

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

CAMILA FERNANDES HIGA

**SINTERIZAÇÃO SELETIVA A LASER DE POLI(ÁLCOOL VINÍLICO)
COM O PROPÓSITO DE PRODUZIR ARCABOUÇOS PARA
APLICAÇÃO EM ESTUDOS *IN VITRO* VOLTADOS À ENGENHARIA
TECIDUAL**

**CURITIBA
Dezembro – 2017**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

CAMILA FERNANDES HIGA

**SINTERIZAÇÃO SELETIVA A LASER DE POLI(ÁLCOOL VINÍLICO)
COM O PROPÓSITO DE PRODUZIR ARCABOUÇOS PARA
APLICAÇÃO EM ESTUDOS *IN VITRO* VOLTADOS À ENGENHARIA
TECIDUAL**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de **Doutora** em Engenharia Mecânica, Curso de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Escola Politécnica, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Michelle S. Meruvia

**CURITIBA
Dezembro – 2017**

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central

H634s Higa, Camila Fernandes
2017 Sinterização seletiva a laser poli(álcool vinílico) com o propósito de produzir arcabouços para aplicação em estudos *in vitro* voltados à engenharia tecidual/ Camila Fernandes Higa ; orientadora: Michelle Sostag Meruvia. – 2017.
108 f. : il. ; 30 cm

Tese (doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba,
2017
Bibliografia: f. 102-108

1. Engenharia mecânica. 2. Sinterização seletiva a laser. 3. Polímeros.
I. Meruvia, Michelle Sostag. II. Pontifícia Universidade Católica do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica. III. Título

CDD 22. ed. – 670



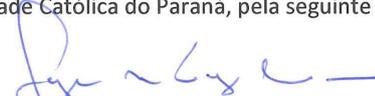
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Escola Politécnica
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica

TERMO DE APROVAÇÃO

Camila Fernandes Higa

Sinterização Seletiva a Laser de Poli (álcool vinílico) com o Propósito de Produzir Arcabouços para Aplicação em Estudos *In Vitro* Voltados à Engenharia Tecidual

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de doutor no Curso de Doutorado em Engenharia Mecânica, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, da Escola Politécnica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

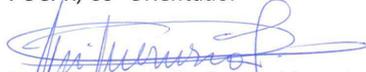

Prof. Dr. Jorge Vicente Lopes da Silva
CTI Renato Archer


Prof. Dr. Carlos Mauricio Lepiensi
PIPE UFPR


Prof. Dr. Neri Volpato
UTFPR


Prof.ª Dr.ª Mauren Abreu de Souza
PUCPR


Prof. Dr. Fred Lacerda Amorim
PUCPR, Co-Orientador

Presidente: 
Prof.ª Dr.ª Michelle Sostag Meruvia
PUCPR, Orientadora



Curitiba, 12 de dezembro de 2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço muitíssimo à minha professora orientadora Michelle Sostag Meruvia e professor co-orientador Fred Lacerda Amorim, meus sinceros agradecimentos pelo incentivo e orientação objetiva e otimista, e pela ajuda na realização desse projeto de pesquisa.

Ao Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer - CTI por colocar à disposição a máquina utilizada nos experimentos e pelo apoio oferecido para que esse projeto fosse concluído. Agradeço especialmente ao Marcelo Fernandes Oliveira, Paulo Inforçatti Neto e Jorge Vicente Lopes da Silva pelo apoio direto e participação no desenvolvimento dessa tese.

Agradeço aos professores da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR e, especialmente, aos professores da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR e Universidade Federal do Paraná - UFPR, que direta ou indiretamente colaboraram, e muito, para o desenvolvimento da presente tese.

À professora Selene Elifio Esposito e sua aluna Thatyanne Gradowski Farias da Costa do Nascimento, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da PUCPR, pelos ensaios de cultura celular e auxílio na análise dos resultados.

Ao Laboratório de Espectroscopia Vibracional de Infravermelho e à UFPR pelo uso do espectrômetro FTIR.

À CAPES pelo apoio financeiro através de bolsa de estudos.

À PUCPR pela oportunidade e à Jane Marques da Rocha, secretária do PPGEM da PUCPR, por todo apoio oferecido.

RESUMO

HIGA, Camila Fernandes. **Sinterização Seletiva a Laser de poli(álcool vinílico) com o propósito de produzir arcabouços para aplicação em estudos *in vitro* voltados à engenharia tecidual**. 2017. 121 f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2017.

As tecnologias de manufatura aditiva, entre elas a Sinterização Seletiva a Laser (SLS), desempenham um papel cada vez mais importante na indústria biomédica, como na fabricação de arcabouços para a engenharia de tecidos. Nesse contexto, o objetivo principal da presente tese foi investigar o processo de SLS do material polimérico poli(álcool vinílico) (PVA), tendo como finalidade a produção de arcabouços para serem utilizados em estudos *in vitro*. Foi investigada a influência dos parâmetros do processo de SLS potência do laser e número de varreduras do laser na microestrutura na superfície das amostras e no grau de cristalinidade e estabilidade química do PVA, utilizando diferentes faixas de tamanho de partícula do pó. Concluiu-se que: i) para a sinterização do pó com grandes variações no tamanho de partícula, o parâmetro que tem maior influência na microestrutura é o número de varreduras e não a potência do laser; ii) quanto menor o tamanho de partícula e mais uniforme a distribuição de tamanho de partícula, maior pode ser a influência da potência do laser na microestrutura e menor a necessidade de se aumentar o número de varreduras; iii) o processo de SLS causou uma diminuição do grau de cristalinidade do PVA; iv) a SLS do pó com grande variação do tamanho de partícula alterou a estrutura química do PVA como recebido, sobretudo utilizando maior potência do laser e maior número de varreduras, já com variação menor do tamanho de partícula não houve alteração da estrutura química de maneira significativa, exceto utilizando maior potência e maior número de varreduras. Finalmente, testes preliminares de cultura celular *in vitro* mostraram que o material PVA sinterizado a laser é biocompatível com células osteoblásticas de osteossarcoma humano e com fibroblastos humanos.

Palavras-chave: Sinterização Seletiva a Laser. Arcabouço. PVA. Cultura celular *in vitro*.

ABSTRACT

HIGA, Camila Fernandes. **Selective Laser Sintering of poly(vinyl alcohol) with the purpose of producing scaffolds for application in *in vitro* studies focused on tissue engineering**. 2017. 121 p. Thesis (Mechanical Engineering) - Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2017.

Additive manufacturing technologies, such as Selective Laser Sintering (SLS), play an increasingly important role in the biomedical industry as, for example, in the fabrication of scaffolds for tissue engineering. In this context, the main goal of this thesis was to investigate the SLS process of poly(vinyl alcohol) (PVA) polymer material, with the purpose of producing scaffolds for *in vitro* studies. The influence of the SLS process parameters laser power and number of laser scans on the surface microstructure of the samples and on the degree of crystallinity and chemical stability of PVA was investigated, using different powder particle size ranges. It was concluded that: i) for the SLS of powder with large variations in particle size, the parameter that has the greatest influence on the microstructure is the number of laser scans and not the laser power; ii) the smaller the particle size and the more uniform the particle size distribution, the greater the influence of laser power on the microstructure and the less the need to increase the number of laser scans; iii) the SLS process caused a decrease in the degree of crystallinity of PVA; iv) the SLS of powder with large variation in particle size changed the chemical structure of the as received PVA, especially when using higher laser power and more number of scans and, with smaller variation in particle size, there was no significant change in the chemical structure, except when using higher laser power and more number of scans. Finally, preliminary *in vitro* cell culture tests showed that the laser sintered PVA material is biocompatible with human osteoblasts and with human fibroblasts.

Keywords: Selective Laser Sintering. Scaffold. PVA. *In vitro* cell culture.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Arcabouço (a), deposição de células (b), arcabouço + células (c).....	6
Figura 3.2 - Estrutura do álcool vinílico (a), estrutura do PVA (b).....	11
Figura 3.3 - Produção de PVA.....	12
Figura 3.4 - Estrutura do PVA - (a) parcialmente hidrolisado e (b) totalmente hidrolisado.....	12
Figura 3.5 - Os oito passos do processo de AM.....	18
Figura 3.6 - Ilustração do processo de SLS.....	20
Figura 3.7 - Curva de DSC para fusão e cristalização do material PA 12.....	24
Figura 3.8 - Micrografia do pó de PVA como recebido.....	32
Figura 3.9 - Micrografias das amostras fabricadas com 2540 mm/s e (a) 13 W e (b) 15 W.....	33
Figura 3.10 - Micrografias do PVA sinterizado com velocidade de varredura de 1778 mm/s e potência do laser de (a) 13 W e (b) 14 W.....	34
Figura 3.11 - Arcabouço de PVA.....	35
Figura 3.12 - Comparação entre espectro de FTIR de PVA como recebido, moído e sinterizado.....	36
Figura 3.13 - Imagem de MEV do pó de PVA como recebido.....	37
Figura 3.14 - Micrografias da morfologia da superfície das amostras sinterizadas: (a) 4 W, (b) 8 W, (c) 12 W e (d) 16 W.....	38
Figura 3.15 - Difratograma do PVA: (a) como recebido, (b) sinterizado com 8 W, (c) 12 W e (d) 16 W.....	38
Figura 3.16 - Arcabouço de PVA (a) e (b), poro projetado (c).....	39
Figura 3.17 - Micrografias da superfície do arcabouço: (a) antes e (b) após imersão em SBF.....	40
Figura 3.18 - Imagens de MEV de células MG-63 cultivadas no arcabouço de PVA: (a) após cultura celular por 4 dias, (b) após 10 dias.....	40
Figura 3.19 - Arcabouços de PVA: (a) cilíndrico, (b) piramidal e (c) trapezoidal.....	41
Figura 4.1 - Máquina de SLS Sinterstation 2000 utilizada para os experimentos (localizada no CTI).....	46

Figura 5.1 - Micrografia do pó de PVA como recebido. Barra de escala = 200 μm	56
Figura 5.2 - Difratoograma obtido por DRX do PVA como recebido.....	57
Figura 5.3 - Amostras após o processo de SLS: conjuntos 7, 15 e 19 (esquerda - 6 x).....	59
Figura 5.4 - Micrografias da superfície das amostras: conjuntos 7, 15, 19 e 19 (6 x). Barra de escala = 200 μm	60
Figura 5.5 - Difratoograma obtido por DRX do PVA como recebido e sinterizado.....	61
Figura 5.6 - Difratoograma obtido por DRX do conjunto 19 - 6 x.....	62
Figura 5.7 - Difratoograma obtido por DRX do PVA como recebido e do leite de pó.....	63
Figura 5.8 - Espectro de FTIR do PVA como recebido.....	64
Figura 5.9 - Espectro de FTIR do PVA como recebido e após a primeira etapa.....	66
Figura 5.10 - Amostras após o processo de SLS: conjuntos 1 e 8.....	67
Figura 5.11 - Micrografias da superfície das amostras: conjuntos 1-4 e conjuntos 17-20 (Tabela 4.2-b). Barra de escala = 200 μm	69
Figura 5.12 - Amostras após o processo de SLS: conjuntos 1, 5, 9 e 13 (26 W) e 4, 8, 12 e 16 (32 W).....	70
Figura 5.13 - Micrografias da superfície das amostras: conjuntos 1, 5, 9 e 13 (26 W) e 4, 8, 12 e 16 (32 W). Barra de escala = 200 μm	71
Figura 5.14 - Difratoograma obtido por DRX do PVA como recebido e sinterizado (26 W).....	73
Figura 5.15 - Espectro de FTIR do PVA como recebido e sinterizado (26 W).....	74
Figura 5.16 - Difratoograma obtido por DRX do PVA como recebido e sinterizado (32 W).....	75
Figura 5.17 - Espectro de FTIR do PVA como recebido e sinterizado (32 W).....	76
Figura 5.18 - Estimativa do volume de poros.....	78
Figura 5.19 - Análise dimensional das amostras.....	79
Figura 5.20 - Espectro de FTIR do PVA como recebido e após a primeira e segunda etapas.....	80
Figura 5.21 - Curvas de DSC do PVA como recebido e coletado do leite de pó após a segunda etapa.....	81
Figura 5.22 - Distribuição granulométrica do pó de PVA.....	84

Figura 5.23 - Amostras após o processo de SLS: conjuntos 17 e 20.....	85
Figura 5.24 - Amostras após o processo de SLS: conjuntos 5, 8, 1, 4, 21 e 24.....	85
Figura 5.25 - Micrografias da superfície das amostras: conjuntos 5, 8, 1, 4, 21 e 24. Barra de escala = 200 μm	87
Figura 5.26 - Micrografias da superfície das amostras: conjuntos 9, 12, 13 e 16. Barra de escala = 200 μm	88
Figura 5.27 - Difratoograma obtido por DRX do PVA como recebido e sinterizado (tamanho de partícula 20-74 μm).....	89
Figura 5.28 - Espectro de FTIR do PVA como recebido e sinterizado (tamanho de partícula 20-74 μm).....	90
Figura 5.29 - Difratoograma obtido por DRX do PVA como recebido e sinterizado (tamanho de partícula 20-250 μm).....	91
Figura 5.30 - Espectro de FTIR do PVA como recebido e sinterizado (tamanho de partícula 20-250 μm).....	92
Figura 5.31 - Micrografias da superfície das amostras - conjunto 16: (a) antes e (b) depois da cultura celular. Barra de escala = 500 μm	94
Figura 5.32 - Imagens de MEV de células SaOs-2 após cultura celular por 3 dias: conjuntos 9 e 13 (26 W) e 12 e 16 (32 W). Barra de escala = 20 μm	95
Figura 5.33 - Imagens de MEV de células SaOs-2 após cultura celular por 3 dias: conjuntos 9 e 13 (26 W) e 12 e 16 (32 W). Barra de escala = 10 μm	96
Figura 5.34 - Imagens de MEV de fibroblastos após cultura celular por 3 dias: conjuntos 14 e 15. Barra de escala = 50 μm	97
Figura 5.35 - Imagem de MEV de fibroblastos no interior da amostra após cultura celular por 3 dias. Barra de escala = 50 μm	98
Figura 5.36 - Imagens de MEV de fibroblastos após cultura celular por 6 dias: conjuntos 14 e 15. Barra de escala = 50 μm	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Resumo dos trabalhos de pesquisa do grupo da Nanyang Technological University (CHUA et al., 2004; TAN et al., 2005; WIRIA et al., 2008; WIRIA; LEONG; CHUA, 2010) e do grupo da Central South University (SHUAI et al., 2013a; SHUAI et al., 2013b).....	42
Tabela 4.1 - Parâmetros de processo - primeira etapa.....	47
Tabela 4.2 - Parâmetros de processo - segunda etapa.....	48
Tabela 4.3 - Parâmetros de processo - terceira etapa.....	50
Tabela 5.1 - Densidade de energia - primeira etapa.....	59
Tabela 5.2 - Bandas de absorção características do PVA.....	64
Tabela 5.3 - Estimativa do volume de poros.....	77
Tabela 5.4 - Análise dimensional das amostras.....	79
Tabela 5.5 - Desvios dimensionais das amostras.....	79
Tabela 5.6 - Propriedades térmicas do PVA como recebido e após a segunda etapa.....	81
Tabela 5.7 - Distribuição granulométrica do material PVA.....	83

NOMENCLATURA

3Rs	<i>Replace, Reduce, or Refine</i> (Substituir, Reduzir ou Refinar)
AM	<i>Additive Manufacturing</i> (Manufatura Aditiva)
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
CAD	<i>Computer-Aided Design</i>
CTI	Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer
DRX	Difração de Raios-X
DSC	<i>Differential Scanning Calorimetry</i> (Calorimetria Diferencial de Varredura)
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared spectroscopy</i> (Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier)
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
M_w	Massa molar ponderal média (g/mol)
PA	Poliamida
PUCPR	Pontifícia Universidade Católica do Paraná
PVA	<i>Poly(vinyl alcohol)</i> (Poli(álcool vinílico))
PVAc	Poli(acetato de vinila)
SLS	<i>Selective Laser Sintering</i> (Sinterização Seletiva a Laser)
T_c	Temperatura de cristalização (°C)
TE	<i>Tissue Engineering</i> (Engenharia de Tecidos)
T_g	Temperatura de transição vítrea (°C)
T_m	Temperatura de fusão (°C)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	5
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
3.1 ARCABOUÇOS NA ENGENHARIA DE TECIDOS	6
3.1.1 Propriedades de arcabouços poliméricos.....	8
3.1.2 Poli(álcool vinílico) (PVA)	11
3.2 MÉTODOS CONVENCIONAIS DE FABRICAÇÃO DE ARCABOUÇOS E MANUFATURA ADITIVA.....	15
3.3 SINTERIZAÇÃO SELETIVA A LASER	19
3.3.1 Processo de SLS.....	20
3.3.2 Consolidação do pó de polímeros por SLS	21
3.3.3 Fatores que influenciam o processo de SLS	25
3.4 FABRICAÇÃO DE ARCABOUÇOS DE PVA POR SLS.....	31
3.4.1 SLS de arcabouços de PVA.....	32
3.4.2 SLS na produção de arcabouços de compósitos de PVA e de outros materiais.....	43
4 MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.1 MATERIAL	45
4.2 EQUIPAMENTO DE SINTERIZAÇÃO SELETIVA A LASER.....	45
4.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	47
4.3.1 Primeira etapa	47
4.3.2 Segunda etapa	48
4.3.3 Terceira etapa	49
4.3.4 Cultura celular	50
4.4 CARACTERIZAÇÃO DO PVA E DAS AMOSTRAS SINTERIZADAS.....	52
4.4.1 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	52
4.4.2 Distribuição granulométrica do pó de PVA.....	52
4.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	53

4.4.4	Difração de Raios-X (DRX).....	53
4.4.5	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).53	53
4.4.6	Estimativa do volume de poros.....	54
4.4.7	Análise dimensional.....	54
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1	PRIMEIRA ETAPA.....	56
5.1.1	Caracterização do material PVA.....	56
5.1.2	Fabricação e caracterização do PVA e das amostras após a SLS.....	57
5.2	SEGUNDA ETAPA	63
5.2.1	Caracterização do material PVA.....	63
5.2.2	Fabricação e caracterização do PVA e das amostras após a SLS.....	66
5.3	TERCEIRA ETAPA.....	80
5.3.1	Caracterização do material PVA.....	80
5.3.2	Fabricação e caracterização do PVA e das amostras após a SLS.....	84
5.4	CULTURA CELULAR	94
6	CONCLUSÕES	100
	REFERÊNCIAS.....	102

1 INTRODUÇÃO

Manufatura aditiva (*Additive Manufacturing* - AM) refere-se ao grupo de tecnologias nas quais modelos físicos tridimensionais são construídos através de adição de material, camada por camada, com dados obtidos diretamente de um sistema CAD (*Computer-Aided Design*); cada camada representa uma fina seção transversal da peça obtida a partir dos dados do modelo virtual 3D. Uma das principais vantagens da AM é a possibilidade de produção de peças de geometria complexa, uma vez que máquinas de AM constroem objetos tridimensionais basicamente transformando um problema 3D complexo em uma série de simples seções transversais 2D do modelo 3D com uma espessura nominal (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010).

Devido principalmente à vantagem de serem capazes de fabricar peças com estruturas complexas, as tecnologias de AM possuem uma ampla variedade de aplicações, como na engenharia, manufatura, arquitetura, indústria aeroespacial, automotiva e de joias. Além disso, desempenham um papel cada vez mais importante na indústria biomédica, como no planejamento de cirurgias, na fabricação de implantes e próteses personalizados e de dispositivos para liberação de fármacos, e na engenharia de tecidos (CHUA; LEONG; AN, 2014).

Desde o seu surgimento em meados da década de 1980, a Engenharia de Tecidos (*Tissue Engineering* - TE) continua a evoluir como um campo multidisciplinar visando o desenvolvimento de substitutos biológicos para restaurar, substituir ou regenerar tecidos danificados. Células, fatores de crescimento e arcabouços ou suportes tridimensionais (*scaffolds*) são geralmente referidos como os principais componentes da TE. Os arcabouços, tipicamente produzidos a partir de biomateriais poliméricos, fornecem o suporte estrutural para adesão celular e subsequente desenvolvimento do tecido (CHAN; LEONG, 2008).

Um arcabouço deve ser produzido a partir de um material biocompatível e possuir microestrutura porosa tridimensional com redes de poros interligados, assegurando uma distribuição espacial uniforme das células, sobrevivência, proliferação e migração celular *in vitro*. Os requisitos dos arcabouços para engenharia de tecidos são complexos e específicos da estrutura e função do tecido de interesse.

Por essa razão, a técnica de fabricação do arcabouço deve ser devidamente desenvolvida para produzir um arcabouço com as características desejadas, tais como porosidade, tamanho, formato e distribuição dos poros, taxa de degradação e propriedades mecânicas (YANG et al., 2001).

Apesar de vários métodos de fabricação de arcabouços terem sido relatados, esses métodos possuem limitações como dificuldade no controle de arquitetura interna complexa e reprodutibilidade, além de preocupações em relação à toxicidade devido ao uso de solventes orgânicos em alguns deles (BOURELL; LEU; ROSEN, 2009).

As tecnologias de fabricação controladas por computador, tais como os processos de AM, possuem vantagem sobre as técnicas convencionais de produção de arcabouços devido à capacidade de criar arcabouços com geometria e arquitetura interna complexas com alto grau de automação, boa precisão e reprodutibilidade. Além disso, as tecnologias de AM são promissoras porque permitem o estudo do processamento de uma variedade de biomateriais, uma vez que os materiais comercialmente disponíveis para essas tecnologias não são biocompatíveis e não são adequados para uso direto na fabricação de arcabouços (TAN et al., 2005; BOURELL; LEU; ROSEN, 2009; MOTA et al., 2012).

Portanto, as tecnologias de AM oferecem grande potencial para a fabricação de arcabouços estabelecendo um papel importante na emergente indústria de biofabricação para atender a demanda clínica de tecidos e órgãos humanos para transplante ao se explorar o processamento de biomateriais e materiais biológicos (CHUA; LEONG; AN, 2014).

As tecnologias de AM como a Sinterização Seletiva a Laser (*Selective Laser Sintering* - SLS) foram desenvolvidas na década de 1980 como técnicas de prototipagem rápida. Hoje, a SLS não é somente utilizada em prototipagem, mas também como processo de fabricação final e de ferramental. Esse aumento de aplicações se dá principalmente pela possibilidade de processar uma grande variedade de materiais, resultando em uma variedade de propriedades físicas e mecânicas (KRUTH et al., 2005). Através da SLS é possível produzir arcabouços porosos com formas irregulares, incluindo estruturas contendo canais com interconectividade

completa de poros, com diversos materiais e, no caso de polímeros, é um processo livre de solventes.

O material selecionado para o desenvolvimento desse projeto foi o poli(álcool vinílico) - *poly(vinyl alcohol)* (PVA). Esse polímero apresenta propriedades adequadas para ser utilizado na produção de arcabouços, ou seja, é biocompatível, não tóxico, tem boa hidrofiliabilidade e estabilidade química. Além disso, a SLS desse material já foi realizada por Chua et al. (2004), Tan et al. (2005), Wiria et al. (2008) e Wiria; Leong; Chua (2010) utilizando tamanho de partícula de aproximadamente 50-100 μm , e por Shuai et al. (2013a) e Shuai et al. (2013b) com tamanho de partícula de aproximadamente 20-200 μm . De maneira diferente, na presente tese foi realizado um estudo do processo de SLS utilizando diferentes faixas de tamanho de partícula do pó de PVA: 20-320 μm , 20-250 μm e 20-74 μm .

Além disso, embora a TE tenha como objetivo a regeneração de tecidos, essa tese teve como finalidade o desenvolvimento de conhecimento na produção de arcabouços de TE para estudos *in vitro*, uma área relativamente nova e crescente na qual arcabouços tridimensionais podem ser utilizados para a construção de modelos equivalentes de tecidos 3D para uso em testes de cosméticos, de fármacos ou de substâncias químicas *in vitro* e que também poderia se tornar uma opção na redução de testes em animais.

