

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO:

DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS QUÍMICOS

Prospecção e Síntese de Poli(Ácido Láctico) para Desenvolvimento de Suportes na Engenharia Tecidual

Autora: Juliana de Faria Siqueira

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

Outubro, 2011

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

Si75p	Siqueira, Juliana de Faria Prospecção e síntese de poli(ácido láctico) para desenvolvimento de suportes na engenharia tecidual / Juliana de Faria SiqueiraCampinas, SP: [s.n.], 2011.
	Orientador: Rubens Maciel Filho. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.
	1. Síntese. 2. Polí(ácido láctico). 3. Biopolimeros. 4. Engenharia tecidual. I. Filho Maciel, Rubens. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III. Título.

Título em Inglês: Prospection and synthesis of poly (lactic acid) for scaffold development in tissue engineering Palavras-chave em Inglês: Synthesis, Poly (lactic acid), Biopolymers, Tissue engineering Área de concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos Titulação: Mestre em Engenharia Química Banca examinadora: Carmen Gilda Barroso Tavares Dias, Patrícia Fazzio Martins Data da defesa: 26-10-2011 Programa de Pós Graduação: Engenharia Química Dissertação de Mestrado defendida por Juliana de Faria Siqueira e aprovada em 26 de outubro de 2011 pela banca examinadora constituída pelos doutores (as):

Prof. Dr. Rubens Maciel Filho FEQ / UNICAMP

PGRI

Prof. Dra. Carmen Gilda Barroso Tavares Dias FEM / UNICAMP

atricia Fazzio Martin

Prof. Dra. Patrícia Fazzio Martins Departamento de Ciências Exatas e da Terra / UNIFESP

iv

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado em Engenharia Química defendida pela aluna Juliana de Faria Siqueira e aprovada pela Comissão Julgadora em 26 de outubro de 2011.

alu

Prof. Dr. Rubens Maciel Filho (Orientador)

Aos meus pais Francisco e Gilcéia com amor e admiração...

Dedico

Agradecimentos

Em primeiro lugar a Deus, pela vida e por estar ao meu lado em todos os momentos. Sem Ele nada seria possível.

Aos meus pais, Francisco e Gilcéia, pelo exemplo de vida, amor incondicional e pelas palavras de encorajamento.

Ao meu irmão Rodrigo e a minha cunhada Fabiana, pelo carinho e pela torcida.

Ao Thales, pelo amor, paciência, incentivo e atenção.

Ao meu orientador Prof. Rubens pela confiança em meu trabalho, pelo apoio essencial, pelo entusiasmo e por ter me proporcionado o contato com uma área tão encantadora da Engenharia.

Ao mestre Kazu, pelo auxílio essencial com a montagem do esquema de escala laboratorial, pela dedicação e por dividir parte de sua experiência de indústria comigo.

Ao Carlão, pela ajuda com as cromatografias.

Aos colegas do LOPCA e Instituto de Biofabricação que me auxiliaram com artigos técnicos, caracterizações e dicas para a melhoria do trabalho: Betânia, Ingrid, André, Astrid, Guilhermo.

À Patrícia, que desde o início sempre me incentivou e me deu conselhos valiosos.

Aos amigos: Anne, que me escutou e assistiu minhas apresentações por diversas vezes com muita paciência e dedicação. Carolcita, Arizoca e Manu que, mesmo à distância, serão sempre minhas companheiras e incentivadoras.

À empresa Pulcra Especialidades Químicas, especialmente aos colegas do DAP e ao Sérgio Ulisses, pelo incentivo e compreensão.

E a todos que de certa forma contribuíram para o desenvolvimento do projeto.

Х

"Dê ao mundo o melhor de você, mas isso pode não ser o bastante. Dê o melhor de você assim mesmo."

Madre Teresa de Calcutá

Resumo

Os avanços na medicina moderna, odontologia e engenharia aliados ao aumento da expectativa de vida, permitiram o desenvolvimento de técnicas de biomanufatura e biomateriais que geram uma melhor qualidade de vida. Essas técnicas devem permitir a imitação de estruturas vivas, tanto em forma como em função, tornando possível substituir tecidos defeituosos ou faltantes. Nesse contexto, o estudo e aplicação de poliésteres bioreabsorvíveis como suporte de crescimento celular (ou scaffolds) na engenharia tecidual tem se mostrado uma área muito promissora de pesquisa. Dentre os poliésteres bioreabsorvíveis comumente utilizados, o poli(ácido láctico) (PLA) ocupa posição de destague devido a sua excelente biocompatibilidade e propriedades mecânicas. O PLA é um termoplástico de alta resistência e é degradado no corpo por simples hidrólise do éster em uma taxa que pode ser controlada. A forma mais comum de se obter PLA de alta massa molecular é via polimerização por abertura de anel do dímero cíclico do ácido láctico, também conhecido como lactide, e o catalisador mais utilizado atualmente é o octoato de estanho ou Sn(Oct)₂. Porém, a fim de possibilitar a síntese de um material isento de metais, a utilização de enzimas como catalisadores tem despertado o interesse de estudiosos. Além de serem consideradas atóxicas, as enzimas viabilizam a polimerização sob condições brandas em relação à pressão, temperatura e pH. O objetivo desse trabalho foi fazer um estudo prospectivo sobre as técnicas existentes para a síntese do PLA e sintetizálo a partir de uma rota química, utilizando Sn(Oct)₂ como catalisador, e outra enzimática utilizando o biocatalisador Lipase B para futuramente obter biodispositivos para utilização na engenharia tecidual. A massa molecular do polímero foi obtida por GPC e sua estrutura química foi confirmada por FTIR. As propriedades térmicas foram estudadas por DSC e TGA. O PLA obtido a partir da rota química atingiu massa molecular equivalente a 8353 g/mol após 7h de reação a 160°C com 0,1% de Sn(Oct)₂. Para a rota enzimática, foi constatado que a policondensação foi mais eficaz em relação à técnica de abertura de anel do lactide e um polímero com massa molecular igual a 1719 g/mol foi obtido depois de 77h de reação a 70°C com 0,5% de Lipase B. Em um comparativo de custos de fabricação, a rota química se mostrou mais atrativa em um primeiro momento, porém foi comprovado que com a reutilização da Lipase B, a polimerização enzimática pode ser viabilizada economicamente.

Palavras-chave: Síntese, Poli(ácido láctico), Biopolímero, Engenharia Tecidual

Abstract

The advances in modern medicine, dentistry and engineering, combined with the increase of life expectancy, have allowed the development of techniques for biomanufacturing and biomaterials that create a better life quality. These techniques should enable the mimicking of living structures, both in form and function, making it possible to replace defective or missing tissues. In this context the study and application of bioresorbable polyesters as scaffolds in tissue engineering has shown a very promising area of research. Poly(lactic acid), PLA, stands out among the commonly used bioresorbable polyesters due to its excellent biocompatibility and mechanical properties. PLA is a thermoplastic, high strength and is degraded in the body by simple hydrolysis of the ester at a rate that can be controlled. The most common way to obtain high molecular mass PLA is by ring-opening polymerization of the lactic acid cyclic dymer, lactide, and currently the widely used catalyst for biomedical purposes is Stannous Octoate or Sn(Oct)₂. However, in order to enable the synthesis of a metal-free material, the use of enzymes as catalysts has attracted the interest of researchers. In addition to being considered non-toxic, the enzyme enables the polymerization under mild conditions with regard to pressure, temperature and pH. The aim of this work was to make a prospective study on the existing techniques for the synthesis of PLA and synthesize it from a chemical route, using Sn(Oct)₂ as catalyst, and from a enzymatic route using the biocatalyst Lipase B for future development of biodevices to be used in tissue engineering. The polymer molecular mass was obtained by GPC and its chemical structure was confirmed by FTIR. Thermal properties were studied by DSC and TGA. PLA obtained from the chemical route reached molecular mass equivalent to 8353g.mol⁻¹ after 7 hours of reaction at 160°C with 0,1% Sn(Oct)₂. For the enzymatic route, it was found that the polycondensation was more effective compared to the technique of ring opening of lactide and polymer with a molecular mass of 1719g.mol⁻¹ was obtained after 77 hours reaction time at 70°C with 0,5% of Lipase B. Comparing manufacturing costs, chemical route were more attractive at first, but it was proven that with Lipase reuse enzymatic polymerization can be economically viable.

Key-words: Synthesis, Poly(lactic acid), Biopolymer, Tissue Engineering.

Sumário

Resumo	xiii
Abstract	xv
Sumário	xvii
Lista de Figuras	xxi
Lista de Tabelas	xxv
Nomenclatura	xxvii
Abreviaturas	xxix
Capítulo 1	1
Introdução e Objetivos	1
1.1 Introdução	1
1.2 Objetivos	6
1.3 Organização da dissertação	7
Capítulo 2	9
Revisão da Literatura	9
2.1 Biomateriais	9
2.2 Produção de Biopolímeros	11
2.3 PLA para Engenharia Tecidual	13
2.4 Síntese do PLA por abertura de anel do lactide	18
2.4.1 Utilização de catalisadores inorgânicos	20
2.4.1.2 Mecanismo de coordenação-inserção com abertura de anel do laction	de23
2.4.2 Utilização de enzimas como catalisadores	24
2.5 Conclusões	27
Capítulo 3	29

Mate	riais e Métodos	29
3.1	Síntese do lactide	29
3.2	Síntese de Poli(D,L-lactide) via abertura de anel com Sn(Oct) ₂	30
3.3	Síntese de Poli(D,L-lactide) via abertura de anel com Lipase B	32
3.4	Síntese de Poli(D,L-ácido láctico) via policondensação com Lipase B	33
3.5	Caracterização dos polímeros obtidos	34
3.5	5.1 GPC – Cromatografia de permeação em gel	34
3.5	5.2 FTIR – Espectroscopia da região do infra-vermelho	37
3.5	5.3 DSC – Calorimetria exploratória diferencial	37
3.5	5.4 TGA – Análise Termogravimétrica	40
3.5	5.5 RMN de ¹ H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio	41
3.6	Avaliação preliminar do custo de fabricação do PDLLA em escala industria	al42
Capít	tulo 4	45
Capít Resu	tulo 4 Iltados e Discussão	45 45
Capít Resu 4.1	tulo 4 Iltados e Discussão Caracterização do lactide	45 45 45
Capít Resu 4.1 4.1	tulo 4 Il tados e Discussão Caracterização do lactide .1 FTIR – Espectroscopia da região do infra-vermelho	45 45 45 45
Capít Resu 4.1 4.1 4.2	tulo 4 Iltados e Discussão Caracterização do lactide .1 FTIR – Espectroscopia da região do infra-vermelho Caracterização do PDLLA obtido via abertura de anel com Sn(Oct) ₂	45 45 45 45 48
Capít Resu 4.1 4.2 4.2	tulo 4 Iltados e Discussão Caracterização do lactide .1 FTIR – Espectroscopia da região do infra-vermelho Caracterização do PDLLA obtido via abertura de anel com Sn(Oct) ₂ 2.1 Cromatografia de permeação em Gel (GPC)	45 45 45 45 48 48
Capít Resu 4.1 4.2 4.2 4.2	tulo 4 Iltados e Discussão Caracterização do lactide .1 FTIR – Espectroscopia da região do infra-vermelho Caracterização do PDLLA obtido via abertura de anel com Sn(Oct) ₂ 2.1 Cromatografia de permeação em Gel (GPC) 2.2 FTIR - Espectroscopia da região do infra-vermelho	45 45 45 45 48 48 54
Capít Resu 4.1 4.2 4.2 4.2 4.2	 tulo 4 Iltados e Discussão Caracterização do lactide .1 FTIR – Espectroscopia da região do infra-vermelho Caracterização do PDLLA obtido via abertura de anel com Sn(Oct)₂ Cromatografia de permeação em Gel (GPC) 2.2 FTIR - Espectroscopia da região do infra-vermelho 2.3 DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial 	45 45 45 48 48 54 55
Capít Resu 4.1 4.2 4.2 4.2 4.2 4.2 4.2	 tulo 4 Iltados e Discussão Caracterização do lactide .1 FTIR – Espectroscopia da região do infra-vermelho Caracterização do PDLLA obtido via abertura de anel com Sn(Oct)₂ Cromatografia de permeação em Gel (GPC) 2.2 FTIR - Espectroscopia da região do infra-vermelho 2.3 DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial 2.4 TGA - Análise Termogravimétrica 	45 45 45 45 48 54 55 57
Capít Resu 4.1 4.2 4.2 4.2 4.2 4.2 4.2	 tulo 4 Iltados e Discussão Caracterização do lactide .1 FTIR – Espectroscopia da região do infra-vermelho Caracterização do PDLLA obtido via abertura de anel com Sn(Oct)₂ Cromatografia de permeação em Gel (GPC) 2.2 FTIR - Espectroscopia da região do infra-vermelho 2.3 DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial 2.4 TGA - Análise Termogravimétrica 2.5 ¹H-RMN – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio 	45 45 45 48 48 54 55 57 60
Capít Resu 4.1 4.2 4.2 4.2 4.2 4.2 4.2 4.2 4.2	tulo 4 Iltados e Discussão Caracterização do lactide .1 FTIR – Espectroscopia da região do infra-vermelho Caracterização do PDLLA obtido via abertura de anel com Sn(Oct) ₂ 2.1 Cromatografia de permeação em Gel (GPC) 2.2 FTIR - Espectroscopia da região do infra-vermelho 2.3 DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial 2.4 TGA - Análise Termogravimétrica 2.5 ¹ H-RMN – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio Caracterização do PDLLA obtido via abertura de anel com Lipase B	45 45 45 45 48 54 57 57 60 64

4.4 Ca	aracterização do PDLLA obtido por policondensação com Lipase B67
4.4.1	Caracterização do PDLLA obtido por policondensação com Lipase B68
4.5 Es	stimativa de custo de fabricação do PDLLA em escala industrial70
4.5.1	Cálculos dos custos para o PDLLA obtido por abertura de anel com Sn(Oct) ₂ .
4.5.2	Cálculos dos custos para o PDLLA obtido por policondensação com Lipase B
Capítulo	585
Conclus	ões e Sugestões para Trabalhos Futuros85
5.1 Co	onclusões85
5.2 Sı	ugestões para trabalhos futuros87
Referênc	cias Bibliográficas89

Lista de Figuras

Figura 14 – Espectros IV em valores de absorbância do ácido láctico, lactide sintetizado e lactide sintetizado e purificado
Figura 15 – Comparativo da massa molecular ponderal média dos polímeros obtidos a 160°C após 3 h de reação variando o percentual Sn(Oct) ₂
Figura 16 - Evolução da massa molecular ponderal média ao longo do tempo de reação a 160°C fixando a porcentagem de Sn(Oct) ₂ em 2,48% em relação ao lactide
Figura 17 - Evolução da massa molecular ponderal média ao longo do tempo de reação a 160°C fixando a porcentagem de Sn(Oct) ₂ em 0,10% em relação ao lactide
Figura 18 – Comparativo da massa molecular ponderal média dos polímeros obtidos com 0,10% de Sn(Oct) ₂ após 7 h de reação variando a temperatura53
Figura 19 – Espectros de IV obtidos para o lactide sintetizado e para o PDLLA obtido com 0,1% de Sn(Oct)2, 7h de reação após 150, 170 e 160°C54
Figura 20 – Determinação da temperatura de transição vítrea (Canevarolo Jr., 2004).56
Figura 21 – Curva termogravimétrica do PDLLA obtido com 0,1% de Sn(Oct) ₂ depois de 7h de reação a 150°C
Figura 22 – Curva termogravimétrica do PDLLA obtido com 0,1% de Sn(Oct) ₂ depois de 7h de reação a 160°C
Figura 23 – Curva termogravimétrica do PDLLA obtido com 0,1% de Sn(Oct) ₂ depois de 7h de reação a 170°C
Figura 24 – Evolução da temperatura de degradação do PDLLA com o valor da massa molecular
Figura 25 - Espectros de ¹ H-RMN do PDLLA obtido a 150°C. a) Picos característicos do polímero; b) Ampliação na faixa 4,3 – 5,5 ppm; c) Ampliação na faixa 1,45 – 1,70 ppm61
Figura 26 - Espectros de ¹ H-RMN do PDLLA obtido a 160°C. a) Picos característicos do polímero; b) Ampliação na faixa 4,3 – 5,5 ppm; c) Ampliação na faixa 1,45 – 1,70 ppm62
Figura 27 - Espectros de ¹ H-RMN do PDLLA obtido a 150°C. a) Picos característicos do polímero; b) Ampliação na faixa 4,3 – 5,5 ppm; c) Ampliação na faixa 1,45 – 1,70 ppm63

Figura 28 - Cromatograma e valores dos picos obtidos para amostra sem a enzima Lipase B, após 77h de reação a 65 ºC......64

Figura 35 – Custos estimados para produção de 4000kg de PDLLA a 150, 160 e 170°C

Figura 37 – Custo por kg de PDLLA obtido com Lipase B e com o Sn(Oct)₂......82

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Propriedades dos Poli(α-hidroxi ácidos) (Barbanti et. al, 2005)2
Tabela 2 – Estágio de desenvolvimento dos biopolímeros em 2005 e perspectiva deprodução (Pradella, 2006)12
Tabela 3 – Diferentes catalisadores usados na produção de PLA (Gupta et al, 2007) 21
Tabela 4 – Origem das lipases usadas para síntese de poliésteres in vitro e suas abreviações (Kobayashi, 2010)25
Tabela 5 – Curva de calibração com padrão de poliestireno
Tabela 6 – As atribuições para os espectros de IV do ácido láctico industrial a 85% utilizado como monômero, do lactide sintetizado em laboratório, do lactide sintetizado e purificado em acetona e do lactide comercial
Tabela 7 – Valores obtidos no GPC para os polímeros obtidos via abertura de anel de lactide com catalisador Sn(Oct) ₂ 49
Tabela 8– As atribuições para os espectros de IV do lactide sintetizado e do PDLLA obtido com 0,1% de Sn(Oct)2, 7h de reação após 150, 170 e 160°C
Tabela 9 – Valores de Tg encontrados para o PDLLA obtido a 150, 160 e 170°C56
Tabela 10 – Valores obtidos no GPC para os polímeros obtidos por policondensação com a utilização do biocatalisador Lípase B
Tabela 11 – Valores das quantidades de calor necessárias para cada etapa doprocesso para produção de 4000 kg de PDLLA
Tabela 12 – Quantidade total e valor gasto com gás natural para produção de 4000kg de PDLLA em temperatura de polimerização estudada74
Tabela 13 – Cálculo do tempo de processo para cada temperatura de polimerização do PDLLA75
Tabela 14 – Total de energia elétrica gasto em kWh e custo de energia elétrica para cada polimerização

Tabela 15 – Valores gastos com matérias-primas (MP)76
Tabela 16 – Valores das quantidades de calor necessárias para cada etapa do processo, calor total e valor gasto com gás natural para polimerização enzimática80
Tabela 17 – Cálculo do tempo de processo, consumo e valor gasto com energia elétrica para a polimerização enzimática do PDLLA81
Tabela 18 – Valores gastos com matérias-primas (MP) para a policondensação enzimática

Nomenclatura

M _n	Massa molecular numérica média (g.mol ⁻¹)			
Mw	Massa molecular ponderal média (g.mol ⁻¹)			
Mz	Massa molecular Z média (g.mol ⁻¹)			
Ni	Número de cadeias poliméricas			
Mi	Massa molecular de uma determinada cadeia i (g.mol ⁻¹)			
w _i	Massa da fração i (g)			
w	Massa total (g)			
Tg	Temperatura de transição vítrea (°C)			
T _m	Temperatura de fusão cristalina (°C)			
T _c	Temperatura de Cristalização (°C)			
X _c	Percentual de cristalinidade (%)			
К	Constante determinada experimentalmente para o Au (Aº/mA.Volt.s)			
i	Corrente do plasma equivalente (mA)			
V	Diferença de potencial (V)			
Т	Tempo de aplicação da corrente (s)			
Q	Quantidade de calor (kJ)			
CP	Calor específico (J/K.g)			
Т	Temperatura (K)			
\$ _{gás}	Custo com gás natural (R\$)			
\$ _{eletr}	Custo com energia elétrica (R\$)			

Abreviaturas

BV	Bomba de vácuo
CALB	Candida Antarctica Lipase B
	Clorofórmio deuterado
CL	Caprolactona
DLA	D-lactide
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTG	Termogravimetria derivada
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Espectrofotometria na Região do Infravermelho
GPC	Cromatografia de Permeação em Gel
¹ H-RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
IP	Índice de polidispersão
LLA	L-lactide
М	Motor
MP	Matéria-prima
PAA	Poliésteres alifáticos aromáticos
PCL	Poli(ε-caprolactona)
PCL	Pseudomonas cepacia Lipase
PDLA	Poli(D-ácido láctico)
PDLLA	Poli(D,L-ácido láctico)
PGA	Poli(ácido glicólico)
PHA	Polihidroxialcanoato
PLA	Poli(ácido láctico)

- PLGA Poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)
- PLLA Poli(L-ácido láctico)
- PLLGA Poli-L-lactide-co-glicolide
- PPL Porcine Pancreatic Lipase
- Sn(Oct)₂ Octoato de estanho
- TG Termogravimétrica
- TGA Análise Termogravimétrica
- THF Tetrahidrofurano
- TMS Tetrametilsilano

Capítulo 1

Introdução e Objetivos

1.1 Introdução

Os avanços na medicina moderna, odontologia e engenharia, combinados com o aumento da expectativa de vida, permitiram o desenvolvimento de técnicas de biomanufatura e biomateriais com a finalidade de melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Essas técnicas devem viabilizar a imitação de estruturas vivas, em forma e função, tornando possível substituir tecidos defeituosos ou faltantes.

