, sendo o isômero L-lactídeo majoritário com 97,7 % e o isômero meso com 2,3%. O lactídeo sintetizado é de alta pureza, verificada pela ausência de outros compostos.

Nas condições de 130, 150 e 170°C em 30 horas sob vácuo de 100-150 mmHg, utilizando octanoato de estanho como catalisador na etapa 3 da síntese por abertura de anel, foram obtidos polímeros do ácido láctico com características estruturais semelhantes aos obtidos pela rota de policondensação direta.

A polimerização do ácido láctico por policondensação direta e por abertura de anel são processos viáveis para produção de PLA, com aplicação biomédica a partir de ácido láctico nas condições estudadas. O conhecimento das particularidades e dos desafios na síntese de PLA facilita o melhoramento dos mesmos, além de auxiliar diretamente no desenvolvimento de novos processos para a sua obtenção.

8.2. *Sugestões para Trabalhos Futuros*

Melhorias e demais estudos de otimização das condições de trabalho nas duas rotas de polimerização, são necessários para tornar estes processos facilmente reproduzíveis.

Os desenvolvimentos realizados e os resultados obtidos nesta dissertação apontam para a dificuldade dos métodos de obtenção limpa (sem a utilização de solventes) de PLA, evidenciando a necessidade de estudar, em trabalhos futuros, a utilização de

solventes ou agentes extensores de cadeia não-tóxicos, visando o aumento das propriedades do produto final (massa molar, T_g e T_m entre outras).

Análises de Massa Molar e propriedades mecânicas devem ser realizadas aos polímeros obtidos nas condições estudadas neste trabalho, pelas duas rotas de polimerização, para definir a aplicação biomédica na qual poderiam ser utilizados estes produtos.

Ensaio de degradação é outra sugestão para trabalhos futuros que forneceriam dados muito importantes neste tipo de polímeros como é o tempo de degradação.

Estudos *in vitro* e *in vivo* de crescimento celular e citotoxicidade devem ser realizados para avaliar a aplicabilidade destes polímeros. Testes na área médica ou biológica, com tecidos ósseos ou derme, são algumas possibilidades a realizar.

Modificações de superfície através de tratamentos físicos ou químicos e posterior avaliação do crescimento celular também poderiam ser realizados.

Referências Bibliográficas

- ACHMAD, F., YAMANE, K., QUAN, S. and KOKUGAN, T. Synthesis of polylactic acid by direct polycondensation under vacuum without catalysts, solvents and initiators, *Chemical Engineering Journal*, v.151, n.1-3, p.342-350, 2009
- ADSUL, M. G., VARMA, A. J. and GOKHALE, V. Lactic acid production from waste sugarcane bagasse derived cellulose, *Green Chemistry*, v.9, n.1, p.58-62, 2007
- ALEXIS, F. Factors affecting the degradation and drug-release mechanism of poly(lactic acid) and poly-[(lactic acid)-co-(glycolic acid)], *Polymer International*, v.54, n.1, p.36-46, 2005
- AMASS, W., AMASS, A. and TIGHE, B. A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyester, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies, *Polymer International*, v.47, n.2, p.89-144, 1999
- ANGELO, P. F. *Análise das Alterações da Agregação Molecular das Fibras de Colágeno por FTIR*. Campinas: Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 2000. 28, 29 p. Tese (Mestrado)
- AURAS, R. A., HARTE, B. and SELKE, S. E. M. An overview of polylactides as packaging materials, *Macromolecular Bioscience*, v.4, n.9, p.835-864, 2004
- AURAS, R. A., LIM, L. T., SELKE, S. E. M., and TSUJI, H. *Poly(Lactic Acid) : Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2010
- ATALA, A. and LANZA, R. P. *Methods of tissue engineering*. San Diego: Elsevier, 2002
- BACAKOVA, L., FILOVA, E., RYPACEK, F., SVORCIK, V. and Stary, V. Cell adhesion on artificial materials for tissue engineering, *Physiological Research*, v.53, p.35-45, 2004
- BARAÚNA, GRAZIELLE DOS SANTOS. *Obtenção e caracterização de membranas de PLDLA em aplicação como prótese para regeneração nervosa periférica*. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2007. Tese (Doutorado)

BÁRTOLO, P., MENDES, A. and JARDINI, A. L. *Bio-prototyping. Design & Nature II*, 2004. M. W. Collins & C. A. Brebbia (Editors), WIT Press, p.535-544.