Sabe-se que as tecnologias na TE podem ser utilizadas para criar modelos de tecidos doentes para estudos terapêuticos, de rastreio de fármacos (*drug screening*) e da biologia de doenças. Existe uma grande atenção no desenvolvimento de modelos de doenças *in vitro*, uma vez que os sistemas *in vitro* bidimensionais (2D) atuais não são capazes de simular ambientes *in vivo* e acabam não conseguindo prever o comportamento celular *in vivo*. As principais limitações dos sistemas 2D incluem a morfologia celular alterada e uma representação imprecisa do ambiente celular 3D dinâmico como ocorre com células *in vivo* (BERGENSTOCK et al., 2010).

Uma vez que um dos desafios é a produção de arcabouços apropriados com materiais adequados, a proposta dessa tese consistiu em investigar o processo de SLS do material PVA para a fabricação de arcabouços para estudos *in vitro*, sendo a SLS uma tecnologia de AM capaz de produzir arcabouços porosos com macro e

microestruturas complexas e uma possível alternativa aos métodos convencionais de fabricação de arcabouços como, por exemplo, moldagem com evaporação de solvente-lixiviação de partículas, eletrofiação ou fiação eletrostática e moldagem por fusão com lixiviação de partículas.

As atividades apresentadas nessa tese foram elaboradas na Pontifícia Universidade Católica do Paraná e desenvolvidas em parceria com o Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer - CTI, situado em Campinas (SP), centro no qual toda a parte experimental foi realizada.

2 OBJETIVOS

O objetivo principal foi investigar o processo de Sinterização Seletiva a Laser (SLS) do material polimérico poli(álcool vinílico) (PVA), através de testes experimentais, tendo como finalidade a produção de arcabouços para serem utilizados em estudos *in vitro*.

Os objetivos específicos foram:

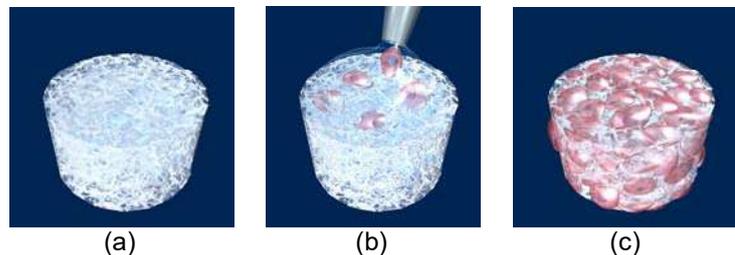
- Investigar a influência dos parâmetros do processo de SLS – potência do laser e número de varreduras do laser – na microestrutura na superfície das amostras e nas propriedades do material PVA (grau de cristalinidade e estabilidade química), utilizando diferentes faixas de tamanho de partícula do pó de PVA (20-320 μm , 20-250 μm e 20-74 μm).
- Realizar testes preliminares de cultura celular *in vitro*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ARCABOUÇOS NA ENGENHARIA DE TECIDOS

Na Engenharia de Tecidos (*Tissue Engineering* - TE), um tecido vivo novo e funcional é construído utilizando células vivas, que são geralmente associadas a uma matriz ou arcabouço para guiar o desenvolvimento do tecido. Células vivas podem migrar para dentro do arcabouço após o seu implante ou podem ser associadas ao arcabouço em cultura celular antes da implantação, como mostrado conceitualmente na Figura 3.1. Tais células podem ser isoladas como células totalmente diferenciadas do tecido que se deseja recriar, ou elas podem ser manipuladas para produzir a função desejada quando isoladas de outros tecidos ou de células tronco (VACANTI; VACANTI, 2014).

Figura 3.1 - Arcabouço (a), deposição de células (b), arcabouço + células (c)



Fonte: Levy (2013).

Um arcabouço pode ser definido como 'um suporte, veículo de liberação, ou matriz para facilitar a migração, adesão, ou transporte de células ou moléculas bioativas utilizadas para substituir, reparar, ou regenerar tecidos' (ASTM F2312-11).

Além do desenvolvimento de substitutos biológicos para restaurar, substituir ou regenerar tecidos danificados, uma outra área importante de aplicação de arcabouços é como uma versão tridimensional (3D) de placas de cultura tradicionais bidimensionais (2D) que são rotineiramente utilizadas em estudos de cultura celular. Existe uma forte demanda por novas plataformas de cultura celular que permitam que células cresçam e respondam ao seu ambiente de maneira mais realista. O desenvolvimento de substratos alternativos 3D para o crescimento celular *in vitro* tem recebido muita

atenção e é amplamente reconhecido que células em cultura 3D crescem em condições que provavelmente representam de maneira mais precisa os ambientes de tecidos *in vivo* a partir dos quais as células cultivadas são derivadas (STAMPELLA et al., 2013).

Os modelos de cultura 2D fornecem informações limitadas no que diz respeito à morfogênese, quimiotaxia e haptotaxia, morfologia celular entre outros (KIVELIO; EHRBAR, 2014).

Para superar as limitações dos modelos 2D, vários modelos *in vitro* 3D estão sendo desenvolvidos para uma variedade de tecidos e órgãos, que levam em conta a organização espacial e a disposição das células. O desenvolvimento desses modelos tem um objetivo comum, que é estabelecer plataformas cientificamente robustas para permitir uma melhor interpretação dos dados além do que simples culturas de células 2D fornecem. Um objetivo mais ambicioso é abordar a relevância fisiológica de um modelo *in vivo*, contribuindo assim ao substituir, reduzir ou refinar (*Replace, Reduce, or Refine* - princípio dos 3Rs) a necessidade do próprio modelo *in vivo*, especialmente os que são baseados em estudos em animais. O uso de animais como modelos experimentais tem claras limitações éticas e científicas e cada vez mais os 3Rs em relação aos modelos animais estão sendo integrados à prática científica moderna (HAYCOCK; AHLUWALIA; WILKINSON, 2014).

Laboratórios do Brasil têm um prazo de até cinco anos, a partir de setembro de 2014, para adotar, obrigatoriamente, 17 métodos alternativos que substituem ou reduzem o uso de animais em testes toxicológicos. Esses 17 métodos servem para, através de ensaios *in vitro*, medir o potencial de irritação e corrosão da pele e dos olhos, fototoxicidade, absorção e sensibilização cutânea, toxicidade aguda e genotoxicidade (MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO, 2014). Além disso, na União Europeia (UE) por exemplo, pele humana construída *in vitro* já substitui animais no processo de aprovação regulatória para testar a corrosividade na pele de fármacos e outros agentes (GRIFFITH; NAUGHTON, 2002). E, ainda, a partir de 2009 os testes em animais para cosméticos foram proibidos na UE conforme a introdução da Sétima Alteração às Diretrizes de Cosméticos (*Seventh Amendment to the Cosmetics Directive*) (KIVELIO; EHRBAR, 2014).

Portanto, embora o objetivo principal da TE seja a reparação ou regeneração de tecido danificado, o maior impacto da TE pode estar no projeto de modelos 3D para estudos *in vitro*. A combinação cada vez mais próxima de engenharia e biologia oferece a perspectiva de modelos fisiológicos *in vitro* sofisticados de vários tecidos humanos diferentes (GRIFFITH; NAUGHTON, 2002).

A TE *in vitro* com estruturas e funções comparáveis aos órgãos vivos poderia ser utilizada para modelos de teste de fármacos. Geralmente, uma monocamada de células é utilizada como o modelo *in vitro* em processos farmacêuticos. No entanto, é difícil de se obter respostas de tecidos a partir de modelos de células em monocamadas que não têm uma estrutura 3D como tecidos vivos. Basicamente, ensaios farmacêuticos são realizados por experimentos em animais, mas a baixa reprodutibilidade e diferenças específicas de espécies na fisiologia, atividade metabólica e função celular permanecem questões não resolvidas (KIVELIO; EHRBAR, 2014).

Além disso, as tecnologias na TE podem ser utilizadas para criar modelos 3D de tecido doente para o estudo da biologia de doenças. A utilização de arcabouços para construir modelos de tumores 3D *in vitro* tem sido bem sucedida (CAICEDO-CARVAJAL et al., 2011).

Os arcabouços podem ser de materiais metálicos, cerâmicos, poliméricos, naturais ou compósitos. Eles geralmente são porosos mas podem ser sólidos. Podem variar de mecanicamente rígidos à gelatinosos e podem ser absorvíveis/degradáveis ou não reabsorvíveis/não degradáveis. Podem ou não possuir tratamento da superfície (ASTM F2150-13).

3.1.1 Propriedades de arcabouços poliméricos

Um arcabouço polimérico adequado para TE deve apresentar as seguintes características (HUTMACHER, 2001; UNGARO et al., 2005):

- estrutura tridimensional e altamente porosa com rede de poros interligada;
- o material deve ser biocompatível, não estimulando reação imunológica ao organismo;

- integridade mecânica para os tecidos, atuando como um suporte para o crescimento de tecido novo e propriedades mecânicas que correspondam às propriedades mecânicas dos tecidos no local da implantação;

- Ser facilmente processado para formar uma variedade de formatos e tamanhos.

A arquitetura dos poros dos arcabouços pode contribuir consideravelmente para o desenvolvimento de funções biológicas específicas nos tecidos e para proporcionar condições nutricionais adequadas e organização espacial para o crescimento celular. A microestrutura altamente porosa com redes de poros interconectados é importante para assegurar a distribuição espacial uniforme das células, a sobrevivência, proliferação e migração celular *in vitro*. A porosidade do arcabouço e o grau de interconectividade dos poros afetam diretamente a difusão de nutrientes e gases e a remoção de resíduos metabólicos e subprodutos de células que se encontram dentro do arcabouço (LEONG; CHEAH; CHUA, 2003).

Além disso, o tamanho médio dos poros é também importante para a sobrevivência e proliferação celular uma vez que a natureza variada de tecidos requer diferentes tamanhos de poros ideais para diferentes tipos de tecido. Poros grandes permitem o fornecimento eficaz de nutrientes, a difusão de gás e a remoção de resíduos metabólicos, mas levam à baixa adesão celular e sinalização intracelular. Poros pequenos, no entanto, têm efeitos opostos. Conseqüentemente, a construção de arcabouços contendo macroporos e microporos pode proporcionar o suporte físico essencial para o crescimento celular (STAMPELLA et al., 2013).

No caso de arcabouços para implante, além de se ajustarem ao defeito anatômico, devem fornecer suporte mecânico temporário suficiente para suportar tensões e cargas *in vivo*, principalmente na reconstrução de tecidos rígidos como ossos e cartilagens, após a implantação. O ideal seria o arcabouço ser projetado com taxa de degradação e reabsorção tal que a sua resistência seja mantida até que seja totalmente acomodado pelo tecido hospedeiro e possa assumir o seu papel estrutural (HUTMACHER, 2001; YANG et al., 2001; WIRIA et al., 2007).

A maioria dos polímeros biodegradáveis pode não ser apropriada para a cultura celular *in vitro*. No estudo da proliferação, diferenciação e função celular, é importante utilizar uma matriz 3D fabricada com material apropriado que resista ao ataque

enzimático, evitando assim a biodegradação (STAMPELLA et al., 2013). Durante a cultura *in vitro*, os arcabouços devem ter resistência mecânica suficiente para manter os espaços necessários para o crescimento das células e para a elaboração da matriz. Além disso, a morfologia e propriedades físico-químicas (que dependem do material) da superfície do arcabouço são fatores importantes que influenciam a adesão celular, migração e sinalização intracelular *in vitro* (LEONG; CHEAH; CHUA, 2003).

A adesão celular é um processo complexo, influenciado por diversos aspectos, como o comportamento celular, fatores do ambiente, propriedades do arcabouço e propriedades do material. A hidrofobicidade do material, por exemplo, pode estar relacionada com a taxa de espalhamento e diferenciação celular (CHANG; WANG, 2011). Se os arcabouços são muito hidrofóbicos, o caminho das células para dentro do arcabouço pode ser mais difícil.

Deve-se notar que, ao contrário dos materiais rígidos e hidrofóbicos tradicionalmente utilizados como superfícies aderentes para cultura de células, os tecidos biológicos são hidrofílicos e elásticos. Sabe-se que a rigidez do substrato modula a motilidade e espalhamento celular, e através de alterações no formato da célula é capaz de modular a expressão do gene. Abordagens no projeto de arcabouços visam criar estruturas 3D porosas com módulos elásticos próximos aos dos tecidos biológicos (STAMPELLA et al., 2013).

A rugosidade da superfície do arcabouço (topografia) é outro fator importante que influencia a adesão e o comportamento celular. A rugosidade superficial tem uma influência direta sobre a morfologia celular, proliferação e expressão fenotípica *in vitro*. A resposta das células a superfícies rugosas ou lisas é diferente dependendo do tipo de célula (CHANG; WANG, 2011).

Essas propriedades importantes são determinadas não apenas pelos materiais selecionados, mas também pelos métodos de fabricação do arcabouço. Portanto, tanto a escolha do material como o método de fabricação são de muita importância para a criação de uma plataforma 3D simples, robusta e eficaz de modo que as respostas celulares serão mais representativas das que estão sob condições *in vivo* (STAMPELLA et al., 2013).

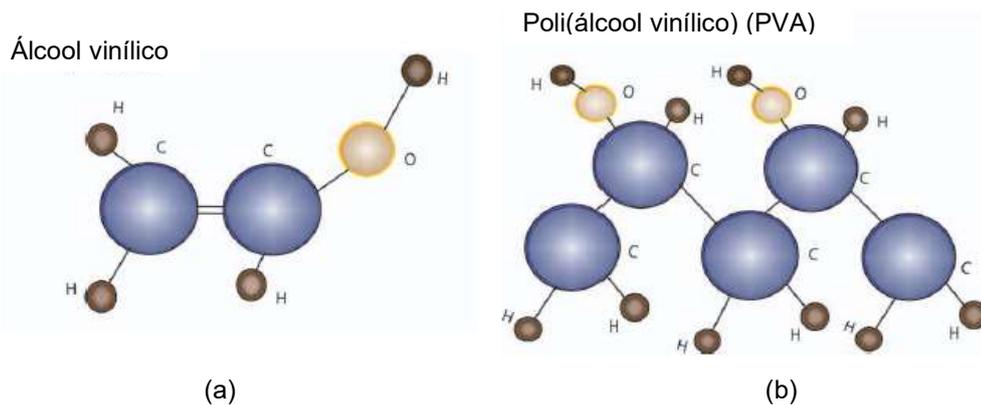
Polímeros e compósitos são os materiais mais investigados para TE e aplicações em medicina regenerativa. A razão é que alguns desses materiais podem se degradar em intermediários metabólicos no corpo humano, eliminando potencialmente muitos problemas associados a implantes permanentes (CHUA; LEONG; AN, 2014).

Como mencionado anteriormente, a seleção de um material adequado representa um desafio no desenvolvimento de arcabouços tridimensionais e o projeto do arcabouço e o método de fabricação irão desempenhar um papel importante nas propriedades do arcabouço. O material selecionado nesse projeto foi o poli(álcool vinílico) (PVA) que é apresentado na sequência.

3.1.2 Poli(álcool vinílico) (PVA)

O PVA é um polímero sintético linear, solúvel em água, que possui uma estrutura química relativamente simples com grupos hidroxila pendentes (Figura 3.2-b). O seu monômero, álcool vinílico, é quimicamente instável e não pode ser isolado (Figura 3.2-a) (HASSAN; PEPPAS, 2000).

Figura 3.2 - Estrutura do álcool vinílico (a), estrutura do PVA (b)



Fonte: adaptado de Baker et al. (2012).

Portanto, o PVA é produzido por meio da polimerização do acetato de vinila em poli(acetato de vinila) (PVAc), seguida por hidrólise do PVAc em PVA (Figura 3.3) (HASSAN; PEPPAS, 2000).

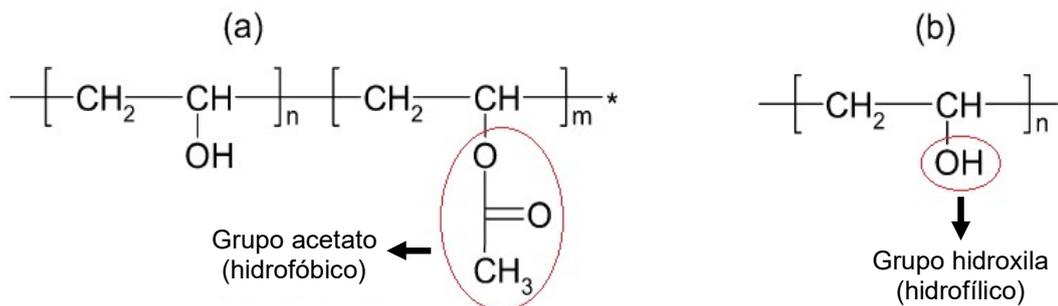
Figura 3.3 - Produção de PVA



Fonte: A autora (2017).

A hidrólise resultante do poli(acetato de vinila) remove os grupos acetato das moléculas de PVAc. A reação de hidrólise pode produzir tanto PVA totalmente hidrolisado quanto parcialmente hidrolisado (Figura 3.4). A manipulação das condições de reação é utilizada para controlar a porcentagem de hidrólise do polímero e seu comprimento de cadeia (JONES; BROWN; MARTIN, 2004; BAKER et al., 2012). O PVA parcialmente hidrolisado pode ser considerado copolímero de álcool vinílico e acetato de vinila, enquanto o totalmente hidrolisado pode ser considerado homopolímero.

Figura 3.4 - Estrutura do PVA - (a) parcialmente hidrolisado e (b) totalmente hidrolisado



Fonte: adaptado de Jones, Brown e Martin (2004).

Os níveis típicos de hidrólise podem variar entre 80% e mais de 99%. O grau de hidrólise, ou o teor de grupos acetato no polímero, e o grau de polimerização determinam as características físicas, propriedades químicas e mecânicas do PVA. O polímero PVA resultante é altamente solúvel em água mas resistente à maioria dos solventes orgânicos (BAKER et al., 2012).

As propriedades físicas do PVA, tais como solubilidade em água, permeabilidade a gases e características térmicas variam com o grau de cristalinidade, que é fortemente dependente do grau de hidrólise e da massa molar média do polímero. O PVA parcialmente hidrolisado contém grupos acetato residuais, que reduzem o grau de

cristalinidade. Isso resulta em materiais com menor resistência e maior solubilidade em água do que o PVA totalmente hidrolisado (HODGKINSON; TAYLOR, 2000). É importante notar que quanto maior a cristalinidade, maiores são a densidade, rigidez, estabilidade dimensional, resistência química, resistência à abrasão, temperatura de fusão (T_m) e temperatura de transição vítrea (T_g) do polímero (CANEVAROLO, 2013).

Portanto, a solubilidade do PVA em água depende do grau de hidrólise e do grau de polimerização, com o efeito do primeiro sendo especialmente significativo. Alguns tipos de PVA com graus de hidrólise mais elevados (> 98%) só são solúveis em água quente (50-100 °C) e formam filmes que são insolúveis em água a temperaturas mais baixas. Em contraste, os tipos de PVA com graus de hidrólise na faixa de 75-98% são facilmente solúveis em água. A massa molar é outro fator que afeta a solubilidade do PVA e o quanto ela influencia está relacionado ao grau de hidrólise. A solubilidade do PVA altamente hidrolisado aumenta à medida que a massa molar diminui enquanto a solubilidade do PVA menos hidrolisado é relativamente independente da massa molar (CHAN; HAO; HENG, 1999).

Embora a síntese do polímero seja muito simples e a hidrólise muito eficiente, é difícil e, portanto, dispendioso controlar precisamente a massa molar ponderal média (M_w) e a hidrólise durante a fabricação, resultando em uma distribuição de massa molar bastante larga (JONES; BROWN; MARTIN, 2004).

Devido à sua solubilidade em água, o PVA precisa ser reticulado (*cross-linked*) para formar hidrogéis para uso em várias aplicações, especificamente nas áreas de medicina e ciências farmacêuticas. Um hidrogel pode ser descrito como um polímero reticulado hidrofílico que incha quando colocado em água ou fluidos biológicos. No entanto, permanece insolúvel e, assim, estruturalmente estável em solução devido à presença de ligações cruzadas (HASSAN; PEPPAS, 2000; BAKER et al., 2012).

Os hidrogéis de PVA têm certas características que os tornam bons candidatos para biomateriais: são biocompatíveis, não tóxicos, não carcinogênicos, bioadesivos e possuem baixa adsorção de proteínas, além de alta solubilidade em água, resistência química e facilidade de processamento. Além disso, exibem um alto grau de inchamento em água (ou fluidos biológicos) e natureza elástica. Devido a essas

propriedades, o PVA é capaz de simular o tecido natural e pode ser utilizado no corpo (HASSAN; PEPPAS, 2000; BAKER et al., 2012).

O PVA possui grupos hidroxila pendentes disponíveis que atuam como locais de adesão para moléculas biológicas. Além de possuir múltiplos locais de adesão, o PVA é também elástico e, assim, pode induzir a orientação das células ou a síntese de matriz através do aumento da transmissão de estímulos mecânicos para as células implantadas. O PVA não é aderente às células e proteínas, mas pode se tornar por conjugação com fatores biológicos (SLAUGHTER et al., 2009).

O PVA de uso farmacêutico contém menos solvente e impurezas químicas, caso contrário seria idêntico ao material produzido para uso industrial. O PVA foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para administração ocular, auricular, tópica e oral. A utilização de PVA dentro de formulações farmacêuticas é como agente modificador de viscosidade em colírios, formulações ou soluções tópicas. Além disso, utiliza-se o PVA na película de revestimento de comprimidos (entéricos e de liberação modificada) (JONES; BROWN; MARTIN, 2004).

Além disso, o hidrogel de PVA tem sido utilizado em lentes de contato macias e mostrou ter potencial em aplicações como substituição de tecidos moles, revestimentos para cateteres, pele artificial, pâncreas artificial e membranas de hemodiálise (HASSAN; PEPPAS, 2000). Uma das aplicações em TE mais bem sucedidas do PVA foi para tecido avascular. Os hidrogéis de PVA são mais resistentes que a maioria dos hidrogéis sintéticos, possuem baixo coeficiente de atrito e propriedades estruturais semelhantes à cartilagem natural (SLAUGHTER et al., 2009). Isso torna o PVA uma alternativa sintética à substituição da cartilagem natural e está facilmente disponível em comparação com o transplante de cartilagem, que tem disponibilidade limitada e preocupações com transmissão de doenças (BAKER et al., 2012).

Além de aplicações médicas, o PVA é utilizado em uma variedade de aplicações industriais, comerciais e em alimentação (JONES; BROWN; MARTIN, 2004). O PVA é comumente usado nas indústrias têxteis, para a fabricação de produtos de papel e na indústria de embalagens de alimentos (aprovado pela FDA para estar em contato com produtos alimentares). É utilizado como produto industrial e comercial devido ao seu

baixo impacto ambiental, o que inclui sua alta resistência química, solubilidade aquosa e biodegradabilidade (BAKER et al., 2012).

O PVA não é considerado um termoplástico, uma vez que a temperatura de degradação está abaixo do ponto de fusão (MARTEN, 2002). As características de degradação térmica do PVA limitam a sua capacidade de ser utilizado como um termoplástico convencional. O PVA sem plastificante se degrada termicamente a temperaturas de aproximadamente 150 °C, com a liberação de água e a formação de ligações duplas conjugadas. Como o ponto de fusão do PVA varia de 180 °C a 240 °C, a sua utilização como um termoplástico é limitada, a menos que possa ser plastificado, com adição de plastificante, de tal forma que a desidratação térmica seja evitada (HODGKINSON; TAYLOR, 2000).

O PVA, um polímero semi-cristalino, biodegradável, biocompatível e bioinerte, possui boa hidrofiliabilidade (devido aos grupos funcionais hidroxilas na sua estrutura molecular), excelente estabilidade química e flexibilidade. A T_m e a T_g dependem do grau de reticulação, e a T_m varia de 220 °C a 240 °C e a T_g varia de 58 °C a 85 °C para PVA parcialmente e totalmente hidrolisado, respectivamente; mas diminui na presença de água (CHUA et al., 2004; TAN et al., 2005; SHUAI et al., 2013a). O PVA é disponibilizado comercialmente na forma granular e de pó com uma grande variedade de massas molares e graus de hidrólise. Essas características tornam o PVA um material interessante a ser estudado na fabricação de arcabouços por Sinterização Seletiva a Laser (SLS) para a TE, como uma alternativa aos métodos convencionais de fabricação de arcabouços, apresentados na sequência.