O desenvolvimento da engenharia de tecidos, e, num senso maior, medicina regenerativa, apresenta potencial para mudar a prática médica, oferecendo melhores custos no tratamento efetivo de pacientes. A fusão da biotecnologia com a ciência dos materiais terá um escopo de aplicações e impactos sem paralelos em um enorme mercado, estimado em US\$ 1 Trilhão. Apenas na medicina, os biomateriais variam de implantes vasculares de US\$ 200 ao *Left Ventricle Assist Device* (dispositivo auxiliar do ventrículo esquerdo) de US\$ 50.000 (Biomateriais, 2010).

A engenharia de tecidos consiste em um conjunto de conhecimentos e técnicas para a reconstrução de novos órgãos e tecidos (Barbanti, 2005). Ela é fundamental ao exercício da medicina regenerativa e o mercado potencial de produtos desenvolvidos via engenharia de tecidos como pele, osso, cartilagem, etc. é estimado em cerca de 100 bilhões de dólares ao ano (Woodfield, 2005). Embora, a formação *in vitro* de tecidos necessite, em muitos casos, de um biomaterial (natural ou sintético) na forma de arcabouço para células, há uma tendência crescente de se considerar - dada a sua complexidade – a engenharia de tecidos como uma área à parte. Dessa forma, o desenvolvimento e produção de biomateriais devem visar seu uso direto e, também, o atendimento às necessidades dessas áreas correlatas (Soares, 2005).

O mercado dos biopolímeros, exceto a goma xantana, era da ordem de 60.000 toneladas em 2002 com preço de comercialização de US\$ 4/kg. Este mercado tem taxa

de crescimento acima de 20% ao ano e custos de produção decrescente para cerca de US\$ 2/kg, antevendo um consumo em 2015 da ordem 1.000.000 t/ano, perfazendo um mercado anual de US\$ 2 bilhões (Pradella, 2006). A participação dos EUA se situa entre 35 a 45% do mercado mundial, enquanto o mercado europeu é responsável por cerca de 25%. Somente o mercado músculo-esqueletal foi estimado em 24 bilhões de dólares em 2005, com US\$13,3 bilhões correspondendo ao mercado norte-americano (Soares, 2005).

Dentre os possíveis biomaterias, os polímeros se constituem em uma importante classe. Os poli(α-hidróxi ácidos) representam a principal classe de polímeros sintéticos bioreabsorvíveis e biodegradáveis utilizados na engenharia de tecidos. Fazem parte dessa classe o poli(ácido glicólico) (PGA), poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), poli(ε-caprolactona) (PCL), seus copolímeros e outros. Originalmente usados como fios de sutura (Dexon®, Vicryl®, Maxon®, PDS®, etc), atualmente os poli(α- hidróxi ácidos) podem ser encontrados em diversos produtos comerciais de fixação óssea, também aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA), (Biofix®, FixSorb®, Neofix®, ResorPin®, etc). A Tabela 1 fornece algumas propriedades destes polímeros (Barbanti et. al, 2005).

Polímero	Tg(°C)	Tm(°C)	Módulo de	Tempo de
			Elasticidade	Degradação
			(GPa)	(meses) ^b
Poli(ácido glicólico)	30 – 40	225 – 230	8.4	6 - 12
Poli(L-ácido láctico)	60 – 65	173 - 178	2.7	>24
Poli(D,L-ácido láctico)	55 – 60	Amorfo	1.9	12 - 16
Poli(D,L-ácido láctico-co-	45 – 50 ^a	Amorfo	2.0	1 - 2
ácido glicólico)				
Poli(ε-caprolactona)	(-65) – (-60)	58 - 63	0.4	24 - 36

Tabela 1 – Propriedades dos Poli(α-hidroxi ácidos) (Barbanti et. al, 2005)

^a Valores para o copolímero 50/50

^b Até completa bioreabsorção

Segundo Vert et al. (1992), materiais bioreabsorvíveis são materiais poliméricos e dispositivos sólidos que se degradam através da diminuição de tamanho de cadeia e

que são reabsorvidos *in vivo*; ou seja, materiais que são eliminados por rotas metabólicas do organismo. A bioreabsorção pelo organismo ocorre quando a biodegradação gera produtos e subprodutos com as características dos metabólitos orgânicos, especificamente os ácidos do Ciclo de Krebs. No caso do PLA, terminada a hidrólise do material a degradação segue o processo de oxidação a ácido láctico, que por sua vez é convertido em ácido pirúvico. Na presença da acetil coenzima A, ocorre a liberação de CO₂ e, conseqüentemente, o piruvato é decomposto em citrato. O citrato será então incorporado no Ciclo de Krebs, resultando em CO₂ e H₂O, podendo sua eliminação ser feita através da urina e da respiração (ver Figura 1). Dessa forma, o PLA é reabsorvido e metabolizado pelo organismo(Ali et al., 1993).



Figura 1 - Rota metabólica de bioreabsorção do PLA (Barbanti, 2005)

Entre numerosos tipos de polímeros degradáveis, o poli(ácido láctico) algumas vezes chamado poli(lactide), um poliéster alifático e termoplástico biocompatível, é

atualmente um material muito promissor e popular com uma perspectiva de desenvolvimento espetacular (Nampoothiri et al, 2010). O poli(ácido láctico) é um material biocompatível e bioreabsorvível, o que, em princípio, torna desnecessário novas cirurgias para retirada do material implantado, reduzindo traumas e gastos operatórios e pós-operatórios; além disso, permite um melhor planejamento cirúrgico, redução do tempo de cirurgia, redução do risco de infecções, com conseqüente melhoria da qualidade de vida do paciente.

Os dois monômeros que são geralmente usados como partida para síntese do poli(lactide), a saber ácido láctico e lactide, apresentam quiralidade. O ácido láctico possui duas formas estereoisoméricas, o L- e o D- ácido láctico. Já o lactide, o diéster cíclico do ácido láctico, apresenta três isômeros diferentes: L-lactide, D-lactide e o meso-lactide, que é opticamente inativo e contém uma unidade L e uma unidade D no anel (vide Figura 2). Na literatura, muito pouco é descrito sobre o meso lactide, já que sua obtenção é muito difícil (Motta, 2002).



Figura 2 - Estereoformas de ácido láctico e lactide (Nampoothiri et. al, 2010)

A existência de um grupo carboxil e um grupo hidroxil no ácido láctico permite que ele seja convertido diretamente em poliéster por uma reação de policondensação. Entretanto, a polimerização por condensação convencional do ácido láctico não aumenta a massa molecular suficientemente, a não ser que solventes orgânicos sejam utilizados para remoção da água de condensação (por exemplo, por destilação azeotrópica), e o tempo de polimerização é muito longo. Harshe et al. (2007) reportaram a síntese de PLA por policondensação a 180°C, sem utilização de catalisadores, que resultou em uma massa molecular inferior a 2500 g.mol⁻¹ depois de 24 horas. Conforme Nampoothiri et al. (2010), a policondensação de D,L-ácido láctico aquoso dificilmente resultará em uma massa molecular acima de 3000 g.mol⁻¹.

A forma mais comum de se obter PLA de alta massa molecular é via polimerização por abertura de anel do lactide (Thomaz, 2010). Uma grande variedade de compostos, principalmente óxidos e sais metálicos, tem sido investigada para ser utilizada como catalisadores. Entretanto, para fabricação de polímeros para uso biomédico, somente dois sais de estanho têm sido empregados: cloreto de estanho II e 2-etilhexanoato de estanho II, também conhecido como octoato de estanho, Sn(Oct)₂. Ambos os sais de estanho são aprovados para serem usados como aditivos alimentares, pelo FDA, mas o maior destaque vem sendo dado ao Sn(Oct)₂ devido a sua eficiência e baixa toxicidade (Motta, 2002)

A polimerização enzimática é um método ambientalmente mais amigável que pode ser realizado sob condições brandas, é altamente específico e provê controle adequado do processo de polimerização (Lassale et al., 2008). Lipases são biocatalisadores muito versáteis, pois podem ser utilizadas na síntese de uma extensa variedade de substratos com alta estereoespecificidade e enatioseletividade. Geralmente, as lipases utilizadas na síntese de poliésteres são originadas de mamíferos (Lipase pancreática de suínos ou em inglês, *porcine pancreatic lipase* - PPL), fungos (*Candida Antarctica* lipase B - CAL) ou bactéria (*Pseudomonas cepacia* lipase – PCL) (Varma et. al, 2005).

Conclui-se, então à luz dos trabalhos avaliados, que a área de biomateriais agrupa uma série de produtos relacionados com vários setores da saúde como ortopedia, cardiologia, odontologia, entre outros. O mercado de biomateriais e mais especificamente a engenharia de tecidos representa atualmente um grande potencial. Nesse contexto, o estudo e aplicação de PLA como *scaffolds* na engenharia tecidual

5

tem se mostrado uma área muito promissora de pesquisa devido à alta biocompatibilidade e à característica de bioreabsorção do polímero. O entendimento da técnica de polimerização por abertura de anel do lactide utilizando Sn(Oct)₂ como catalisador é de extrema importância tendo em vista a sua grande utilização. Faz-se necessário também explorar técnicas de polimerização biocatalisada por enzimas visando à síntese por uma "rota verde", ou seja, produção de um material isento de metais e buscando também uma polimerização em condições mais brandas de temperatura, pressão e pH.

1.2 Objetivos

O objetivo geral desta dissertação de mestrado é fazer um estudo prospectivo sobre as técnicas existentes para a síntese do Poli(D,L - ácido láctico) e sintetizá-lo a partir de uma rota química e outra enzimática para futuramente obter biodispositivos para utilização na engenharia tecidual.

Os objetivos específicos são:

- Síntese de poli(D,L ácido láctico) utilizando Sn(Oct)₂ como catalisador, verificando a influência da porcentagem de catalisador sobre a massa molecular do polímero, bem como a influência da temperatura e tempo de reação.
- Síntese de poli(D,L ácido láctico) utilizando um biocatalisador, Lipase B proveniente da *Candida Antartica,* como uma alternativa de "rota verde".
- Caracterização do polímero obtido por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC), Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (¹H-RMN) e Espectrofotometria na Região do Infravermelho (FTIR).
- Avaliação das propriedades térmicas do polímero por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Análise Termogravimétrica (TGA).
1.3 Organização da dissertação

Esta dissertação se encontra organizada em cinco Capítulos. No Capítulo 1, procurou-se introduzir a importância do tema de estudo e especificar os objetivos principais do trabalho. No Capítulo 2, foi realizado um levantamento bibliográfico sobre os fundamentos de biomateriais e as recentes descobertas relativas à síntese do poli(ácido láctico). Os materiais e métodos utilizados durante o trabalho encontram-se descritos no Capítulo 3; nesse Capítulo foi ainda realizada a descrição completa de cada técnica de caracterização utilizada e os parâmetros de processo utilizados na síntese do polímero foram detalhados. Os resultados e discussões foram apresentados no Capítulo 4. As informações mais relevantes obtidas no decorrer deste trabalho foram agrupadas na forma de conclusões e apresentadas no Capítulo 5, onde também estão reunidas as sugestões para trabalhos futuros.

Capítulo 2

Revisão da Literatura

Neste Capítulo, serão apresentados os fundamentos de biomateriais, o cenário mundial da produção de biopolímeros, as aplicações mais recentes de poli(ácido láctico) na Engenharia Tecidual e as técnicas já estudadas para síntese do polímero.

2.1 Biomateriais

Os biomateriais são materiais usados em dispositivos médicos, sobretudo naqueles que são temporária ou permanentemente implantados no corpo humano. O termo biomaterial foi definido na Conferência do Instituto Nacional de Desenvolvimento de Consenso em Saúde em 1982 como:

"Qualquer substância (outra que não droga) ou combinação de substâncias, sintética ou natural em origem, que possa ser usada por um período de tempo, completa ou parcialmente como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo" (Helmus et. al, 1995).

Quanto ao tipo de material, os biomateriais podem ser: polímeros sintéticos, metais, cerâmicas e macromoléculas naturais (ex.: biopolímeros) que são manufaturados ou processados para se adequarem à utilização em dispositivos médicos que entram em contato íntimo com proteínas, células, tecidos, órgãos e sistemas orgânicos.

Os biomateriais devem ser isentos de produzir qualquer resposta biológica adversa local ou sistêmica, ou seja: o material deve ser não-tóxico, não-carcinogênico, não-antigênico e não-mutagênico. Em aplicações sangüíneas, eles devem também ser não-trombogênicos. As complicações oriundas dos dispositivos implantados irão variar de acordo com a sua aplicação. Por exemplo, infecções e biodegradação irão afetar dispositivos que têm aplicações de longa duração como próteses permanentes e válvulas cardíacas (Prado da Silva, 2006).

9

De acordo com Prado da Silva (2006), a seleção do material a ser utilizado deve levar em consideração as propriedades físicas, químicas e mecânicas do material e suas aplicações. As principais propriedades que devem ser levadas em conta são:

- Resistência: aplicações que requerem alta resistência incluem enxertos de veia aorta, válvulas cardíacas, balões de angioplastia e implantes odontológicos e ortopédicos. Alguns desses dispositivos requerem propriedades bastante específicas;
- Módulo (elasticidade, torção ou flexão): o módulo de torção e de flexão é de interesse para materiais como cateteres, que podem sofrer torque e fazer percursos tortuosos dentro dos vasos. Muitos elastômeros devem ter capacidade de se alongar com baixa carga, logo, devem ter baixo módulo de torção, flexão ou elasticidade.
- Fadiga: os dispositivos que devem suportar esforços cíclicos sem permitir propagação de trinca são em sua maioria feitos de poliuretano, poliéster e metais em geral. Esses dispositivos funcionam em sua maioria como implantes ortopédicos, odontológicos e cardiovasculares.
- Rugosidade: em aplicações onde é desejado baixo atrito, como em implantes de juntas ortopédicas, utilizam-se materiais com acabamentos espelhados. Quando se deseja uma integração tecido-implante, como em implantes endo-ósseos, é desejada uma alta rugosidade.
- Taxa de permeação: dispositivos como lentes de contato requerem uma alta taxa de permeação de gases. Geralmente a permeação decresce com a cristalinidade do material. Os hidrogéis são permeáveis a água e são muito utilizados como liberadores de drogas.
- Absorção de água: alguns materiais sofrem mudanças dramáticas em sua resistência a tração, à fadiga, à fluência, em seu módulo de elasticidade, torção ou flexão quando ligeiramente umedecidos. A degradação também é afetada pela absorção de água: materiais hidrofílicos tendem a se degradar do interior

para a superfície enquanto materiais hidrofóbicos tendem a ter primeiramente suas superfícies degradadas.

- Bioestabilidade: dispositivos como fios de sutura e liberadores de drogas devem ter sua degradação controlada, enquanto implantes permanentes devem ser estáveis.
- Bioatividade: a bioatividade se refere à propriedade inerente a alguns materiais de participarem em reações biológicas específicas. Camadas bioativas podem ser formadas a partir de moléculas que previnem coágulo sangüíneo ou iniciam a degradação enzimática de um trombo. Algumas superfícies negativamente carregadas iniciam a degradação de componentes complementares com o potencial para menores efeitos colaterais para tratamentos como diálise. A hidroxiapatita é muito utilizada como recobrimento para implantes endo-ósseos. Essa camada constitui uma superfície bioativa para o ancoramento de osso neoformado.
- Esterilização: o método de esterilização utilizado pode alterar o estado energético da superfície de um implante, alterando a resposta celular. Os polímeros podem ter suas propriedades negativamente alteradas quando esterilizados por irradiação com raios gama.

2.2 Produção de Biopolímeros

Um relatório divulgado pelo Centro de Gestão e Estudos Estratégicos em 2006 apresentou uma análise do mercado de biopolímeros relativo ao seu estado em 2005 em relação à biotecnologia industrial e traçou um prognóstico de seu crescimento. Também foi examinada a inserção relativa do Brasil em termos de competitividade tecnológica e de custos potenciais de produção destes materiais (Pradella, 2006).

A Tabela 2 mostra uma projeção para 2015 do mercado de biopolímeros e o faturamento anual correspondente, empregando o preço do produto comercializado no futuro.