BEHONICK, D. J., XING, Z., LIEU, S., BUCKLEY, J. M., LOTZ, J. C., MARCUCIO, R. S., WERB, Z., MICLAU, T. and COLNOT, C. Role of matrix metalloproteinase 13 in both endochondral and intramembranous ossification during skeletal regeneration, *PLoS ONE*, v.2, n.11, p.1-10, 2007

BLEACH, N. C., TANNER, K. E., KELLOMÄKI and TÖRMÄLÄ, P. Effect of filler type on the mechanical properties of self-reinforced polylactide-calcium phosphate composites, *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*, v.12, n.10-12, p.911-915, 2001

BARBANTI, S. H., Polímeros Bioreabsorvíveis como Suportes na Engenharia de Tecidos, Campinas: Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2005. 138 p. Tese (Mestrado)

BARNES, C. P., SELL, S. A., BOLAND, E. D., SIMPSON, D. G. and BOWLIN, G. L. Nanofiber technology: Designing the next generation of tissue engineering scaffolds, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 59, p. 1413–1433, 2007

BOUAPAO, L., TSUJI, H., TASHIRO, K., ZHANG, J. and HANESAKA, M. Crystallization, spherulite growth, and structure of blends of crystalline and amorphous poly(lactide), *Polymer*, v.50, n.16, p.4007-4017, 2009

BÖSTMAN, O. M., Current Concepts Review Absorbable Implants for the Fixation of Fractures, *Journal of Bone and Joint Surgery*, v.73-A, n 1, p 148-153, 1991

BROZ, M. E., VAN DER HART, D. L. and WASHBURN, N. R. Structure and mechanical properties of poly(D, L -lactic acid)/poly(α -caprolactone) blends, *Biomaterials*, v.24, n.23, p.4181-4190, 2003

BUDYANTO, L., GOH, Y. Q. and OOI, C. P. Fabrication of porous poly(L-lactide) (PLLA) scaffolds for tissue engineering using liquid–liquid phase separation and freeze extraction, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 20, p. 105–111, 2009

BURKERSRODA, F. V., SCHEDL, L. and GOPFERICH, A. Why degradable polymers undergo surface erosion or bulk erosion, *Biomaterials*, v.23, n.21, p.4221-4231, 2002

CANCEDDA, R., GIANNONI, P. and MASTROGIACOMO, M. A tissue engineering approach to bone repair in large animal models and in clinical practice, *Biomaterials*, v.28, n.29, p.4240-4250, 2007

CAPLAN, A. I. New era of cell-based orthopedic therapies, *Tissue Engineering Part B: Review*, v.15, n.2, p.195-200, 2009

CHA, Y. and PITT, C. G. The biodegradability of polyester blends. *Biomaterials*, v.11, p.108-112, 1990

CHEAH, C. M., CHUA, C. K., LEONG, K. F. and CHUA, S. W. Development of a tissue engineering scaffold structure library for rapid prototyping. Part 1: investigation and classification, *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, v.21, n.4, p.291-301, 2003

CHEN, G., USHIDA, T. and TATEISHI, T. Scaffold design for tissue engineering, *Macromolecular Bioscience*, v.2, p.67-77, 2002

CHEN, G., ZHOU, P., MEI, N., CHEN, X., SHAO, Z., PAN, L. and WU, C. Silk fibroin modified porous poly(ϵ -caprolactone) scaffold for human fibroblast culture in vitro, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v.15, n.6, p.671-677, 2004

CHEN, Y., MAK, A. F. T., WANG, M., LI, J. and WONG, M. S. PLLA scaffolds with biomimetic apatite coating and biomimetic apatite/collagen composite coating to enhance osteoblast-like cells attachment and activity, *Surface and Coatings Technology*, v.201, p.575-580, 2006

CHENG, Y., DENG, S., CHEN, P. and RUAN, R. Polylactic acid (PLA) synthesis and modifications: a review, *Frontiers of Chemistry in China*, v.4, n.3, p.259-264, 2009

CHANFREAU, S., MENA, M., PORRAS-DOMINGUEZ, J. R., RAMIREZ-GILLY, M., GIMENO, M., ROQUERO, P., TECANTE, A. and BARZANA, E. Enzymatic synthesis of poly-L-lactide and poly-L-lactide-co-glycolide in an ionic liquid, *Bioprocess and Biosystems Engineering*, v.33, p.629–638, 2010

CIMA, L. G., VACANTI, J. P., VACANTI, C., INGBER, D., MOONEY, D. and LANGER, R. Tissue engineering by cell transplantation using degradable polymer substrates, *Journal of Biomechanical Engineering*, v.113, n.2, p.143-151, 1991

COUTU, D. L., YOUSEFI, A. M. and GALIPEAU, J. Three-dimensional porous scaffolds at the crossroads of tissue engineering and cell-based gene therapy, *Journal of Cellular Biochemistry*, v.108, n.3, p.537-546, 2009

DAI, W., KAWAZOE, N., LIN, X., DONG, J. and CHEN, G. The influence of structural design of PLGA/collagen hybrid scaffolds in cartilage tissue engineering polymers, *Biomaterials*, v.31, n.8, p.2141-2152, 2010

DATTA, R. and HENRY, M. Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies – a review, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 81, p. 1119-1129, 2006

DEARNALEY, G., ASHER, J., PEACOCK, A. T., ALLEN, S. J. and WATKINS, R. E. J. The use of thin layer activation to evaluate ion beam surface treatments of orthopaedic implant materials, *Surface and Coatings Technology*, v.201, n.19-20, p.8070-8075, 2007

DEDAVID, B. A., GOMES, C. I., Machado, G. *Microscopia eletrônica de varredura, aplicações e preparação de amostras*. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007, 9,23,27 p.