3.2 MÉTODOS CONVENCIONAIS DE FABRICAÇÃO DE ARCABOUÇOS E MANUFATURA ADITIVA

Entre os métodos convencionais de produção de arcabouços poliméricos mais comuns podem ser citados moldagem com evaporação de solvente-lixiviação de partículas (*solvent casting-particulate leaching*), eletrospinning ou fiação eletrostática (*electrospinning*), e moldagem por fusão com lixiviação de partículas (*melt molding-particulate leaching*) (LEONG; CHEAH; CHUA, 2003; PUPPI et al., 2010).

No processo de moldagem com evaporação de solvente-lixiviação de partículas uma solução de polímero é colocada em um molde preenchido com partículas de agente porogênico, depois o solvente evapora e o agente porogênico é finalmente lixiviado. No processo de eletrofiação um campo elétrico é aplicado entre a agulha de uma seringa e um coletor. Quando o campo elétrico atinge um valor crítico ocorre a ejeção de uma solução polimérica da ponta da agulha lançada contra o coletor. Durante o trajeto em direção ao coletor, ocorre diminuição do diâmetro da fibra seguido por evaporação do solvente, levando à formação de nano/microfibras. Por causa da aleatoriedade do jato de fibra, uma malha fibrosa altamente porosa é coletada. Na técnica de moldagem por fusão com lixiviação de partículas, um molde preenchido com pó de polímero e agente porogênico é aquecido acima da T_g do polímero e é aplicada uma pressão à mistura, fazendo com que as partículas do polímero se unam. Uma vez que o molde é removido, o agente porogênico é lixiviado resultando, assim, em uma estrutura porosa (PUPPI et al., 2010).

Embora arcabouços poliméricos porosos produzidos convencionalmente tenham sido aplicados na engenharia de uma variedade de tecidos, a maioria possui limitações que restringem seu escopo de aplicações. Isso porque os métodos convencionais: 1) são baseados em processos manuais que muitas vezes resultam em má repetibilidade, 2) oferecem pouca capacidade de controlar com precisão o tamanho, a geometria, interconectividade e distribuição dos poros, 3) possuem dificuldade na construção de canais internos nos arcabouços, 4) não são capazes de construir formatos 3D personalizados, 5) alguns utilizam agente porogênico, limitando a espessura do arcabouço em 2 mm para facilitar a sua remoção, 6) alguns envolvem o uso de solventes orgânicos tóxicos a fim de converter o material em forma de grânulos, *pellets* ou pós no formato final do arcabouço; a remoção incompleta de solventes resultará em resíduos nocivos que possuem efeitos prejudiciais sobre células aderentes ou tecidos próximos (LEONG; CHEAH; CHUA, 2003; BOURELL; LEU; ROSEN, 2009).

Por exemplo, na moldagem com evaporação de solvente-lixiviação de partículas, além da utilização de solventes orgânicos, é difícil impedir a aglomeração de partículas do agente porogênico e fazer com que elas se dispersem de maneira uniforme. No caso da eletrofiação, o espaço entre as fibras pode ser tão pequeno a ponto de limitar a

infiltração de células para dentro do arcabouço. Na moldagem por fusão com lixiviação de partículas, assim como na moldagem com evaporação de solvente, os arcabouços resultam no formato do molde e são limitados pela complexidade no projeto e construção do molde, além da possibilidade de agente porogênico residual (PUPPI et al., 2010).

Para contornar essas limitações, tecnologias de manufatura aditiva (*Additive Manufacturing* - AM) podem ser aplicadas como uma alternativa aos métodos convencionais de fabricação de arcabouços para TE.

AM é definida como um processo de união de materiais para a fabricação de objetos a partir de dados de um modelo 3D, geralmente camada sobre camada, em oposição aos processos de manufatura subtrativa, nos quais há remoção de material (ASTM F2792 - 12a).

A AM é composta por uma variedade de tecnologias que são capazes de transformar dados de um modelo virtual em modelos físicos. Os dados são divididos em uma série de seções transversais 2D de espessura finita. Essas seções transversais são inseridas em máquinas de AM para que elas possam ser combinadas, adicionando-as em uma seqüência camada a camada para formar a peça física. A geometria da peça é então reproduzida na máquina de AM. Uma das principais vantagens da AM é a possibilidade de produção de peças de geometria complexa; a AM é mais vantajosa quanto mais complexa a geometria da peça (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010).

No caso da TE, as tecnologias de AM possuem potencial para produzir arcabouços porosos com macro e microestruturas altamente complexas. Entre as suas vantagens estão: 1) a utilização direta de modelos CAD permite o projeto de arcabouços personalizados - dados específicos do paciente e propriedades estruturais do arcabouço necessárias para a regeneração de tecidos específicos podem ser incorporados ao projeto do arcabouço via CAD; 2) o uso de CAD também permite o projeto de arcabouços com microestrutura anisotrópica tendo o controle sobre morfologias de poros localizados e porosidades através da incorporação de diferentes características macro e microscópicas em diferentes regiões do mesmo arcabouço, sendo vantajoso em aplicações onde múltiplos tipos de células são necessários; 3) são processos de fabricação automatizados controlados por computador, que permitem

uma produção de alto rendimento e a criação de morfologias de poros altamente precisas; 4) as tecnologias de AM incluem processos livres de solvente e/ou agente porogênico e algumas podem permitir a incorporação de agentes farmacêuticos e biológicos nos arcabouços durante a fabricação (LEONG; CHEAH; CHUA, 2003).

Dessa forma, as tecnologias de AM podem contribuir na fabricação de arcabouços para TE e têm sido muito estudadas para isso.

O processo completo de AM inclui a criação e fatiamento de um modelo virtual seguido pelo processo de fabricação camada por camada, resultando no modelo físico tridimensional. O processo geral de produção de peças tem basicamente oito passos (Figura 3.5).

Figura 3.5 - Os oito passos do processo de AM



Fonte: adaptado de Gibson, Rosen e Stucker (2010).

Os passos aplicados às tecnologias de AM comerciais são: 1) criação de um modelo virtual da peça utilizando um sistema CAD; 2) conversão do arquivo CAD para o formato STL (de *StereoLithography*) que permite o fatiamento virtual do modelo (o STL, formato de arquivo padrão para a AM, aproxima as superfícies do modelo com uma série de facetas triangulares); 3) transferência do arquivo STL para a máquina de AM e

o seu fatiamento virtual em camadas, com cada uma representando uma seção transversal do modelo; 4) *setup* da máquina com relação aos parâmetros de processo; 5) processo de construção da peça por camadas; 6) remoção e limpeza da peça; 7) pós-processamento da peça como processos de acabamento, infiltração ou revestimento da superfície, quando necessário; 8) aplicação como em testes funcionais, para fins de visualização ou como peça final por exemplo (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010; CHUA; LEONG; AN, 2014).

Entre as tecnologias de AM que foram ou ainda são investigadas na produção de arcabouços para engenharia de tecidos estão: Estereolitografia (*Stereolithography* - SL) tecnologia baseada em fotopolímero líquido, Impressão 3D (*3D Printing* - 3DP) tecnologia baseada em material em pó e aglutinante, Modelagem por Fusão e Deposição (*Fused Deposition Modeling* - FDM) tecnologia baseada em extrusão de material e Sinterização Seletiva a Laser (*Selective Laser Sintering* - SLS) tecnologia baseada em material em pó. O processo de SLS é apresentado na sequência.

3.3 SINTERIZAÇÃO SELETIVA A LASER

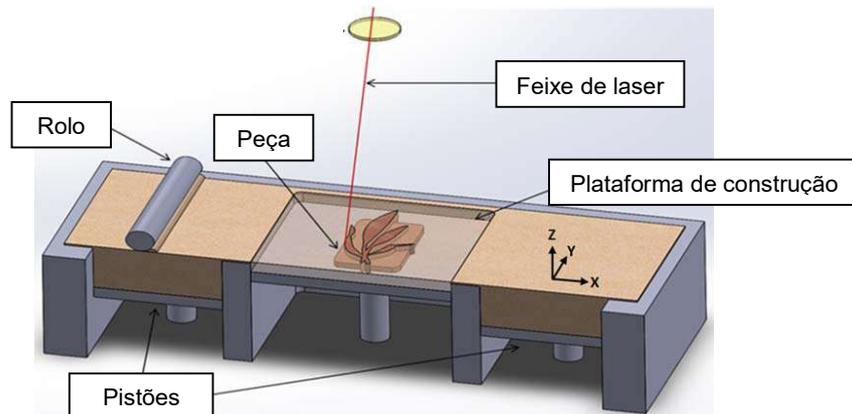
Nos últimos 25 anos, várias tecnologias de AM foram desenvolvidas e se tornaram opções viáveis para aplicações em prototipagem e produção. Entre essas tecnologias, a SLS de polímeros é uma das mais promissoras devido à sua capacidade de construir peças geometricamente complexas e precisas com boa resistência mecânica. As máquinas comerciais de SLS de polímeros são produzidas apenas por algumas empresas, sendo as principais 3D Systems, Inc. (EUA) e EOS GmbH (Alemanha) (BOURELL et al., 2014).

Criada na década de 1980 na Universidade do Texas em Austin, EUA, a SLS utiliza um feixe de laser para sinterizar ou fundir materiais em pó para produzir objetos sólidos tridimensionais. Uma das principais vantagens da SLS em relação às outras tecnologias de AM é que a SLS permite a construção de peças utilizando vários tipos de materiais, incluindo polímeros, metais e vários tipos de compósitos (metal-metal, metal-polímero, polímero-cerâmica, metal-cerâmica). Além disso, não é necessário a utilização de estruturas de suporte.

3.3.1 Processo de SLS

Uma ilustração do processo é apresentada na Figura 3.6. O processo é descrito na sequência (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010).

Figura 3.6 - Ilustração do processo de SLS



Fonte: adaptado de Bourell et al. (2014).

No processo de SLS ocorre a fusão de camadas de pó que foram previamente espalhadas na plataforma de construção. Cada camada representa a seção transversal 2D fatiada do modelo 3D com uma espessura nominal. Uma vez que uma camada de pó foi espalhada, um feixe de laser de CO_2 é direcionado para o leito de pó e move-se de maneira que ele funde o material para formar a geometria da seção transversal fatiada do modelo 3D. Depois de completar uma camada, a plataforma de construção se move para baixo, na medida da espessura da camada, e uma nova camada de pó é espalhada e nivelada. O feixe de laser varre a fatia da seção transversal sinterizando essa camada e aderindo-a à anterior e esse processo se repete até a completa construção da peça.

Normalmente, após o processo, é necessário um período de resfriamento para permitir que as peças cheguem a uma temperatura suficientemente baixa de maneira uniforme para poderem ser manuseadas e expostas à temperatura ambiente e à atmosfera. Caso contrário, se as peças ou o leito de pó são expostos à temperatura ambiente e atmosfera antes do período de resfriamento, o pó pode se degradar na presença de oxigênio e as peças podem deformar devido a uma contração térmica não

uniforme. Finalmente, as peças são removidas do leito de pó, o pó não sinterizado é retirado das peças e operações de acabamento adicionais são realizadas, se necessário.

O processo de construção ocorre dentro de uma câmara fechada preenchida com gás inerte, como o nitrogênio, para minimizar a oxidação e degradação do material em pó. O pó na plataforma de construção é mantido a uma temperatura elevada logo abaixo da T_m e/ou T_g .

3.3.2 Consolidação do pó de polímeros por SLS

A consolidação através de laser de polímeros geralmente envolve a fusão de termoplásticos (fusão parcial ou total). Quando aquecidos a partir de temperaturas baixas para muito elevadas, esses materiais termoplásticos irão mudar de uma estrutura rígida para uma estrutura mais macia e finalmente se transformar em um fluido viscoso (KRUTH et al., 2008).

Em teoria, qualquer material em forma de pó que funde quando aumenta a temperatura pode ser processado por SLS. No entanto, dependendo do tipo de consolidação por laser aplicado, o pó pode nem sempre ser consolidado em uma densidade total ou pode nem mesmo ser processável. Os mecanismos de consolidação que podem ocorrer durante o aquecimento a laser na SLS incluem sinterização por fase líquida e fusão parcial, e fusão total (KRUTH et al., 2008).

A sinterização por fase líquida inclui vários mecanismos de ligação nos quais parte do material em pó é fundido enquanto outras partes permanecem sólidas. O material liquefeito se espalhará entre as partículas sólidas quase que instantaneamente, uma vez que é conduzido por intensas forças capilares. O material que funde pode ser diferente do que permanece sólido: um material de baixo ponto de fusão (ligante/aglutinante) e um material de alto ponto de fusão (material estrutural) (KRUTH et al., 2007).

A fusão parcial ocorre quando o calor fornecido a uma partícula de pó é insuficiente para fundir a partícula inteira, apenas uma casca na borda do grão é fundida. O centro do grão permanece sólido. Dessa maneira, o material fundido atuará

como um ligante entre os centros de partículas não fundidos. A fusão parcial também pode ocorrer quando se utiliza um único material em pó com uma distribuição bimodal: partículas pequenas são fundidas, enquanto as maiores permanecem sólidas (KRUTH et al., 2007).

A fusão total é principalmente associada à ligas metálicas de engenharia e polímeros semi-cristalinos, quando toda a região de material submetido a energia térmica é fundida a uma profundidade que excede a espessura da camada. A energia térmica de varreduras subsequentes do laser é usualmente suficiente para fundir mais uma vez uma porção da estrutura sólida previamente solidificada. Como resultado, a fusão total é muito eficaz na criação de estruturas bem ligadas e de alta densidade a partir de polímeros e metais de engenharia. No entanto, temperaturas elevadas associadas à fusão total resultam em aumento da peça e assim muitos estudos para otimização de precisão versus resistência resultam em parâmetros que estão no limite entre fusão total e sinterização por fase líquida (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010).

Portanto, o tipo de consolidação aplicável basicamente depende do material sendo processado. Por exemplo, sinterização por fase líquida ou fusão parcial pode ocorrer com poliestireno (PS) e fusão total com poliamida (PA) (KRUTH et al., 2007).

A consolidação do pó de polímero semi-cristalino é descrita a seguir com base no trabalho de pesquisa realizado por Kruth et al. (2008).

Polímeros semi-cristalinos possuem um intervalo de T_g e um intervalo distinto de T_m na qual ocorre uma alteração de volume significativa. A consolidação a laser de pós de polímeros semi-cristalinos acontecerá por aquecimento acima de T_m .

Materiais semi-cristalinos possuem uma estrutura molecular altamente ordenada com pontos de fusão precisos. Eles não amolecem gradualmente com um aumento de temperatura, eles permanecem rígidos até uma determinada quantidade de calor ser absorvida. Em seguida, se tornam rapidamente um líquido viscoso e o polímero fundido flui entre as partículas de pó. Com calor suficiente, a camada completa está totalmente fundida e sobrepõe-se à camada anterior.

À medida que o polímero fundido resfria abaixo de T_m , cristais poliméricos nucleiam e crescem, recriando regiões de cadeias moleculares ordenadas (cristalitos) misturadas à regiões amorfas desordenadas. Acima de T_m , o polímero apresenta uma

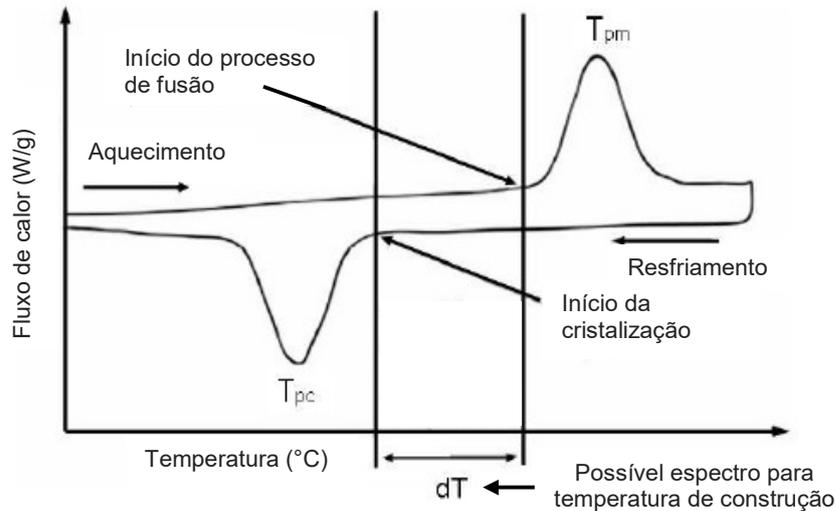
viscosidade relativamente baixa, em comparação com polímeros amorfos, o que favorece a taxa e a quantidade de consolidação. A densidade obtida será próxima a densidade total e as propriedades mecânicas serão próximas às de polímeros moldados.

O resfriamento do polímero em T_m coincide com uma importante contração, encolhimento (fenômeno que não ocorre com polímeros amorfos), que pode causar imprecisões geométricas e distorção da peça. Preferencialmente o pó deve ser pré-aquecido e pós-aquecido a uma temperatura entre a de cristalização e a de fusão. Dessa forma, não ocorrerá uma contração maior e localizada durante a fusão e, portanto, a distorção da peça pode ser evitada; a contração ocorrerá de maneira uniforme quando a peça é lentamente resfriada após o processo de construção ter terminado. Para facilitar o controle do pré e pós-aquecimento e da contração, recomenda-se ter um certo intervalo de temperaturas entre os picos de cristalização e de fusão apresentados em um gráfico de calorimetria diferencial de varredura (DSC).

As temperaturas de transição e o intervalo de fusão dos polímeros podem ser avaliados em um gráfico de DSC. É medida a diferença na quantidade de calor necessária para aumentar a temperatura de uma amostra do polímero e de um cadinho de referência em função da temperatura. A Figura 3.7 mostra um gráfico de DSC típico do material PA 12. Ela mostra um pico de fusão durante o ciclo de aquecimento e um pico de recristalização durante o ciclo de resfriamento.

Alguns polímeros semi-cristalinos são capazes de cristalizar mais rápido do que outros, como resultado das suas estruturas de cadeia. A taxa de cristalização é mínima perto de T_g e T_m , e alcança um máximo entre essas duas temperaturas. Ela deve ser mantida relativamente lenta, a fim de evitar a distorção da peça devido à contração pelo gradiente de resfriamento nas camadas superiores. Obtém-se então boa cristalização e contração uniforme mantendo o leito de pó a uma temperatura elevada por um período de tempo longo o suficiente após a sinterização.

Figura 3.7 - Curva de DSC para fusão e cristalização do material PA 12



Fonte: adaptado de Kruth et al. (2008).

Além disso, segundo Bourell et al. (2014), tipicamente, a temperatura do leito de pó é mantida entre 2 °C e 4 °C (dependendo do material) abaixo do pico de fusão. Isso reduz a energia do laser necessária para fundir o pó e também evita que o polímero fundido se cristalice, causando contração localizada na solidificação e distorção da peça. Se a temperatura do leito de pó for muito alta, a fusão de regiões de baixa massa molar resultará em "*hard part cake*" e pouca precisão dimensional. Se a temperatura do leito for muito baixa, a fusão insuficiente pode resultar em alta porosidade da peça, ou pode ocorrer cristalização resultando em uma peça empenada.

O gráfico de DSC de um material termoplástico processável por SLS deve apresentar as seguintes características: um estreito intervalo de fusão (pico de fusão estreito na curva de aquecimento), picos de fusão e de recristalização não sobrepostos e deve evitar duplos picos de fusão. Um pó com taxa de recristalização lenta, tal como representado por picos endotérmicos e exotérmicos não sobrepostos ou ligeiramente sobrepostos durante as respectivas fases de aquecimento e resfriamento da análise por DSC, pode resultar em peças quase totalmente densas com mínima distorção, enquanto picos altamente sobrepostos irão produzir resultados ruins (KRUTH et al., 2008).

3.3.3 Fatores que influenciam o processo de SLS

O uso de parâmetros de processo adequados é muito importante na produção de peças no processo de SLS. Os parâmetros de processo podem ser separados em quatro categorias (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010):

- parâmetros relacionados ao laser (potência, tamanho de *spot*, duração do pulso, frequência do pulso);
- parâmetros relacionados à varredura do laser (velocidade, espaçamento entre as varreduras, número de varreduras e estratégia);
- parâmetros relacionados ao pó (formato das partículas, tamanho e distribuição, densidade do leito de pó, espessura da camada, propriedades do material);
- parâmetros relacionados à temperatura (do leito de pó, dos alimentadores de pó, uniformidade da temperatura).

3.3.3.1 Parâmetros do processo

A temperatura do leito de pó, potência do laser, velocidade de varredura e espaçamento entre as varreduras do laser (a distância entre dois vetores de varredura adjacentes e paralelos) devem ser combinados de modo que seja fornecido o melhor equilíbrio entre precisão dimensional, acabamento superficial, taxa de construção e propriedades mecânicas. A temperatura do leito de pó deve ser mantida uniforme e constante para obter resultados repetíveis. Em geral, as combinações de alta potência de laser/alta temperatura do leito de pó produzem peças densas, mas podem resultar no crescimento da peça e pouca reciclabilidade do pó não processado. Por outro lado, as combinações de baixa potência do laser/baixa temperatura do leito de pó produzem melhor precisão dimensional, mas resultam em menor densidade de peças e maior tendência para delaminação de camadas. A alta potência do laser combinada com baixa temperatura do leito de pó resulta em maior tendência para o encolhimento, contração não uniforme e a acumulação de tensões residuais que levam ao empenamento das peças (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010).

A potência do laser, o tamanho de *spot*, a velocidade de varredura e temperatura do leito de pó juntos estabelecem a entrada de energia necessária para fundir o pó. Quanto mais tempo o laser permanece em um local específico, mais fundo a profundidade de fusão e maior o diâmetro da poça de fusão. Potências do laser mais baixas requerem o uso de velocidades de varredura mais baixas, a fim de garantir a fusão adequada das partículas. O tamanho da poça de fusão é altamente dependente do ajuste entre potência do laser, velocidade de varredura, tamanho de *spot* e temperatura do leito de pó. O espaçamento entre as varreduras deve ser selecionado para assegurar um grau suficiente de sobreposição da poça de fusão entre linhas adjacentes de material fundido para garantir propriedades mecânicas robustas (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010). O tamanho de *spot* do laser é um parâmetro crítico específico da máquina de SLS uma vez que a distribuição gaussiana de energia do feixe de laser torna difícil a sinterização de uma borda precisa (YANG et al., 2002).

A temperatura do leito de pó deve ser determinada perto da T_g de polímeros amorfos e logo abaixo da T_m de polímeros semi-cristalinos, uma vez que o laser fornece apenas pequenas quantidades de energia térmica adicional para a fusão do pó. A temperatura do leito de pó muito alta faz com que ocorra a fusão parcial do pó nos poros com a estrutura sendo difícil de ser removido. Por outro lado, uma temperatura do leito de pó muito baixa resultaria em baixa resistência dos arcabouços e eles tenderiam a quebrar durante o manuseio (ZHOU et al., 2008).

Se o pó não sinterizado na plataforma de construção for mantido a uma temperatura elevada, as partículas do leito de pó começarão a sinterizar entre elas. Isso é um efeito negativo, uma vez que a aglomeração de partículas de pó significa que cada vez que o pó é reciclado, o tamanho médio das partículas aumentará. Isso altera as características de espalhamento e de fusão do pó cada vez que é reciclado (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010).

Um modelo simplificado que estima a entrada de energia do processo de SLS pode ser usado na otimização do processo. A formação e as características da poça de fusão são determinadas, principalmente, pela quantidade total de energia aplicada que é absorvida pelo leito de pó à medida que o feixe de laser varre a superfície. Tanto o tamanho quanto a profundidade da poça de fusão são uma função da densidade de

energia absorvida. Uma equação de densidade de energia simplificada pode ser utilizada como um método para correlacionar parâmetros do processo de entrada com a densidade e resistência das peças produzidas. No modelo simplificado, a densidade de energia por área pode ser encontrada pela Equação 3.1 e a densidade de energia por volume pela Equação 3.2:

$$\text{Densidade de energia (J/mm}^2\text{)} = \frac{P}{V \times EV} \quad (3.1)$$

$$\text{Densidade de energia (J/mm}^3\text{)} = \frac{P}{V \times EV \times EC} \quad (3.2)$$

onde P é a potência do laser (W), V é a velocidade de varredura (mm/s), EV é o espaçamento entre as varreduras (mm) e EC é a espessura da camada (mm). A energia aplicada aumenta com o aumento da potência do laser e diminui com o aumento da velocidade e do espaçamento entre as varreduras. Para o processo de SLS, os valores típicos de espaçamento entre varreduras são $\sim 100 \mu\text{m}$, enquanto os tamanhos de *spot* do laser típicos são $\sim 300 \mu\text{m}$. Assim, em geral, cada ponto é varrido por várias passagens do feixe de laser (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010).