	Brasil	EUA	Europa	Ásia	t/ano	US\$/ano Milhões
	2005	2005	2005	2005	2015	2015
Polímero de amido	P&D	Comercial	Comercial	Piloto	400000	800
PLA	P&D	Comercial	Piloto	Comercial	400000	800
PHA ¹	Piloto	Piloto	Comercial ³	Piloto	100000	200
PAA ²	-	P&D	P&D	P&D	100000	200
Xantana	Piloto	Comercial	Comercial	Comercial	80000	400
Pululana	-	-	-	Comercial	1200	24

Tabela 2 – Estágio de desenvolvimento dos biopolímeros em 2005 e perspectiva de produção (Pradella, 2006)

¹ Polihidroxialcanoato

² Poliésteres alifáticos aromáticos

³ Escala de produção menor que 5t/ano

Uma vez adotado que o custo final do produto é basicamente dependente do custo da matéria-prima e do transporte, a estimativa da lucratividade do produto para o ano de 2015 foi realizada subtraindo o custo do produto (matéria-prima e frete) do faturamento total do produto. (Pradella, 2006)

Para analisar a competitividade do produto brasileiro no mercado internacional, o custo do frete foi adicionado apenas no produto nacional. A Figura 3 mostra a lucratividade para o PLA produzido em locais distintos. Os diferentes níveis correspondem a diferentes porcentagens do mercado (0, 10, 50 e 100% do mercado global).



Figura 3 – Lucratividade para o PLA em 2015 (Pradella, 2006)

Na produção de PLA, embora o Brasil tenha o menor custo de matéria-prima, o acréscimo do frete aproxima o custo final do produto ao custo do americano, mas quando comparado ao mercado europeu e asiático esse custo ainda continua menor. A Figura 3 ilustra esse fato através da lucratividade, que no caso dos EUA seria semelhante ao Brasil, porém bem menor para a China e Europa.

2.3 PLA para Engenharia Tecidual

A medicina regenerativa é uma área portadora de futuro, que tem como objetivo controlar e ampliar a capacidade natural de regeneração tecidual, adotando uma diferente abordagem no tratamento de lesões e doenças. Medicina regenerativa engloba vários temas relevantes como: dispositivos médicos e órgãos artificiais; engenharia tecidual e biomateriais; terapia celular e testes clínicos.

Nos EUA, que gastam mais de US\$ 1,5 trilhões por ano em saúde, a medicina regenerativa é vista como solução para combater o aumento contínuo dos gastos decorrentes do envelhecimento populacional. O documento 2020: *A New Vision - A Future for Regenerative Medicine do U.S. Department of Health and Human Services (HHS)* estabelece as metas previstas para o desenvolvimento da medicina regenerativa nos próximos anos. Os autores consideram que em 10 anos as terapias de medicina regenerativa devem estar disponíveis para o tratamento de pacientes e bases de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação instaladas em empresas. Em vinte anos, deve se atingir o pleno potencial dessas terapias, mas esse prazo pode se estender por mais 20 a 30 anos caso não haja apoio suficiente (políticas públicas e recursos financeiros) do governo americano (CGEE, 2010).

A engenharia de tecidos é um campo multidisciplinar que envolve a aplicação dos princípios e métodos de engenharia, conhecimentos de materiais e processamento junto aos conhecimentos das áreas biológicas e médicas. Em princípio, podem-se produzir substitutos "artificiais" imunologicamente tolerantes de órgãos e de tecidos danificados que podem crescer no paciente. Isso conduzirá a uma solução permanente, sem a necessidade de terapias suplementares em longo prazo (Jeong, 2004). Essa nova engenharia trata resumidamente de um cultivo de células *in vitro* e em seguida, introdução em estudos *in vivo*. A dificuldade de inserção direta e proliferação de células trouxeram a necessidade de uma matriz pré-implantação denomominada *scaffold*, suporte de crescimento celular. Antes do implante, o processo de cultivação de células segue o fluxograma apresentado na Figura 4 (Sachlos, 2003).

 a) Esquema do scaffold que é uma estrutura porosa. Oxigênio e nutrientes são fornecidos a partir do meio de cultura de células. 	O ² e untre células
b) Semeadura de células no <i>scaffold.</i>	O2 e nutrientes
c) As células começam a se proliferar e migram para dentro dos poros do <i>scaffold</i> .	O ₂ e nutrientes
d) As células colonizam inteiramente os poros do <i>scaffold</i> e começam a construir a sua própria matriz extracelular.	O ₂ e nutrientes
e) As camadas superiores de células consomem a maior parte do oxigênio e nutrientes, reduzindo a quantidade disponível para as células pioneiras migrarem para dentro do <i>scaffold</i> .	O2 e Inditientes

Pp: Profundidade de penetração celular

Figura 4 – Diagrama esquemático apresentando a difusão no *scaffold* (Sachlos, 2003).

Enxertos vasculares de diâmetro pequeno confeccionados por engenharia tecidual são necessários para pacientes que requerem a substituição de suas coronárias danificadas e vasos abaixo do joelho. Entender a interação entre os *scaffolds* e as células implantadas e, assim, o controle de fenótipo das células musculares lisas é crítico para a construção de enxertos vasculares. Hu J. et al. (2010) estudaram o efeito *scaffolds* de nanofibras de poli-L-lactide no controle fenótipo de células musculares lisas aórticas. Um *scaffold* tubular de poli-L-lactide para regeneração de veias sanguíneas foi fabricado (ver Figura 5) e estudos de semeadura de células mostraram distribuição das células em todo o *scaffold*.

Normalmente, para que ocorra uma boa interação polímero-célula é necessário que se estabeleça a adesão celular ao substrato. Embora o substrato não necessite obrigatoriamente apresentar características semelhantes às da matriz extracelular para que a adesão celular ocorra, a similaridade físico-química é desejada quando o objetivo é a promoção da diferenciação celular ou para que um determinado polímero tenha uma interação mais efetiva no sítio de implantação (Alberts, 2002). Existe uma relação entre a hidrofilidade e a adesão celular. Dentro de certos parâmetros, substratos mais hidrofílicos tendem a suportar uma melhor interação com células (Santos Jr., 2001). Assim, a adesão é de extrema importância para a ciência dos biomateriais e para as aplicações na área de medicina regenerativa. Somente depois de aderidas, as células iniciam seu processo de espalhamento, divisão e produção de matriz extracelular nova (Dewez, 1998). Espalhamento ou espraiamento é um processo complexo que envolve modificações na morfologia celular em conseqüência de alterações no citoesqueleto, criando assim uma melhor interação com o substrato (Santos Jr., 2007).



Figura 5 – Fabricação de *scaffolds* tubulares de nanofibras e cultura de células *in vitro*. Visão total do *scaffold* tubular (A). Escala: 5mm. Microscopia eletrônica de varredura da secção do *scaffold* mostrando a estrutura (B), macro-poros, interconexões de poros (C), e estrutura da nanofibra (D). (Hu J. et al. 2010)

Kim e pesquisadores (2010) fabricaram *scaffolds* tridimensionais baseados em nano/microfibras de PLGA pela técnica de *electrospinning* híbrido. Neste trabalho os *scaffolds* consistiam em uma estrutura de microfibras e nanofibras de PLGA randomicamente orientadas. Foram avaliadas a adesão, espalhamento e infiltração de queratinócitos humanos normais e fibroblastos. A adesão e espalhamento de ambos os tipos de células foram várias vezes maiores nos compostos de nano/microfibras do que em composto de microfibras sem a presença de nanofibras.

Feng et al. (2010) desenvolveram um *scaffold* poroso tri-dimensional com a habilidade de liberar antibióticos de forma controlada para uma inibição em longo prazo do crescimento de bactérias. Com essa nova aplicação é possível alcançar alta bioatividade local e baixos efeitos colaterais sistêmicos dos antibióticos no tratamento

de infecções dentárias, periodontal e ósseas. A altamente solúvel droga antibiótica Doxiciclina foi incorporada em nanoesferas de poli(ácido láctico-co-glicólico) e as nanoesferas foram posteriormente incorporadas em *scaffolds* de nanofibras de poli(L-ácido láctico) com uma estrutura macro-porosa interconectada.

A escolha do polímero de ácido láctico a ser utilizado na medicina regenerativa, deve levar em consideração a isomeria do monômero e conseqüente dímero gerado. O homopolímero de L-lactide tem característica semicristalina, portanto seus copolímeros exibem alta resistência à tração e pouco alongamento e, esse módulo elevado faz com que eles sejam mais adequados do que os outros polímeros amorfos para aplicações ortopédicas (Middleton et al., 2000). O poli(D,L-lactide) é um polímero amorfo o qual contém uma distribuição estatística de seus dois isômeros, assim, impossibilitando a cristalização da sua cadeia, provocando redução de suas propriedades mecânicas em relação ao primeiro(Miller et al. 1977). Porém, a degradação mais rápida desse material o torna mais atrativo para sistemas de liberação de drogas (Lili, 2007).

Conforme Jahno (2005), quando PLA é usado em cirurgias ortopédicas e como dispositivos de fixação oral, um polímero de alta massa molecular é necessário para produzir dispositivos de elevada resistência mecânica. E ao contrário, tais massas moleculares altas não são necessárias quando eles são usados como carregadores de liberação controlada de drogas. Em tais aplicações farmacêuticas, os polímeros de lactide de baixas massas moleculares são preferidos geralmente porque são degradados no corpo mais rapidamente do que PLA de alta massa molecular (Hyon, 1997). Existem polímeros disponíveis para comercialização na escala M_w de 2000 a 300000 g.mol⁻¹ sendo os polímeros de massas molares baixas utilizados para matrizes de liberação controlada de drogas, e de massas molares elevadas são utilizados para a osteosíntese (pinos para o reparo de osso).

2.4 Síntese do PLA por abertura de anel do lactide

Segundo Nampoothiri et. al (2010) o caminho mais comum para se obter poli(ácido láctico) de alta massa molecular é por meio da polimerização por abertura de

anel do lactide (Figura 6) .O lactide intermediário, um dímero cíclico de ácido láctico, é formado na primeira etapa quando a água da condensação é removida por evaporação durante a oligomerização. L-ácido láctico, D-ácido láctico ou misturas podem ser polimerizados aos seus correspondentes oligômeros de baixa massa molecular, que são despolimerizados cataliticamente em seguida através de uma transesterificação interna à lactide. Na segunda etapa, o monômero purificado L-lactide, D-lactide, D,L-lactide ou meso-lactide é convertido no seu correspondente poliéster de alta massa molecular por polimerização catalítica por abertura de anel.



Figura 6 – Polimerização por abertura de anel (Nampoothiri et. al, 2010)

Jahno (2005) reportou a síntese do lactide a partir do L-ácido láctico sob agitação, atmosfera inerte a uma temperatura de 200°C por 2 horas. Durante o período de reação a água foi removida do sistema através de um sistema com condensador acoplado. O lactide obtido foi analisado por ¹H-RMN e espectroscopia de infravermelho e os resultados obtidos foram comparados aos resultados do lactide comercial. Comprovou-se a obtenção do lactide nas condições descritas acima.

O mecanismo de polimerização por abertura de anel do lactide pode ser dividido em três classes: catiônica, aniônica e coordenação-inserção. As duas primeiras são consideradas rotas alternativas e a última é a mais utilizada industrialmente (Kowalski et al. 2000).

A rota catiônica precisa de ácidos extremamente fortes para iniciar a reação e, além disso, a substituição nucleófila em carbono quiral pode causar racemização do produto, assim impedindo a obtenção de polímero com taticidade e massa molar elevada. Essas características tornam-na uma rota pouco viável (Dong, 2001). A rota aniônica é normalmente iniciada por alcóxidos de metais alcalinos. Tanto a iniciação quanto a propagação consiste em um ataque nucleófilo de um aniôn ao carbono carbonila do L,L lactide seguido pela clivagem da ligação CO-O do anel. A técnica possibilita a desprotonoção do monômero L,L-lactide, gerando um aniôn lactide planar. Devido a essa planalidade, as reações de protonação e desprotonação podem levar ao produto ser racêmico também e, conseqüentemente, ao baixo controle estereoquímico e à baixa massa molar do produto (Storey, 2002).

O mecanismo de polimerização por abertura de anel do lactide mais provável e mais importante é via inserção por coordenação. Os compostos organometálicos têm sido utilizados nas copolimerizações de poli(α-hidroxi ácidos), com o objetivo de desenvolver catalisadores metálicos ativos de baixa toxidez e controlar a microestrutura do polímero, o que afeta as suas propriedades mecânicas e taxa de biodegradação (Freed et al., 1994). O catalisador mais utilizado atualmente é o octoato de estanho.

2.4.1 Utilização de catalisadores inorgânicos

Em 2007, Gupta e Kumar apresentaram uma revisão compreensiva sobre os vários aspectos da síntese do PLA. Nessa revisão, uma coleção de mais de 100 catalisadores para a síntese de PLA foi mencionada. A Tabela 3 mostra alguns dos catalisadores mais comumente usados para a síntese do PLA. A polimerização da mistura racêmica D,L- lactide geralmente leva à síntese de poli-D,L-lactide (PDLLA) que não é cristalino, mas sim amorfo. O grau de cristalinidade, e conseqüentemente muitas propriedades importantes, é controlado pela relação dos enantiômeros D e L usados. A polimerização por abertura de anel do L-lactide utilizando diferentes complexos de Ferro orgânico monocarboxílicos também foi reportada. Foi observado que o ânion acetato assim como o Ferro em parte, foram quimicamente ligados à cadeia polimérica e o mecanismo de polimerização proposto é um tipo aniônico de inserção coordenada.

Um estudo recente (Becker et. al, 2010) apresentou a síntese de um sistema de catalisadores versátil e modular para síntese por abertura de anel do lactide baseado em compostos amino-oxazolina e amino-tiazolina.

Polímero	Catalisador	Solvente	Massa molecular	
PDLLA/PLLA	Isopropoxido de aluminio	Tolueno	$M_n = 90000$	
PDLLA	Octoato de estanho	Álcool	$M_w = 350000$	
PLLA	Octoato de estanho	Álcool, ácido carboxílico	$M_n = 250000$	
LPLLA	Octoato de estanho e compostos de titânio e zircônio	Tolueno	M _n = 40000 - 100000	
PDLA / PLLA / PDLLA	Trifluormetano sulfonato de estanho e de escândio(III)	Etanol	-	
PLLA	Mg, Al, Zn, alcóxidos de titânio	Cloreto de metileno	-	
PLLA	Itrio tris(2,6-di-terc butil fenolato) em tolueno	2-propanol, butanol, etanol	M _n < 25000	
PDLLA	Lactato de zinco	Sem solvente	$M_n = 212000$	
PDLLA / PLLA	Butil-magnésio, reagente Grignard	Éteres	$M_n = 300000$	
PLLA	Naftalenido de potássio	THF, tolueno	M _n < 16000	
PLLA Complexos de ferro com Acidos acético, butírico, siobutírico e dicloroacético		Sem solvente	$M_{w} = 150000$	

Tabela 3 – Diferentes catalisadores usados na produção de PLA (Gupta et al, 2007)

Entretanto para a produção de polímeros para uso biomédico, somente dois sais de estanho têm sido empregados: cloreto de estanho II e 2-etilhexanoato de estanho II, mais conhecido como Sn(Oct)₂. Ambos sais de estanho são aprovados para serem usados como aditivos alimentares, pelo FDA (*Food and Drugs Admnistration*), mas o maior destaque vem sendo dado ao Sn(Oct)₂, devido a três fatores principais (Motta, 2002):

- Ele é altamente eficiente e permite quase uma conversão completa da relação monômero/catalisador, podendo apresentar uma razão da ordem 10⁴:1 (Nijenhuts et. al, 1992).
- O risco de racemização é baixo quando se faz uso desse catalisador, sendo possível obter poli(lactide) com uma pureza óptica de até 99% quando a síntese é realizada em temperaturas até 150ºC por poucas horas (Kricheldorf et. al, 1995).
- Além desses fatores, o Sn(Oct)₂ é empregado como aditivo alimentar, o que significa que sua toxicidade é extremamente baixa quando comparado a outros sais de metais pesados. (Kricheldorf et. al, 1995)

O comitê para investigação da segurança dos implantes de mama de silicone (Bondurant et al., 1999) analisou as informações obtidas sobre os possíveis efeitos dos compostos tin¹ na segurança dos implantes de mama de silicone. Sn(Oct)₂ é geralmente usado como catalisador na formulação de uma parte do implante. Elastômeros RTV com Sn(Oct)₂ foram implantados sob a pele por via intraperitoneal e subdural em ratos. Embora nenhum efeito tóxico ou carcinogênico tenha sido observado ao longo de 22 meses, este estudo inicial não foi projetado para examinar a toxidade do composto tin (Agnew et al., 1962 apud Bondurant et al., 1999). Outros estudos de implantes similares para avaliação do Sn(Oct)₂ como catalisador na produção dos elastômeros também não apresentaram efeito negativo (Nedelman, 1968 apud Bondurant et al., 1999). Da mesma forma, os elastômeros da Dow Corning com 1, 3 e 5% de octoato de estanho foram implantados por via subcutânea e intramuscular em coelhos por 10 ou 30 dias e nenhuma resposta clara à dose foi observada; apenas a reação comum do corpo a um componente estranho (Robert Meeks, Ph.D Dow Corning Corporation, comunicação pessoal, 1999 apud Bondurant et al., 1999). O comitê concluiu que não existem evidências de efeitos tóxicos de catalisadores tin como o Sn(Oct)₂ em baixas taxas de exposição como as encontradas em implantes de silicone.

¹ termo derivado do alemão, refere-se aos isótopos de estanho (Filgueiras, 1998)

2.4.1.2 Mecanismo de coordenação-inserção com abertura de anel do lactide.

A polimerização do lactide usando Sn(Oct)₂ geralmente ocorre pelo mecanismo de coordenação-inserção com a abertura do anel do lactide, conforme Figura 7. O catalisador facilita a polimerização, porém um grupo hidróxi ou outra espécie nucleofílica são os iniciadores. Geralmente existem no lactide centenas de partes por milhão de grupos hidróxi na forma de impurezas oriundos da água, ácido láctico e de dímeros e trímeros lineares (Henton, 2005).



Figura 7 – Mecanismo generalizado de crescimento de cadeia por coordenaçãoinserção de lactide à PLA: R, cadeia de crescimento do polímero (Henton, 2005).

Na polimerização por coordenação-inserção a eficiência do controle da massa molecular depende também da extensão de reações paralelas de transesterificação. Essas reações de transesterificação podem ocorrer tanto intramolecular (gerando estruturas macrocíclicas e cadeias curtas) como intermolecular (redistribuições de cadeias), ver Figura 8. O equilíbrio polimerização-despolimerização também deve ser levado em consideração como um caso particular de reação de transesterificação intramolecular. Todas essas reações paralelas resultam em uma distribuição de massa molecular mais ampla e foi descoberto que sua extensão depende fortemente do iniciador metálico (Dubois, 2009).



Figura 8 – Reações paralelas de transesterificação inter e intramolecular (Dubois, 2009).