DRUMRIGHT, R. E., GRUBER, P. R. and HENTON, D. E. Polylactic acid technology, *Advances Materials*, v.12, n.23, p.1841-1846, 2000

DUEK, E. A. R., ZAVAGLIA, C. A. C. and BELANGERO, W. D. In vitro study of poly(lactic acid) pin degradation, *Polymer*, v.40, n.23, p.6465-6473, 1999

DURSELEN, L., DAUNER, M., HIERLEMANN, H., PLANCK, H., CLAES, L. E., and IGNATIUS, A. Resorbable polymer fibers for ligament augmentation, *Journal of Biomedical Materials Research*, v.58, n.6, p.666–672, 2001

DUTKIEWICZ, S., GROCHOWSKA-LAPIENIS, D. and TOMASZEWS, W. Synthesis of Poly(L(+) Lactic Acid) by Polycondensation Method in Solution, *FIBRES & TEXTILES in Eastern Europe*, v.11, n.4, p.66-70, 2003

ENVISION TEC, Disponível em: <http://www.envisiontec.de>. Acessada: Abril de 2010.

EPPLEY, B. L., MORALES, L., WOOD, R., PENSLER, J., GOLDSYEIN, J., HAVLIK, R. J., HABAL, M., LOSKEN, A., WILLIAMS, J. K., BURSTEIN, F., ROZZELLE, A. A. and SADOVE, A. Resorbable PLLA-PGA plate and Screw Fixation in pediatric Craniofacial

surgery: Clinical Experience in 1883 patients, *Plastic & Reconstructive Surgery*, v.114, n.4, p.850-856, 2004

EWING, G. W. Métodos Instrumentais de Análise Química, São Paulo: Edgar Blucher, 2002, 230 p.

FANG, Z., STARLY, B. and SUN, W. Computer-aided characterization for effective mechanical properties of porous tissue scaffolds, *Computer-Aided Design*, v.37, n.1, p.65-72, 2005

FAO Statistics Division, Disponível em: <http://www.faostat.fao.org>. Acessada: Abril de 2010.

FREED, L. E., ENGELMAYR, G. C. and BORENSTEIN, J. T. Advanced Material Strategies for Tissue Engineering Scaffolds, *Advances Materials*, v. 21, p. 3410–3418, 2009

FREED, L. E., MARQUIS, J. C., LANGER, R., VUNJAK-NOVAKOVIC, G. and EMMANUAL, J. Composition of cell-polymer cartilage implants, *Biotechnology and Bioengineering*, v.43, n.7, p.605-614, 1994

FREED, L. E., MARQUIS, J. C., NOHRIA, A., EMMANUAL, J., MIKOS, A. G. and LANGER, R. Neocartilage formation in vitro and in vivo using cells cultured on synthetic biodegradable polymers, *Journal of Biomedical Materials Research*, v.27, n.1, p.11-23, 1993

FANG, Q. I., HANNA, M. A. Rheological properties of amorphous and semicrystalline polylactic acid polymers, *Industrial Crops and Products*, v. 10, p. 47–53, 1999

FREED, L. E. and VUNJAK-NOVAKOVIC, G. Culture of organized cell communities, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.33, p.15-30, 1998

FREED, L. E., VUNJAK-NOVAKOVIC, G., BIRON, R. J., EAGLES, D. B., LESNOY, D. C., BARLOW, S. K. and LANGER, R. Biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering, *Nature Biotechnology*, v.12, p.689-693, 1994

FREIRE, D. C. L., MAS, B. A., MESSIAS, A. D., ARAGONES, A., BARBO, M. L. P. e DUEK, E. A. R. Implante de arcabouços de Poli(l-co-d,l-ácido láctico), PLDLA,

previamente cultivados com osteoblastos em calota craniana de ratos, COLAOB The 6th Latin American Congress of Artificial Organs and Biomaterials, 2010

FUKUSHIMA, K. and KIMURA, Y. An Efficient Solid-State Polycondensation Method for Synthesizing Stereocomplexed Poly(Lactic Acid)s with High Molecular Weight. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, v.46, p.3314-3322, 2008

GARLOTTA, D. A literature review of poly(lactic acid), *Journal of Polymers and the Environment*, v.9, n.2, p.63-84, 2001

GARVIE, E. L. Bacterial lactate dehydrogenases, *Microbiology Reviews*, v.44, p.106-139, 1980

GOLDEN, M. A., HANSON, S. R., KIRKMAN, T. R., SCHNEIDER, P. A. and CLOWES, A. W. Healing of polytetrafluoroethylene arterial grafts is influenced by graft porosity, *Journal of Vascular Surgery*, v.11, n.6, p.838-844, 1990

GRIFFITH, L. G. Polymeric biomaterials, *Acta Materials*, v.48, p.263-277, 2000

GU, S., Y., YANG, M., YU. T., REN, T. B. and REN, J. Synthesis and characterization of biodegradable lactic acid-based polymers by chain extension, *Polymer International*, v.57, n.8, p.982–986, 2008