Uma vez que a densidade de energia afeta o grau de sinterização do pó exposto, amostras com porosidade diferente podem ser obtidas variando esses parâmetros do processo de SLS (CHUA et al., 2004).

Embora o modelo simplificado não inclua absorvidade do pó, calor de fusão, tamanho de *spot* do laser ou outras características importantes, ele fornece a abordagem analítica mais simples para otimizar o desempenho do processo para um material. Para um dado material, tamanho de *spot* e configuração da máquina, uma série de experimentos pode ser executada para determinar a energia mínima necessária para conseguir uma fusão de material adequada para as propriedades desejadas. Então a velocidade de construção pode ser maximizada aplicando a combinação mais rápida de potência do laser, velocidade de varredura e espaçamento entre as varreduras com base na Equação 3.1. A otimização da velocidade de construção utilizando a energia aplicada pode ser eficaz para a SLS de materiais poliméricos (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010).

A mínima espessura da camada de pó que pode ser empregada com sucesso é determinada principalmente pelo tamanho máximo de partícula. Abaixo de uma certa espessura da camada, o rolo ou a lâmina de espalhar pó tendem a deslocar as camadas previamente sinterizadas da posição pré-determinada, afetando assim a geometria da peça. Esse problema é particularmente sério durante o início da construção da peça (AGARWALA et al., 1995). A espessura da camada é um parâmetro importante no processo de fatiamento porque afeta tanto a precisão do modelo como o tempo de construção. Diminuir a espessura da camada aumentará a precisão do modelo, mas prolongará o tempo de construção. Além disso, maiores densidades de peças sinterizadas são na maioria obtidas usando espessura da camada menor. No entanto, se for possível obter bons resultados (de acordo com a aplicação final) utilizando espessura da camada maior, o tempo de produção será reduzido.

O tipo de laser tem grande influência na consolidação de partículas de pó, porque a absorção do laser pelos vários materiais depende muito do comprimento de onda do laser. Geralmente, os lasers infravermelhos de CO₂ ou Nd:YAG são utilizados como fontes de energia. Os lasers de CO₂ com comprimento de onda de 10,6 µm são mais adequados para a sinterização de pós de polímero, uma vez que os polímeros apresentam uma elevada absorção no infravermelho distante. Os metais absorvem muito melhor com comprimento de onda pequeno; é por isso que os lasers de Nd:YAG podem ser mais indicados para materiais metálicos (KRUTH et al., 2003).

O controle atmosférico na câmara da máquina de SLS é muito crítico em termos de temperatura (controle da sinterização e contração) e teor de oxigênio (para evitar a degradação térmica do polímero por oxidação resultando em despolimerização). Normalmente é utilizada uma atmosfera de nitrogênio, juntamente com um controle cuidadoso da quantidade de oxigênio restante (KRUTH et al., 2008).

3.3.3.2 Propriedades do material

O tamanho da partícula determina a espessura mínima da camada sinterizada a laser que controla a precisão e o acabamento superficial das peças. Portanto, é preferível um tamanho de partícula menor. No entanto, partículas de pó mais finas são

facilmente oxidadas durante o processo de SLS devido à presença de maior área de superfície em comparação com partículas maiores (LÜ; FUH; WONG, 2001).

Por outro lado, como as partículas mais finas proporcionam maior área de superfície, elas absorvem a energia do laser mais rapidamente do que as partículas maiores, já que o formato, o tamanho e a distribuição do tamanho das partículas do pó influenciam fortemente as características de absorção do laser assim como a densidade do leito de pó e o espalhamento do pó (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010). Uma vez que partículas grandes tendem a necessitar de mais energia do laser para fundir do que partículas pequenas, grandes variações no tamanho de partícula podem resultar em fusão completa de partículas pequenas e fusão incompleta de partículas grandes.

Além disso, como o material está em forma de pó com uma certa distribuição do tamanho de partícula, a energia induzida, aquecendo as partículas finas do pó, pode levar à evaporação ou desintegração, o que por sua vez perturba o processo. Também as partículas finas podem criar uma atmosfera empoeirada ou um aglomerado de partículas impedindo a deposição homogênea de camadas, impedindo assim uma boa consolidação de camadas (KRUTH et al., 2008).

O formato da partícula tem um efeito na fluidez do pó, na densidade do leito de pó, na rugosidade da superfície e na porosidade da peça. Partículas irregulares tendem a resultar em vazios irregulares maiores em comparação com partículas granulares (BOURELL et al., 2014).

A densidade do leito de pó, dependente do formato, tamanho, distribuição e mecanismo de espalhamento do pó, pode influenciar fortemente a qualidade da peça. As densidades do leito de pó geralmente variam entre 50 e 60% para a maioria dos pós comercialmente disponíveis, mas podem ser tão baixas quanto 30% para pós cerâmicos irregulares. Normalmente, quanto maior for a densidade de empacotamento do pó, melhores serão as propriedades mecânicas da peça (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010).

A SLS é um processo de transferência de calor no qual o pó do polímero é aquecido rapidamente por laser. Propriedades térmicas são de particular importância na SLS (GIBSON; SHI, 1997).

Materiais com baixa condutividade térmica resultam em melhor precisão, uma vez que a poça de fusão e a solidificação são mais controláveis e o crescimento da peça é minimizado quando a condução de calor é minimizada. Materiais termoplásticos são adequados para o processamento em leito de pó devido às suas T_m relativamente baixas e baixas condutividades térmicas. Pós de poliamida são os materiais mais comuns na SLS e são utilizados geralmente para produzir peças plásticas para aplicações funcionais (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010).

A potência do laser a ser utilizada geralmente aumenta com o ponto de fusão do material e temperatura do leito de pó mais baixa, e também varia dependendo das características de absorvidade do leito de pó, que é influenciada pelo tipo de material e pelo formato, tamanho e densidade de empacotamento do pó (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010).

Os valores de T_g e T_m dependem principalmente da massa molar do polímero. Isso explica porque pode haver uma diferença significativa na processabilidade por SLS entre uma poliamida ou polietileno com uma massa molar baixa e com uma massa molar alta (KRUTH et al., 2008).

Finalmente, pode-se dizer que a qualidade das peças sinterizadas a laser depende muito da seleção apropriada dos parâmetros de processo. Além dos parâmetros ajustáveis da máquina, inclui-se também o tipo de laser e o material em pó. Isso porque o processo de SLS não é apenas controlado pela quantidade e velocidade de fornecimento de energia, mas em grande parte pela interação entre laser e material (KRUTH et al., 2003).

A maioria das tecnologias de AM existentes, incluindo a SLS, geralmente pode processar apenas materiais proprietários fornecidos pelos vendedores, e a maioria destes materiais não são biocompatíveis. Esta limitação de materiais apresenta uma grande oportunidade de pesquisa para explorar vários materiais para a fabricação direta de arcabouços (CHUA; LEONG; AN, 2014).

Para explorar as vantagens da SLS na fabricação de arcabouços poliméricos, existe uma necessidade de investigar pós de biomateriais poliméricos adequados que possam ser processados por SLS sem comprometer as suas propriedades. Para tanto,

o requisito principal é que o método de processamento não deve alterar as propriedades químicas e de biocompatibilidade do material.

3.4 FABRICAÇÃO DE ARCABOUÇOS DE PVA POR SLS

A SLS é potencialmente capaz de produzir arcabouços altamente porosos com interconexão de poros e com formas irregulares, incluindo estruturas contendo canais, com uma grande variedade de materiais. É possível utilizar um único pó ou uma mistura de pós diferentes. No caso de polímeros, é um processo livre de solvente e não necessita de um processo de aglutinação secundário, minimizando, assim, risco de contaminação do material. As limitações da SLS incluem o fato de que o material deve estar em forma de pó e o tamanho e morfologia do poro ser limitado pelo tamanho de partícula do pó. Arcabouços fabricados por SLS possuem poros com tamanhos que são distribuídos em uma grande faixa de valores. Uma vez que a SLS envolve altas temperaturas de processamento, ela é limitada ao processamento de polímeros termicamente estáveis (LEONG; CHEAH; CHUA, 2003; YEONG et al., 2004).

Wiria, Leong e Chua (2010) realizaram uma modelagem do processo de transferência de calor para compreender os fenômenos da sinterização do pó de biomaterial polimérico, sendo o modelo validado utilizando o material PVA. As propriedades importantes do material foram condutividade térmica, difusividade térmica, calor específico, refletividade e coeficiente de absorção do pó. Os parâmetros predominantes em relação ao feixe de laser foram potência e velocidade de varredura. Alterações na potência do laser seriam diretamente proporcionais às alterações na distribuição da intensidade do laser, enquanto alterações na velocidade de varredura afetariam inversamente a distribuição da intensidade do laser. Através do ajuste desses parâmetros da máquina, o grau de sinterização desejado do pó de biomaterial polimérico na fabricação de arcabouços para a TE pode ser obtido.

3.4.1 SLS de arcabouços de PVA

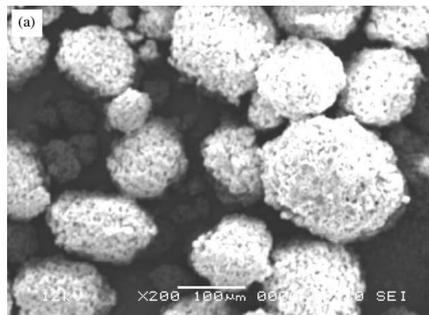
A literatura reporta que dois grupos de pesquisa investigaram a fabricação de arcabouços utilizando o PVA puro por meio do processo de SLS, para a reparação e substituição de tecidos humanos. Um dos grupos é da Nanyang Technological University em Cingapura (CHUA et al., 2004; TAN et al., 2005; WIRIA et al., 2008; WIRIA; LEONG; CHUA, 2010) e o outro da Central South University na China (SHUAI et al., 2013a; SHUAI et al., 2013b).

Começando com os trabalhos realizados pelos pesquisadores da Nanyang Technological University (CHUA et al., 2004; TAN et al., 2005), eles estudaram a possibilidade de utilizar o polímero biocompatível PVA na SLS para obter amostras porosas para o desenvolvimento de arcabouços para TE na reparação e substituição de tecidos humanos. Eles investigaram a influência dos parâmetros do processo de SLS na qualidade de sinterização e microestrutura resultante das amostras sinterizadas. A sinterização foi realizada na máquina de SLS comercial Sinterstation 2500 (3D Systems, Inc.).

Foi utilizado o pó de PVA (99+% hidrolisado, M_w de 89.000-98.000 g/mol) obtido da Aldrich Chemical Company, Inc. A T_m e T_g do PVA dependem do grau de reticulação e variam de 220 °C a 240 °C e 58 °C a 85 °C, respectivamente.

A Figura 3.8 mostra a micrografia, obtida por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), do pó de PVA como recebido. As partículas possuem formato esférico com textura irregular na superfície (tamanho médio de partícula de aproximadamente 50-100 μm).

Figura 3.8 - Micrografia do pó de PVA como recebido

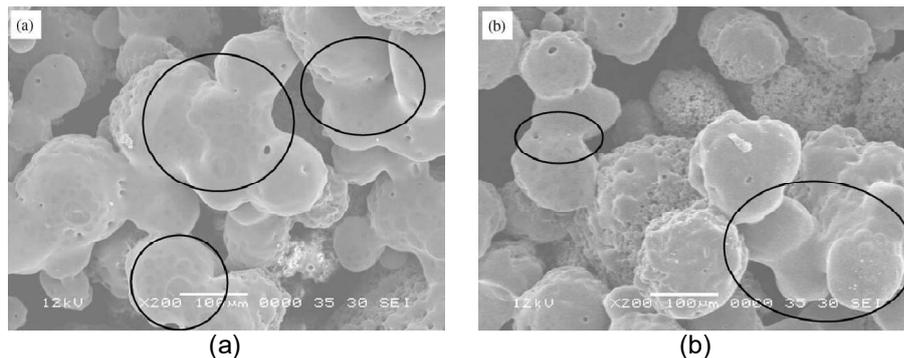


Fonte: Chua et al. (2004) e Tan et al. (2005).

Discos circulares com diâmetro de 16 mm e espessura de 0,762 mm foram projetados para assegurar que as amostras se encaixem em uma placa de cultura de células de 24 poços, e sinterizados para estudar os parâmetros ótimos de processamento. Foi investigada a influência dos principais parâmetros do processo de SLS, potência do laser, velocidade de varredura e temperatura do leito de pó no grau de sinterização. A potência do laser variou de 3-15 W, a velocidade de varredura de 1270-5080 mm/s e a temperatura do leito de 60-65 °C, que está próxima da T_g do PVA.

A Figura 3.9 mostra o resultado da sinterização do PVA utilizando temperatura do leito de 65 °C, velocidade de varredura de 2540 mm/s e potência de 13 W e 15 W. A formação de pescoço entre partículas pode ser observado nas imagens (circulado).

Figura 3.9 - Micrografias das amostras fabricadas com 2540 mm/s e (a) 13 W e (b) 15 W



Fonte: Chua et al. (2004).

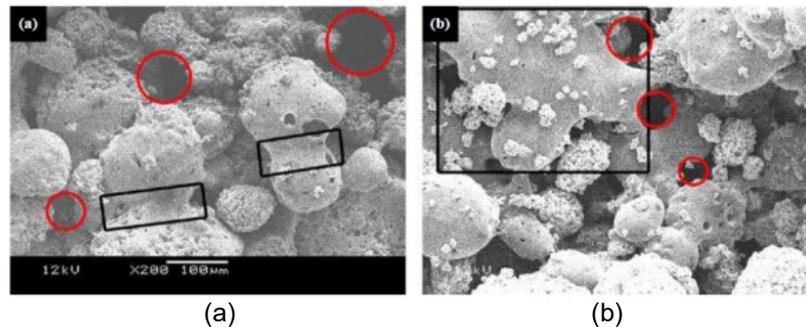
Os autores concluíram que para a fabricação bem sucedida de arcabouços de PVA, a potência do laser deve estar entre 13 W e 15 W, a velocidade de varredura entre 1270 mm/s e 1778 mm/s e a temperatura do leito deve ser de 65 °C. Com esses valores de parâmetros, as amostras obtidas apresentaram melhor integridade estrutural de modo que puderam ser manuseadas. Tentativas de sinterização com velocidade de 1270 mm/s e 16 W resultaram em chama nas amostras, sugerindo que a combinação de baixa velocidade de varredura e alta potência do laser levou a uma excessiva densidade de energia fornecida às amostras.

Em um outro estudo, o mesmo grupo da Nanyang Technological University (WIRIA; LEONG; CHUA, 2010) realizou uma medição estatística para quantificar o tamanho de poro e a largura do pescoço em amostras sinterizadas com velocidade de

varredura de 1778 mm/s, potência do laser de 13 e 14 W e temperatura do leito de 65 °C.

Segundo os autores houve uma diferença considerável no efeito de sinterização utilizando potências do laser separadas por apenas 1 W. Com potência do laser mais baixa, 13 W (Figura 3.10-a), o efeito de sinterização atingiu apenas o estágio inicial da formação de pescoço. Por outro lado, a maior potência do laser, 14 W, resultou em maior efeito de sinterização (Figura 3.10-b). A medição da largura do pescoço do arcabouço fabricado com 13 W foi de $78,24 \pm 20,02 \mu\text{m}$ e com 14 W de $85,55 \pm 44,30 \mu\text{m}$. O tamanho médio do poro (circulado) formado em amostras fabricadas com 13 W foi de $133,04 \pm 24,64 \mu\text{m}$, enquanto as amostras fabricadas com 14 W teve poros formados com tamanho de $91,06 \pm 17,54 \mu\text{m}$.

Figura 3.10 - Micrografias do PVA sinterizado com velocidade de varredura de 1778 mm/s e potência do laser de (a) 13 W e (b) 14 W

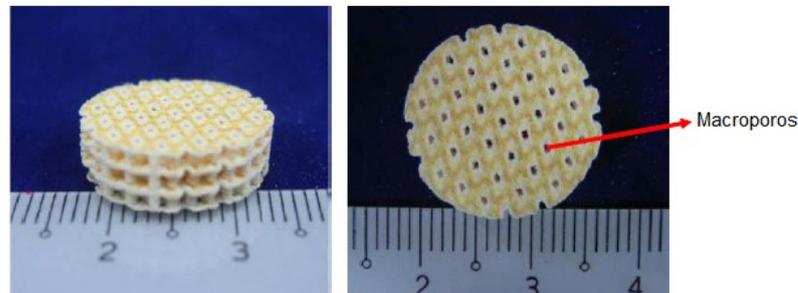


Fonte: Wiria, Leong e Chua (2010).

Esses resultados mostram que com maior intensidade de energia obtida pelo polímero, a sinterização resulta em maior largura de pescoço e menor tamanho de poro. Isso oferece a flexibilidade de controlar os parâmetros da máquina para obter o grau de sinterização desejado do pó de biopolímero na fabricação de arcabouço para TE.

A Figura 3.11 mostra um arcabouço de PVA com boa estabilidade fabricado por SLS. O arcabouço foi projetado para ter 16 mm de diâmetro e 4,5 mm de altura. Os macroporos foram projetados para serem de 1 mm x 1 mm.

Figura 3.11 - Arcabouço de PVA



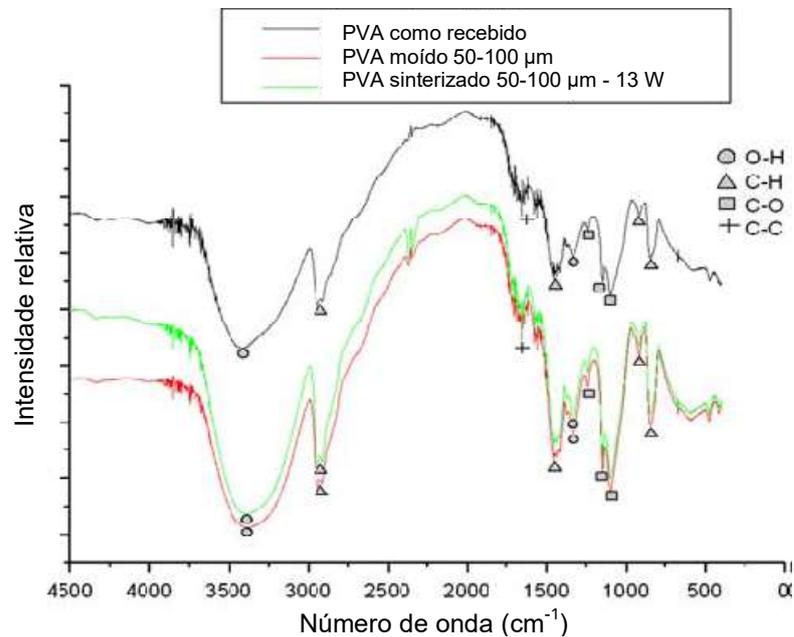
Fonte: adaptado de Wiria, Leong e Chua (2010).

Em um outro trabalho de pesquisa (WIRIA et al., 2008) foi utilizado o mesmo material, PVA em pó 99+% hidrolisado, M_w de 89.000-98.000 g/mol (Aldrich Chemical Company, Inc.). O tamanho das partículas do PVA como recebido se encontravam entre 42-372 μm . O pó de PVA foi moído com um moedor doméstico, utilizando partículas congeladas a $-20\text{ }^\circ\text{C}$, e peneirado para obter uma distribuição de tamanho de partícula mais uniforme, entre 10-75 μm e 50-100 μm .

Utilizou-se a Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) para verificar a estabilidade química do PVA através de possíveis alterações nas composições químicas. Três amostras diferentes foram avaliadas: pó de PVA como recebido, pó de PVA moído e amostra sinterizada utilizando pó com tamanho de partícula de 50-100 μm , potência do laser de 13 W, velocidade de varredura de 2032 mm/s, espessura da camada de pó de 0,1524 mm e temperatura do leito de $80\text{ }^\circ\text{C}$.

O resultado é apresentado na Figura 3.12. Todas as amostras possuem curvas muito semelhantes, com ocorrências de pico muito parecidas. Isso indica que as ligações importantes C–H, C–O, O–H e C–C aparecem em um padrão semelhante na análise das três amostras. Os resultados de FTIR mostram que os processos de moagem e sinterização não comprometem a composição química do PVA e nem causam degradação.

Figura 3.12 - Comparação entre espectro de FTIR de PVA como recebido, moído e sinterizado



Fonte: adaptado de Wiria et al. (2008).

O grupo da Nanyang Technological University concluiu que os resultados positivos obtidos a partir da SLS de pós de PVA demonstraram a viabilidade do uso de PVA como material para a fabricação de arcabouços para TE. Além disso, a SLS oferece um bom controle pelo usuário das microestruturas dos arcabouços, ajustando seus principais parâmetros de processo: potência do laser e velocidade de varredura.

Os trabalhos realizados pelos pesquisadores da Central South University (SHUAI et al., 2013a; SHUAI et al., 2013b) avaliaram porosidade e propriedade do material, além de ensaios *in vitro* que foram utilizados para investigar a bioatividade e biocompatibilidade de arcabouços de PVA para aplicações na TE ósseo.

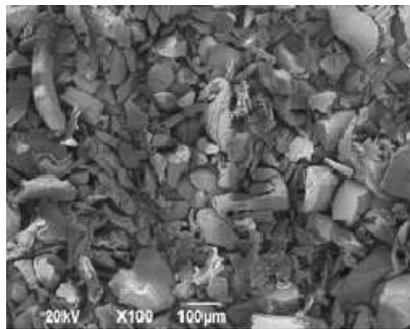
O pó de PVA utilizado por Shuai et al. (2013a) e Shuai et al. (2013b) (99+% hidrolisado, M_w de 89.000-98.000 g/mol, grau de polimerização=1700, Nippon Synthetic Chemical Industry Co. Ltd.), possui T_m entre 220-240 °C e T_g entre 58-85 °C. Basicamente, esse PVA tem as mesmas características do PVA utilizado pelo grupo da Nanyang Technological University.

Os autores utilizaram um sistema de sinterização a laser desenvolvido por eles para fabricar os arcabouços porosos de PVA. Nesse sistema o laser de CO_2 tem

potência máxima de 100 W. A intensidade de energia do laser sobre o diâmetro do feixe de laser segue a distribuição gaussiana. O feixe de laser pode ser focalizado em um *spot* mínimo (diâmetro de 50 μm) por um sistema óptico.

A micrografia do pó de PVA como recebido (Figura 3.13) mostra que as partículas possuem formato irregular e tamanho de partícula não uniforme (aproximadamente 20-200 μm).

Figura 3.13 - Imagem de MEV do pó de PVA como recebido

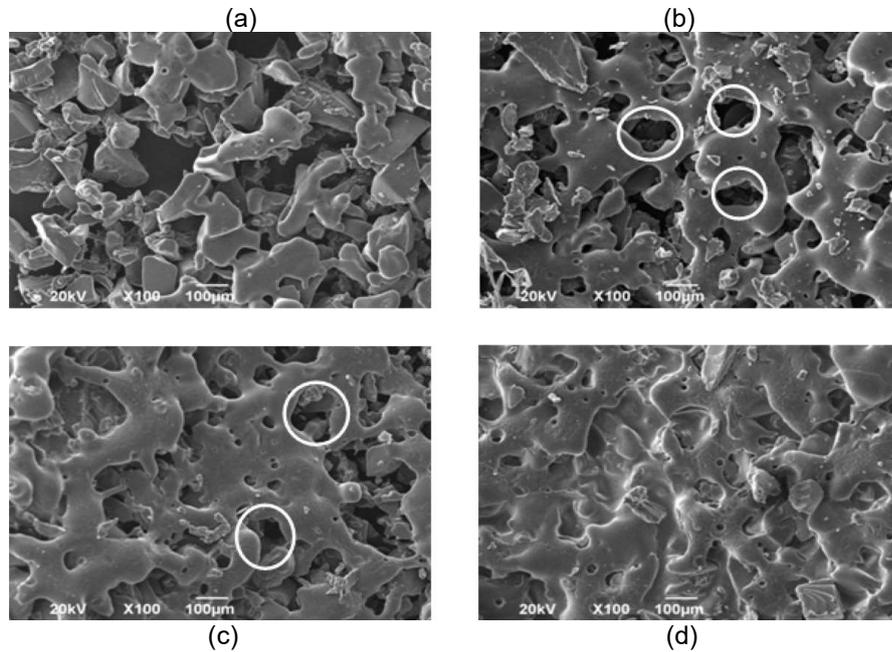


Fonte: Shuai et al. (2013a).