2.4.2 Utilização de enzimas como catalisadores

Na química dos polímeros a aplicação de enzimas oferece muitas vantagens: a polimerização pode ser realizada sob condições brandas em relação à pressão, temperatura e pH, o que torna as reações enzimáticas muito eficientes em termos energéticos e no custo dos equipamentos. Enzimas também podem ser muito seletivas: químio-, régio- e enantiosseletividade podem ser enzimaticamente induzidas, abrindo novas rotas para a síntese precisa de polímeros. As enzimas também são consideradas "verdes", catalisadores atóxicos que vão de encontro com as crescentes demandas para atendimento dos requisitos comerciais, ecológicos e biomédicos. (Dubois, 2009)

Baseado na reação específica que elas catalisam, as enzimas foram classificadas em seis grupos, três deles foram reportados por catalisar ou induzir polimerização *in vitro*, denominados oxidorredutases, transferases e hidrolases. A última classe inclui a lipase; o papel natural dessa enzima é a hidrólise de ésteres de ácidos graxos na interface água-lipídeo da célula. Em meio orgânico, lipases podem eficientemente catalisar a formação de ligação éster e também foram extensivamente utilizadas na investigação de síntese de poliéster por policondensação ou abertura de

anel *in vitro*, sem a necessidade de co-catalisador adicional. Uma enzima que merece atenção especial é a *Candida Antarctica* Lipase B (CALB) (Dubois, 2009)

A Tabela 4 ilustra alguns exemplos de enzimas, e suas origens, que são tipicamente empregadas na síntese de poliéster (Kobayashi, 2010)

Tabela 4 – Origem das lipases usadas para síntese de poliésteres in vitro e suas abreviações (Kobayashi, 2010)

Origem da Lipase	Abreviação
Candida cylindracea	Lipase CC
Pseudomonas fluorescens	Lipase PF
Porcine Pancreas Lipase	PPL
Aspergilus Níger	Lipase A
Candida rugosa	Lipase CR
Penicillium roqueforti	Lipase PR
Pseudomonas cepacia	Lipase PC
Rhizopus japonicus	Lipase RJ
Rhizomucor meihei	Lipase RM
Mucor meihei	Lipase MM
Candida Antarctica	Lipase CA
Candida Antarctica lipase B	CALB ^a
Yarrowia lipolytica	Lipase YL

^a CALB imobilizada em resina acrílica é comercialmente conhecida por Novozym®435

De acordo com Wahlberg et al. (2003), a falta de reatividade do grupo álcool do ácido láctico quando se utiliza Novozym®435 como catalisador poderia levar a conclusão de que o lactide não é um bom substrato na abertura de anel via enzimática,

já que a propagação requer uma terminação de cadeia ativa. Entretanto, copolimerizações de lactide com caprolactona (CL) apresentaram uma queda dramática no consumo de CL após um rápido consumo inicial de lactide, o que aparentou ser o melhor substrato. Na verdade, muitas semanas foram necessárias a fim de observar a formação de copolímeros randômicos. Claramente, a falta de nucleofilicidade do álcool secundário do lactide aberta é a principal responsável pela redução drástica da taxa de polimerização.

Matsumura et al. (1997) reportaram a criação de polímeros com alto valor de massa molecular (M_w de até 270000 g.mol⁻¹) e valores estreitos de índice de polidispersão (<1,3) utilizando o biocatalisador Lipase PS. Para isso, altas temperaturas (130°C) foram necessárias para atingir boas conversões.

Um estudo mais recente (Hans et al., 2009) mostrou que D-lactide (DLA) pode ser convertido em polímero numa solução de tolueno sob condições brandas (50-70°C) usando Novozym® 435. Em contraste com o L-lactide (LLA), o álcool formado pela abertura do anel do DLA está apto a reagir com o monômero ativado – o monômero complexo enzimático. Assim, a seletividade de Novozym® 435 para alcoóis secundários determina a capacidade de polimerização dos diferentes estereoisômeros de lactide. Também foi constatado que o aumento de biocatalisador na alimentação leva a conversões de até 100% e a um aumento de número de cadeias poliméricas, e assim uma diminuição da massa molecular médio do polímero. A temperatura também desempenha um importante papel, já que ela influencia fortemente a velocidade de desativação da enzima. Uma diminuição da temperatura resultou em maiores conversões.

Chanfreau et al. (2010) reportaram a síntese de poli-L-lactide (PLLA) e poli-Llactide-co-glicolide (PLLGA) utilizando como solvente o líquido iônico 1-hexil-3metilimidazolina hexafluorfosfato [HMIM][PF6], a polimerização foi mediada pela enzima lipase B da *Candida antarctica* (Novozyme®435). A maior conversão (63%) foi obtida a 90°C com uma massa molecular média (Mn) de 37,8x10³ g.mol⁻¹ determinada por cromatografia de exclusão de tamanho. Este procedimento produziu polímeros de relativa alta cristalinidade (até 85% PLLA) como foi determinado por DSC. Contudo, nos

26

experimentos a 90°C a síntese também ocorreu sem a presença de biocatalisador. A síntese de PLLA em [HMIM][PF6] a 65°C também foi avaliada e seguiu apenas o mecanismo enzimático já que não foi observada abertura de anel sem a presença da enzima, nessa condição de temperatura e após 9 dias de reação foi obtido PLLA com Mn de 1,5x10³ g.mol⁻¹.

2.5 Conclusões

Biomateriais poliméricos são desenvolvidos para uso como substitutos de tecidos danificados e/ou para estimular sua regeneração. Uma classe de biomateriais poliméricos são os bioreabsorvíveis, compostos que se decompõem tanto *in vitro* quanto *in vivo*. São empregados em tecidos que necessitam de um suporte temporário para sua recomposição tecidual. Dentre os vários polímeros bioreabsorvíveis, destacam-se os α–hidróxi ácidos, entre eles, diferentes composições do poli(ácidolático) (PLA), como o poli(L-ácido lático) (PLLA), poli(D-ácido lático) (PDLA), poli(D,L-ácido lático) (PDLA). Estes polímeros são considerados biorreabsorvíveis por apresentarem boa biocompatibilidade e os produtos de sua decomposição serem eliminados do corpo por vias metabólicas.

A polimerização do lactide por abertura de anel é uma rota de síntese conveniente para a produção de PLA. Quando realizada em ótimas condições, na presença de um catalisador adequado, essa técnica resulta em polímeros com massa molecular previsível e índice de polidispersão estreito. O processo pode ser mediado por uma grande variedade de catalisadores, incluindo os metais pesados e as enzimas; o primeiro é largamente utilizado, porém a rota enzimática deve ser estudada a fim de possibilitar a síntese de um material isento de metais. A combinação da biodegradabilidade e a derivação de fontes renováveis encorajam a investigação como uma proposta ambientalmente segura para aplicações biomédicas.

Capítulo 3

Materiais e Métodos

Este Capítulo está dividido em 6 partes principais. As quatro primeiras descrevem os parâmetros utilizados para a síntese do lactide, do PDLLA via abertura de anel com utilização de Sn(Oct)₂ e Lipase B como catalisadores e a síntese do PDLLA via policondensação com a utilização do biocatalisador. Todos os equipamentos utilizados em cada reação em escala laboratorial estão descritos. A quinta parte deste Capítulo apresenta as técnicas e as metodologias utilizadas para caracterização dos polímeros e, finalmente, a última parte apresenta a descrição dos equipamentos que podem ser utilizados para fabricação do PDLLA em escala industrial e os parâmetros necessários para os cálculos de custo de produção de cada alternativa de rota de polimerização proposta.

3.1 Síntese do lactide

Conforme literatura (Nampoothiri, 2010), o dímero cíclico de ácido láctico, lactide, é formado a partir de ácido láctico removendo-se a água da condensação por evaporação durante a oligomerização. D, L-ácido láctico pode ser polimerizado ao seu correspondente oligômero de baixa massa molecular que é, em seguida, despolimerizado cataliticamente através de uma transesterificação interna à lactide. Jahno (2005) reportou com sucesso a síntese de lactide a partir do L-ácido láctico sob agitação, atmosfera inerte a uma temperatura de 200°C por 2 horas. Durante o período de reação, a água foi removida do sistema através de um condensador acoplado.

Neste trabalho, para a síntese do lactide, o monômero utilizado foi o D,L – ácido láctico comercial (Purac) com 85% de concentração. Como o ácido utilizado continha 15% em massa de água, fez-se necessário realizar previamente sua desidratação a fim de otimizar a etapa seguinte de dimerização. Em um balão de 1000 mL adicionou-se 600 mL de D,L-ácido láctico e elevou-se a temperatura para 100ºC, o sistema foi

mantido sob agitação e foi utilizado vácuo para favorecer a remoção total da água contida na solução comercial de D,L-ácido láctico. A obtenção de lactide procedeu-se conforme processo já relatado em literatura (Jahno, 2005), o D,L-ácido láctico previamente concentrado foi submetido a uma temperatura de 200ºC por 2 horas, sob agitação e gás inerte (N₂). O esquema utilizado em escala laboratorial para obtenção do D,L-ácido láctico concentrado e do lactide está representado na Figura 9.

Para a obtenção dos polímeros desse trabalho, nenhuma purificação adicional foi feita ao lactide obtido em escala laboratorial, esta decisão foi tomada com a finalidade de obter um polímero isento de solventes orgânicos. No entanto, uma fração do lactide obtido foi purificada com acetona para posterior análise e comparação dos espectros de infravermelho. A purificação procedeu-se da seguinte forma: em um balão de 500 mL pesou-se 200 g do lactide obtido em laboratório, acrescentou-se 300g de acetona e a mistura foi mantida sob agitação a 25ºC por 1 hora. A mistura lactide/solvente foi mantida em geladeira (aproximadamente 5ºC) por 5 dias, o lactide foi separado do solvente sob vácuo (5 mmHg) e aquecimento a 100ºC, conforme processo descrito por Jahno (2005)

3.2 Síntese de Poli(D,L-lactide) via abertura de anel com Sn(Oct)₂

Foi realizada a polimerização por abertura de anel do lactide obtida no item anterior utilizando o catalisador 2 etilhexanoato de estanho II, Sn(Oct)₂ com 95% de concentração, da empresa Sigma-Aldrich. As reações foram realizadas utilizando-se a mesma montagem experimental utilizada para obtenção do lactide, conforme está apresentado na Figura 9.



Figura 9 – Esquema da escala laboratorial: (1) Balão de vidro; (2) Manta de aquecimento; (3) Termostato; (4) Fluxo de nitrogênio; (5) Coletor de condensado; (6) Condensador; (7 e 8) Fluxo de água do condensador e (9) bomba de vácuo.

Com a finalidade de encontrar a melhor condição de temperatura, tempo de polimerização e % de Sn(Oct)₂ para a síntese de PDLLA, o desenvolvimento das polimerizações foi realizado em etapas. Em todos os ensaios a agitação foi fixada em 275 rpm, a pressão foi mantida em 5 mmHg e fluxo de nitrogênio constante.

Inicialmente foi feito um estudo exploratório variando a quantidade de catalisador em 2,48, 1,00, 0,10 e 0,50% em relação à massa de lactide. O tempo de reação foi fixado em 3 horas e todos os ensaios foram realizados a 160ºC.

Em seguida, a quantidade de catalisador foi fixada em 2,48% em relação à massa de lactide e, para que a influência do tempo na reação fosse analisada, o tempo de reação foi aumentado para 6, 7 e 8h. A temperatura foi mantida em 160ºC.

Para avaliar se haveria uma interferência positiva na redução de reações secundárias de polimerização e, conseqüente favorecimento do aumento da cadeia do polímero, o percentual de catalisador em relação à massa do dímero foi reduzido para

0,10%. As massas moleculares foram avaliadas com 4, 5, 7, 8 e 9 horas de reação. Todos os ensaios foram realizados a 160ºC.

Após avaliação dos resultados obtidos nas reações realizadas a 160°C, foi escolhida a concentração de catalisador e o tempo que resultou em maior massa molecular do produto final, os valores dos dois parâmetros foram fixados e a temperatura foi variada em 10°C, ou seja, a polimerização foi reproduzida a 150°C e a 170°C para que a condição ideal de temperatura fosse determinada. A quantidade de catalisador Sn(Oct)₂ foi fixada em 0,10% em relação à massa de dímero, o tempo foi fixado em 7 horas e a polimerização foi realizada na temperatura 150°C e na temperatura 170°C. As condições de atmosfera inerte, pressão e agitação permaneceram inalteradas.

3.3 Síntese de Poli(D,L-lactide) via abertura de anel com Lipase B.

A polimerização por abertura de anel do lactide via enzimática foi catalisada pela enzima Lipase B imobilizada, comercialmente conhecida por Novozym® 435 (Novozymes). A enzima é proveniente da *Candida Antartica* e é disponibilizada adsorvida em um transportador base resina acrílica macroporosa com formato de grânulo esférico. De acordo com orientações obtidas no folheto de aplicação da enzima Novozym® 435, a enzima é bastante tolerante ao calor com atividade máxima encontrada na faixa de 70 a 80°C. Devido à possível inatividade térmica que poderia ocorrer após sucessivas reações em temperatura elevadas, o fornecedor recomenda que a reação se processe na faixa de 40 a 60°C para prolongar a durabilidade da enzima. No entanto, Chanfreau (2010) e o próprio folheto de aplicação reportam bom desempenho da enzima a 65 °C. Dessa forma, essa temperatura foi escolhida para início dos testes com Lipase B.

As reações foram realizadas em mini-reatores de vidro, mantidos submersos em banho de glicerina a 65°C, fluxo de nitrogênio constante para promover a agitação do meio reacional em sistema aberto por 77h (conforme Figura 10).

32



Figura 10 – Escala laboratorial para síntese de PDLLA por abertura de anel via Lipase B: (1) Banho de glicerina, (2) Fluxo de nitrogênio e (3) Mini-reator de vidro.

A fim de realizar um estudo exploratório para conhecer o comportamento da enzima Lipase B na catálise da abertura de anel do lactide foram feitos 2 experimentos variando a concentração de enzima em 1,0 e 2,0% no meio reacional. Um teste sem a presença de enzimas (teste em branco) também foi executado para que fosse avaliada a real contribuição da enzima em um possível incremento de massa molecular.

3.4 Síntese de Poli(D,L-ácido láctico) via policondensação com Lipase B

A polimerização por policondensação do ácido láctico também foi realizada utilizando a enzima Lipase B da empresa Novozymes. As reações foram realizadas em um balão de vidro conectado a um sistema de agitação mecânica, condensador, bomba de vácuo, termômetro e fluxo de nitrogênio conforme esquema já apresentado na Figura 9. Foi utilizada uma agitação de 200 rpm e vácuo de 5 mmHg para promover a remoção de água do sistema e deslocar o equilíbrio da reação no sentido de formação do polímero. Realizaram-se duas polimerizações nessas condições, uma sem catalisador enzimático e outra com 0,5% de Lipase B.

As provas foram executadas a 70°C, pois segundo orientações do fornecedor a atividade máxima da Novozym®435 é encontrada na faixa de 70 a 80°C, contudo o processamento nessa faixa de temperatura poderia conduzir à inatividade térmica da enzima. No entanto, mesmo reconhecendo que a escolha desta temperatura poderia reduzir a atividade da enzima ao longo do tempo e que em uma escala industrial isso poderia ser traduzido em menor re-utilização da enzima, essa temperatura foi escolhida, pois foi visada a condição mais otimizada para o desempenho da enzima.

3.5 Caracterização dos polímeros obtidos

Os polímeros foram caracterizados por cromatografia de permeação em gel a fim de determinar a massa molecular em cada condição proposta. O produto de maior massa molecular teve sua estrutura química confirmada por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Espectroscopia de Infravermelho. Suas propriedades térmicas foram estudadas por Calorimetria Exploratória Diferencial e Análise Termogravimétrica.

3.5.1 GPC – Cromatografia de permeação em gel

A técnica de GPC baseia-se no princípio de separação de materiais de acordo com o tamanho e forma da molécula pela passagem de uma solução através de uma coluna ou uma superfície que consiste em um gel polimérico. A técnica é utilizada para separação e dessalinização de materiais de alta massa molecular e para determinação de massas moleculares (Fifield e Kealey, 2000).

Moléculas que diferem em tamanho podem ser separadas passando a solução de amostra através da fase estacionária, que por sua vez consiste em um gel reticulado poroso. Os poros do gel excluem as moléculas maiores que certo tamanho crítico enquanto que moléculas menores podem permear a estrutura do gel por difusão. O processo é descrito por permeação em gel, filtração em gel ou cromatografia de exclusão de tamanho. Moléculas excluídas passam através do sistema mais rapidamente que a menores que podem se propagar no gel. A difusão dentro do gel

também varia com o tamanho e forma da molécula porque os poros de diferentes dimensões estão distribuídos pela estrutura da estrutura do gel de maneira randômica. Essas moléculas menores são eluídas a taxas dependentes de seu grau de permeação no gel e os componentes de uma mistura na seqüência eluídos a fim de diminuir tamanho ou massa molecular. Os géis utilizados para a fase estacionária podem ser hidrofílicos, para separação em meio aquoso ou outro solvente polar, ou hidrofóbico para uso em solvente apolar ou fracamente polar (Fifield e Kealey, 2000).

Com a utilização da técnica de GPC foi possível obter a massa molecular numérica média (M_n), a massa molecular ponderal média (M_w), a massa molecular Z média (M_z) e o índice de polidispersão (IP) em um cromatógrafo equipado com uma bomba isocrática – modelo 510 e detector de índice de refração – modelo 2487 da *Waters Instruments*. Cinco colunas feitas com copolímero estireno-divinilbenzeno Waters Styragel HR0,5 (faixa de exclusão: 100 a 5000 Da), HR1 (faixa de exclusão: 1000 a 10000 Da), HR2 (faixa de exclusão: 500 a 20000 Da), HR3 (faixa de exclusão: 500 a 30000 Da) e HR4 (faixa de exclusão: 5000 a 600000 Da) de dimensões 7,8X300 mm foram posicionadas em série. Foram utilizados padrões de poliestireno como curvas de calibração (ver Figura 11), os pontos da curva estão apresentados na Tabela 5. O equipamento foi operado a 25°C. O solvente apolar Tetrahidrofurano (THF) foi utilizado como eluente a uma taxa de 1mL/min. O volume de injeção da amostra foi 200 μL.

Pontos	Massa molar (Daltons ¹)	t (min)	Massa calculada (Daltons ¹)	% Residual
1	190000	22,071	184389	3,043
2	37900	24,506	39452	-3,933
3	1056	34,653	1075	-1,769
4	96400	22,945	99284	-2,905
5	2630	32,083	2695	-2,905
6	300	36,864	363	-17,285
7	18100	26,308	17235	5,017
8	5970	29,447	5920	0,842
9	500	36,676	404	23,910

Tabela 5 – Curva de calibração com padrão de poliestireno

¹ 1 Dalton (1 Da) é equivalente a 1g/mol.



Figura 11 – Curva de calibração com padrão de poliestireno

3.5.2 FTIR – Espectroscopia da região do infra-vermelho

A chamada radiação infravermelha corresponde à parte do espectro situada entre as regiões do visível e das microondas. A porção de maior utilidade para a química orgânica está situada entre 4000 e 400 cm⁻¹. A radiação do infravermelho em freqüência menor do que aproximadamente 100 cm⁻¹, quando absorvida por uma molécula orgânica converte-se em energia de rotação molecular. O processo de absorção é quantizado e, em conseqüência, o espectro de rotação das moléculas consiste em uma série de linhas (Silverstein, 1994).