GUILLIOD, R. V. *Avaliação de fibras naturais para a fabricação de compósitos: açaí, coco e juta*. Belem: Centro Tecnológico, Universidade Federal do Pará, 2005. 44 p. Tese (Mestrado)

GUPTA, B., REVAGADE, N. and HILBORN, J. Poly(lactic acid) fiber: An overview, *Progress in Polymer Science*, v.34, n.4, p.455-482, 2007

HEDBERG, E. L., KROESE-DEUTMAN, H. C., SHIH, C. K., CROWTHER, R. S., CARNEY, D. H., MIKOS, A. G. and JANSEN, J. A. In vivo degradation of porous poly(propylene fumarate)/poly(DL-lactic-co-glycolic acid) composite scaffolds, *Biomaterials*, v.26, n.22, p.4616-4623, 2005

HENTON, D. E. et al. *Poly(lactic Acid) Technology. Natural Fibers, Biopolymers and Biocomposites*, 2005. A. K. Mohanty (Editors), CRC Press, p.528-569

HOFVENDAHL, K. and HAHN-HÄGERDAL, B. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources, *Enzyme and Microbial Technology*, v.26, n.2-4, p.87-107, 2000

HOLLISTER, S. J. Porous scaffold design for tissue engineering, *Nature Materials*, v.4, p.518–524, 2005

HSU, Y. Y., GRESSER, J. D., TRANTOLO, D. J., LYONS, C. M., GANGADHARAM, P. R. and WISE, D. L. Effect of polymer foam morphology and density on kinetics of in vitro controlled releases of isoaniazid from compressed foam matrices, *Journal of Biomedical Materials Research*, v.35, n.1, p.107-116, 1997

HUGHES, T. B. Bioabsorbable implants in the treatment of hand fractures: an update, *Clinical Orthopaedics and Related Research*, v.445, p.169-174, 2006

HYON, S.H., JAMSHIDI, K. and IKADA, Y. Synthesis of Polylactides with Different Molecular Weights, *Biomaterials*, v. 18, p. 1503-1508, 1997

IGNJATOVIC, N and USKOKOVIC, D. Synthesis and application of hydroxyapatite/polylactide composite biomaterial, *Applied Surface Science*, v.238, n.1-4, p.314-319, 2004

IMOLA, M. J. and SCHRAMM V. L. Resorbable Internal Fixation in Pediatric Cranial Base Surger, *The Laryngoscope*, v.112, n. 10, p.1897-1901, 2009

JANHO, V. D., Síntese e Caracterização do Poli (L-Ácido Láctico) Para Uso Como Biomaterial. Porto Alegre: Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. 32-37 p Tese (Mestrado)

JANHO, V. D., LIGABUE, R., EINLOFT, S., RIBEIRO, G. B. M., SANTOS, L. A., FERREIRA, M. R. W. F. e PRADO, K. F. B. Síntese e caracterização do poli (ácido l-láctico) e sua avaliação em culturas de osteoblastos humanos, Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, Foz do Iguaçu, 2006

JARDINI, A. L., LUNELLI, B. H., MARTINEZ, G. A. R., LASPRILLA, A. J. R., DA SILVA, J. V. L., MACIEL FILHO, R. Computer-Aided Tools for Modeling and Simulation in the Biomaterials Production. In: Latin American Congress of Artificial Organs and Biomaterials (COLAOB). Gramado, Brasil, 2010

JHON, R. P., ANISHA, G. S., NAMPOOTHIRI, K. M. and PANDEY, A. Direct lactic acid fermentation: Focus on simultaneous saccharification and lactic acid production, *Biotechnology Advances*, v.27, n.2, p.145-152, 2009

JOHN, R. P., NAMPOOTHIRI, K. M., NAIR, A. S. and PANDEY, A. L-Lactic acid production using *Lactobacillus casei* in solid-state fermentation, *Biotechnology Letters*, v.27, n.21, p.1685–1688, 2005

JHON, R. P., NAMPOOTHIRI, K. M. and PANDEY, A. Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives, *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.74, n.3, p.524-534, 2007

KELLOMÄKI, M., NIIRANEN, H., PUUMANEN, K., ASHAMMAKHI, N., WARIS, T. and TÖRMÄLÄ, P. Bioabsorbable scaffolds for guided bone regeneration and generation, *Biomaterials*, v.21, n.24, p.2495–2505, 2000

KIM, B. S. and MOONEY, D. J. Development of biocompatible synthetic extracellular matrices for tissue engineering, *Trends in Biotechnology*, v.16, n.5, p.224-230, 1998

KIM, E., SHIN, E. W., YOO, I. K. and CHUNG, J. S. Characteristics of heterogeneous titanium alkoxide catalysts for ring-opening polymerization of lactide to produce polylactide, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, v.298, n.1-2, p.36-39, 2009

KIM, K. W. and WOO, S. I. Synthesis of High-Molecular-Weight Poly(L-lactic acid) by Direct Polycondensation. *Macromolecular. Chemistry & Physics*, v.203, n.15, p.2245–2250, 2002