No trabalho de Shuai et al. (2013a) amostras de PVA foram sinterizadas com potência do laser de 4, 8, 12 e 16 W, espessura da camada de 0,15 mm, velocidade de varredura de 600 mm/min, temperatura do leito de 70 °C, espaçamento entre varreduras de 2 mm e tamanho de *spot* de 0,8 mm.

As micrografias da superfície das amostras sinterizadas com diferentes potências do laser são mostradas na Figura 3.14. Após o processo com 4 W, havia apenas algumas partículas fundidas e conectadas entre si (Figura 3.14-a). Com potência do laser de 8 W (Figura 3.14-b) e 12 W (Figura 3.14-c) houve um aumento da fusão e formação de pescoço entre as partículas ao passo que foram formados microporos (circulados), resultantes de uma fusão incompleta do pó. Quando a potência do laser aumentou para 16 W, as partículas fundiram completamente e uma estrutura compacta foi formada (Figura 3.14-d). Concluiu-se que a potência do laser adequada se encontra entre 8-12 W.

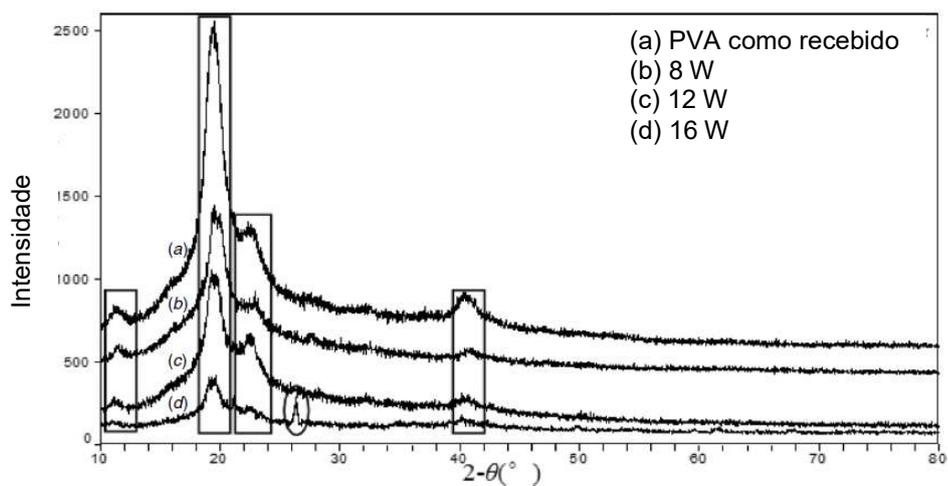
Figura 3.14 - Micrografias da morfologia da superfície das amostras sinterizadas: (a) 4 W, (b) 8 W, (c) 12 W e (d) 16 W



Fonte: Shuai et al. (2013a).

A Figura 3.15 mostra o resultado obtido por Difração de Raios-X (DRX) do pó de PVA como recebido e das amostras sinterizadas com 8, 12 e 16 W.

Figura 3.15 - Difratoograma do PVA: (a) como recebido, (b) sinterizado com 8 W, (c) 12 W e (d) 16 W

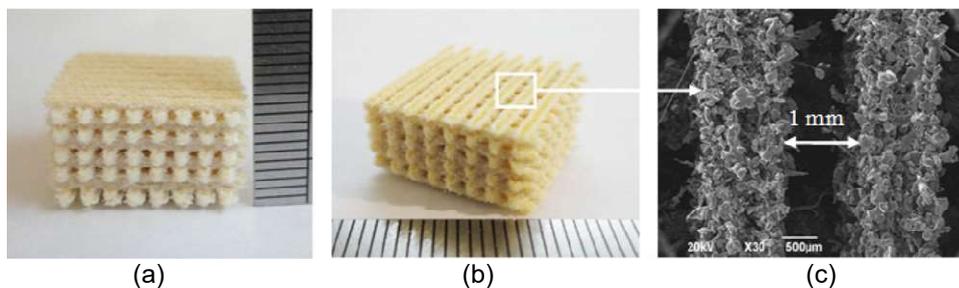


Fonte: adaptado de Shuai et al. (2013a).

Os picos de difração do PVA estão associados com a fase cristalina presente no PVA (blocos retangulares). A intensidade desses picos diminuiu gradualmente com o aumento da potência do laser, isto é, o grau de cristalinidade diminuiu com o aumento da potência do laser. Além disso, observou-se que um novo pico (circulado) apareceu para a amostra fabricada com potência do laser de 16 W. Pode-se dizer que com 16 W a energia térmica foi excessiva e ocorreu decomposição térmica.

Um modelo de arcabouço tetragonal foi fabricado com potência do laser de 8 W (Figuras 3.16-a e 3.16-b) e possui estrutura porosa totalmente interligada. Os macroporos (poros projetados) são mostrados na Figura 3.16-c.

Figura 3.16 - Arcabouço de PVA (a) e (b), poro projetado (c)

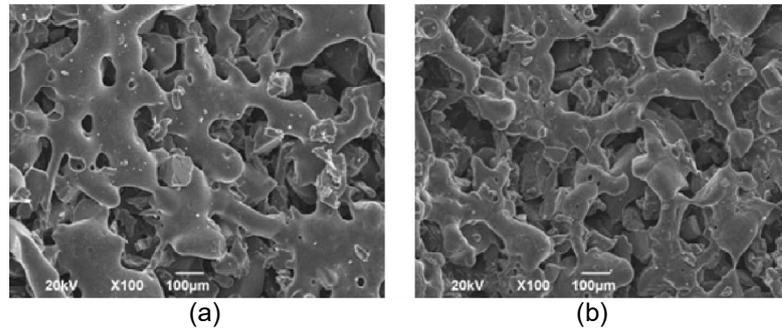


Fonte: Shuai et al. (2013a).

No modelo projetado a porosidade era de 60%, enquanto a porosidade medida foi de $67,9 \pm 2,7\%$, maior do que a porosidade projetada devido à presença de microporos. De acordo com os autores, a porosidade de $67,9 \pm 2,7\%$ é adequada para arcabouços ósseos.

O arcabouço sinterizado foi submetido à análise de bioatividade utilizando fluido corporal simulado (*Simulated Body Fluid* - SBF), uma solução que tem concentração iônica e pH semelhantes ao plasma sanguíneo humano. A observação visual mostrou que ele inchou em SBF, mas permaneceu estável e intacto mesmo após o equilíbrio ser alcançado. Como mostra a Figura 3.17, após ter sido imerso em SBF durante sete dias, a morfologia superficial do arcabouço pareceu ter mais poros com dimensões maiores devido principalmente à sua solubilidade em água. Não houve deposição aparente sobre o material, indicando que o PVA atuou como um material bioinerte.

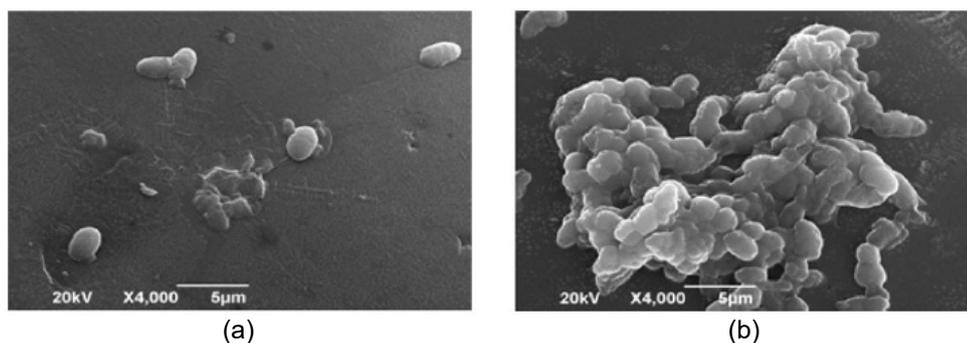
Figura 3.17 - Micrografias da superfície do arcabouço: (a) antes e (b) após imersão em SBF



Fonte: Shuai et al. (2013a).

Estudos de cultura celular foram realizados para avaliar a biocompatibilidade *in vitro* de amostras de arcabouço de PVA. A morfologia celular e a interação entre as células MG-63 de osteossarcoma humano e os arcabouços, após quatro e dez dias de cultura, foram analisadas por MEV (Figura 3.18). As células MG-63 foram capazes de aderir ao arcabouço. Após cultura celular durante quatro dias, as células MG-63 estavam apenas no estágio inicial de adesão e a maioria das células estavam separadas e com aparência esférica (Figura 3.18-a). Após dez dias, a ponte entre as células aumentou significativamente (Figura 3.18-b).

Figura 3.18 - Imagens de MEV de células MG-63 cultivadas no arcabouço de PVA: (a) após cultura celular por 4 dias, (b) após 10 dias

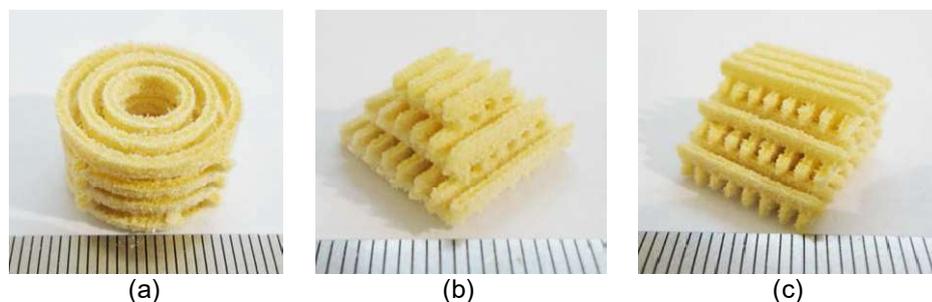


Fonte: Shuai et al. (2013a).

Os testes de cultura celular mostraram que os arcabouços sinterizados de PVA foram capazes de proporcionar um ambiente apropriado para células MG-63, que puderam se adaptar bem e crescer no arcabouço.

Em outro trabalho de pesquisa (SHUAI et al., 2013b), foram projetados modelos complexos de arcabouço. Com o mesmo material, PVA, e com os mesmos parâmetros de processo de SLS utilizados para produzir o modelo de arcabouço tetragonal no trabalho de pesquisa anterior (potência do laser de 8 W, espessura da camada de 0,15 mm, velocidade de varredura de 600 mm/min, espaçamento entre varreduras de 2 mm e tamanho de *spot* de 0,8 mm), outros tipos de arcabouços porosos foram fabricados: cilíndrico, piramidal e trapezoidal (Figura 3.19). Os arcabouços estavam de acordo com os modelos projetados e tinham uma estrutura porosa intacta.

Figura 3.19 - Arcabouços de PVA: (a) cilíndrico, (b) piramidal e (c) trapezoidal



Fonte: Shuai et al. (2013b).

A porosidade do arcabouço cilíndrico foi de $83,35\% \pm 1,2\%$, do piramidal foi de $75,51\% \pm 2\%$ e do trapezoidal foi de $75,02\% \pm 2,5\%$. Os valores da porosidade de todos os arcabouços sinterizados foram maiores que os dos modelos projetados devido à presença de microporos.

Arcabouços com formatos diferentes foram produzidos com sucesso através da SLS com pó de PVA. Além disso, os arcabouços mostraram ser adequados para adesão e crescimento de células MG-63. Com os resultados apresentados, o grupo de pesquisa da Central South University demonstrou a viabilidade do uso de pó de PVA como material para a fabricação de arcabouços para TE através de SLS.

Um resumo dos trabalhos de pesquisa do grupo da Nanyang Technological University em Cingapura (CHUA et al., 2004; TAN et al., 2005; WIRIA et al., 2008; WIRIA; LEONG; CHUA, 2010) e do grupo da Central South University na China (SHUAI et al., 2013a; SHUAI et al., 2013b) é apresentado na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Resumo dos trabalhos de pesquisa do grupo da Nanyang Technological University (CHUA et al., 2004; TAN et al., 2005; WIRIA et al., 2008; WIRIA; LEONG; CHUA, 2010) e do grupo da Central South University (SHUAI et al., 2013a; SHUAI et al., 2013b)

Nanyang Technological University (Cingapura)	Central South University (China)
- Máquina: Sinterstation 2500	- Sistema de SLS desenvolvido por eles
- PVA (99+% hidrolisado, M_w 89.000-98.000 g/mol)	- PVA (99+% hidrolisado, M_w 89.000-98.000 g/mol)
- Tamanho médio de partícula: ~ 50-100 μm	- Tamanho de partícula: ~ 20-200 μm
- Parâmetros adequados: pot. laser 13 W-15 W, vel. varredura 1270 mm/s-1778 mm/s, temp. leito 65 °C	- Parâmetros adequados: pot. laser 8 W-12 W, vel. varredura 10 mm/s, temp. leito 70 °C
- Vel. varredura 1778 mm/s, pot. laser 13 e 14 W -> diferença de 1 W -> considerável no efeito de sinterização	- DRX -> 8, 12 e 16 W -> grau de cristalinidade diminuiu com o aumento da potência do laser; novo pico apareceu com 16 W -> decomposição térmica
- FTIR -> pot. laser 13 W, vel. varredura 2032 mm/s, temp. leito 80 °C -> processo de sinterização não alterou a composição química do PVA e nem causou degradação	- Pot. laser de 8 W -> cultura celular para avaliar a biocompatibilidade -> adesão e crescimento de células MG-63 de osteossarcoma humano

Fonte: A autora (2017).

A partir dos trabalhos de pesquisa apresentados por Chua et al. (2004), Tan et al. (2005), Wiria et al. (2008), Wiria; Leong; Chua, (2010), Shuai et al. (2013a) e Shuai et al. (2013b), é possível concluir que os parâmetros do processo de SLS potência do laser e velocidade de varredura influenciam consideravelmente o processo de SLS do material PVA. Através do ajuste desses parâmetros é possível controlar a microestrutura dos arcabouços.

Apesar do fato de que os dois grupos de pesquisa utilizaram o mesmo material PVA porém com partículas de diferentes formatos e diferentes máquinas de SLS, arcabouços porosos de PVA foram produzidos com sucesso através da SLS. Portanto, é evidente que o PVA pode ser sinterizado a laser para a fabricação de arcabouços para aplicações em engenharia de tecidos.

Outros estudos podem ser realizados em relação aos parâmetros do processo de SLS, diferentes geometrias de arcabouços e diferentes tipos de células, a fim de ampliar a aplicação de arcabouços de PVA, como no caso da utilização de arcabouços para estudos *in vitro*, uma área relativamente nova na qual se insere o projeto dessa tese. Na presente tese foi investigada a influência da potência do laser e número de varreduras do laser na microestrutura na superfície das amostras e nas propriedades do PVA (grau de cristalinidade e estabilidade química), utilizando diferentes faixas de tamanho de partícula do pó (20-320 μm , 20-250 μm e 20-74 μm). Além disso, testes

preliminares de cultura celular *in vitro* foram realizados utilizando células osteoblásticas derivadas de osteossarcoma humano SaOs-2 e fibroblastos humanos HFF-1.

3.4.2 SLS na produção de arcabouços de compósitos de PVA e de outros materiais

Chua et al. (2004) e Wiria et al. (2008) incorporaram hidroxiapatita (HA), 10-30% em peso e 21,5% em peso respectivamente, na matriz de PVA para promover o crescimento de células ósseas. Shuai et al. (2014) incorporaram silicato de cálcio (CaSiO_3), 5-20% em peso, na matriz de PVA aumentando a bioatividade dos arcabouços e demonstrando ser substratos viáveis para a adesão e proliferação de células MG-63 de osteossarcoma humano. Shuai et al. (2015) incorporaram óxido de grafeno (GO), até 4,5% em peso, na matriz de PVA para melhorar as propriedades mecânicas para aplicação em engenharia de tecido ósseo, e células MG-63 aderiram, cresceram e proliferaram durante a cultura celular.

A SLS também já foi investigada na produção de arcabouços 3D porosos para aplicações na TE utilizando vários outros materiais poliméricos biocompatíveis.

O processo de SLS de policaprolactona (PCL) foi estudado por Tan et al. (2005), Williams et al. (2005), Yeong et al. (2010), Liao et al. (2011) e Lohfeld et al. (2010). Huang et al. (2006) fabricaram arcabouços de PCL e 80% em peso de partículas de NaCl como agente porogênico. Lee et al. (2011) fabricaram arcabouços de PCL que foram posteriormente combinados com hidrogel de polímero.

Tan et al. (2005) e Zhou et al. (2008) produziram arcabouços de poli(L-ácido láctico) (PLLA). Tan et al. (2005) investigaram a fabricação de arcabouços de poli(éter éter cetona) (PEEK). Pereira (2015) utilizou a SLS para a construção de arcabouços porosos de poli(3-hidroxiбутирато) (PHB) com aplicação potencial em engenharia de tecido ósseo.

Em relação às biocerâmicas, Tan et al. (2005) utilizaram SLS para produzir arcabouços de PEEK/HA. Zhou et al. (2008) construíram arcabouços porosos de PLLA/CHA (hidroxiapatita carbonatada). Wiria et al. (2007), Eosoly et al. (2010) e Eshraghi e Das (2012) utilizaram PCL e HA para fabricar arcabouços por SLS. Liu et al. (2013) produziram arcabouços de PLLA/ β -TCP (fosfato β -tricalcico).

O biomaterial polimérico policaprolactona (PCL) é provavelmente o material mais estudado para a fabricação de arcabouços por SLS devido principalmente ao seu custo (CHUA; LEONG; AN, 2014). De fato, o material PCL é significativamente o polímero menos dispendioso entre os polímeros biodegradáveis e bioreabsorvíveis geralmente utilizados na fabricação de arcabouços na TE. Por outro lado, o PVA é um material consideravelmente mais barato que o PCL. O preço de 500 g de pó de PVA (M_w de 89.000-98.000 g/mol, 99+% hidrolisado) é de 105,50 dólares (SIGMA-ALDRICH, 2017), ao passo que 500 g de pó de PCL (M_w de 50.000 g/mol) está custando 182,00 dólares (POLYSCIENCES, Inc., 2017). Além disso o PVA possui características adequadas para a sua utilização na produção de arcabouços, tornando-se um material interessante a ser investigado na produção de arcabouços por SLS.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesse capítulo são apresentados material, equipamento, procedimento experimental e técnicas de caracterização do pó do material poli(álcool vinílico) e das amostras sinterizadas que foram utilizados no desenvolvimento dessa tese.

4.1 MATERIAL

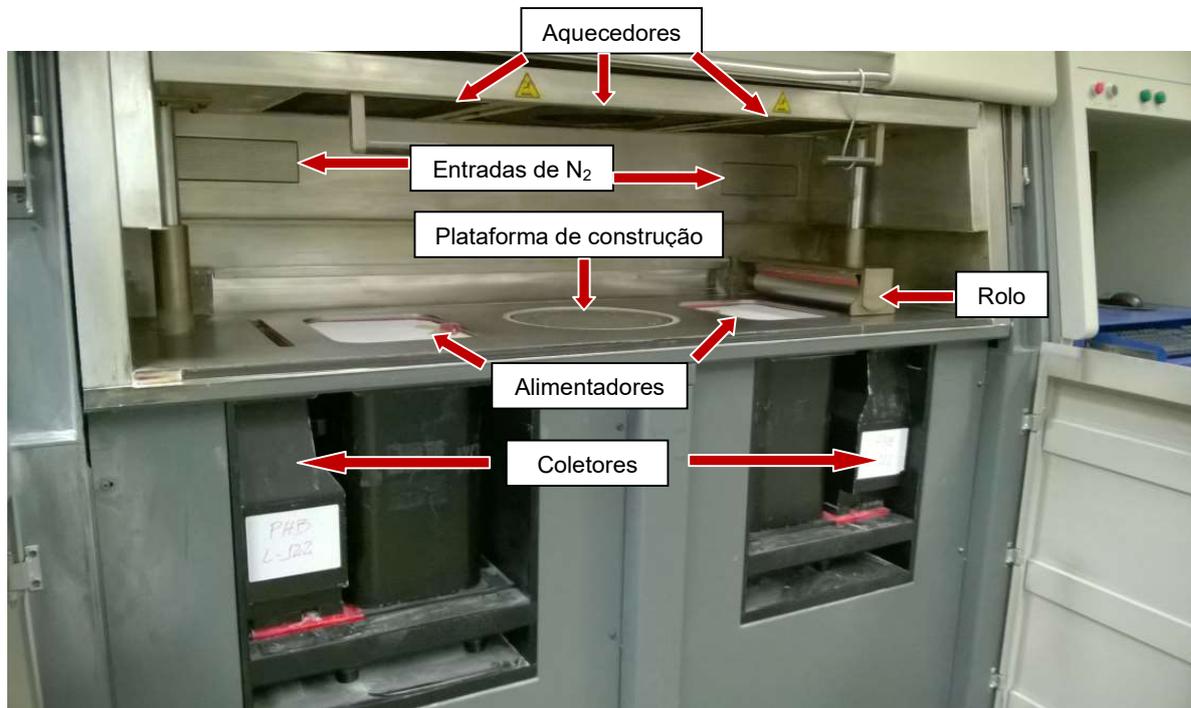
O material utilizado foi o pó de PVA (M_w de 89.000-98.000 g/mol, 99+% hidrolisado) comprado da Sigma-Aldrich (total de 5 kg).

4.2 EQUIPAMENTO DE SINTERIZAÇÃO SELETIVA A LASER

Os experimentos foram realizados na máquina de SLS Sinterstation 2000 (3D Systems, Inc.), localizada no Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer (CTI) em Campinas, São Paulo. Essa máquina possui laser de CO_2 com potência de até 50 W, comprimento de onda de 10,3 μm e tamanho de foco (*spot*) de 450 μm . Como pode ser visto na Figura 4.1 seus principais componentes são: plataforma de construção, laser de CO_2 , rolo, aquecedores, alimentadores de pó, coletores para o excesso de pó e entradas de nitrogênio. Também pode ser visto o leito de pó na Figura 4.1.

O processo de SLS, como ocorre na máquina Sinterstation 2000, se inicia com a formação da primeira camada de pó na plataforma de construção, com movimentos sincronizados da base de um dos reservatórios de alimentação do material para cima e da plataforma de construção para baixo, sendo essa altura a espessura da camada de pó que foi previamente especificada. Então o rolo se movimenta na direção da outra extremidade espalhando, compactando e nivelando o pó formando, assim, a primeira camada. O pó excedente é recolhido em coletores. Na sequência, o feixe de laser de CO_2 é direcionado para o leito de pó e funde as partículas do material para formar a geometria da seção transversal do modelo digital. Logo após, o processo se repete até a completa construção da peça.

Figura 4.1 - Máquina de SLS Sinterstation 2000 utilizada para os experimentos (localizada no CTI)



Fonte: A autora (2017).

4.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Com o objetivo de avaliar a influência dos principais parâmetros do processo de SLS nas propriedades dos arcações e do material PVA, os experimentos foram realizados em três etapas.

4.3.1 Primeira etapa

Na primeira etapa foram variados os parâmetros temperatura do leito de pó, temperatura dos alimentadores, potência do laser, espaçamento entre as varreduras do laser e espessura da camada de pó. A velocidade de varredura do laser foi mantida constante, em 2000 mm/s, uma vez que não é possível variar esse parâmetro na máquina Sinterstation 2000. Testes iniciais na máquina foram realizados com a fabricação de amostras em forma de disco circular com diâmetro de 15 mm e altura de 1 mm. Foram fabricadas 6 amostras de cada conjunto exceto os conjuntos 19 e 20 (2 amostras). A Tabela 4.1 apresenta os parâmetros estudados na primeira etapa.