A espectroscopia de infravermelho fornece informações diretas sobre os modos vibracionais das moléculas de uma substância. O interesse da técnica está no fato de que o conjunto de bandas do espectro é específico de cada substância, em particular, as bandas isoladas vinculam-se a vibrações de um determinado grupo funcional ou de um tipo de ligação do composto estudado. Dessa forma, pode-se estabelecer a composição e configuração estrutural da espécie química através de seu espectro de infravermelho (Silverstein, 1994).

As posições das bandas do espectro infravermelho são apresentadas em número de onda. As intensidades das bandas são expressas como transmitância ou absorbância. A identificação da freqüência de vibração da ligação correspondente, o chamado assinalamento das bandas, é obtida através da comparação destes com tabelas de espectroscopia (Silverstein, 1994).

Os espectros de infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro Thermo modelo Nicolet 6700, a faixa de análise utilizada foi de 4000 a 675 cm⁻¹, número do scan igual a 32, resolução 4.

3.5.3 DSC – Calorimetria exploratória diferencial

A análise por calorimetria exploratória diferencial (DSC) consiste na avaliação da quantidade de calor absorvido ou liberado por uma amostra quando da ocorrência de eventos térmicos. Entende-se por eventos térmicos, transformações físicas, químicas

ou físico-químicas ocorridas na amostra quando esta é submetida a um programa de temperatura.

Dentre os eventos térmicos de materiais poliméricos, pode-se citar:

- Transição vítrea (temperatura de transição vítrea, T_g): Este ponto é o valor médio da faixa de temperatura que durante o aquecimento de um material polimérico, permite que as cadeias poliméricas da fase amorfa adquiram mobilidade (Canevarolo Jr.,2002).
- Fusão Cristalina (temperatura de fusão cristalina, T_m): Esta temperatura é o valor médio da faixa de temperatura em que durante o aquecimento, desaparecem as regiões cristalinas com a fusão dos cristalitos. Essa transição só ocorre na fase cristalina, portanto só tem sentido de ser aplicada em polímeros semicristalinos (Canevarolo Jr.,2002). Portanto, em materiais totalmente amorfos este evento não ocorre.
- Cristalização (temperatura de Cristalização, T_c): Esta temperatura é atingida durante o resfriamento da massa fundida de um polímero semicristalino no momento em que um dado ponto dentro da massa polimérica fundida, um número grande de cadeias poliméricas se organize espacialmente de forma regular, permitindo a formação de uma estrutura cristalina. Cadeias em outros pontos também estarão aptas para se ordenarem, formando novos cristais. Isto se reflete em toda massa polimérica, produzindo-se a cristalização da massa fundida (Canevarolo Jr.,2002).

A Figura 12 apresenta uma curva esquemática de DSC onde os eventos térmicos que geram modificações em curvas DSC e a característica dos picos formados estão representados.



Temperatura

Figura 12 – Curva esquemática de DSC.

Na calorimetria exploratória diferencial por fluxo de calor a propriedade física medida é a diferença de temperatura entre a amostra (A) e o material de referência (R) ($\Delta T=T_A - T_R$), quando ambos são submetidos a uma programação rigorosamente controlada de temperatura. Neste tipo de DSC, amostra e referência são colocadas em cápsulas idênticas, posicionadas sobre um disco termoelétrico e aquecida por uma única fonte de calor. O calor é transferido para as cápsulas de amostra e referência por meio do disco, com o fluxo de calor diferencial entre ambas as cápsulas sendo controlado por meio de termopares conectados ao disco, uma vez que ΔT , em um dado momento, é proporcional à variação de entalpia, à capacidade calorífica e à resistência térmica total ao fluxo calórico.

Para a determinação das propriedades térmicas dos polímeros foi usado um aparelho DSC Mettler Toledo com α -alumina como referência, sob atmosfera de oxigênio. As amostras foram aquecidas de 25 até 200°C com uma taxa de aquecimento de 10°C/min (primeira curva de aquecimento), em seguida a amostra foi resfriada de 200 até 25°C e finalmente foi aquecida 25 até 200°C com uma taxa de aquecimento de 10°C/min (segunda curva de aquecimento). A T_g foi determinada no ponto médio da variação da capacidade calorífica.

3.5.4 TGA – Análise Termogravimétrica

Os polímeros quando submetidos a um tratamento térmico podem apresentar mudanças estruturais caracterizadas por ruptura de ligações químicas nas cadeias principais e laterais. Essas modificações são evidenciadas pela diminuição na massa molar com evolução de produtos voláteis (Lucas, E.F. et al, 2001). A análise termogravimétrica é utilizada para medir a variação de massa de uma amostra, resultante de uma transformação física, como sublimação, evaporação e condensação; ou química como degradação e decomposição oxidativa, em função da temperatura e/ou tempo (Gallagher, 1997).

O equipamento é projetado para permitir uma medida precisa da massa e deve ser operado em um ambiente controlado, evitando o efeito de convecção que surge no aquecimento da câmara devido a mudanças locais na densidade do gás no sistema. É necessário o controle da atmosfera quando esta tem influência sobre o processo de degradação. Tipicamente, os estudos são realizados usando nitrogênio e argônio como atmosfera inerte, ou ainda ar, ar sintético ou oxigênio como atmosfera reativa.

Há dois modos principais de se conduzir uma análise termogravimétrica: modo isotérmico e modo dinâmico. No modo isotérmico, a amostra é submetida a uma temperatura constante, monitorando-se a variação da massa em função do tempo. No modo dinâmico, a amostra é submetida a um aquecimento a taxa controlada, sendo monitorada a variação da massa. São registradas curvas de massa da amostra em função da temperatura ou do tempo, essas curvas são denominadas curvas termogravimétricas, TG (Canevarolo Jr., 2004).

Outra forma de análise da temperatura de degradação do material é a termogravimetria derivada, DTG. Com esta técnica, as curvas são registradas à partir das curvas TG e correspondem à derivada primeira da variação de massa em relação ao tempo (dm/dt), que é registrada em função da temperatura ou do tempo. Ou, ainda, à derivada primeira da variação de massa em relação à temperatura (dm/dT) que é registrada em função da temperatura ou do tempo. Independentemente do caso, a curva resultante é a derivada primeira da curva de TG. Essa curva pode ser obtida por

40

métodos diferenciação manual da curva TG ou por diferenciação eletrônica do sinal da curva de TG.

As curvas termogravimétricas foram obtidas com analisador termogravimétrico modelo TGA-50 da Shimadzu com uma rampa de aquecimento de 20ºC/min em célula de platina, atmosfera inerte de nitrogênio taxa de eluição igual a 50mL/min. A análise termogravimétrica foi conduzida no modo dinâmico, ou seja, durante o ensaio a temperatura variou de 25 a 950ºC.

3.5.5 RMN de ¹H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

A espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN) é basicamente outra forma de espectrometria de absorção, semelhante à espectrometria de infravermelho ou de ultravioleta. Sob condições apropriadas em um campo magnético, uma amostra pode absorver radiação eletromagnética na região de radiofreqüência em uma seqüência governada pelas características estruturais da amostra. A absorção é função de determinados núcleos da molécula. Um espectro de RMN é um registro gráfico das freqüências dos picos de absorção contra suas intensidades (Silverstein, 1994).

A técnica baseia-se na determinação de grupos químicos que contenham hidrogênio de acordo com o princípio de que os núcleos dos átomos de hidrogênio presentes em moléculas orgânicas têm apenas dois elétrons à sua volta, em um orbital σ . Devido à relativa simplicidade deste sistema, o efeito de proteção é uma função clara da densidade eletrônica em volta do núcleo: elementos mais eletronegativos na molécula tendem a fazer diminuir a densidade eletrônica em volta do núcleo de hidrogênio, deslocando sua absorção para freqüências maiores. A grande maioria dos hidrogênios em moléculas orgânicas produzem absorções entre 0 e 10 ppm (a maior parte fica entre 0 e 8,5 ppm) (Constantino, 2006).

Os espectros de ¹H-RMN foram obtidos em um espectrofotômetro Brucker 250 MHz. As amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado, CDCl₃ e os deslocamentos químicos foram determinados em relação ao tetrametilsilano, TMS.

41

3.6 Avaliação preliminar do custo de fabricação do PDLLA em escala industrial

A fim de viabilizar uma análise comparativa entre os custos envolvidos em cada técnica de polimerização apresentada nesse trabalho foi utilizado o esquema de fabricação apresentado na Figura 13.



Figura 13 – Esquema para fabricação de PDLLA em escala industrial. (A) Boca de alimentação; (B) Motor; (C) Condensador de refluxo; (D) Fluxo de gás nitrogênio; (E) Linha de vácuo; (F) Entrada de óleo térmico; (G) Saída de óleo térmico; (H) Entrada de óleo térmico; (I) Termômetro; (J) Saída de óleo térmico; (L) Saída de produto; (M) Bomba de vácuo.
Para o cálculo do custo de fabricação foram considerados os gastos com as matérias-primas, com a energia elétrica consumida pela bomba de vácuo e pelo motor de agitação e o valor do gás natural consumido para aquecimento do reator. Não serão levadas em consideração as despesas com a mão de obra envolvida e a depreciação dos equipamentos.

As descrições dos equipamentos e utilidades envolvidas estão apresentadas a seguir:

• Bomba de vácuo

Modelo: DVM 250/100 Empresa: Dositec Potência elétrica: 15 HP, considerando que 1HP equivale a 745,7 W, tem-se 11185,5 W. Número de rotações: 1750 rpm Tensão elétrica: 220/380 Volts Freqüência: 60 Hz

• Motor

Modelo: 225 BXA Empresa: Arno Potência elétrica: 15 / 20 HP ou 11185,5 / 14914 W. Número de rotações: 880 / 1750 rpm Tensão elétrica: 380 Volts Freqüência: 60 Hz

Vaso do reator

Volume: 6 m³ Material: aço inoxidável

• Gás natural (para aquecimento do óleo térmico)

Tipo: Thermia E Fornecedor: Shell Poder calorífico inferior (PCI): 8447 kcal/N.m³ = 35308,5 kJ/N.m³ Poder calorífico superior (PCS): 9400 kcal/N.m³ = 39292 kJ/N.m³ Custo médio: R $1,19/N.m^3$

• Energia elétrica

Classe de consumo: Industrial Custo médio (ANEEL, 2011): R\$ 0,2538/kWh

Para o cálculo da energia térmica envolvida no aquecimento e manutenção da temperatura no reator durante o tempo de reação, será utilizada a Equação 3.1 (Sandler, 1989).

$$Q = m \int_{T_1}^{T_2} c_P dT \tag{3.1}$$

Capítulo 4

Resultados e Discussão

Este Capítulo apresenta os resultados das caracterizações do lactide obtido em escala laboratorial e também dos polímeros obtidos com os catalisadores Sn(Oct)₂ e Lipase B. O Capítulo está dividido basicamente em 5 partes. Na primeira parte (item 4.1) será apresentada a caracterização via espectroscopia da região do infra-vermelho do lactide obtido em escala laboratorial. O polímeros obtidos via abertura de anel com Sn(Oct)₂ como catalisador foram caracterização são mostrados no item 4.2. No item 4.3 e item 4.4 encontram-se os valores de massas moleculares do PDLLA obtido com o biocatalisador Lipase B via abertura de anel e policondensação, respectivamente. O item 4.5 apresenta os cálculos de custo de produção de cada alternativa de rota de polimerização proposta.

4.1 Caracterização do lactide

A espectroscopia de infravermelho forneceu informações a respeito da estrutura do lactide obtido em escala laboratorial. Foi feita uma comparação dos espectros obtidos, com espectros do lactide purificado com acetona e com dados obtidos na literatura (Jahno, 2005) para o lactide comercial.

4.1.1 FTIR – Espectroscopia da região do infra-vermelho

Os espectros de infravermelho (IV) do ácido láctico industrial a 85% utilizado como monômero, do lactide sintetizado em laboratório e do lactide sintetizado e purificado em acetona estão apresentados na Figura 14 em valores de absorbância.



Figura 14 – Espectros IV em valores de absorbância do ácido láctico, lactide sintetizado e lactide sintetizado e purificado.

As atribuições para as bandas da Figura 14 estão apresentadas na Tabela 6. A Tabela também apresenta um comparativo entre os espectros do lactide obtido neste trabalho com os resultados do lactide comercial reportado por Jahno (2005).

O espectro do ácido láctico apresenta sinal forte em 3419,4 cm⁻¹, atribuído ao grupo R-OH. No espectro do lactide sintetizado há uma redução drástica da intensidade da banda atribuída ao grupo R-OH na mesma região e no lactide purificado ele desaparece. Esse resultado mostra que foi possível obter experimentalmente um dímero de estrutura cíclica.

A análise espectrofotométrica do ácido láctico apresentou picos referentes ao grupo ácido carboxílico (R-COOH) nos números de ondas 2988, 1723, 1245 e 1212 cm⁻¹, enquanto que nos lactides esses picos desaparecem dando lugar às ligações éster (R-COO).

Tabela 6 – As atribuições para os espectros de IV do ácido láctico industrial a 85% utilizado como monômero, do lactide sintetizado em laboratório, do lactide sintetizado e purificado em acetona e do lactide comercial

Ácido láctico	Lactide	Lactide	Lactide	Grupo	Ligação
85%	Sintetizado	purificado	Comercial ^a	atribuído	
(cm ⁻¹)	(cm ⁻¹)	(cm⁻¹)	(cm ⁻¹)		
3419	3489			R-OH	υO-H
(forte)	(fraco)				
2988				R-COOH	υ Ο- Η
(Fraco e amplo)				ligação O-H	
2903	2994 e 2944	2996 e 2945	2915 e 2848	-CH-	υC-Η
(fraco)	(fraco)	(fraco)	(fraco)		
1723				R-COOH	υ C= Ο
(forte)				ligação C=O	
	1756	1759	1745	R-COO	υ C= Ο
	(forte)	(forte)	(forte)		
1458	1456	1456	1461	R-CH ₃	δC-Η
(médio)	(médio)	(médio)	(médio)		
1401	1384	1384	1376	R-CH,	δC-Η
(fraco)	(fraco)	(fraco)	(fraco)	R-CH₃	
1245 e 1212				R-COOH	
(forte)					
	1191	1188	1159	R-COO	υC-O(COO)
	(forte)	(forte)	(fraco)		
1046	1046			R-OH	υC-OH
(médio)	(fraco)				
748	751	756	720	R-CH ₃	δC-H
(fraco)	(fraco)	(fraco)	(fraco)		

v : estiramento

Nota-se que o lactide sintetizado apresenta as mesmas bandas que o lactide comercial, com exceção de um residual de grupo R-OH provavelmente proveniente de

δ: deformação angular

resíduos de ácido láctico ou cadeias menores lineares provenientes da policondensação. Após purificação com acetona, ocorre o desaparecimento total do grupo R-OH.

4.2 Caracterização do PDLLA obtido via abertura de anel com Sn(Oct)₂

A evolução das polimerizações foi acompanhada pelas análises das massas moleculares obtidos por GPC. Em seguida, os polímeros que apresentaram maiores valores de massa molecular, levando em consideração temperatura, tempo de reação e porcentagem de catalisador, tiveram suas propriedades térmicas avaliadas por TGA e DSC, e suas estruturas químicas foram confirmadas por RMN de ¹H, e FTIR.

4.2.1 Cromatografia de permeação em Gel (GPC)

Os polímeros obtidos via abertura de anel do lactide com a utilização de $Sn(Oct)_2$ como catalisador foram avaliados por GPC e foi possível determinar a massa molecular numérica média (M_n), a massa molecular ponderal média (M_w), a massa molecular Z média (M_z) e o índice de polidispersão (IP) e os resultados estão apresentados na Tabela 7. O software do equipamento também apresenta a leitura do ponto onde ocorreu a detecção da molécula (MP), porém para a análise dos resultados serão utilizados os valores de M_n , M_w e IP.

Amostra	Sn(Oct)2	Temperatura	Tempo	Mn	Mw	MP	Mz	IP
	% (m/m)	(ºC)	(h)	(g.mol⁻¹)	(g.mol⁻¹)	(g.mol⁻¹)	(g.mol⁻¹)	
C1	2,48	160	3	3299	5377	5330	7756	1,630004
C2	1,00	160	3	586	1147	2018	1523	1,958488
C3	0,5	160	3	2351	2838	1893	3535	1,207309
C4	0,1	160	3	935	1653	1386	2491	1,767500
C5	2,48	160	6	6965	8817	7297	11547	1,265888
C6	2,48	160	7	5110	7671	7298	11170	1,501198
C7	2,48	160	8	5440	7585	6756	11262	1,394426
C8	0,1	160	4	4998	6491	6249	8346	1,298814
C9	0,1	160	5	5771	7996	7060	10864	1,385515
C10	0,1	160	7	6325	8353	8044	10948	1,320607
C11	0,1	160	8	4175	6652	7244	10516	1,641166
C12	0,1	160	9	4529	6892	7207	9798	1,521602
C13	0,1	150	7	2905	3157	2080	3510	1,086741
C14	0,1	170	7	7750	8101	6156	8567	1,045346

Tabela 7 – Valores obtidos no GPC para os polímeros obtidos via abertura de anel de lactide com catalisador Sn(Oct)₂

A avaliação inicial dos resultados de massa molecular do estudo exploratório onde a quantidade de catalisador a 95% foi variada em 2,48, 1,00, 0,50 e 0,10% em relação à massa de lactide (testes C01, C02, C03 e C04 respectivamente) mostrou que o teste C01, que possui a maior quantidade de catalisador foi o que obteve a maior massa molecular no tempo de reação de 3h; para efeito comparativo os resultados estão apresentados na forma de gráfico na Figura 15.



Figura 15 – Comparativo da massa molecular ponderal média dos polímeros obtidos a 160°C após 3 h de reação variando o percentual Sn(Oct)₂

Dentre os testes realizados, o ensaio C01 resultou em polímero com maior valor de M_w, portanto a quantidade de Sn(Oct)₂r foi fixada em 2,48% em relação à massa de lactide e o tempo de reação foi aumentado para 6, 7 e 8h para avaliar a influência do tempo de reação no aumento da cadeia polimérica. A avaliação da Figura 16 mostra que o aumento de tempo de reação de 3 para 6h resultou em um aumento significativo da M_w do polímero de 5377 para 8817 g/mol com redução do IP de aproximadamente 1,63 para 1,26 (conforme Tabela 7) o que reflete a distribuição mais uniforme do polímero após 6h de reação. Contudo, também foi possível observar uma tendência de estagnação do crescimento da cadeia do polímero com o aumento do tempo para 7 e 8h.

Segundo Henton (2005) a polimerização do lactide usando Sn(Oct)₂ geralmente ocorre pelo mecanismo de coordenação-inserção com a abertura do anel do lactide, conforme mecanismo exposto na Figura 9. Avaliando o mecanismo de reação infere-se que, uma vez que exista a presença de iniciadores grupo hidróxi ou outra espécie nucleofílica no meio reacional, quanto maior quantidade de Sn(Oct)₂ maior será o número de cadeias que serão desenvolvidas. Essas cadeias desenvolvidas

paralelamente poderão competir com o crescimento de uma única cadeia, resultando na estagnação do crescimento da cadeia polimérica.