KINOSHITA, Y., KOBAYASHI, M., FUKUOKA, S., YOKOYA, S., and IKADA, Y. Reconstruction of jawbones using poly(L- lactic acid) mesh and transplantation of particulate cancellous bone and marrow, *Tissue Engineering*, v.2, n.4, p.117, 2003

KOPINKE, F. D., REMMLER, M., MACKENZIE, K., MÖDER, M. and WACHSEN, O. Thermal decomposition of biodegradable polyesters -II. Poly(lactic acid), *Polymer Degradation and Stability*, v. 53, p. 329-342, 1996

KNESER, U., SCHAEFER, D. J., POLYKANDRIOTIS, E. and HORCH, R. E. Tissue engineering of bone: the reconstructive surgeon's point of view, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, v. 10, n. 1, p. 7-19, 2006

KULKARNI, M., GREISER, U., O'BRIEN, T. and PANDIT, A. Liposomal gene delivery mediated by tissue-engineered scaffolds, *Trends in Biotechnology*, v.28, n.1, p.28-36, 2010

KRICHELDORF, H. R. and LEE, S. R. Polylactones: 32. High-molecular-weight polylactides by ring-opening polymerization with dibutylmagnesium or butylmagnesium chloride, *Polymer*, v. 36, n. 15, p. 2995-3003, 1995

LALAN, S., POMERANTSEVA, I. and VACANTI, J. P. Tissue engineering and its potential impact on surgery, *World Journal of Surgery*, v.25, n.11, p.1458-1466, 2001

LAM, C. X. F., MO, X. M., TEOH, S. H. and HUTMACHER, D. W. Scaffold development using 3D printing with a starch-based polymer, *Materials Science and Engineering*, v.20, p.49-56, 2002

LAMPE, K. J., NAMBA, R. M., SILVERMAN, T. R., BJUGSTAD, K. B. and MAHONEY, M. J. Impact of lactic acid on cell proliferation and free radical induced cell death in monolayer cultures of neural precursor cells, *Biotechnology and Bioengineering*, v.103, n.6, p.1214-1223, 2009

LANDERS, R., PFISTER, A., HÜBNER, U., JOHN, H., SCHMELZEISEN, R. and MÜLHAUPT, R. Fabrication of soft tissue engineering scaffolds by means of rapid prototyping techniques, *Journal of Materials Science*, v.37, n.15, p.3107-3116, 2002

LANGER, R. Selected advances in drug delivery and tissue engineering, *Journal Controlled Release*, v.62, p.7-11, 1999

LANGER, R. and VACANTI, J. P. *Tissue engineering, Science*, v.260. n.5110, p.920-926, 1993

LANZETTA, M. and OWEN, E. Achieving better patency rates and neoendothelialization in 1-milimeter polytetrafluoroethylene grafts by varying fibril length and wall thickness, *Microsurgery*, v.13, n.2, p.76-83, 2005

LEE, S. H. and SHIN, H. Matrices and scaffolds for delivery of bioactive molecules in bone and cartilage tissue engineering, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.59, p.339–359, 2007

LEONG, K. F., CHEAH, C. M. and CHUA, C. K. Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissue and organs, *Biomaterials*, v.24, n.13, p.2363-2378, 2003

LIM, L. T., AURAS, R. and RUBINO, M. Processing technologies for poly(lactic acid), *Progress in Polymer Science*, v.33, p.820-852, 2008

LINDQVIST, C., SÖDERHOLM, A. L., HALLIKAINEN, D. and SJÖVALL, L. Erosion and heterotopic bone formation after alloplastic temporomandibular joint reconstruction, *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, v.50, n.9, p.942-949, 1992

LIU, C. Z. and CZERNUSZKA, J. T. Development of biodegradable scaffolds for tissue engineering: a perspective on emerging technology, *Materials Science and Technology*, v.23, n.4, p.379-391, 2007

LO, H., PONTICIELLO, M. S. and LEONG, K. W. Fabrication of controlled release biodegradable foams by phase separation, *Tissue Engineering*, v.1, n.1, p.15-28, 1995

LOVALD, S. T., KHRAISHI, T., WAGNER, J. and BAACK, B. Mechanical Design Optimization of Bioabsorbable Fixation Devices for Bone Fractures. *The Journal of Craniofacial Surgery*, v.20, n.2, p.389-398, 2009

LUNELLI, B. H., Produção e Controle da Síntese do Éster de Ácido Acrílico Através da Fermentação do Ácido Lático. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2010. 212 p. Tese (Doutorado)

LUNELLI, B. H., ANDRADE, R. R., ATALA, D. I. P., MACIEL, M. R. W., MAUGERI FILHO, F. and MACIEL FILHO, R. Production of lactic acid from sucrose: strain selection, fermentation, and kinetic modeling, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.161, n. 1-8, p.227-237, 2010

LUNELLI, B. H., LASPRILLA, A. J. R., MARTINEZ, G. A. R., JARDINI, A. L. and MACIEL FILHO, R. Poly-lactic acid production from brazilian renewable feedstock for application in biomedical devices. In LATIN AMERICAN CONGRESS OF ARTIFICIAL ORGANS AND BIOMATERIALS, VI, 2010. 216-2.