Tabela 4.1 - Parâmetros de processo - primeira etapa

Conjunto	Temp. leito de pó / alimentadores (°C)	Potência do laser (W)	Espaçamento entre as varreduras (mm)	Espessura da camada (mm)
1	65 / 40	22	0,12	0,15
2	65 / 40	26	0,12	0,15
3	65 / 40	22	0,12	0,22
4	65 / 40	26	0,12	0,22
5	65 / 65	22	0,12	0,22
6	65 / 65	26	0,12	0,22
7	70 / 70	24	0,12	0,22
8	70 / 70	26	0,12	0,22
9	70 / 70	28	0,12	0,22
10	70 / 60	22	0,12	0,22
11	70 / 60	24	0,12	0,22
12	70 / 60	26	0,12	0,22
13	70 / 60	22	0,10	0,22
14	70 / 60	24	0,10	0,22
15	70 / 60	26	0,10	0,22
16	70 / 60	22	0,14	0,22
17	70 / 60	24	0,14	0,22
18	70 / 60	26	0,14	0,22
19	90 / 50	35	0,12	0,15
20	90 / 50	26	0,08	0,15

Fonte: A autora (2017).

Esses parâmetros foram selecionados após pré-testes realizados tendo como base os parâmetros utilizados por Chua et al. (2004), Tan et al. (2005), Wiria et al. (2008), Wiria; Leong; Chua (2010) e Shuai et al. (2013a). Todas as amostras foram produzidas com a câmara fechada.

4.3.2 Segunda etapa

Na segunda etapa foram variados potência do laser e espessura da camada de pó (Tabela 4.2-a); as temperaturas do leito de pó e dos alimentadores foram selecionadas em 80 °C e 60 °C respectivamente, e o espaçamento entre as varreduras do laser em 0,12 mm.

Tabela 4.2 - Parâmetros de processo - segunda etapa

(a)			(b)		
Conjunto	Potência do laser (W)	Espessura da camada (mm)	Conjunto	Potência do laser (W)	N° de varreduras do laser
1	26	0,22	1	26	1
2	28	0,22	2	28	1
3	30	0,22	3	30	1
4	32	0,22	4	32	1
5	26	0,30	5	26	2
6	28	0,30	6	28	2
7	30	0,30	7	30	2
8	32	0,30	8	32	2
9	26	0,38	9	26	4
10	28	0,38	10	28	4
11	30	0,38	11	30	4
12	32	0,38	12	32	4
13	34	0,38	13	26	6
14	36	0,38	14	28	6
15	38	0,38	15	30	6
16	40	0,38	16	32	6
17	26	0,42	17	34	1
18	28	0,42	18	36	1
19	30	0,42	19	38	1
20	32	0,42	20	40	1
21	34	0,42			
22	36	0,42			
23	38	0,42			
24	40	0,42			

Fonte: A autora (2017).

Posteriormente, a potência do laser e o número de varreduras do laser foram variados (Tabela 4.2-b) e as temperaturas do leito de pó e dos alimentadores foram mantidas em 80 °C e 60 °C respectivamente, o espaçamento entre as varreduras do laser em 0,12 mm e foi selecionada a espessura da camada de pó de 0,46 mm. A velocidade de varredura do laser foi mantida constante (2000 mm/s). As amostras foram fabricadas em forma de disco circular com diâmetro de 9 mm e altura de 2 mm. Os discos possuem diâmetro de 9 mm para que se encaixem nas cavidades de uma placa para cultura de células com 48 poços para condições de cultura estática. Foram fabricadas 6 amostras de cada conjunto. Todas as amostras foram produzidas com a câmara fechada.

4.3.3 Terceira etapa

Na terceira etapa o pó do material PVA foi peneirado e foram realizados experimentos para cada faixa de tamanho de partícula variando a potência do laser. A espessura da camada foi selecionada de acordo com o tamanho de partícula. As faixas de tamanho de partícula foram: 20-250 μm , 20-74 μm , 74-149 μm , 149-250 μm e 250-320 μm . No caso das partículas entre 20-250 μm foi variado também o número de varreduras do laser. Os experimentos com partículas entre 20-250 μm foram realizados com a câmara fechada mantendo em 80 °C e 60 °C as temperaturas do leito de pó e dos alimentadores respectivamente. Com as outras faixas os testes foram realizados com a câmara aberta devido a pouca quantidade de material, não suficiente para um processo automático, com temperatura do leito de pó em torno de 50 °C e em temperatura ambiente a temperatura dos alimentadores. O espaçamento entre as varreduras do laser foi mantido em 0,12 mm e a velocidade de varredura do laser em 2000 mm/s. As amostras foram fabricadas em forma de disco circular com diâmetro de 9 mm e altura de 2 mm e foram fabricadas 6 amostras de cada conjunto. A Tabela 4.3 apresenta os parâmetros estudados na terceira etapa.

Tabela 4.3 - Parâmetros de processo - terceira etapa

	Conjunto	Potência do laser (W)	Espessura da camada (mm)	N° de varreduras do laser
Câmara fechada, mistura 20-250 μm	1	26	0,40	1
	2	28	0,40	1
	3	30	0,40	1
	4	32	0,40	1
Câmara aberta, 20-74 μm	5	26	0,22	1
	6	28	0,22	1
	7	30	0,22	1
	8	32	0,22	1
Câmara aberta, 74-149 μm	9	26	0,40	1
	10	28	0,40	1
	11	30	0,40	1
	12	32	0,40	1
Câmara aberta, 149-250 μm	13	26	0,40	1
	14	28	0,40	1
	15	30	0,40	1
	16	32	0,40	1
Câmara aberta, 250-320 μm	17	26	0,40	1
	18	28	0,40	1
	19	30	0,40	1
	20	32	0,40	1
Câmara fechada, mistura 20-250 μm	21	26	0,40	2
	22	28	0,40	2
	23	30	0,40	2
	24	32	0,40	2

Fonte: A autora (2017).

4.3.4 Cultura celular

Amostras da segunda etapa sinterizadas a laser com potência de 26 W e número de varreduras do laser 4 e 6 (conjuntos 9 e 13 respectivamente), e 32 W e número de varreduras do laser 4 e 6 (conjuntos 12 e 16 respectivamente) (Tabela 4.2-b), foram submetidas a testes de cultura celular. As amostras foram lavadas por ultrassom em água deionizada por 20 minutos e então deixadas para secar em forno ($\sim 37^\circ\text{C}$) por 72 horas. Posteriormente, as amostras foram esterilizadas pela imersão em solução de etanol 70% (v/v) por 24 horas e então lavadas com solução salina fosfato tamponada (PBS) para a remoção do etanol. Com essas amostras foram realizados testes com células osteoblásticas derivadas de osteossarcoma humano SaOs-2.

A linhagem de osteoblasto derivada de osteossarcoma humano (SaOs-2; ATCC[®] HTB-85[™]) foi cultivada em meio de cultura McCoy's 5A (Sigma-Aldrich), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB; Sigma-Aldrich) e 100 IU/ml de penicilina e 0,1 mg/ml de estreptomicina (GIBCO). Os frascos de cultivo foram mantidos em estufa úmida, contendo 5% de CO₂, a 37 °C, e observados diariamente em microscópio óptico. A troca de meio foi realizada a cada dois dias e os repiques foram feitos quando a cultura atingia aproximadamente 80% de confluência. Para o teste de adesão celular por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), foi utilizada a densidade de 1x10⁴/mL de células em placa de 24 poços. O meio contendo as células foi depositado sobre as amostras seguido de incubação por três dias.

Também foram submetidas a testes de cultura celular amostras dos conjuntos 14 e 15 da segunda etapa, sinterizadas a laser com potências de 28 W e 30 W respectivamente, e número de varreduras do laser 6 (Tabela 4.2-b). As amostras foram lavadas por ultrassom em água deionizada por 20 minutos e então deixadas para secar em forno (~37 °C) por 72 horas. Posteriormente, as amostras foram esterilizadas pela imersão em solução de etanol 70% (v/v) por 24 horas e então lavadas com solução salina fosfato tamponada (PBS) para a remoção do etanol. Com essas amostras foram realizados testes com fibroblastos humanos HFF-1.

A linhagem de fibroblasto humano HFF-1 (ATCC[®] SCRC-1041[™]) foi cultivada em meio de cultura Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM Ham's F12 - Sigma-Aldrich), suplementado com 15% de soro fetal bovino (SFB; Sigma-Aldrich) e 100 IU/ml de penicilina e 0,1 mg/ml de estreptomicina (GIBCO). Os frascos de cultivo foram mantidos em estufa úmida, contendo 5% de CO₂, a 37 °C, e observados diariamente em microscópio óptico. A troca de meio foi realizada a cada dois dias e os repiques foram feitos quando a cultura atingia aproximadamente 80% de confluência. Para o teste de adesão celular por MEV foi utilizada a densidade celular de 1x10⁵/mL de células em placa de 24 poços. O meio contendo as células foi depositado sobre as amostras seguido de incubação por três e seis dias.

Para a análise por MEV, após os tempos de incubação com as amostras, as superfícies foram submersas em solução fixadora contendo glutaraldeído 1,8% (Electron Microscope Sciences), sacarose 3M e cacodilato de sódio 1M (Sigma-

Aldrich), por 45 minutos. Depois as amostras foram imersas em uma solução tampão (sacarose 3M e cacodilato de sódio 1M) por 10 minutos, e então desidratadas em álcool, em concentrações crescentes (35%, 50%, 70% e 100%), por 10 minutos cada. Por último, foram imersas em hexamethyldisilazane (HDMS; Sigma-Aldrich) por 10 minutos e então deixadas para secar. Após estarem completamente secas, as superfícies foram cobertas com pó de ouro para análise.

A investigação de biocompatibilidade foi realizada pela análise da adesão de células de osteossarcoma e fibroblastos humanos, por meio de MEV.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DO PVA E DAS AMOSTRAS SINTERIZADAS

4.4.1 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A calorimetria diferencial de varredura foi utilizada para a caracterização das propriedades térmicas do material PVA como recebido no que se refere às temperaturas de fusão (T_m) e de cristalização (T_c). Também foi realizada uma análise por DSC do pó de PVA coletado do leite de pó após a fabricação das amostras da segunda etapa. Foi utilizado o equipamento Netzsch DSC 404 Pegasus[®] localizado na Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR). As amostras do pó de PVA foram aquecidas de 20 °C a 250 °C, com isoterma a 250 °C por 10 minutos, e resfriadas até 75 °C, com taxa de aquecimento/resfriamento de 10 °C/min.

4.4.2 Distribuição granulométrica do pó de PVA

A determinação da distribuição granulométrica do PVA foi realizada através de peneiramento, em que 5.035,14 g de pó do material foram submetidos à passagem por vibração através de peneiras de número 60, 100 e 200 (ASTM/ABNT), que correspondem às aberturas de malha de, respectivamente, 0,250 mm, 0,149 mm e 0,074 mm. Após o peneiramento, as frações retidas em cada peneira foram pesadas e as porcentagens do material retido foram calculadas.

4.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise da morfologia e também do tamanho das partículas do pó de PVA como recebido foi realizada através do microscópio eletrônico de varredura Tescan VEGA3 LMU que encontra-se nas instalações da PUCPR. O pó foi submetido ao processo de recobrimento com ouro.

Através desse mesmo microscópio, foi realizada a análise da microestrutura das superfícies das amostras. As superfícies foram previamente metalizadas com ouro.

Além disso, através de MEV foram analisadas as superfícies das amostras após os testes de cultura celular, também recobertas com ouro, para a investigação de biocompatibilidade pela análise da adesão de células.

4.4.4 Difração de Raios-X (DRX)

O grau de cristalinidade do pó de PVA como recebido e do PVA após o processo de SLS foi analisado qualitativamente através do difratômetro de raios-x Shimadzu XRD-7000, equipado com tubo de cobre com radiação $K\alpha$, $\lambda = 0,1541$ nm, corrente de 30 mA e tensão de 40 kV. As medidas das intensidades difratadas foram feitas ao longo de uma região angular de $4-60^\circ$ (2θ), a uma velocidade de varredura de $2^\circ/\text{min}$ e passo de $0,02^\circ$. Foi utilizado porta-amostra de alumínio. O equipamento encontra-se nas instalações da PUCPR.

4.4.5 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Espectros foram utilizados para analisar qualitativamente a estabilidade química do PVA após o processo de SLS, através da verificação de possíveis alterações na estrutura química do material. Os espectros foram obtidos na faixa de número de onda de $4000-600\text{ cm}^{-1}$, referente ao infravermelho médio, com resolução de 4 cm^{-1} e 16 varreduras, utilizando o modo ATR (reflexão total atenuada - *Attenuated Total Reflectance*). Para a análise do pó de PVA como recebido, o material foi misturado com brometo de potássio (KBr) e prensado em *pellets*. As amostras foram colocadas

diretamente sobre o cristal de ZnSe. Foi utilizado o equipamento VERTEX 70 da Bruker que encontra-se no Laboratório de Espectroscopia Vibracional de Infravermelho da Universidade Federal do Paraná. Posteriormente foi utilizado o equipamento Frontier da PerkinElmer na PUCPR.

4.4.6 Estimativa do volume de poros

Uma estimativa do volume de poros no interior de um arcabouço pode ser obtida por meio da relação entre densidade e volume, desde que a densidade do material, ρ_s , utilizado para produzir o arcabouço seja conhecida (ASTM F2450-10). O volume da amostra, V_T , foi determinado através da medição das dimensões da amostra ($V_T = \pi.r^2.h$). A massa da amostra, m_s , foi medida. O volume de poros, V_P , foi calculado de acordo com (4.1) e a porcentagem de porosidade foi $(V_P / V_T) \times 100$.

$$V_P = V_T - \frac{m_s}{\rho_s} \quad (4.1)$$

A densidade aparente do material PVA foi obtida experimentalmente. Após a medição da massa de uma amostra do pó, ela foi transferida para uma proveta graduada e foi realizada a leitura do volume ocupado pela amostra. A densidade do material PVA foi calculada a partir da relação entre a massa e o volume ocupado pelo pó resultando no valor de 1,111 g/cm³. Na literatura consta a densidade do PVA entre 1,232-1,329 g/cm³ (SUNDARARAJAN, 1999).

A estimativa do volume de poros foi realizada em amostras de 9 mm de diâmetro e 2 mm de altura produzidas na segunda etapa. Foi realizada a análise em 2 amostras de cada conjunto de parâmetros e os resultados são apresentados em valores médios com os respectivos desvios-padrão.

4.4.7 Análise dimensional

Foi realizada uma análise dimensional nas mesmas amostras nas quais foi estimado o volume de poros. As dimensões das amostras, diâmetro e altura, foram

medidas através de paquímetro digital. Foram realizadas três medições de cada dimensão. Os valores de diâmetro e altura são apresentados em valores médios com os respectivos desvios-padrão e coeficiente de variação em porcentagem. A partir dos valores médios foram determinados os desvios dimensionais em relação ao valor definido no modelo digital, ou seja, 9 mm de diâmetro e 2 mm de altura.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

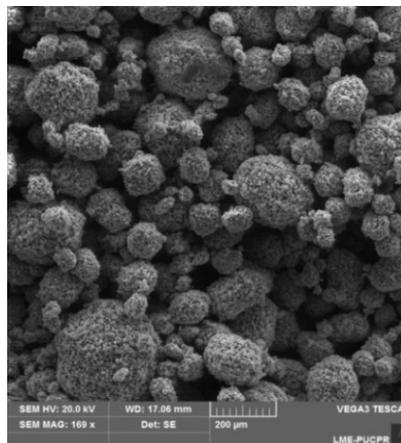
Os resultados e discussão em relação ao processo de SLS do polímero PVA, assim como a caracterização do pó de PVA, são apresentados a seguir, na ordem em que as atividades foram realizadas.

5.1 PRIMEIRA ETAPA

5.1.1 Caracterização do material PVA

A análise da morfologia e também do tamanho das partículas do pó de PVA como recebido foi realizada por meio de MEV. A Figura 5.1 apresenta imagem de MEV do pó de PVA.

Figura 5.1 - Micrografia do pó de PVA como recebido. Barra de escala = 200 μm



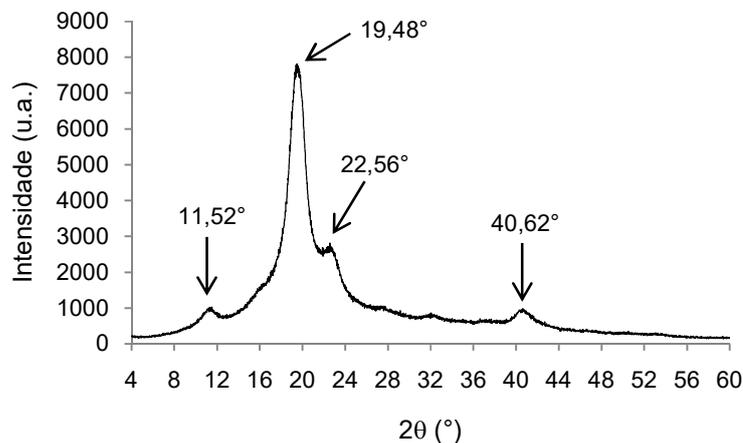
Fonte: A autora (2017).

É possível observar que as partículas possuem formato aproximadamente esférico e superfície com textura irregular, rugosa. Essas partículas possuem tamanho não uniforme que pode variar de 20-320 μm , diferentemente do PVA utilizado pelo grupo de pesquisadores da Nanyang Technological University (CHUA et al., 2004; TAN et al., 2005), que apresentou tamanho médio de partícula de aproximadamente 50-100

μm e do PVA utilizado pelo grupo de pesquisadores da Central South University (SHUAI et al., 2013a) de aproximadamente 20-200 μm .

A Figura 5.2 apresenta o difratograma obtido por DRX do PVA como recebido, semelhante aos difratogramas do PVA (M_w de 89.000-98.000 g/mol e 99+% hidrolisado) encontrados nos trabalhos de Chua et al. (2004) e Shuai et al. (2013a), com picos de difração característicos do PVA observados em $11,52^\circ$, $19,48^\circ$, $22,56^\circ$ e $40,62^\circ$ em 2θ , associados à fase cristalina. O difratograma apresenta também uma ampla faixa abaixo dos picos onde predomina a fase amorfa do material.

Figura 5.2 - Difratograma obtido por DRX do PVA como recebido



Fonte: A autora (2017).

5.1.2 Fabricação e caracterização do PVA e das amostras após a SLS

Na seqüência foram realizados experimentos utilizando valores de parâmetros do processo de SLS do PVA selecionados após pré-testes realizados tendo como base os parâmetros utilizados por Chua et al. (2004), Tan et al. (2005), Wiria et al. (2008), Wiria; Leong; Chua (2010) e Shuai et al. (2013a). Os parâmetros temperatura do leito de pó, temperatura dos alimentadores, potência do laser, espaçamento entre as varreduras do laser e espessura da camada de pó foram variados com o objetivo de se obter estabilidade no processo de sinterização.

Durante o processo de SLS do PVA utilizando os parâmetros do conjunto 1 (temperatura do leito de pó/alimentadores - $65/40^\circ\text{C}$, potência do laser - 22 W,

espaçamento entre as varreduras - 0,12 mm, espessura da camada - 0,15 mm) e conjunto 2 (temperatura do leito de pó/alimentadores - 65/40 °C, potência do laser - 26 W, espaçamento entre as varreduras - 0,12 mm, espessura da camada - 0,15 mm) (Tabela 4.1), as amostras se arrastaram no leito de pó. Uma melhor estabilidade no processo foi obtida aumentando-se a espessura da camada de 0,15 mm para 0,22 mm (conjuntos 3 e 4), assim como aumentando-se a temperatura dos alimentadores de 40 °C para 65 °C (conjuntos 5 e 6).

Nos conjuntos 7, 8 e 9, aumentou-se a temperatura tanto do leito de pó como dos alimentadores para 70 °C. No caso do conjunto 9, utilizando potência de 28 W, as amostras se deslocaram levemente no leito de pó durante o processo. A temperatura dos alimentadores foi diminuída para 60 °C para a realização dos testes dos conjuntos 10, 11 e 12 e também não houve deslocamento das amostras. Já para os conjuntos 13, 14 e 15, o espaçamento entre as varreduras do laser foi diminuído de 0,12 mm para 0,10 mm. No caso da potência do laser de 26 W (conjunto 15) houve o empenamento e deslocamento de todas as amostras.

Nos conjuntos 16, 17 e 18, aumentou-se o espaçamento entre as varreduras do laser para 0,14 mm, o que resultou em amostras mais frágeis e no caso do conjunto 18, com 26 W, houve um leve deslocamento das amostras durante o processo.

Nos conjuntos 19 e 20 houve um aumento da temperatura do leito de pó para 90 °C e diminuição da temperatura dos alimentadores para 50 °C e também a diminuição da espessura da camada de pó para 0,15 mm, em uma tentativa de se fornecer maior densidade de energia ao leito de pó. Além disso, no conjunto 19 foi utilizada uma potência mais alta, 35 W, e no conjunto 20 um espaçamento entre as varreduras do laser menor, 0,08 mm, resultando em deslocamento das amostras em ambos os conjuntos.

Todas as amostras sinterizadas na primeira etapa apresentaram estruturas com muita dificuldade no manuseio, como se fossem esfarelar, devido à falta de fusão e conexão adequadas entre as partículas de PVA.

Foram objeto de análise na primeira etapa as amostras dos conjuntos 7, 15 e 19 que representam, respectivamente, baixa, média e alta densidade de energia fornecida

ao leito de pó durante o processo de SLS. Os valores são mostrados na Tabela 5.1, calculados conforme as Equações 3.1 e 3.2 (item 3.3.3.1).

Tabela 5.1 - Densidade de energia - primeira etapa

Conjunto	Temp. do leito de pó / dos alimentadores (°C)	Potência do laser (W)	Espaçamento entre as varreduras (mm)	Espessura da camada (mm)	Densidade de energia (J/mm^2)	Densidade de energia (J/mm^3)
7	70 / 70	24	0,12	0,22	0,10	0,45
15	70 / 60	26	0,10	0,22	0,13	0,59
19	90 / 50	35	0,12	0,15	0,15	0,97

Fonte: A autora (2017).

A Figura 5.3 apresenta imagens das amostras sinterizadas a laser dos conjuntos 7, 15 e 19. Nos testes do conjunto 19, camadas de pó subsequentes não foram depositadas durante a fabricação de uma das amostras, ou seja, essa amostra teve somente uma camada depositada que foi sinterizada em um total de 6 vezes (número de varreduras do laser igual a 6).

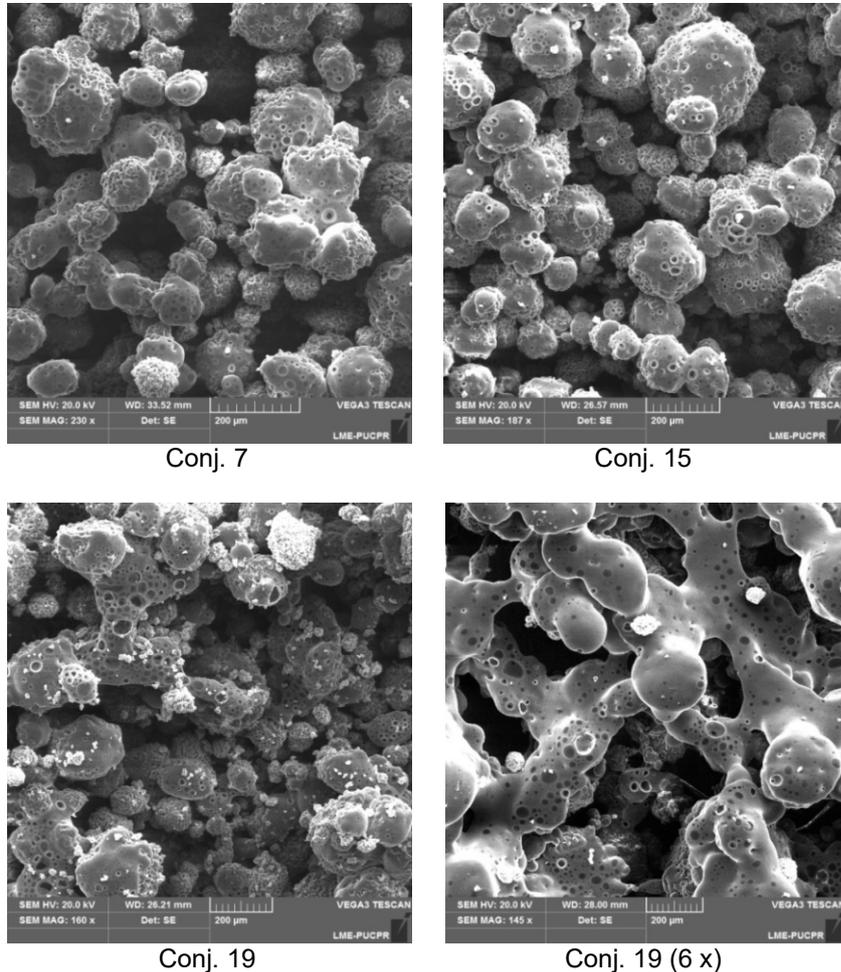
Figura 5.3 - Amostras após o processo de SLS: conjuntos 7, 15 e 19 (esquerda - 6 x)



Fonte: A autora (2017).