Figura 16 - Evolução da massa molecular ponderal média ao longo do tempo de reação a 160°C fixando a porcentagem de Sn(Oct)₂ em 2,48% em relação ao lactide.

Outra hipótese a ser considerada seria o fato de a polimerização estar se realizando na ausência de solventes (polimerização em massa). Canevarolo Jr. (2002) atribui como desvantagem da polimerização em massa a dificuldade de se distribuir a temperatura no meio reacional, pois sendo a reação de polimerização exotérmica, temse uma grande geração de calor (20 Kcal/mol). Isso pode gerar pontos quentes dentro do reator, que instabilizará o crescimento da cadeia aumentando a velocidade de término. A morte prematura das cadeias leva a formação de um polímero com uma distribuição larga de massa molecular. Nota-se que nos tempos 7 e 8h o índice de polidispersão foi maior que com 6h de polimerização (conforme Tabela 7).

A fim de avaliar a hipótese de que o excesso de catalisador no meio reacional pudesse influenciar negativamente no crescimento da cadeia polimérica do PDLLA, o percentual de catalisador em relação à massa do dímero foi reduzido para 0,10%, a temperatura de reação foi mantida a 160°C e foi acompanhada a evolução da massa molecular ponderal ao longo do tempo. A Figura 17 apresenta os resultados de M_w obtidos pela análise de GPC.



Figura 17 - Evolução da massa molecular ponderal média ao longo do tempo de reação a 160°C fixando a porcentagem de Sn(Oct)₂ em 0,10% em relação ao lactide.

Em um primeiro momento, os valores de M_w obtidos depois de 3h de reação com 2,48% (Figura 16) e com 0,1% de Sn(Oct)₂ (Figura 17) indicam que a polimerização com maior percentual de catalisador favoreceu o crescimento das cadeias poliméricas. No entanto, depois de 7h de reação nota-se que com 0,1% de catalisador foi possível Mw de 8353 g/mol, evidenciando a eficiência da polimerização com menor percentual de catalisador. Apesar da baixa toxicidade do octoato de estanho, essa redução do catalisador no meio é benéfica, pois considerando que a produção de PDLLA visa uma aplicação em biomedicina, quanto menor for o percentual de metal no polímero menor o potencial de toxicidade do implante.

A polimerização com 0,1% de Sn(Oct)₂ mostrou uma grande evolução do valor de M_w de 3 para 5h de reação. Esse crescimento pode ter sido favorecido pela

inexistência de catalisador em excesso no meio, que possibilitou o crescimento das cadeias menores. Contudo, após 8h de reação o PDLLA também apresentou tendência de estabilização do crescimento da cadeia.

Após avaliação dos resultados obtidos nas reações realizadas a 160°C foi escolhida a concentração de catalisador e o tempo que resultou em maior massa molecular do produto final. Os valores dos dois parâmetros foram fixados e a temperatura foi variada em 10°C, ou seja, a polimerização foi reproduzida a 150°C e a 170°C para que a condição ideal de temperatura fosse determinada. Os resultados obtidos na cromatografia estão apresentados na Tabela 7. A Figura 18 apresenta um comparativo da M_w obtidos nas mesmas condições de tempo e percentual de catalisador e variando a temperatura em 150, 160 e 170°C.



Figura 18 – Comparativo da massa molecular ponderal média dos polímeros obtidos com 0,10% de Sn(Oct)₂ após 7 h de reação variando a temperatura.

A temperatura de 150°C não se mostrou tão eficiente quanto 160 e 170°C para obtenção de maiores valores de M_w . Dentre as avaliadas, a temperatura de 160°C se mostrou a mais eficiente. Se comparada em relação à temperatura de 170°C, em

termos econômicos esta temperatura também é a mais vantajosa, pois em escala piloto ou industrial os custos combustíveis para aquecimento de reator seriam inferiores.

4.2.2 FTIR - Espectroscopia da região do infra-vermelho

Os espectros de IV do lactide sintetizado e para o PDLLA obtido com 0,1% de Sn(Oct)2, 7h de reação após 150, 170 e 160°C estão apresentados na Figura 19.



Figura 19 – Espectros de IV obtidos para o lactide sintetizado e para o PDLLA obtido com 0,1% de Sn(Oct)2, 7h de reação após 150, 170 e 160°C.

As atribuições para os espectros de IV apresentados na Figura 19 estão apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8– As atribuições para os espectros de IV do lactide sintetizado e do PDLLA obtido com 0,1% de Sn(Oct)2, 7h de reação após 150, 170 e 160°C.

Lactide sintetizado	PDLLA 150°C	PDLLA 160°C	PDLLA 170°C	Grupo	Ligação
(cm ⁻¹)	(cm ⁻¹)	(cm ⁻¹)	(cm ⁻¹)	atribuído	
3488,6				R-OH	υO-H
(fraco)					
2994,0 e 2944,8	2995 e 2944	2995 e 2945	2995,4 e 2945,3	-CH-	υC-H
(fraco)	(fraco)	(fraco)	(fraco)		
1755,7	1757,7	1755,4	1754,9	R-COO	υ C= Ο
(forte)	(forte)	forte)	(forte)		
1455,6	1455,3	1455,3	1455,3	R-CH₃	δC-H
(médio)	(médio)	(médio)	(médio)		
1384,0	1384,6	1382,5	1382,5	R-CH,	δC-H
(fraco)	(fraco)	(fraco)	(fraco)	R-CH₃	
1191,3	1187,9	1187,8	1185,6	R-COO	
(forte)	(médio)	(médio)	(médio)		
1045,8				R-OH	υC-OH
(fraco)					
751	756,2	749,2	747,8	R-CH ₃	δC-H
(fraco)	(fraco)	(fraco)	(fraco)		

Os espectros obtidos para o lactide sintetizado e o PDLLA sintetizado em diferentes temperaturas são bastante semelhantes, com exceção do sinal fraco no número de onda equivalente a 3488,6 e 1045,8 cm⁻¹, atribuído ao grupo R-OH do lactide sintetizado. Nos espectros dos polímeros ocorre o desaparecimento das bandas atribuídas ao grupo R-OH.

4.2.3 DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial

A transição vítrea é uma transição de segunda ordem, portanto um processo acompanhado de variação de capacidade calorífica da amostra, que se manifesta como

variação da linha de base da curva DSC. As normas ASTM E 1356 e ASTM D 3418 descrevem os procedimentos para determinação da T_g por DSC. A Figura 20 apresenta a forma correta de se interpretar a curva. Os pontos "a" e "e" correspondem ao início e fim do evento de variação de calor específico da amostra. Entretanto, a faixa de temperatura que caracteriza a transição vítrea de um polímero está contida entre os pontos "b" e "d". Em geral a T_g refere-se ao ponto "c" (Canevarolo Jr., 2004).



Temperatura

Figura 20 – Determinação da temperatura de transição vítrea (Canevarolo Jr., 2004)

A partir da avaliação da variação da linha de base das curvas obtidas no segundo aquecimento do PDLLA produzido a 150, 160 e 170°C foi possível calcular a T_g e os valores encontrados estão reunidos na Tabela 9.

「abela 9 – Valores de	Tg encontrados	para o PDLLA	obtido a 150,	160 e 170°C
-----------------------	----------------	--------------	---------------	-------------

Amostra	Tg (°C)
PDLLA 150	29,1
PDLLA 160	30,6
PDLLA 170	32,4

Na análise das curvas obtidas para os três polímeros não foi possível evidenciar a presença de um pico aparente referente à cristalização, esse resultado indica que o material obtido apresentou caráter predominantemente amorfo. Conforme literatura (Auras et al., 2004), polímeros de ácido láctico que são constituídos de mais de 93% de L-ácido láctico são semicristalinos, enquanto que quando a presença deste estereoisômero está na faixa de 50 a 93% o polímero é estritamente amorfo. Portanto, esse resultado está de acordo com o esperado visto que o PDLLA foi obtido a partir de uma mistura racêmica de ácido láctico. Conforme Lili (2007), a degradação mais rápida do PDLLA devido ao seu caráter amorfo o torna atrativo para sistemas de liberação de drogas.

Para os polímeros amorfos como o PDLLA, a T_g é um dos mais importantes parâmetros, pois mudanças dramáticas na mobilidade da cadeia polimérica podem ocorrer em temperaturas iguais ou acima da T_g .

4.2.4 TGA - Análise Termogravimétrica

As Figuras 21, 22 e 23 apresentam as curvas termogravimétricas dos polímeros obtidos a 150°C, 160°C e 170°C respectivamente.



Figura 21 – Curva termogravimétrica do PDLLA obtido com 0,1% de Sn(Oct)₂ depois de 7h de reação a 150°C



Figura 22 – Curva termogravimétrica do PDLLA obtido com 0,1% de Sn(Oct)₂ depois de 7h de reação a 160°C



Figura 23 – Curva termogravimétrica do PDLLA obtido com 0,1% de Sn(Oct)₂ depois de 7h de reação a 170°C

Em um primeiro momento, a avaliação do perfil das curvas termogravimétrica indica um comportamento característico de decomposição em um único estágio para os três polímeros analisados. No entanto, a avaliação da curva de termogravimetria derivada (DTG) evidenciou inflexões nas curvas termogravimétricas dos polímeros obtidos a 150 e 170°C enfatizando sutis variações de massa no decorrer da degradação.

Segundo Canevarolo (2004), a altura do pico da curva DTG pode ser usada para propósitos quantitativos, visto que dm/dt=0 quando não ocorre perda de massa. Porém, quando há variação de massa, dm/dt≠0 e o pico da DTG é proporcional à perda de massa da amostra. Portanto, para os polímeros analisados, a temperatura de degradação que será considerada será a equivalente ao maior pico na curva DTG, ou seja, 324,1°C para o polímero obtido com 150°C, 366,1°C para o polímero obtido com 160°C e 365,8°C para o polímero obtido com 170°C.

Relacionando os valores de temperatura de degradação obtidos com os valores de massa molecular do PDLLA obtido em diferentes condições de temperatura é possível concluir que houve um incremento da temperatura de degradação do polímero com o aumento da massa molecular dos polímeros. A Figura 24 ilustra esse comportamento.





4.2.5 ¹H-RMN – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

As Figuras 25, 26 e 27 apresentam os espectros obtidos por ¹H-RMN para o PDLLA obtido a 150, 160 e 170°C respectivamente.

A análise dos três espectros confirma a obtenção de poli(ácido láctico). O espectro do PDLLA obtido a 150°C apresenta um sinal em 1,60 ppm (triplete, v = 400,16Hz), que é atribuído aos hidrogênios do grupo CH₃ do polímero e um sinal em 5,19 ppm (multiplete, v = 1297,57Hz), que é atribuído ao hidrogênio do grupo CH. Notase ainda um sinal em 4,38 ppm (quadriplete, v = 1096,17Hz) que pode ser atribuído ao hidrogênio do grupo CH₃ próximo ao grupo hidróxi terminal da cadeia polimérica (representado por y' nas figuras). As interpretações dos espectros estão de acordo com a literatura (Constantino, 2006; Inkinen, 2011).

Os espectros obtidos para os demais polímeros apresentam picos característicos praticamente nas mesmas freqüências que o PDLLA 150°C, o sinal atribuído aos hidrogênios do grupo CH₃ do polímero é detectado em 1,57 ppm (triplete, v = 392,45Hz) para o PDLLA 160°C e em 1,60 ppm (triplete, v = 400,08Hz) para o PDLLA 170°C. O sinal atribuído ao hidrogênio do grupo CH do polímero é detectado em 5,19 ppm (quadriplete, v = 1297,12Hz) para o PDLLA 160°C e em 5,19 ppm (quadriplete, v = 1298,75Hz) para o PDLLA 170°C. Nota-se que em ambos ocorreu uma redução na intensidade do sinal atribuído ao hidrogênio do grupo CH₃ próximo ao grupo hidróxi terminal da cadeia polimérica, esse fato pode ser atribuído aos maiores valores de M_w obtidos nesses polímeros e, conseqüente, redução do número de terminais de cadeia. No PDLLA 160°C, o sinal é detectado em 4,38 ppm (quadriplete, v = 1095,42Hz)



Figura 25 - Espectros de ¹H-RMN do PDLLA obtido a 150°C. a) Picos característicos do polímero; b) Ampliação na faixa 4,3 – 5,5 ppm; c) Ampliação na faixa 1,45 – 1,70 ppm



Figura 26 - Espectros de ¹H-RMN do PDLLA obtido a 160°C. a) Picos característicos do polímero; b) Ampliação na faixa 4,3 – 5,5 ppm; c) Ampliação na faixa 1,45 – 1,70 ppm



Figura 27 - Espectros de ¹H-RMN do PDLLA obtido a 150°C. a) Picos característicos do polímero; b) Ampliação na faixa 4,3 – 5,5 ppm; c) Ampliação na faixa 1,45 – 1,70 ppm

4.3 Caracterização do PDLLA obtido via abertura de anel com Lipase B

Neste item estão apresentados os valores de massas moleculares obtidos na polimerização por abertura de anel do lactide com a utilização da enzima Lipase B como catalisador, após 77h de reação a 65 ºC.

4.3.1 GPC – Cromatografia de Permeação em Gel

Depois de submetidas a 77h de reação a 65ºC, as amostras sem Lipase B e com 1,0 e 2,0% do biocatalisador foram submetidas a avaliação da massa molecular por GPC. Os cromatogramas obtidos para as amostras com 0,0, 1,0 e 2,0% de catalisador estão apresentados a seguir nas Figuras 28, 29 e 30, respectivamente.



Figura 28 - Cromatograma e valores dos picos obtidos para amostra sem a enzima Lipase B, após 77h de reação a 65 ºC.



Figura 29 - Cromatograma e valores dos picos obtidos para amostra com 1,0% de enzima Lipase B, após 77h de reação a 65 ºC.



Figura 30 - Cromatograma e valores dos picos obtidos para amostra com 2,0% de enzima Lipase B, após 77h de reação a 65 ºC.

O equipamento detectou pico máximo de 564 g/mol para a amostra sem catalisador e com 1,00% de Lipase B, e o pico máximo detectado para a amostra com 2,00% de Lipase B foi 536 g/mol. Não foi possível obter os valores de M_W, M_n e IP para esses picos. A Figura 31 apresenta o comparativo dos valores de massa molecular obtidos nos cromatogramas. Nota-se que nos três casos não foi possível evidenciar crescimento suficiente da cadeia polimérica que pudesse ser atribuído à utilização da enzima Lipase B como biocatalisador.



Figura 31 – Comparativo das massas moleculares encontradas nos picos do cromatograma das amostras obtidos depois após 77 h de reação de lactide com Lipase B em diferentes porcentagens a 65°C.

4.4 Caracterização do PDLLA obtido por policondensação com Lipase B

Diante dos resultados insatisfatórios obtidos com a utilização da Novozym®435 conforme metodologia descrita no item 3.3 e resultados apresentados no item 4.3, concluiu-se que a enzima não foi um catalisador eficiente para a abertura do anel do D,L-lactide obtido em escala laboratorial. Conforme já reportado por Hans et al. (2009) existe uma seletividade de Novozym®435 para alcoóis secundários e na estrutura do D,L-lactide o álcool secundário não está evidente e isso poderia ter prejudicado a ação enzimática. Portanto a polimerização por policondensação do D,L ácido láctico foi estudada.

Moon et al. (2000) apresentam as duas reações de equilíbrio que estão envolvidas na policondensação (Figura 32). A reação de policondensação propriamente dita envolve a liberação de uma molécula de água para cada dois moles de ácido láctico que reagem entre si. Portanto, para favorecer a polimerização no sentido da formação do polímero e impedir que a água do meio ocasionasse a despolimerização, a utilização de vácuo se fez necessária, visto que a temperatura de reação é inferior à temperatura de evaporação da água.



Figura 32 – Duas reações de equilíbrio envolvidas na policondensação (Moon et al., 2000)

4.4.1 Caracterização do PDLLA obtido por policondensação com Lipase B

O polímero obtido por policondensação com a utilização do biocatalisador Lípase B foi avaliado por GPC e foi possível determinar a massa molecular numérica média (M_n), a massa molecular ponderal média (M_w), a massa molecular Z média (M_z) e o índice de polidispersão (IP). Os resultados estão apresentados na Tabela 10. O software do equipamento também apresenta a leitura do ponto onde ocorreu a detecção da molécula (MP), porém para a análise dos resultados serão utilizados os valores de M_n , M_w e IP.

Tabela 10 – Valores obtidos no GPC para os polímeros obtidos por policondensação com a utilização do biocatalisador Lípase B

Amostra	Lipase B	Temperatura	Tempo	Mn	Mw	MP	Mz	IP
	%	(ºC)	(h)					
E04	0	70	77h	1067	1142	786	1242	1,070219
E05	0,5	70	77h	1654	1719	1291	1795	1,039190

A avaliação dos valores de massa molecular obtidos após 77h de reação a 70°C mostra que a utilização de 0,5% de Lipase B favoreceu o crescimento da cadeia polimérica, resultando em PDLLA com valor de M_w igual a 1719g.mol⁻¹. Já o ensaio E04, que foi realizado nas mesmas condições de temperatura, tempo e pressão, porém sem a utilização do biocatalisador não apresentou os mesmos valores de massa molecular. Para efeito comparativo os valores de M_w estão apresentados na forma de gráfico na Figura 33.

No trabalho desenvolvido por Chanfreau e pesquisadores (2010), foi obtido um PLA na mesma ordem de massa molecular (1,5x10³ g.mol⁻¹) que o ensaio E05, porém somente após 216h de reação, a 65°C e com a utilização de 10% em massa de Novozyme® 435.



Figura 33 – Comparativo dos valores de M_w encontrados na avaliação por GPC das amostras obtidas depois de 77 h de policondensação do ácido láctico com e sem Lipase B a 70°C.

A utilização da policondensação do ácido láctico como rota de polimerização se mostrou mais eficiente quando se utiliza Lipase B como biocatalisador. Esse fato pode ser atribuído a seletividade da enzima Novozym®435 para alcoóis secundários. A temperatura também desempenhou um importante papel, pois a utilização de 70°C se mostrou uma temperatura apropriada para a atividade enzimática. A avaliação da velocidade de desativação da enzima não foi efetuada, contudo esse fator deve ser considerado no dimensionamento em escala piloto e industrial de reações enzimáticas, visando à reutilização da enzima e conseqüente redução de custos de processo.

4.5 Estimativa de custo de fabricação do PDLLA em escala industrial

Neste item será feita uma estimativa de custo para fabricação do PDLLA em escala industrial de acordo com os processos propostos nos itens 3.1, 3.2 e 3.4 deste trabalho. O objetivo deste item é fornecer subsídios para que um comparativo de custo entre as diferentes condições de polimerização possa ser realizado.