LUNT, J. Large-scale production, properties and commercial applications of polylactic acid polymers, *Polymer Degradation and Stability*, v. 59, p. 145-152, 1998

MA, P. X., Biomimetic materials for tissue engineering, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 60, p. 184–198, 2008

MACIEL FILHO, R., BINELI, A. R. R. and JARDINI, A. L. Bio-fabrication integrated computational tools. In International Symposium on Process Systems Engineering, X, 2009

MAINIL-VARLET, P., CURTIS, R. and GOGOLEWSKI, S. Effect of in vivo and in vitro degradation on molecular and mechanical properties of various low-molecular-weight polylactides, *Journal of Biomedical Materials Research*, v.36, n.3, p.360-380, 1997

MALMGREN, I., MAYS, J. and PYDA, M. Characterization of poly(lactic acid) by size exclusion chromatography, differential refractometry, light scattering and thermal analysis, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v.83, n.1, p.35-40, 2006

MEHTA, R. *Modeling and Simulation of Poly(Lactic Acid) Polymerization*. Patiala: Thapar Institute of Engineering and Technology, Deemed University, 2007. Tese (Doutorado)

MEHTA, R., KUMAR, V., BHUNIA, H. and UPADHYAY, S. N. Synthesis of Poly(Lactic Acid): A Review, *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, v.45, n.4, p.325-349, 2005

MELCHELS, F. P.W., FEIJEN, J. and GRIJPMA, D. W. A poly(D,L-lactide) resin for the preparation of tissue engineering scaffolds by stereolithography, *Biomaterials*, v. 30, p. 3801-3809, 2009

MELCHELS, F. P.W., FEIJEN, J. and GRIJPMA, D. W. A review on stereolithography and its applications in biomedical engineering, *Biomaterials*, v. 31, p. 6121-6130, 2010

MIDDLETON, J. C. and TIPTON, A. J. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices, *Biomaterials*, v.21, n.23, p.2335-2346, 2000

MIKOS, A. G. and TEMENOFF, J. S. Formation of highly porous biodegradable scaffolds for tissue engineering, *Electronic Journal of Biotechnology*, v.3, n.2, p.114-119, 2000

MIKOS, A. G., THORSEN, A. J., CZERWONKA, L. A., BAO, Y., LANGER, R., WINSLOW, D. N. and VACANTI, J. P. Preparation and characterization of poly(L-lactic acid) foams, *Polymer*, v.35, n.5, p.1068-1077, 1994

MILOVANOVIĆ, J. and TRAJANOVIĆ, M. Medical applications of rapid prototyping, *Mechanical Engineering*, v.5, n.1, p.79-85, 2007

MIRONOV, V., TRUSK, T., KASYANOV, V., LITTLE, S., SWAJA, R. and MARKWALD, R. Biofabrication: a 21st century manufacturing paradigm, *Biofabrication*, v. 1, p. 1-16, 2009

MOONEY, D. J., BALDWIN, D. F., SUH, N. P., VACANTI, J. P. and LANGER, R. Novel approach to fabricate porous sponges of poly (D, L – lactic-co-glycolic acid) without the use of organic solvents, *Biomaterials*, v.17, n.14, p.1417-1422, 1996

MOONEY, D. J., ORGAN, G., VACANTI, J. P. and LANGER, R. Design and fabrication of biodegradable polymer devices to engineer tubular tissues, *Cell Transplantation*, v.3, n.2, p.203-210, 1994

MOTTA, A. C., Síntese e Caracterização do Poli (l-ácido lático)- PLLA e Poli (l-ácido lático-co- ácido glicólico)- PLGA e estudo da degradação. Campinas: Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, 2002. 87p. Tese (Mestrado)

MOTTA, A. C. e DUEK, E. A. R. Síntese, Caracterização e Degradação “in vitro” do Poli(L-ácido lático) *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 16, n. 1, p. 26-32, 2006

MUGGLI, D. S., BURKOTH, A. K. and ANSETH, K. S. Crosslinked polyanhydrides for use in orthopedic applications: degradation behavior and mechanics, *Journal of Biomedical Materials Research*, v.46, n.2, p.271-278, 1999

NAIR, L. S. and LAURENCIN, C. T. Biodegradable Polymers as Biomaterials, *Progress in Polymer Science*, v.32, n.8-9 p.762-798, 2007

NAMPOOTHIRI, K. M., NAIR, N. R. and JOHN, R. P. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research, *Bioresource Technology*, v.101, n.22, p.8493-8501, 2010

NEJATI, E., FIROUZDOR, V., ESLAMINEJAD, M. B. and BAGHERI, F. Needle-like nano hydroxyapatite/poly(L-lactide acid) composite scaffold for bone tissue engineering application, *Materials Science and Engineering:C*, v.29, n.3, p.942-949, 2009

NIKOLIC, L., RISTIC, I., ADNADJEVIC, B., NIKOLIC, V., JOVANOVIC, J. and STANKOVIC, M. Novel Microwave-Assisted Synthesis of Poly(D,L-lactide): The Influence of Monomer/Initiator Molar Ratio on the Product Properties, *Sensors*, v. 10, p. 5063-5073, 2010

NODA, M. and OKUYAMA, H. Thermal Catalytic Depolymerization of Poly(L-Lactic Acid) Oligomer into LL-Lactide: Effects of Al, Ti, Zn and Zr Compounds as Catalysts, *Chem. Pharm. Bull.*, v. 47, n. 4, p. 467—471, 1999.