A Figura 5.4 apresenta imagens de MEV da superfície das amostras sinterizadas a laser dos conjuntos 7, 15, 19 e 19 - 6 x. Não houve diferença significativa entre 24 W (conj. 7) e 26 W (conj. 15) onde predomina uma fusão parcial, na qual o calor fornecido foi insuficiente para fundir a partícula inteira, apenas a casca. Porém o material fundido não foi capaz de formar pescoços entre as partículas. Já com 35 W (conj. 19) há uma formação inicial de pescoço entre algumas partículas e esse resultado está mais próximo ao alcançado por Chua et al. (2004) (Figura 3.9).

Figura 5.4 - Micrografias da superfície das amostras: conjuntos 7, 15, 19 e 19 (6 x). Barra de escala = 200 μm



Fonte: A autora (2017).

Chua et al. (2004) obtiveram amostras nas quais se observa a formação de pescoço entre partículas utilizando, como parâmetros de sinterização, velocidade de varredura de 2540 mm/s e potência de 13 W e 15 W (Figura 3.9). Além disso, os autores concluíram que a potência do laser deve estar entre 13 W e 15 W e a velocidade de varredura entre 1270 mm/s e 1778 mm/s para a fabricação bem sucedida de arcações de PVA, obtendo-se amostras com melhor integridade estrutural, o que permite que possam ser manuseadas. Tentativas de sinterização com velocidade de 1270 mm/s e 16 W resultaram em chama nas amostras.

Nesta tese foram testadas potências do laser abaixo de 20 W e velocidade de varredura do laser de 2000 mm/s resultando em uma não estruturação do material,

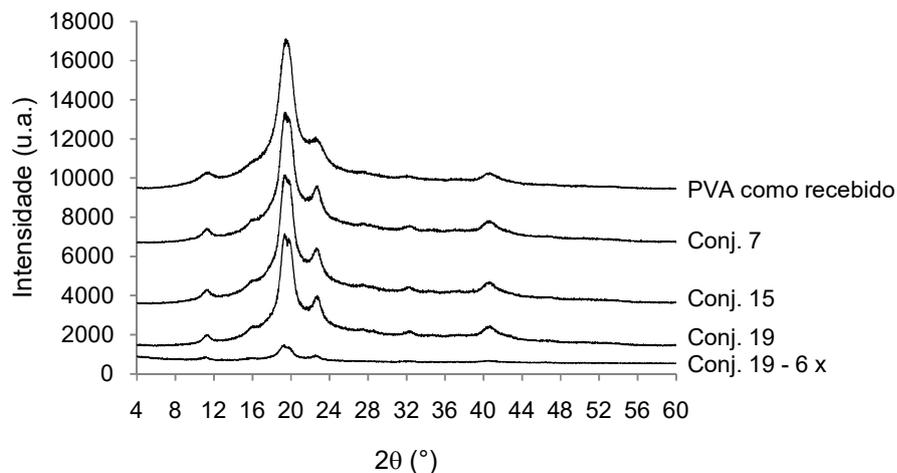
impossibilitando a fabricação de amostras. Uma das possíveis razões pode ser o tamanho médio de partícula do PVA utilizado por Chua et al. (2004), de aproximadamente 50-100 μm , menores que o do PVA como recebido utilizado no desenvolvimento dessa tese (20-320 μm), conforme imagens de MEV. Partículas grandes necessitam de mais energia do laser para fundir do que partículas pequenas e partículas menores apresentam maior área de superfície absorvendo a energia do laser de forma mais eficiente do que as maiores.

Pode-se concluir então que o tamanho de partícula utilizado nessa tese, ou seja, 20-320 μm , necessitou de uma densidade de energia fornecida ao leito de pó superior à densidade de energia para sinterizar partículas de aproximadamente 50-100 μm para a obtenção de resultados semelhantes: maior largura de pescoço, maior grau de sinterização e maior facilidade no manuseio das amostras.

Além disso, na amostra sinterizada com 35 W e número de varreduras do laser igual a 6 (conj. 19 - 6 x) houve um aumento da formação de pescoço entre as partículas, um resultado mais próximo ao encontrado por Shuai et al. (2013a) (Figura 3.14), que utilizaram PVA com tamanho de partícula de aproximadamente 20-200 μm , potência do laser de 4-16 W e velocidade de varredura de 600 mm/min.

A Figura 5.5 apresenta o difratograma do PVA após o processo de SLS com os conjuntos de parâmetros 7, 15, 19 e 19 - 6 x.

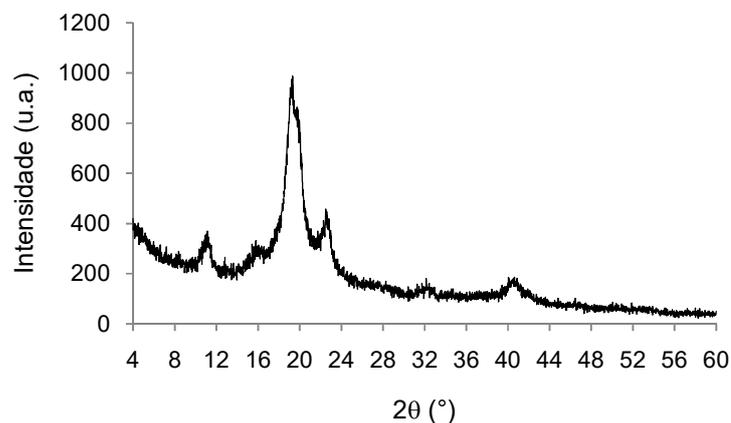
Figura 5.5 - Difratograma obtido por DRX do PVA como recebido e sinterizado



Fonte: A autora (2017).

O processo de SLS utilizando os conjuntos 7, 15 e 19 resultou em diminuição da intensidade dos picos de difração característicos do PVA, porém não houve diferença significativa na intensidade relativa dos três conjuntos, ou seja, a intensidade dos picos não aumentou e nem diminuiu com o aumento da densidade de energia. A diminuição da intensidade dos picos de difração demonstrou a diminuição do grau de cristalinidade do PVA. No caso do conjunto 19 - 6 x, os 4 picos de difração foram preservados, porém houve uma diminuição significativa na intensidade (Figura 5.6). Essa diminuição da intensidade dos picos pode indicar um processo de transição de uma estrutura semi-cristalina para uma estrutura mais amorfa.

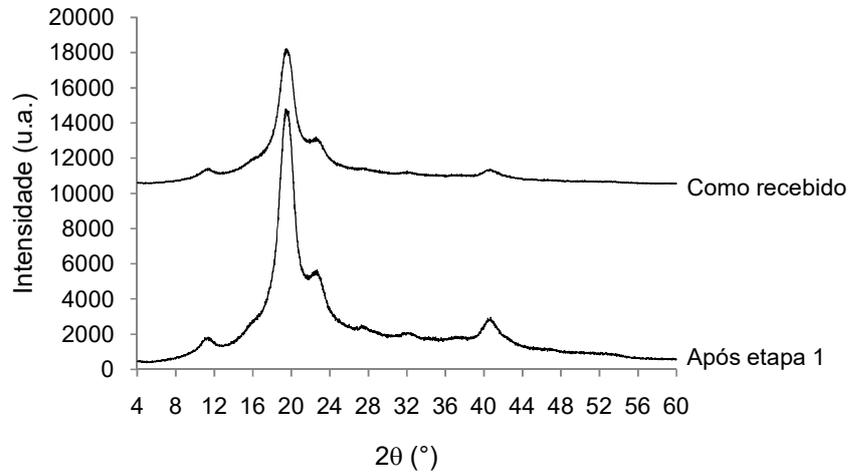
Figura 5.6 - Difratoograma obtido por DRX do conjunto 19 - 6 x



Fonte: A autora (2017).

A Figura 5.7 apresenta o difratograma do pó de PVA retirado do leito de pó após a SLS das amostras na primeira etapa. Não houve diferença significativa entre a intensidade relativa dos picos de difração do PVA retirado do leito de pó após a fabricação das amostras da primeira etapa e a dos picos do PVA como recebido, apenas um ligeiro aumento na intensidade dos picos do pó do leito após a primeira etapa. Os 4 picos de difração foram preservados e não apareceram novos picos, indicando que a temperatura do leito de pó de até 90°C foi adequada.

Figura 5.7 - Difratoograma obtido por DRX do PVA como recebido e do leito de pó



Fonte: A autora (2017).

Após os testes realizados na primeira etapa pode-se concluir que os parâmetros utilizados não foram suficientes para adequada fusão e conexão das partículas de PVA durante o processo de SLS, mesmo com o conjunto 19 que forneceu a maior densidade de energia. O resultado da SLS com o conjunto 19 e número de varreduras do laser igual a 6 foi um indicativo de que seria necessário aumentar o número de varreduras para se obter melhor estruturação do material, ou seja, melhor fusão e conexão das partículas. Além disso, houve diminuição do grau de cristalinidade do PVA das amostras sinterizadas a laser.

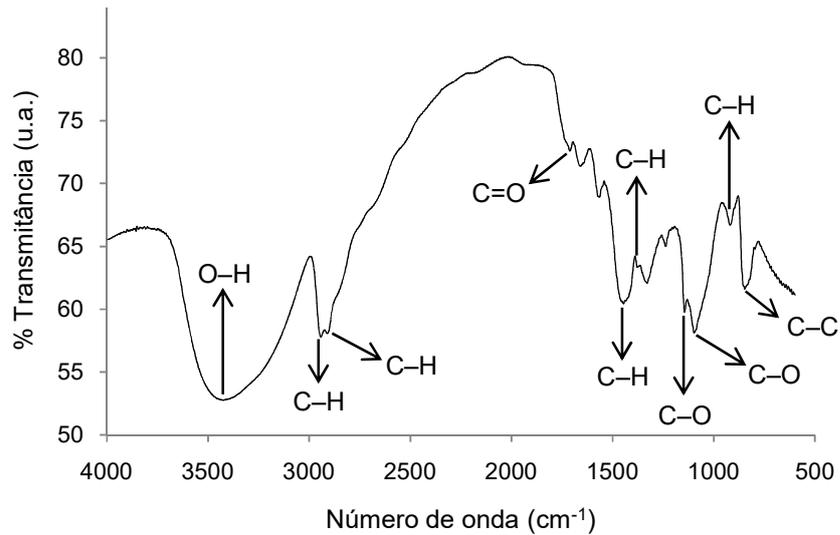
5.2 SEGUNDA ETAPA

5.2.1 Caracterização do material PVA

A Figura 5.8 apresenta o espectro obtido por FTIR do PVA como recebido, semelhante ao espectro do PVA com M_w de 89.000-98.000 g/mol e 99+% hidrolisado encontrado por Wiria et al. (2008). Conforme mostrado no Capítulo 3, item 3.1.2, a estrutura do PVA é $-(CH_2-CHOH)_n-$ e então há a presença de C-H, C-O, O-H, C-C e pode haver o grupo carbonila C=O, característico do acetato de vinila, conforme o grau de hidrólise, uma vez que o PVA parcialmente hidrolisado pode ser considerado

copolímero de álcool vinílico e acetato de vinila ou poli(álcool vinílico-co-acetato de vinila).

Figura 5.8 - Espectro de FTIR do PVA como recebido



Fonte: A autora (2017).

Na Tabela 5.2 são apresentados os números de onda e os respectivos grupos de um espectro de FTIR típico para o PVA encontrados na literatura e os identificados nessa tese. Os picos são identificados de acordo com o tipo de ligação química.

Tabela 5.2 - Bandas de absorção características do PVA

Número de onda (cm ⁻¹) (MANSUR; MANSUR, 2005)	Número de onda (cm ⁻¹) (COATES, 2000)	Número de onda (cm ⁻¹)	Ligação	Polímero correspondente
3550-3200	3570-3200	3427	O-H	PVA e PVAc
2937-2870	3200-2700	2943	C-H	PVA e PVAc
2937-2870	3200-2700	2910	C-H	PVA e PVAc
1727-1712	1850-1650	1711	C=O	PVAc
1461-1417	-	1447	C-H	PVA
1376	-	1379	C-H	PVAc
1141	~1150	1146	C-O	PVA
1093	~1100	1097	C-O	PVA
916	1000-880	920	C-H	PVA e PVAc
849	-	847	C-C	PVA

Fonte: A autora (2017).

O pico de absorção associado aos grupos hidroxila (O–H) é observado no número de onda 3427 cm^{-1} . Observa-se a vibração da ligação C–H dos grupos CH_2 em 2943 , 2910 , 1447 , 1379 e 920 cm^{-1} . A vibração de C–O é observada em 1146 e 1097 cm^{-1} e vibrações de esqueleto C–C em 847 cm^{-1} . Deve-se ressaltar a pouca intensidade dos picos característicos correspondentes aos grupos acetato residuais, números de onda 1711 cm^{-1} (C=O) e 1379 cm^{-1} (C–H), uma vez que o PVA utilizado é 99+% hidrolisado.

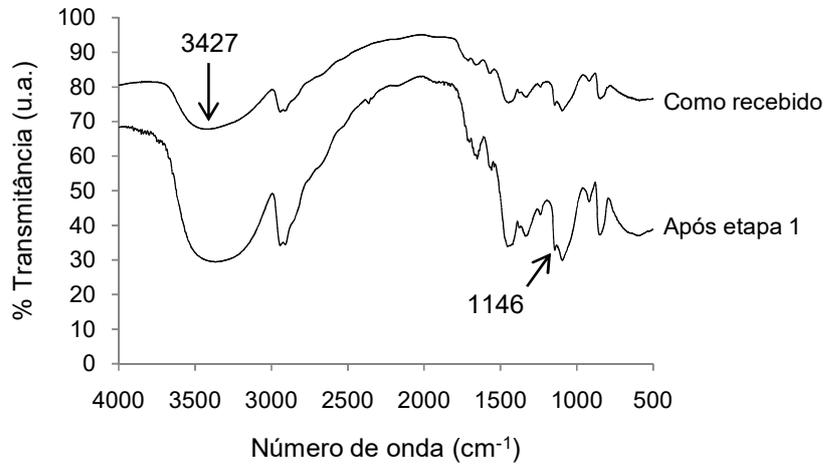
Há algumas considerações em relação à banda em $\sim 1146\text{ cm}^{-1}$. Krimm, Liang e Sutherland (1956), sabendo que quando o PVA é aquecido a altas temperaturas, água é liberada com eventual formação de ligações duplas e presumindo que um passo intermediário é uma reticulação térmica entre cadeias, através da qual água é liberada e grupos como >C-O-C< são formados, sugerem que a banda em 1144 cm^{-1} pode ser a vibração desse grupo. A sua intensidade diminuída à temperaturas mais elevadas é consistente com a formação subsequente desse grupo de ligações duplas na cadeia. Uma vez que a densidade da amostra aumenta com o aquecimento, é possível que tal reticulação possa induzir uma maior cristalização ao aproximar cadeias nas regiões amorfas. Embora a intensidade em 1144 cm^{-1} inicialmente aumenta com o aumento da densidade da amostra (produzido pelo aquecimento), a intensidade da banda então diminui para maiores densidades. Uma vez que maior densidade é geralmente associada a maior cristalinidade, Krimm, Liang e Sutherland (1956) indicam que a natureza da banda em 1144 cm^{-1} não é conclusiva.

Por outro lado, para Tadokoro (1959), não há dúvidas de que a banda em 1141 cm^{-1} (C–O) pode ser considerada uma banda sensível à cristalização, relacionada com modos vibracionais associados à cristalização, ou seja, atribuída à cristalinidade do PVA.

Espectros foram utilizados para analisar a estabilidade química do PVA após o processo de SLS, através da verificação de possíveis alterações na estrutura química do material.

A Figura 5.9 apresenta o espectro obtido por FTIR do PVA como recebido e do PVA retirado do leito de pó, que foi utilizado para a fabricação das amostras na primeira etapa.

Figura 5.9 - Espectro de FTIR do PVA como recebido e após a primeira etapa



Fonte: A autora (2017).

É possível observar que os picos de absorção foram preservados na amostra do pó coletado do leite após a primeira etapa e não ocorreu o aparecimento de novos picos. Isso indica que as ligações aparecem em um padrão semelhante na análise das duas amostras. Os resultados de FTIR mostram que o processo de sinterização a laser não comprometeu a estrutura química do PVA do leite de pó. Nota-se, porém, um deslocamento de pico no número de onda 3427 cm^{-1} atribuído à vibração de grupos hidroxila (O–H), que irá refletir nos resultados de FTIR das amostras sinterizadas na segunda etapa.

Além disso, conforme citado anteriormente, a banda em $\sim 1146\text{ cm}^{-1}$ (C–O) pode ser atribuída à cristalinidade do PVA. Nota-se na Figura 5.9 que houve um aumento na intensidade dessa banda, correspondendo ao resultado apresentado no difratograma obtido por DRX do pó de PVA retirado do leite após a primeira etapa (Figura 5.7), no qual observou-se um aumento na intensidade dos picos de difração do pó do leite após a primeira etapa em relação ao PVA como recebido.

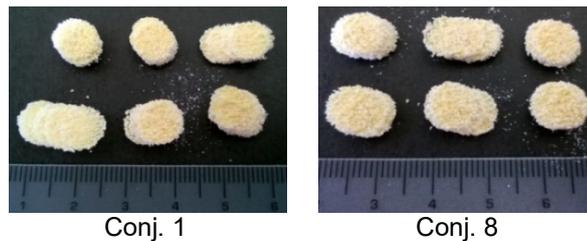
5.2.2 Fabricação e caracterização do PVA e das amostras após a SLS

Na segunda etapa foi variada a potência do laser de 26 W a 40 W, valores maiores dos que os estudados na primeira etapa uma vez que as potências menores não foram suficientes para uma fusão adequada das partículas de PVA. Também foi

variada a espessura da camada de pó de 0,22 mm a 0,42 mm. As temperaturas do leito de pó e dos alimentadores foram selecionadas em 80 °C e 60 °C respectivamente, já que a temperatura do leito de pó de até 90 °C foi adequada durante o processo de SLS na primeira etapa, e também o espaçamento entre as varreduras do laser em 0,12 mm.

Nos experimentos com os parâmetros dos conjuntos 1 ao 8 (Tabela 4.2-a) todas as amostras se deslocaram no leito de pó, indicando que a espessura da camada de até 0,30 mm causa instabilidade durante o processo com potência do laser variando de 26 W a 32 W. A Figura 5.10 apresenta as amostras do conjunto 1 (potência do laser de 26 W, espessura da camada de 0,22 mm) e conjunto 8 (potência do laser de 32 W, espessura da camada de 0,30 mm).

Figura 5.10 - Amostras após o processo de SLS: conjuntos 1 e 8



Fonte: A autora (2017).

Com espessura da camada a partir de 0,38 mm (conjuntos 9-16), as amostras não se deslocaram ou se deslocaram levemente no leito de pó durante o processo. Do conjunto 9 ao 12 (de 26 W a 32 W) as amostras apresentaram altura de aproximadamente 2 mm conforme o modelo digital (altura de 2 mm e diâmetro de 9 mm). Porém do conjunto 13 ao 16 (de 34 W a 40 W) as amostras apresentaram altura de aproximadamente 3 mm. Isso indica que uma maior densidade de energia fornecida ao leito de pó, através do aumento da potência do laser, fez com que as amostras aumentassem a altura. Com o aumento da espessura da camada para 0,42 mm (conjuntos 17-24), as amostras voltaram à altura de aproximadamente 2 mm, conforme o modelo.

Como ocorreu na primeira etapa, essas amostras sinterizadas apresentaram estruturas frágeis, com muita dificuldade no manuseio devido à falta de fusão e conexão adequada entre as partículas de PVA.

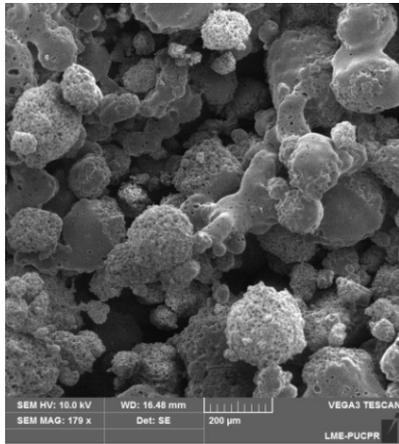
Ainda na segunda etapa, a potência do laser e o número de varreduras do laser foram variados e as temperaturas do leito de pó e dos alimentadores foram mantidas em 80 °C e 60 °C respectivamente, o espaçamento entre as varreduras do laser em 0,12 mm e foi selecionada a espessura da camada de 0,46 mm garantindo que as amostras não se deslocassem no leito de pó, havendo estabilidade durante o processo.

No caso do processo de SLS com número de varreduras do laser igual a 1, conjuntos 1-4 e 17-20 (Tabela 4.2-b), as amostras ainda apresentavam estrutura frágil sendo difícil o manuseio, como as amostras produzidas na primeira etapa. A Figura 5.11 (página 69) apresenta imagens de MEV da superfície das amostras dos conjuntos 1-4 e 17-20, nas quais é possível observar que não houve diferença significativa de 26 W a 40 W para o número de varreduras do laser igual a 1, e que ocorreu basicamente fusão parcial, na qual o calor fornecido foi insuficiente para fundir a partícula inteira, somente a casca, e também uma formação inicial de pescoço entre algumas partículas, mesmo com a potência de 40 W, a maior permitida na máquina de SLS utilizada.

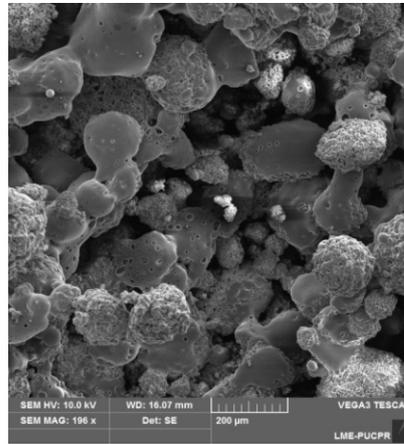
Após testes com a potência do laser máxima de 40 W, que resultaram em apenas fusão parcial, o número de varreduras do laser foi aumentado porque na primeira etapa (conjunto 19) uma amostra teve somente uma camada sinterizada em um total de 6 vezes (número de varreduras do laser igual a 6), resultando em maior formação de pescoço de sinterização entre as partículas de PVA e também em maiores regiões densificadas.

Foram objeto de análise na segunda etapa as amostras produzidas com menor e maior potência, ou seja, 26 W e 32 W, através dos conjuntos 1, 5, 9 e 13 que correspondem à potência de 26 W e número de varreduras do laser 1, 2, 4 e 6, respectivamente, e as amostras dos conjuntos 4, 8, 12 e 16 que correspondem à potência de 32 W e número de varreduras do laser 1, 2, 4 e 6, respectivamente. A Figura 5.12 (página 70) apresenta imagens das amostras sinterizadas a laser desses conjuntos.