O termo "estimativa" é utilizado, pois algumas aproximações foram feitas para obtenção dos valores de consumo de energia elétrica e térmica. Por exemplo, para os cálculos de quantidade de calor de todas as etapas será considerado calor específico do ácido láctico em unidade [J/kg.K]. A Equação 3.1 foi desenvolvida para uma condição de massa constante, contudo nas etapas em que ocorre eliminação de água da reação e conseqüente variação de massa, ela também será utilizada considerando o valor da massa inicial do sistema.

4.5.1 Cálculos dos custos para o PDLLA obtido por abertura de anel com Sn(Oct)₂.

A Figura 34 ilustra as rampas de temperatura que deverão ser atingidas durante a etapa de eliminação dos 15% em massa de água do ácido láctico comercial, durante a síntese do lactide conforme descrito no item 3.1, seguida pela etapa de síntese do PDLLA com 0,1% de Sn(Oct)₂, 7h de reação nas temperaturas 150, 160 e 170°C.



Figura 34 – Rampas de temperatura utilizadas para a síntese do lactide seguida pela síntese do PDLLA por abertura de anel em 150, 160 e 170°C. (1) Aquecimento de 25 a 100°C; (2) Manutenção da temperatura por 2 h a 100°C; (3) Aquecimento de 100 a 200°C, (4) Manutenção da temperatura 2 h a 200°C, (5) Resfriamento, (6) Temperatura de polimerização mantida por 7 h, (7) Resfriamento.

Com a utilização da Equação 3.1 foram calculadas as quantidades de calor envolvidas em cada etapa ilustrada na Figura 34 conforme abaixo. É importante observar que o percentual de perda de calor por troca térmica foi estimado com base em uma média utilizada na indústria, essa condição pode sofrer variação de lugar para lugar, conforme as características de equipamentos e processo adotadas.

 Etapa 1: Calor que deverá ser fornecido pelo gás natural (Q_{gás1}) para aquecimento do conteúdo do reator de 25 até 100°C para que o sistema atinja a temperatura adequada para remoção da água do ácido láctico comercial, considerando uma perda na ordem de 10% por troca térmica:

$$Q_{gas1} = \left[m_1 \int_{25}^{100} c_{P(A)} dT \right] .1,10$$
(4.1)

onde:

m₁: massa inicial de ácido láctico [g].

c_{P(A)}: calor específico do ácido láctico [J.K⁻¹.g⁻¹]

 Etapa 2: Calor que deverá ser fornecido pelo gás natural (Q_{gás2}) para manutenção de T_{reação} igual a 100°C considerando uma perda de 5% de calor para o ambiente. Nesta etapa, a temperatura é mantida a 100°C para eliminação da água do ácido láctico comercial.

$$Q_{g\acute{a}s2} = m_1.c_{P(A)}.T_{reação}.0,05$$
 (4.2)

 Etapa 3: Calor que deverá ser fornecido pelo gás natural (Q_{gás3}) para aquecimento do conteúdo do reator de 100 até 200°C, considerando uma perda na ordem de 10% por troca térmica:

$$Q_{gas3} = \left[m_2 \int_{100}^{200} c_{P(A)} dT \right] .1,10$$
(4.3)

m₂: massa de ácido láctico concentrado [g].

 Etapa 4: Calor que deverá ser fornecido pelo gás natural (Q_{gás4}) para manutenção de T_{reação} igual a 200°C, considerando a massa de ácido láctico concentrado (m₂) e uma perda de 5% de calor para o ambiente:

$$Q_{gas4} = m_2 \cdot c_{P(A)} \cdot T_{reação} \cdot 0,05$$
(4.4)

 Etapa 5: Calor que deverá ser fornecido pelo gás natural (Q_{gás6}) para manutenção de T_{reação} igual a 150, 160 e 170°C já que será feito um comparativo dos custos envolvidos para reprodução em escala industrial do PDLLA nas três condições de temperatura. Nesta etapa também será considerada uma perda de 5% por troca térmica com o ambiente:

$$Q_{gas6} = m_3 . c_{P(A)} . T_{reacão} .0,05$$
(4.5)

m₃: massa de lactide obtido na etapa 4.

Será utilizada uma aproximação do valor do calor específico em cada etapa do aquecimento, ou seja, para os cálculos de quantidade de calor envolvida nas etapas 1, 2, 3, 4 e 5 será utilizado o calor específico do ácido láctico equivalente a 128,1 J/K.mol (298,15K) (Wilhoit, 1985), neste caso 1,4 J/K.g.

Finalmente, os valores de quantidade de calor ($Q_{gás}$) obtidos em cada etapa foram somados conforme Equação 4.7 e, com o auxílio da Equação 4.8, foram convertidos em quantidade de gás natural utilizado ($m_{gás}$) em unidade de [N.m³], considerando o PCI do gás natural igual a 35308,5 kJ/N.m³, conforme Equação 4.8. Em seguida o valor gasto com gás natural ($\$_{gás}$) foi calculado considerando o seu custo unitário igual a R\$1,19/ N.m³.

$$Q_{g\acute{a}s} = Q_{g\acute{a}s1} + Q_{g\acute{a}s2} + Q_{g\acute{a}s3} + Q_{g\acute{a}s4} + Q_{g\acute{a}s6}$$
(4.7)

$$Q_{g\acute{a}s} = PCI_{g\acute{a}s}.m_{g\acute{a}s}$$
(4.8)

Para o cálculo de massa existente no reator em cada etapa, será admitido que todos os processos físicos (ebulição da água para concentração do ácido láctico) e químicos (especialmente a síntese do lactide) foram realizados com 100% de rendimento. Portanto, para todas as simulações será considerada uma massa inicial de ácido láctico (m₁) equivalente 5882,4 kg e a massa do ácido láctico concentrado (m₂) equivalente a 5000 kg, considerando uma condição ideal em que os 15% em massa de água foram removidos. Durante a dimerização do ácido láctico ao lactide, estequiometricamente, a cada 2 moles de ácido láctico (90 g/mol) ocorre a formação de 1 mol de lactide (144 g/mol) e a liberação de 2 moles de água (18 g/mol), portanto o valor de massa de lactide (m₃) a ser obtido numa condição ideal será 4000kg.

A Tabela 11 reúne os valores obtidos para a quantidade de calor necessária para cada etapa e a somatória representada por $Q_{gás}$. Os valores de $m_{gás}$ e $\$_{gás}$ para cada temperatura de polimerização são apresentados na Tabela 12.

	PDLLA 150°C	PDLLA 160°C	PDLLA 170°C
Q _{gás1} (kJ)	690740,8	690740,8	690740,8
Q _{gás2} (kJ)	156212,1	156212,1	156212,1
Q _{gás3} (kJ)	782833,3	782833,3	782833,3
Q _{gás4} (kJ)	168362,5	168362,5	168362,5
Q _{gás6} (kJ)	120456,7	123303,4	126150,0
Q _{gás} (kJ)	1918605,5	1921452,1	1924298,8

Tabela 11 – Valores das quantidades de calor necessárias para cada etapa do processo para produção de 4000 kg de PDLLA.

Tabela 12 – Quantidade total e valor gasto com gás natural para produção de 4000kg de PDLLA em temperatura de polimerização estudada.

	PDLLA 150°C	PDLLA 160°C	PDLLA 170°C
m _{gás} (N.m ³)	54,3	54,4	54,5
\$ _{gás} (R\$)	64,7	64,8	64,9

Para o cálculo do tempo de processo foram consideradas duas etapas de resfriamento, a saber, a etapa 5, necessária para atingir a temperatura de polimerização, e a etapa 7 necessária para que o produto seja retirado do reator a 120°C. Essas etapas de resfriamento devem ser consideradas para o cálculo do custo de energia de cada tecnologia, uma vez que o motor do reator estará em atividade. Os resultados estão apresentados na Tabela 13, na qual se verifica que o tempo de reação para a polimerização a 150, 160 e 170°C é o mesmo. O valor gasto com energia elétrica (\$_{eletr}) na polimerização foi calculado considerando a potência máxima de cada equipamento, o tempo de utilização e o valor do kWh conforme ANEEL (2011) (ver Tabela 14). Na Tabela 15 estão apresentados os valores gastos com matéria-prima, que por serem os mesmos para a três condições de polimerização estão apresentados como PDLLA.

	PDLLA 150°C (h)	PDLLA 160°C (h)	PDLLA 170°C (h)
Etapa 1 (10°C/min)	0,125	0,125	0,125
Etapa 2	2	2	2
Etapa 3 (10°C/min)	0,167	0,167	0,167
Etapa 4	2	2	2
Etapa 5 (5°C/min)	0,167	0,133	0,1
Etapa 6	7	7	7
Etapa 7 (5°C/min)	0,1	0,133	0,167
Total	11,56	11,56	11,56

Tabela 13 – Cálculo do tempo de processo para cada temperatura de polimerização do PDLLA.

	Fauinamonto			
	Equipamento	PDLLA 150°C	PULLA 160°C	PULLA 170°C
Etapa 1 (kWh)	М	1,9	1,9	1,9
Etapa 2 (kWh)	M/BV	52,2	52,2	52,2
Etapa 3 (kWh)	М	2,5	2,5	2,5
Etapa 4 (kWh)	Μ	29,8	29,8	29,8
Etapa 5 (kWh)	Μ	2,5	2,0	1,5
Etapa 6 (kWh)	M/BV	182,7	182,7	182,7
Etapa 7 (kWh)	М	1,5	2,0	2,5
Total (kWh)		273	273	273
\$ _{eletr} (R\$)		69,3	69,3	69,3

Tabela 14 – Total de energia elétrica gasto em kWh e custo de energia elétrica para cada polimerização

M: Motor; Potência: 14,9 kW

BV: Bomba de vácuo; Potência: 11,2 kW

		PDLLA			
	\$MP/kg (R\$)	Massa (kg)	Custo (R\$)		
Ácido láctico 85%	4,49	5882,4	26412,0		
Sn(Oct)2 ^a	584,0	4	2336,0		
Total		5886,4	28748,0		

Tabela 15 – Valores gastos com matérias-primas (MP)

^a custo atualizado em outubro de 2011.

A Figura 35 relaciona os custos obtidos para produção de 4000kg de PDLLA. Nota-se que os custos aumentam com a temperatura utilizada na polimerização, devido ao maior gasto com energia térmica. No entanto a diferença de custos entre as três temperaturas escolhidas para essa comparação é muito pequena o que viabiliza a escolha de uma temperatura ou outra conforme massa molecular pretendida para o polímero ou melhores condições de trabalho da planta.



Figura 35 - Custos estimados para produção de 4000kg de PDLLA a 150, 160 e 170°C

Considerando a média dos custos estimados obtidos nas três simulações é possível calcular o custo médio unitário para fabricação de PDLLA. Assim tem-se a estimativa de custo de R\$7,22/kg.

4.5.2 Cálculos dos custos para o PDLLA obtido por policondensação com LipaseB.

A Figura 36 ilustra as rampas de temperatura para a síntese do PDLLA por policondensação do ácido láctico com 0,5% do biocatalisador Lipase B depois de 77h de reação a 70°C que resultou em um polímero com Mw igual a 1719 g/mol.



Figura 36 – Rampas de temperatura utilizadas para a síntese do PDLLA por policondensação do ácido láctico com 0,5% do biocatalisador Lipase B. (1) Aquecimento de 25 a 100°C para remoção da água; (2) Manutenção da temperatura por 2 h a 100°C; (3) Resfriamento, (4) Temperatura de polimerização 70°C mantida por 77 h.

Com o objetivo de calcular g_{gas} e $g_{eletr.}$ será necessário obter previamente os valores de Q_{gas} e tempo utilizado em cada etapa do processo respectivamente. Para isso, alguns cálculos serão utilizados:

 Etapa 1: Calor que deverá ser fornecido pelo gás natural (Q_{gás1}) para aquecimento do conteúdo do reator de 25 até 100°C, considerando uma perda na ordem de 10% por troca térmica:

$$Q_{g\acute{a}sl} = \left[m_1 \int_{25}^{100} c_{P(A)} dT \right] .1,10$$
(4.9)
onde:

m1: massa inicial de ácido láctico

c_{P(A)}: calor específico do ácido láctico

 Etapa 2: Calor que deverá ser fornecido pelo gás natural (Q_{gás2}) para manutenção de T_{reação} igual a 100°C considerando uma perda de 5% de calor para o ambiente. Nesta etapa, realiza-se a remoção da água presente no ácido láctico comercial.

$$Q_{gas2} = m_1 . c_{P(A)} . T_{reação} . 0,05$$
(4.10)

 Etapa 4: Calor que deverá ser fornecido pelo gás natural (Q_{gás4}) para manutenção de T_{reação} igual a 70°C, considerando a massa de ácido láctico concentrado (m₂) e uma perda de 5% de calor para o ambiente:

$$Q_{g\acute{a}s4} = m_2 \cdot c_{P(A)} \cdot T_{reação} \cdot 0,05$$
(4.11)

onde, m₂: massa de ácido láctico concentrado

Para os cálculos de quantidade de calor envolvida nas etapas 1, 2 e 4 será utilizado o calor específico do ácido láctico equivalente a 128,1 J/K.mol (298,15K) (Wilhoit, 1985), neste caso 1,4 J/K.g.

Finalmente, os valores de quantidade de calor ($Q_{gás}$) obtidos em cada etapa foram convertidos em quantidade de gás natural utilizado ($m_{gás}$) em unidade de [$N.m^3$], considerando o PCI do gás natural igual a 35308,5 kJ/N.m³, conforme Equação 4.8. Em seguida, o valor gasto com gás natural ($\$_{gás}$) foi calculado considerando o seu custo unitário igual a R $1,19/N.m^3$

Para o cálculo de massa existente no reator em cada etapa, será admitido que o processo físico de ebulição da água para concentração do ácido láctico foi realizado com 100% de rendimento. Portanto, para essa simulação será considerada uma massa inicial de ácido láctico (m₁) equivalente 5882,4 kg e a massa do ácido láctico concentrado (m₂) equivalente a 5000 kg, considerando uma condição ideal em que os 15% em massa de água foram removidos.

A Tabela 16 reúne os valores obtidos para a quantidade de calor necessária para cada etapa, a somatória representada por $Q_{gás}$, os valores de $m_{gás}$ e $\$_{gás}$ para a polimerização enzimática.

\$ _{gás} (R\$)	32,7
m _{gás} (N.m3)	27,5
Q _{gás} (kJ)	969057,1
Q _{gás4} (kJ)	122104,2
Q _{gás2} (kJ)	156212,1
Q _{gás1} (kJ)	690740,8
	PDLLA Lipase

Tabela 16 – Valores das quantidades de calor necessárias para cada etapa do processo, calor total e valor gasto com gás natural para polimerização enzimática.

Para o cálculo do tempo de processo foi considerada a etapa 3, de resfriamento. O valor gasto com energia elétrica (\$_{eletr}) na polimerização foi calculado considerando a potência máxima de cada equipamento, o tempo de utilização e o valor do kWh conforme ANEEL (2011) (ver Tabela 17). Na Tabela 18 estão apresentados os valores gastos com matéria-prima.

	Tempo (h)	Equipamento	Consumo energia (kWh)	
Etapa 1 (10°C/min)	0,125	М	1,9	
Etapa 2	2	M/BV	52,2	
Etapa 3 (5°C/min)	0,1	М	1,5	
Etapa 4	77	M/BV	2009,7	
Total	79,225		2065,2	
\$ _{eletr} (R\$)			524,2	

Tabela 17 – Cálculo do tempo de processo, consumo e valor gasto com energia elétrica para a polimerização enzimática do PDLLA.

M: Motor; Potência: 14,9 kW

BV: Bomba de vácuo; Potência: 11,2 kW

Tabela 18 – Valores gastos com matérias-primas (MP) para a policondensação enzimática.

	\$MP/kg (R\$)	Massa (kg)	Custo (R\$)
Ácido láctico 85%	4,49	5882,4	26412,0
Lipase B ^{a,b}	2301	25	57525,0
Total		5907,4	83937,0

^a US\$ 1,00 = R\$ 1,77 (cotação de 13/10/2011)

^b custo atualizado em outubro de 2011.

Se um rendimento da policondensação de 100% fosse considerado, cada 2 moles de ácido láctico concentrado (90g/mol) produziria 1 mol de água (18g/mol) durante a policondensação, logo a quantidade total de polímero formado após remoção da água seria 4500kg. Considerando os valores de $g_{gás}$, $g_{eletr.}$ e custo total de matéria-prima, o custo para fabricação de 4500kg de PDLLA com o biocatalisador Lipase B é igual a R\$ 84493,8 e o custo unitário igual a R\$18,78/kg.

Mesmo considerando a diferença de massa molecular encontrada na síntese enzimática e com a utilização de Sn(Oct)₂ como catalisador, 1719 e 8353 g/mol respectivamente, foi feita uma comparação dos custos unitários das alternativas para avaliar o impacto econômico de ambas. Nota-se que, de acordo com as condições de

processo proposta neste trabalho, a polimerização enzimática é 160% mais cara que a polimerização com o catalisador metálico. A Figura 37 ilustra a diferença de custo de produção de cada alternativa.



Figura 37 – Custo por kg de PDLLA obtido com Lipase B e com o Sn(Oct)₂

É importante ressaltar que a enzima Lipase B, por se encontrar imobilizada em resina, pode ser recuperada por operações simples de centrifugação ou filtração. Essa recuperação certamente viabilizaria a utilização da enzima economicamente. A Figura 38 apresenta a evolução dos custos de fabricação do PDLLA via enzimática considerando um produção de 4500kg por batelada, os custos com energia térmica e elétrica já calculados neste item e o custo do ácido láctico, porém desta vez reaproveitando a enzima por filtração.



Figura 38 – Evolução dos custos unitários de polimerização enzimática em relação ao número de reaproveitamentos da enzima Lipase B

Nota-se que após 10 reutilizações da enzima é possível obter um custo unitário equivalente à polimerização com o catalisador metálico Sn(Oct)₂. Contudo, a eficiência da enzima deve ser verificada a cada novo ciclo de reutilização. De qualquer forma, vale salientar que no segundo reaproveitamento já é possível obter uma redução de 34% no custo de fabricação do PDLLA, o que torna a polimerização enzimática mais atrativa economicamente.

Capítulo 5

Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros

5.1 Conclusões

Foi possível sintetizar lactide experimentalmente a partir do ácido láctico desidratado, adotando-se as seguintes condições experimentais: 200°C, 2 horas e fluxo de N₂. O lactide sintetizado apresentou as mesmas bandas que o lactide comercial, com exceção de um residual de grupo R-OH provavelmente proveniente de resíduos de ácido láctico ou cadeias menores lineares provenientes da policondensação.

A purificação do lactide sintetizado com acetona eliminou o residual do grupo R-OH, porém a proposta desse trabalho foi obter um polímero isento de solventes orgânicos, com o intuito de produzir um material mais adequado para aplicação biomédica.