OYAMA, H. T., TANAKA, Y. and KADOSAKA, A. Rapid controlled hydrolytic degradation of poly(l-lactic acid) by blending with poly(aspartic acid-co-l-lactide), *Polymer Degradation and Stability*, v.94, n.9, p.1419-1426, 2009

PAPENBURG, B. J., LIU, J., HIGUERA, G. A., BARRADAS, A. M. C., BÔER, J., VAN BLITTERSWIJK, C. A., WESSLING, M. and STAMATIALIS, D. Development and analysis of multi-layer scaffolds for tissue engineering, *Biomaterials*, v.30, n.31, p.6228-6239, 2009

PARK, K. E., KANG, H. K., LEE, S. J., MIN, B. M. and PARK, W. H. Biomimetic nanofibrous scaffolds: preparation and characterization of PGA/Chitin Blend Nanofibers, *Biomacromolecules*, v.7, n.2, p. 635-643, 2006

PETER, S. J., LU, L., KIM, D. J. and MIKOS, A.G. Marrow stromal osteoblast function on a poly(propylene fumarate)/b-tricalcium phosphate biodegradable orthopaedic composite, *Biomaterials*, v.21, p.1207–1213, 2000

PETER, S. J., MILLER, M. J., YASKO, A. W., YASZEMSKI, M. J. and MIKOS, A. G. Polymers concepts in tissue engineering, *Journal of Biomedical Materials Research*, v.43, n.4, p.422-427, 1998

PHILP, A., McDONALD, A. L. and WATT, P. W. Lactate – a signal coordinating cell and systemic function, *Journal of Experimental Biology*, v.208, n.24, p.4561-4575, 2005

PROCESS SIMULATION WITH POLYMER PLUS®. Course Number ES280.121.03. ASPEN TECHNOLOGY, Inc., 2004

PUAUX, J. P., BANU, I., NAGY, I and BOZGA, G. A Study of L-Lactide Ring-Opening Polymerization Kinetics, *Macromolecular Symposia*, v.259, n.1, p.318–326, 2007

QUYNH, T. M., MITOMO, H., ZHAO, L. and ASAI, S. The radiation crosslinked films based on PLLA/PDLA stereocomplex after TAIC absorption in supercritical carbon dioxide, *Carbohydrate Polymer*, v.72, n.4, p.673-681, 2008

RAHAMAN, M. N. and MAO, J. J. Stem cell-based composite tissue constructs for regenerative medicine, *Biotechnology and Bioengineering*, v.91, n.3, p.261-284, 2005

SACHLOS, E. and CZERNUSZKA, J. T. Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds, *European Cells & Materials*, v.5, p.29-39, 2003

SEAVEY, K. C. and LIU, Y. A. *Step-Growth Polymerization Process Modeling and Product Design*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2008, 589 p.

SCIME, A., CARON, A. Z. and GRENIER, G. Advances in myogenic cell transplantation and skeletal muscle tissue engineering, *Frontiers in Bioscience*, v.14, n. 1, p.3012–3023, 2009

SKOOG, D. A., HOLLER, F. J. and STANLEY, R.C. *Princípios de Análise Instrumental*, Porto Alegre:Bookman, 6ªEd, 2009, 1056 p

SÖDERGARD, A. and STOLT, M. Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition, *Progress in Polymer Science*, v.27, n.6 p.1123-1163, 2002

TAN, M. L., CHOONG, P. F. M., and DASS, C. R. Recent developments in liposomes, microparticles and nanoparticles for protein and peptide drug delivery, *Peptides*, v.31, n.1, p.184-193, 2010

TEMENOFF, J. S. and MIKOS, A. G. Review: tissue engineering for regeneration of articular cartilage, *Biomaterials*, v.21, n.5, p.431-440, 2000

THOMAS, T. D., ELLWOOD, D. C. and LONGYEAR, V. M. C. Change from homo-to-heterolactic fermentation by *Streptococcus lactis* resulting from glucose limitation in anaerobic chemostat cultures, *Journal of Bacteriology*, v.138, n.1, p.109-117, 1979

THOMSON, R. C., WAKE, M. C., YASZEMSKI, M. J. and MIKOS, A. G. Biodegradable polymer scaffolds to regenerate organs, *Advances in Polymer Science*, v.122, n.1, p.247-274, 1995

THOMSON, R., YASZEMSKI, M. and MIKOS, A. *Polymer scaffold processing. Principles of tissue engineering*, 1997. R. Lanza, R. Langer, W. Chick (Editors), Academic Press, p.263-272.

THOMSON, R. C., YASZEMSKI, M. J., POWERS, J. M. and MIKOS, A. G. Fabrication of biodegradable polymer scaffold to engineer trabecular bone, *Journal of Biomaterials Science*, v.7, n.1, p.23-38, 1995

TSUJI, H. and ISHIDA, T. Poly(L-lactide).X. Enhanced surface hydrophilicity and chain scission mechanisms of poly(L-lactide) film in enzymatic, alkaline, and phosphate-buffered solutions, *Journal of Applied Polymer Science*, v.87, p.1628-1633, 2003

VALANTIN, M. A., AUBRON-OLIVIER, C., GHOSN, J., LAGLENNE, E., PAUCHARD, M., SCHOEN, H., BOUSQUET, R., KATZ, P., COSTAGLIOLA, D. and KATLAMA, C. Polylactic acid implants (New-Fill) to correct facial lipoatrophy in HIV-infected patients: results of the open-label study, *AIDS*, v.17, n.17, p.2471–2477, 2003

VARADARAJAN, S. and MILLER, D. J. Catalytic upgrading of fermentation-derived organic acids, *Biotechnology Progress*, v.15, n.15, p.845-854, 1999

VOGEL, A. I. *Análise Química Quantitativa*, Rio de Janeiro: LTC S.A. 6^a Ed, 2009, 381-806 p

WALTER LORENZ SURGICAL Inc., Disponível em: <http://www.lorenzsurgical.com>. Acessada: Abril de 2010.

WANG, S., NISHIDE, H. and TSUCHIDA, E. Oxygen permeability of biodegradable copolycaprolactones, *Polymer for Advances Technologies*, v.10, n.5, p.282-286, 1999

- WARIS, E. KONTTINEN, Y. T., ASAMMAKHI, N., SUURONEN, R. and SANTAVIRTA, S. Bioabsorbable fixation devices in trauma and bone surgery: current clinical standing, *Expert Review of Medical Devices*, v.1, n.2, p.229-240, 2004
- WHANG, K., THOMAS, C. H., HEALVY, K. E. and NUBER, G. A novel method to fabricate bioabsorbable scaffolds, *Polymer*, v.36, n.4, p.837-842, 1995
- WEN, C. E., YAMADA, Y., SHIMOJIMA, K., CHINO, Y., ASAHINA, T. and MABUCHI, M. Processing and mechanical properties of autogenous titanium implant materials, *Materials in Medicine*, v.13, n.4, p.397-401, 2002
- WITZKE, D. R. and NARAYAN, R. Reversible Kinetics and Thermodynamics of the Homopolymerization of L-Lactide with 2-Ethylhexanoic Acid Tin(II) Salt, *Macromolecules*, v.30, n.23, p.7075-7085, 1997
- YAMANE, H. and SASAI, K. Effect of the addition of poly(D-lactic acid) on the thermal property of poly(L-lactic acid), *Polymer*, v.44, n.8, p.2569-2575, 2003
- YANG, S., LEONG, K. F., DU, Z. and CHUA, C. K. The design of scaffolds for use in tissue engineering: Part I. Traditional factors, *Tissue Engineering*, v.7, n.6, p.679-689, 2001
- YANG, S., LEONG, K. F., DU, Z. and CHUA, C. K. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part II. Rapid prototyping techniques, *Tissue Engineering*, v.8, n.1, p.1-11, 2002
- YANG, F., MURUGAN, R., RAMAKRISHNA, S., WANG, X., MA, X. and WANG, S. Fabrication of nano-structured porous PLLA scaffold intended for nerve tissue engineering, *Biomaterials*, v.25, n.10, p.1891-1900, 2004
- YANG, X. G. and LIU, L. J. Improved preparation of D, L-lactide from D, L-lactic acid using microwave irradiation, *Polymer Bulletin*, v. 61, p. 177-188, 2008
- YEONG, W. Y., CHUA, C. K., LEONG, K. F. and CHANDRASEKARAN, M. Rapid prototyping in tissue engineering: challenges and potential, *Trends in Biotechnology*, v.22, n.12, p.643-652, 2004

YOO, D. K. and KIM, D. Synthesis of Lactide from Oligomeric PLA: Effects of Temperature, Pressure, and Catalyst, *Macromolecular Research*, v. 14, n. 5, p. 510-516, 2006

YU, Y., STORTI, G. and MORBIDELLI, M. Ring-Opening Polymerization of L,L-Lactide: Kinetic and Modeling Study, *Macromolecules*, v.42, p.8187–819, 2009

YU, H., HUANG, N., WANG, C and TANG, Z. Modeling of Poly(L-lactide) Thermal Degradation: Theoretical Prediction of Molecular Weight and Polydispersity Index, *Journal of Applied Polymer Science*, v. 88, p. 2557–2562, 2003

ZHANG, X., McDONALD, D. A., GOOSEN, M. F. A., and McAULEY, K. B. Mechanism of lactide polymerization in the presence of stannous octoate: The effect of hydroxy and carboxylic acid substances, *Journal Polymer Science. Part A: Polymer Chemistry*, v.32, n.15, p.2965–2970, 1994