Em relação aos parâmetros avaliados na polimerização por abertura de anel do lactide com a utilzação do catalisador Sn(Oct)₂, foi possível concluir que:

- uma vez que exista a presença de iniciadores grupo hidróxi ou outra espécie nucleofílica no meio reacional, quanto maior quantidade de Sn(Oct)₂ maior será o número de cadeias que serão desenvolvidas. Essas cadeias desenvolvidas paralelamente poderão competir com o crescimento de uma única cadeia, resultando na estagnação do crescimento da cadeia polimérica;
- depois de 7h de polimerização a 160°C com 0,1% de Sn(Oct)₂ foi possível obter Mw de 8353 g/mol, evidenciando a eficiência da polimerização com menor percentual de catalisador. Apesar da baixa toxicidade do octoato de estanho, essa redução do catalisador no meio é benéfica, pois considerando que a produção de PDLLA visa uma aplicação em biomedicina, quanto menor for o percentual de metal no polímero menor o potencial de toxicidade do implante;

- a estabilização do crescimento da cadeia do PDLLA após 8h de reação a 160°C com 0,1% de Sn(Oct)₂ indica que o percentual de catalisador em relação à massa de lactide ainda pode ser reduzido, pois esta estagnação pode ser resultado de um desenvolvimento de cadeias paralelamente, competindo com o crescimento de uma única cadeia;
- dentre as condições avaliadas, a temperatura de 160°C se mostrou a mais eficiente para obtenção de maiores valores de M_w. Em termos econômicos, quando comparada à temperatura de 170°C, ela também apresenta-se mais vantajosa, pois em escala piloto ou industrial os custos de combustíveis para aquecimento de reator seriam inferiores;

Na análise térmica do PDLLA por DSC não foi possível evidenciar a presença de um pico aparente referente à cristalização, esse resultado indicou que o material obtido apresentou caráter predominantemente amorfo. Esse resultado está de acordo com o esperado visto que o PDLLA contém uma distribuição estatística de seus dois isômeros, assim impossibilitando a cristalização da sua cadeia. Conforme Lili (2007), a degradação mais rápida do PDLLA devido ao seu caráter amorfo o torna atrativo para sistemas de liberação de drogas.

A análise das curvas termogravimétricas mostrou que à medida que houve um incremento da temperatura de degradação do polímero com o aumento da massa molecular.

A polimerização por abertura de anel do lactide com a utilização do biocatalisador Lipase B, após 77h de reação a 65 °C não apresentou incremento de massa molecular em relação à reação sem o biocatalisador, portanto concluiu-se que essa rota não foi eficiente para a polimerização enzimática nas condições utilizadas neste trabalho.

A utilização da policodensação do ácido láctico como rota de polimerização se mostrou mais eficiente quando se utiliza Lipase B como biocatalisador. Esse fato pode ser atribuído a seletividade da enzima Novozym® 435 para alcoóis secundários. A temperatura também desempenhou um importante papel, pois a utilização de 70°C se

mostrou uma temperatura apropriada para a atividade enzimática. A avaliação da velocidade de desativação da enzima não foi efetuada, contudo esse fator deve ser considerado no dimensionamento em escala piloto e industrial de reações enzimáticas, visando à reutilização da enzima e conseqüente redução de custos de processo.

A análise comparativa dos custos de fabricação de PDLLA pela rota química (M_w~8000g/mol) e pela rota enzimática (M_w~2000 g/mol) mostrou que a segunda pode ser 160% mais cara que a polimerização com o catalisador metálico caso não seja feito o reaproveitamento da enzima. No entanto, o fato da enzima Lipase B estar imobilizada em resina permite que esta seja recuperada por operações simples de centrifugação ou filtração, permitindo que depois de 10 reutilizações da enzima seja possível obter um custo unitário equivalente à polimerização com o catalisador metálico Sn(Oct)₂, nessa condição a polimerização enzimática pode se tornar mais atrativa economicamente.

Atualmente, as enzimas são aplicadas em muitos processos técnicos em escala industrial, reduzindo o número de etapas de reação devido a sua quimioseletividade e regioseletividade, ou da sua regioseletividade no caso da síntese de intermediários de drogas quirais.

5.2 Sugestões para trabalhos futuros

Algumas sugestões de trabalhos futuros são descritas abaixo:

- Avaliação da técnica de Polimerização no Estado Sólido (Solid State Polymerization, SSP) como alternativa para aumento da massa molecular de PLA sintetizado enzimaticamente.
- Estudo e aplicação de um Reator de Microondas para síntese de PLA visando redução de tempo e temperatura de reação.
- Estudo sobre a utilização de outras enzimas, já aplicadas em outras reações de esterificação, como biocatalisadores da polimerização do PLA.
- Otimização das condições de policondensação enzimática utilizando reator tipo película conforme Gonzaga (2003).

Referências Bibliográficas

AGNEW, W. F., TODD, E., RICHMOND, H., CHRONISTER, W. Biological evaluation of silicone rubber for surgical prosthesis. J Surg. Res., vol 6, p. 357. Toxicology/Silicone Characterization. 1962 apud BONDURANT, S.; ERNSTER, V.; HERDMAN, R. Safety of silicone breast implants. Committee on the Safety of Silicone Breast Implants. Washington, D.C: , Institute of Medicine. National Academy Press. 1999. 560 p.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS,K. & WALTER, P. *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed., Garland Science, New York, 2002. Ali, S. A. M.; Zhong, S.-P, Doherty, P. J. & Williams, D. F.– Biomaterials, 14, p.648 (1993).

ANEEL. Agência Nacional de Energia Elétrica. Disponível em: http://www.aneel.gov.br/area.cfm?idArea=550. Acessado em 12/10/2011.

Auras, R.; Harte, B.; Selke, S. An overview of poly(lactides) as packaging materials. *Macromoecular Bioscence*, vol. 4, p. 835-864. 2004

BARBANTI, S.H.; ZAVAGLIA, C.A.C; DUEK, E.A.R. Polímeros Bioreabsorvíveis na Engenharia de Tecidos. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol. 15, n° 1, p. 13-21, 2005.

BECKER, J.M.; TEMPELAAR, S.; STANFORD, M.J.; POUNDER, R.J.; COVINGTON, J.A.; DOVE, A.P. Development of Amino–Oxazoline and Amino–Thiazoline Organic Catalysts for the Ring-Opening Polymerisation of Lactide. Chem. Eur. Jounal, v.16, p. 6099 – 6105, 2010.

BIOMATERIAIS.Disponívelem:http://www.biomateriais.com.br/telas/artigos/artigos.asp?idartigo=59&idassunto=1.Acessado em 04/10/2010.

BONDURANT, S.; ERNSTER, V.; HERDMAN, R. Safety of silicone breast implants. Committee on the Safety of Silicone Breast Implants. Washington, D.C: , Institute of Medicine. National Academy Press. 1999. 560 p.

CANEVAROLO Jr., S.V. Ciência dos polímeros: em texto básico para tecnólogos e engenheiros. São Paulo: Artiliber Editora, 2002.

CANEVAROLO Jr., S.V. Técnicas de caracterização de polímeros. São Paulo: Artiliber Editora, 2004.

CGEE. Materiais avançados no Brasil 2010 – 2022. Brasília: *Centro de Gestão de Estudos Estratégicos*, 2010.

CHANFREAU, S.; MENA, M.; DOMÍNGUEZ, J.; GILLY, M.R.; GIMENO, M.; ROQUERO, P.; TECANTE, A.; BÁRZANA, E. Enzymatic synthesis of poly-L-lactide and poly-L-lactide-co-glycolide in an ionic liquid. *Bioprocess Biosyst Eng*, vol.33: 629–638, 2010.

CONSTANTINO, M.G. Química Orgânica. Curso básico universitário. Universidade Estadual de São Paulo. 2006. 164p.

DEWEZ, J.L., LHOEST, J.B., DETRAIT, E., BERGER, V., DUPONTGILLAIN, C.C., VINCENT, L.M., SCHNEIDER, Y.J., BERTRAND, P., ROUXHET P.G. Adhesion of mammalian cells to polymer surfaces: from physical chemistry of surfaces to selective adhesion on defined patterns. Biomaterials, v. 19, p. 1441-1445, 1998.

DONG, C.M.; QIU, K.Y.; GU, Z.W.; FENG, X.D. Synthesis of star-shaped poly(D,Llactide acid-alt-glycolic acid) with aminofuncional initiator and SnOct₂ catalyst. *Polymer*, v.42, p.6891-6896. 2001

DUBOIS, P.; COULEMBIER, O.;RAQUEZ, J.M. *Handbook of Ring-Opening Polymerization*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinhein, 2009.

FENG K.; SUN, H.; BRADLEY, M.A.; DUPLER, E.J.; GIANNOBILE, W.V.; MA, P.X. Novel antibacterial nanofibrous PLLA scaffolds. Journal of controlled release, v. 146, p. 363-369, 2010.

FIFIELD, F.W e KEALEY, D. Principles and Practice of Analytical Chemistry. Ed. Blackwell Science Ltd. 2000.543p.

FILGUEIRAS, C. A. L. A nova química do estanho. Química Nova, vol. 21(2), p.176-192, 1998.

FREED, L.E.; VUNJAK-NOVAKOVIC, G.; BIRON, R.J.; EAGLES, D.B.; LESNOY, D.C.; BARLOW, S.K.; LANGER, R. Biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering. *Biotechnology*, v.2, p.689-693. 1994.

GALLAGUER, P.K.; Instrumentation Techniques and Methodology, in: Thermal Characterization of Polymeric Materials, 2nd Edition, Vol 1, Turi A. E. (ed), Academic Press, New York, 1997.

GONZAGA, J.C.B. Integração de processos em tempo real para monitoramento e controle: Aplicação para planta PET. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, São Paulo: [s.n.], 2003. Dissertação (Mestrado)

GUPTA, A.P.; KUMAR, V. New emerging trends in synthetic biodegradable polymers – polylactide: a critique. *Eur. Polym. J.* 43(10), 4053–4074, 2007.
HANS, M.; KEUL, H.; MOELLER, M. Ring opening polymerization of DD-Lactide Catalyzed by Novozym 435. *Macromolecules Bioscience.* Vol. 9, p. 239 – 247, 2009.

HARSCHE, Y.M.; STORTI, G.; MORBIDELLI, M.; GELOSA, S.; MOSCATELLI, D. Modelling Polycondensation of lactic acid. Macromolecules Reaction Engineering, vol. 1, p 611–621. 2007.

HELMUS, M. N., TWEDEN K.; "Encyclopedic handbook of biomaterials and bioengineering, Part A" - D. L. Wise, D. J. Trantolo, D. E. Altobelli, M. J. Yaszemski, J. D. Gresser, E. R. Schwartz - (NewYork: Marcel Dekker) – 1995

HENTON, D.E., GRUBER, P., LUNT, J., RANDALL, J. Polylactic acid technology. Em: Natural fibers, biopolymers and biocomposites, Editado por: Mohanty, A.K., Misra, M., Drzal, L.T. CRC Press. 2005

HU, J.; SUN, X.; MA, H.; XIE, C.; CHEN, Y.E.; MA, P.X. Porous nanofibrous PLLA scaffolds for vascular tissue engineering. Biomaterials xxx p.1-7, 2010.

HYON, S.H.; JAMSHIDI, K.; IKADA, Y. Synthesis of polylactides with different molecular weights. Biomaterials, v.18, p.1503-1508. 1997.

INKINEN, S. Structural modification of poly(lactic acid) by step-growth polymerization and stereocomplexation. Doctoral Thesis, Laboratory of Polymer Technology, Center for Functional Materials (FUNMAT), Department of Chemical Engineering, Division for Natural Sciences and Technology, Åbo Akademi University, 2011

JAHNO, V. D.. Síntese e caracterização do Poli(L-ácido láctico) para uso como biomaterial. Porto Alegre – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. [s.n.]. Dissertação (Mestrado)

JEONG, SUNG IN.; KIM, BYUNG-SOO.; KANG, SUN WOONG.; KWON, JAE HYUN.; LEE, YOUNG MOO.; KIM, SOO HYUN.; KIM, YOUNG HA. In vivo biocompatibility and degradation behavior of elastic poly(L-lactide-co-ε-caprolactone) scaffolds. Biomaterials, v. 25, p. 5939-5946, 2004. KIM, S. J.; JANG, D. H.; PARK, W. H.; MIN, B.M. Fabrication and characterization of 3dimensional PLGA nanofiber/microfiber composite scaffolds. Polymer, v. 51, p.1320– 1327, 2010.

KOBAYASHI, S. Lipase-catalyzed polyester synthesis - A green polymer chemistry. *Proc. Jpn. Acad.*, vol. 86, p.338-365, 2010.

KOWALSKI, A.; DUDA, A.; PENCZEK, S. Kinetics and Mechanism os Cyclic Esters Polymerization Initiated with Tin(II) Octoate – Polymerization of L,L-Dilactede. *Macromolecules*, v.33, p.7395-7370. 2000

KRICHELDORF, H.R.; KREISSER-SAUNDERS, I.; BOETTCHER, C.; Polylactones: 31. Sn(II) octoate-initiated polymerization of L-lactide: a mechanistic study. *Polymer*, v.36, p.1253, 1995.

LASSALE, V.L.; FERREIRA, M.L. Lipase-catalyzed synthesis of polylactic acid: an overview of the experimental aspects. *J Chem Technol Biotechnol* **83**:1493–1502, 2008.

LILI, Z. Síntese e caracterização do copolímero tribloco anfifílico biodegradável poli(L,Llactídeo-Stat-ε-caprolactona)-bloco-Poli(óxido de etileno)-bloco-Poli(L,L0Lactídeo-Statε-caprolactona). São Paulo. Universidade de São Paulo. 2007. [s.n.]. Dissertação (Mestrado).

LUCAS, E. F.; SOARES, B.G.; MONTEIRO, E. Caracterização de polímeros. Determinação de peso molecular e análise térmica. Rio de Janeiro: E-papers: Serviços Editoriais, 2001. p.366.

MANSUR, H. S. Técnicas de caracterização de materiais. Capítulo 7. Disponível em: http://www.biomaterial.com.br/capitulo7part01.pdf. Acessado em 24/09/2011. MATSUMURA, S.; MABUCHI, K.; TOSHIMA, K. Macromolecular Rapid Communications, vol. 18, p. 477, 1997.

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

MILLER, R.A.; BRADY, J.M.;CUTRIGHT, D.E. Degradation rates of oral resorbable implants (polylactates and polyglycolates): rates modification with changes in PLA/PGA copolymer rations. *Journal of Biomedical Materials Research*, v.11, p.711. 1977.

MOON, S.I.; LEE, C.W.; MIYAMOTO,M.; KIMURA, Y. Melt polycondensation of I-lactic acid with Sn(II) catalysts activated by various proton acids: a direct manufacturing route to high molecular weight poly(I-lactic acid). *Journal of Polymer Science*, Part A: Polymer Chemistry, v.38, p.1673–9, 2000.

MOREIRA,J. et al. Determinação das constantes K e α da equação de Mark-Houwink de poli(p-acetóxiestireno). Polímeros:Ciência e Tecnologia, v.14, nº2, p.80-82. 2004.

MOTTA, A. C. Síntese e caracterização do Poli(L-ácido láctico)-PLLA e Poli(L-ácido láctico-co-ácido glicólico)-PLGA e estudo da degradação "in vitro". Campinas – Unicamp, 2002. [s.n.]. Dissertação (Mestrado)

NAMPOOTHIRI, K. M.; NAIR, N. R.; JOHN, R. P. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. *Bioresource Technology*.101. 8493–8501, 2010.

Nedelman, C. I. Oral and cutaneous tissue reactions to injected fluid silicones. Journal of Biomedical Materials Research, vol. 2, p. 131-143. Toxicology. 1968. apud BONDURANT, S.; ERNSTER, V.; HERDMAN, R. Safety of silicone breast implants. Committee on the Safety of Silicone Breast Implants. Washington, D.C: , Institute of Medicine. National Academy Press. 1999. 560 p. NIJENHUIS, A.J.; GRIJPMA, D.W.; PENNINGS, A.J. Lewis acid catalyzed polymerization of L-Lactide: Kinetics and Mechanism of the Bulk Polymerization. *Macromolecules*, v.25, p6419-6424, 1992.

PRADELLA, J. G. C. Biopolímeros e Intermediários Químicos. *Centro de Gestão e estudos Estratégicos*. São Paulo, 2006.

PRADO DA SILVA, M. H. P. Apostila de Biomateriais. 80 p. Disponível em: http://mesonpi.cat.cbpf.br/e2006/posgraduacao/pdf_p3/ApostilaBiomateriais.pdf. Em março de 2006.

PYDA, M., BOPP, R.C., WUNDERLICH, B. Heat capacity of Poly(lactic) acid. J. Chem. Thermodynamics, vol 36, p.731 – 742. 2004.

SACHLOS, E.; CZERNUSZKA, J.T. Making Tissue engineering scaffolds work. Review on the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. European cells and materials, v. 5, p. 29-40, 2003.

SANDLER, S.I. *Chemical and engineering thermodynamics*, 2nd Edition, Wiley series in chemical engineering (ed), Canada, 1989.

SANTOS JR. A.R.; WADA, M.L.F. Polímeros Biorreabsorvíveis como Substrato para Cultura de Células e Engenharia Tecidual. Polímeros: Ciência e Tecnologia, vol. 17, nº 4, p. 308-317, 2007

SANTOS Jr., A. R.; BARBANTI, S.H.; DUEK, E.A.R.; DOLDER, M.A.H.; WADA, R.S.; WADA, M.L. Vero cell growth and differentiation on poly(L-lactic acid) membranes of different pore diameters. Artif. Organs, v.25, p.7, 2001.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.; CLAYTON; MORRIL, TERENCE C. Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1994. 387p.

SOARES, G. A. Biomateriais. *Centro de Gestão e Estudos Estratégicos*. Rio de Janeiro. 2005

STORREY, R.F.; SHERMAN, J.W. Kinetics and mechanism of the stannous ocatoate catalyzed bulk polymerization of ε -caprolactone. *Macromolecules*, v.35, p. 1504-1512. 2002.

THOMAZ, C. M. Stereocontrolled ring-opening polymerization of cyclic esters: synthesis of new polyester microstructures. *Chem. Soc. Rev.* 39, 165–173, 2010. VARMA, I. ALBERTSSON, A. RITIMONTI, R. SRIVASTAVA, R. Enzyme catalyzed synthesis of polyesters. *Prog Polym Sci*, **30**:949–981. 2005.

VERT, M.; LI, M. S.; SPENLEHAUER, G. & GUERIN, P. Bioresorbability and biocompability of aliphatic polyesters. Journal Material Science Material Medicine.,vol 3, p.432-446, 1992.

WAHLBERG, J., PERSSON, P.V., OLSSON, T., HEDENSTROEM, E.; IVERSEN, T. *Biomacromolecules*, vol. 4, p.1068, 2003.

WILHOIT, R.C., CHAO, J. HALL, K.R. Thermodynamic properties of key organic oxygen compounds in the carbon range C1 to C4. Part 1. Properties of condensed phases. J. Phys. Chem., Vol. 14, n. 1, 1985.

WOODFIELD, T. Phd. Research Fellow, Centre for Bioengineering, http://www.bioengineering.canterbury.ac.nz/seminar_info/seminars.shtml, em 02/11/2005.

96