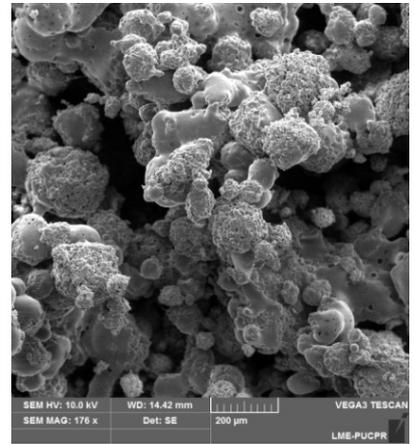
Figura 5.11 - Micrografias da superfície das amostras: conjuntos 1-4 e conjuntos 17-20 (Tabela 4.2-b).
Barra de escala = 200 µm



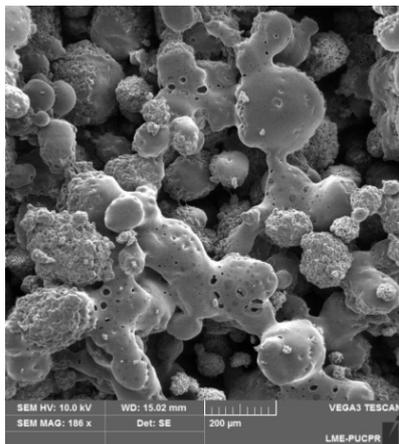
Conj. 1 (26 W)



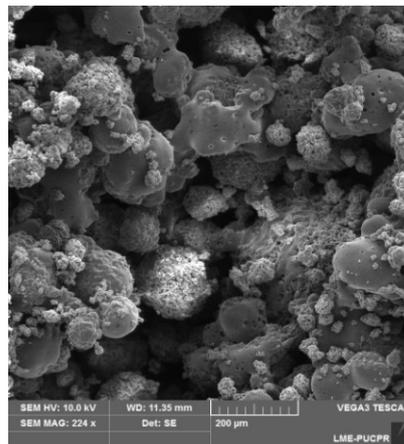
Conj. 2 (28 W)



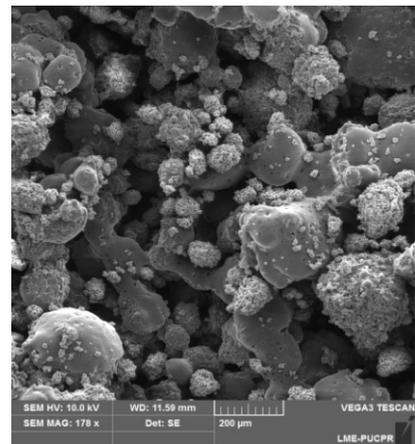
Conj. 3 (30 W)



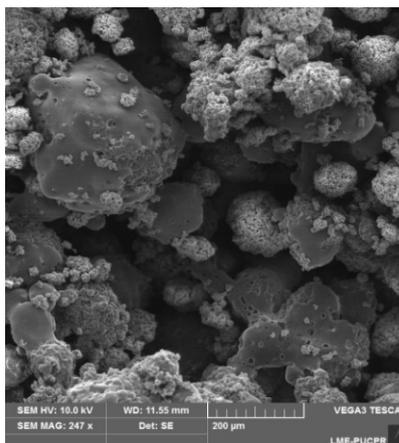
Conj. 4 (32 W)



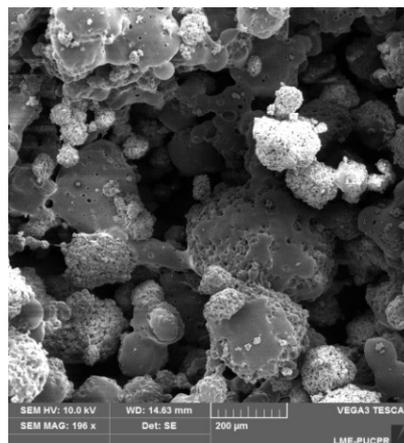
Conj. 17 (34 W)



Conj. 18 (36 W)



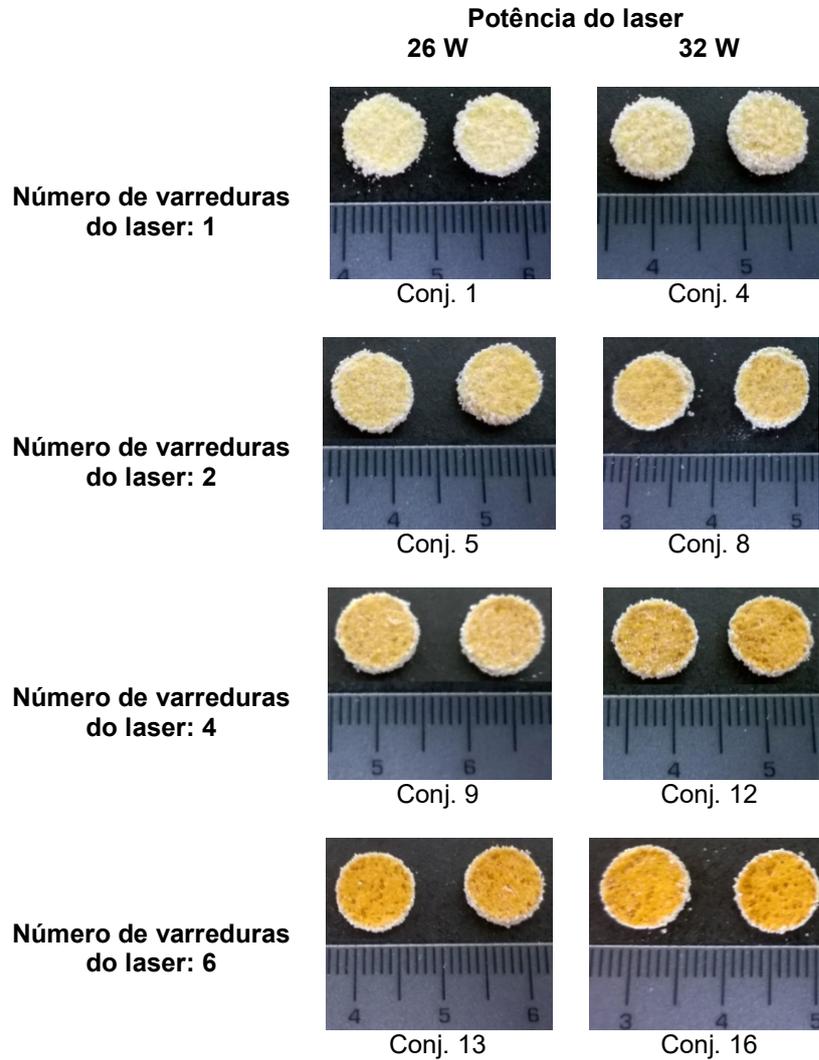
Conj. 19 (38 W)



Conj. 20 (40 W)

Fonte: A autora (2017).

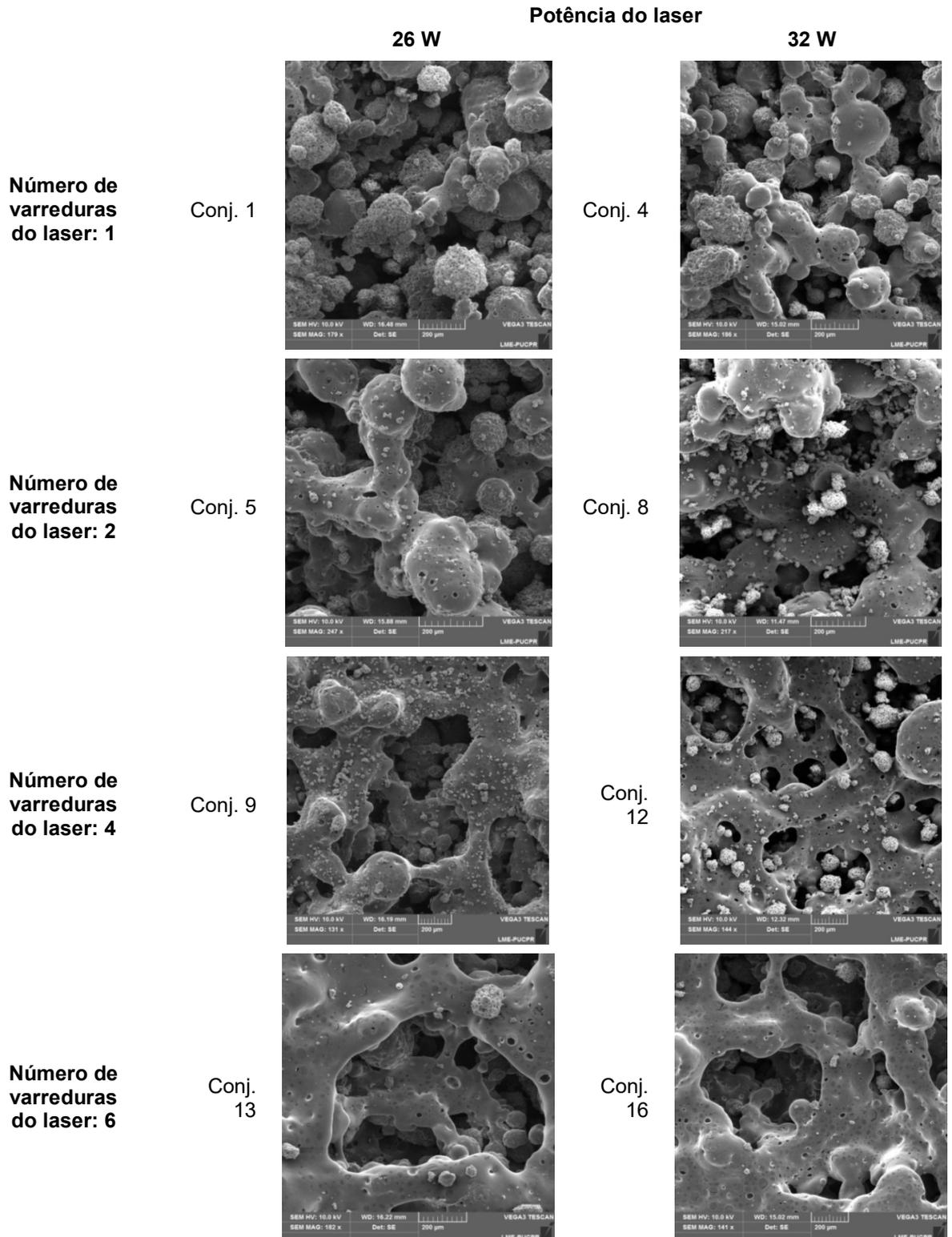
Figura 5.12 - Amostras após o processo de SLS: conjuntos 1, 5, 9 e 13 (26 W) e 4, 8, 12 e 16 (32 W)



Fonte: A autora (2017).

A Figura 5.13 apresenta imagens de MEV da superfície das amostras sinterizadas a laser dos conjuntos 1, 5, 9 e 13 que correspondem à potência de 26 W e número de varreduras do laser 1, 2, 4 e 6, respectivamente, e as amostras dos conjuntos 4, 8, 12 e 16 que correspondem à potência de 32 W e número de varreduras do laser 1, 2, 4 e 6, respectivamente.

Figura 5.13 - Micrografias da superfície das amostras: conjuntos 1, 5, 9 e 13 (26 W) e 4, 8, 12 e 16 (32 W). Barra de escala = 200 μ m



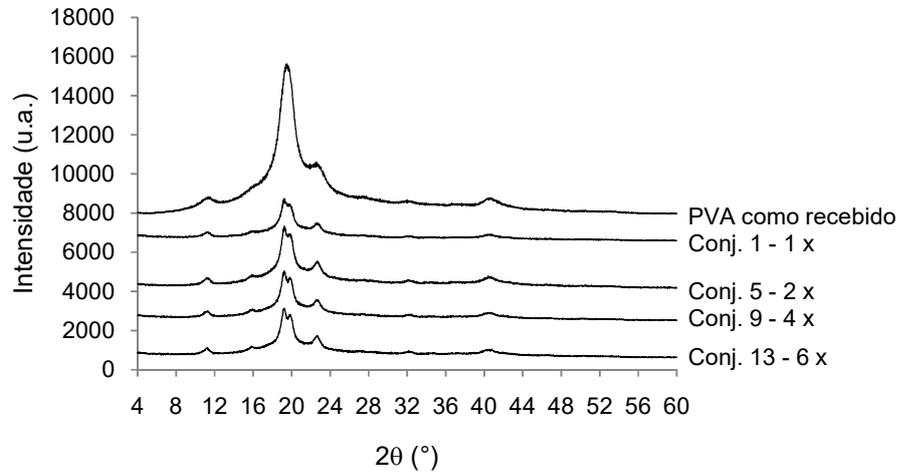
Fonte: A autora (2017).

É possível observar que não houve diferença significativa na microestrutura das amostras fabricadas com 26 W e 32 W para todos os números de varreduras do laser. Porém é notável a diferença dos resultados entre os diferentes números de varreduras. Tanto para 26 W quanto 32 W e número de varreduras 1 ocorreu fusão parcial, fundindo apenas a casca, promovendo a formação inicial de pescoço entre algumas partículas. Com número de varreduras 2 houve maior fusão e formação de pescoço. Já com número de varreduras 4, além de formação de regiões densificadas, ocorreu a formação de poros, inerentes ao processamento por SLS. E com número de varreduras 6, a fusão de partículas adjacentes resultou no aumento de regiões densificadas e diminuição na quantidade de espaços vazios.

Esses resultados estão mais próximos aos encontrados por Shuai et al. (2013a). Utilizando potência do laser de 4 a 16 W, espessura da camada de 0,15 mm, velocidade de varredura de 10 mm/s e espaçamento entre varreduras de 2 mm, Shuai et al. (2013a) obtiveram com 4 W apenas algumas partículas fundidas e conectadas entre si, com 8-12 W um aumento da fusão e formação de pescoço entre as partículas e formação de microporos e com 16 W fusão total das partículas. Esses autores mostraram que, ao utilizar uma densidade de energia muito alta, a potência do laser tem grande influência no grau de sinterização do PVA. É possível concluir que é necessária uma alta densidade de energia para a sinterização resultar em maior largura de pescoço de sinterização. No caso da máquina utilizada nos testes dessa tese, não é possível diminuir a velocidade do laser, que é fixada em 2000 mm/s, então uma forma de aumentar a energia para a sinterização foi aumentar o número de varreduras do laser, uma vez que já foram empregadas altas potências do laser.

A Figura 5.14 apresenta o difratograma do PVA após o processo de SLS com os conjuntos de parâmetros 1, 5, 9 e 13 que correspondem à potência de 26 W e número de varreduras do laser 1, 2, 4 e 6 respectivamente. O processo de SLS utilizando os conjuntos 1, 5, 9 e 13 resultou em diminuição da intensidade dos picos de difração característicos do PVA, porém não houve diferença significativa na intensidade relativa entre os quatro conjuntos, ou seja, a intensidade dos picos não aumentou e nem diminuiu com o aumento do número de varreduras do laser. A diminuição da intensidade dos picos de difração indicou diminuição da cristalinidade do PVA.

Figura 5.14 - Difratoograma obtido por DRX do PVA como recebido e sinterizado (26 W)



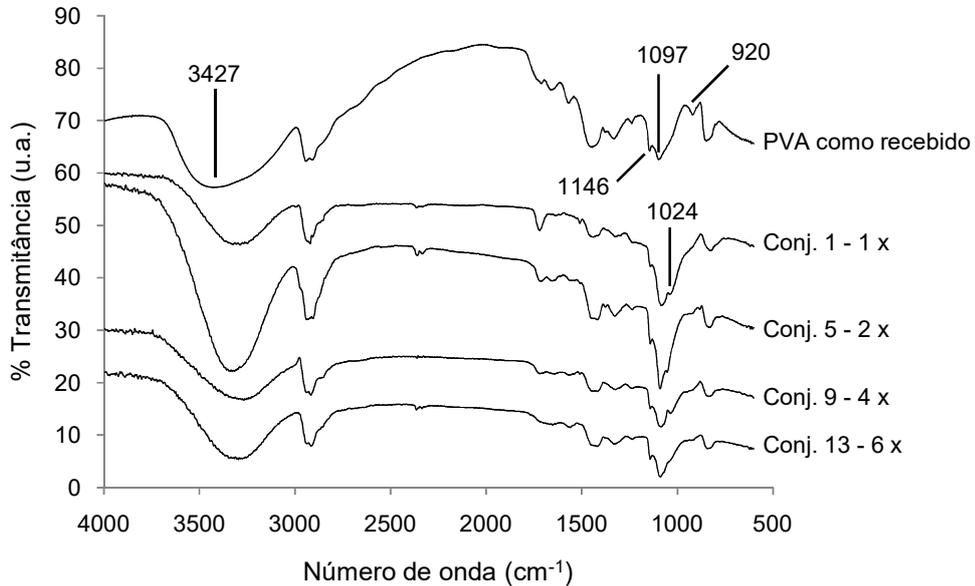
Fonte: A autora (2017).

Fatores que influenciam a cristalinidade de uma dada massa polimérica incluem fatores estruturais, presença de uma segunda molécula (ou fase) e as condições de processamento – a cristalização depende da taxa de resfriamento durante o processo de solidificação. Durante o resfriamento de um polímero semi-cristalino a partir de seu estado fundido, ele atingirá uma temperatura baixa o suficiente para que, em 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 (CANEVAROLO, 2013).

Então, para que isso ocorra, deve haver um tempo suficiente para que as cadeias se movam e se alinhem, e pode ser que a taxa de resfriamento não foi lenta o suficiente, impedindo o processo de ordenamento molecular durante o resfriamento e resultando em diminuição da cristalinidade do PVA das amostras sinterizadas a laser.

A Figura 5.15 apresenta o espectro obtido por FTIR do PVA como recebido e após o processo de SLS com os conjuntos de parâmetros 1, 5, 9 e 13 que correspondem à potência de 26 W e número de varreduras do laser 1, 2, 4 e 6 respectivamente.

Figura 5.15 - Espectro de FTIR do PVA como recebido e sinterizado (26 W)



Fonte: A autora (2017).

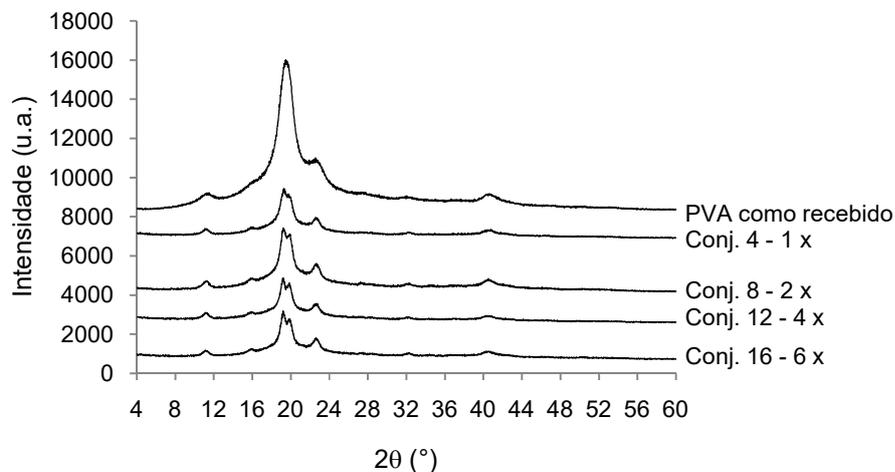
Em relação ao pó de PVA como recebido, os conjuntos 1 e 5 apresentaram um aumento na intensidade da banda em 1097 cm⁻¹ (C–O) e o aparecimento de banda em 1024 cm⁻¹ (C–O), correspondente aos grupos acetato residuais, que está ausente no espectro do pó de PVA como recebido. No conjunto 9 também se observa o aparecimento de banda em 1024 cm⁻¹ (C–O). Além disso, em todos os conjuntos houve o desaparecimento da banda em 920 cm⁻¹, que corresponde à vibração C–H do PVA. Pode-se dizer que ocorreu uma alteração na estrutura química do PVA após o processo de SLS. O deslocamento de pico no número de onda 3427 cm⁻¹ atribuído à vibração de grupos hidroxila (O–H) se manteve conforme mostrado na análise do pó retirado do leito após a primeira etapa. Em geral, a banda em 1146 cm⁻¹ (C–O), atribuída à cristalinidade do PVA, apresentou-se em menor intensidade nas amostras sinterizadas em relação ao PVA como recebido, correspondendo ao resultado apresentado no difratograma obtido por DRX (Figura 5.14).

Pode-se dizer que após o processo de sinterização a laser utilizando potência do laser de 26 W e número de varreduras do laser 1, 2, 4 e 6, houve uma diminuição da cristalinidade do material, podendo ser considerado um fator importante na degradação em um meio de cultura posteriormente. Devido ao desaparecimento da banda em 920

cm^{-1} (C–H) e ao aparecimento de banda em 1024 cm^{-1} (C–O), o processo de sinterização a laser alterou a estrutura química do PVA.

A Figura 5.16 apresenta o difratograma do PVA após o processo de SLS com os conjuntos de parâmetros 4, 8, 12 e 16 que correspondem à potência de 32 W e número de varreduras do laser 1, 2, 4 e 6 respectivamente.

Figura 5.16 - Difratograma obtido por DRX do PVA como recebido e sinterizado (32 W)



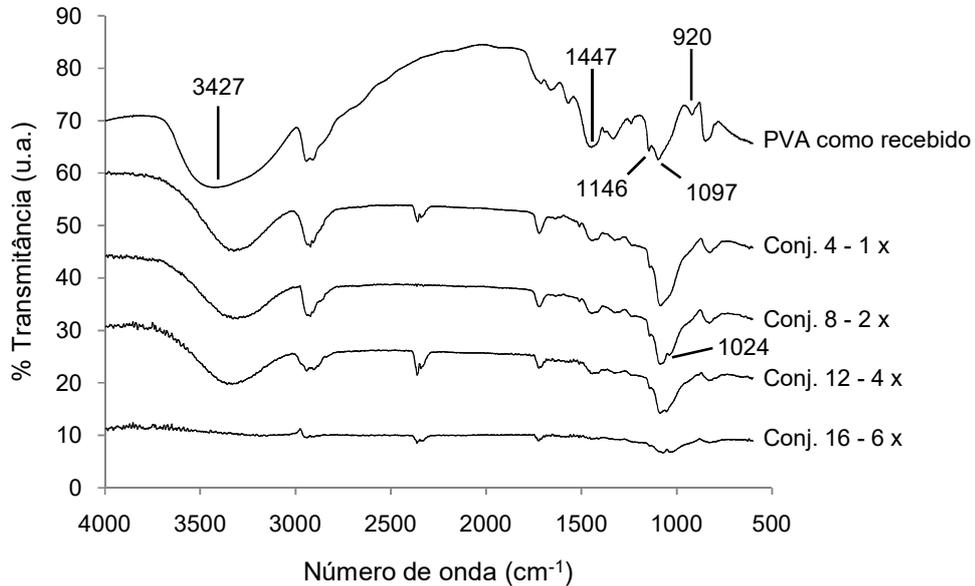
Fonte: A autora (2017).

O processo de SLS utilizando os conjuntos 4, 8, 12 e 16 resultou em diminuição da intensidade dos picos de difração característicos do PVA, porém não houve diferença significativa na intensidade relativa dos quatro conjuntos, resultado semelhante ao obtido com 26 W. A diminuição da intensidade dos picos de difração mostrou diminuição da cristalinidade do PVA.

Uma diferença de 6 W, entre 26 W e 32 W, não influenciou de maneira significativa o grau de cristalinidade do PVA sinterizado, variando o número de varreduras de 1 a 6.

A Figura 5.17 apresenta o espectro obtido por FTIR do PVA como recebido e após o processo de SLS com os conjuntos de parâmetros 4, 8, 12 e 16 que correspondem à potência de 32 W e número de varreduras do laser 1, 2, 4 e 6 respectivamente.

Figura 5.17 - Espectro de FTIR do PVA como recebido e sinterizado (32 W)



Fonte: A autora (2017).

Observa-se que a banda em 1447 cm^{-1} (C–H) diminuiu a sua intensidade com o aumento do número de varreduras até quase desaparecer no conjunto 16 (6 x). Os conjuntos 4, 8 e 12 apresentaram um aumento na intensidade da banda em 1097 cm^{-1} (C–O). No conjunto 8 ainda houve o aparecimento de banda em 1024 cm^{-1} (C–O), de grupos acetato residuais, ausente no PVA como recebido. Além disso, como ocorreu com 26 W, em todos os conjuntos houve o desaparecimento da banda em 920 cm^{-1} . O deslocamento de pico no número de onda 3427 cm^{-1} atribuído à vibração de grupos hidroxila se manteve.

No conjunto 16 ocorreu a diminuição de forma muito significativa da intensidade dos picos em 2943 (C–H), 1711 (C=O), 1447 (C–H), 1146 (C–O), 1097 (C–O) e 847 (C–C) cm^{-1} , o desaparecimento em 3427 (O–H), 2910 (C–H), 1379 (C–H) e 920 (C–H) cm^{-1} e o aparecimento em 1024 (C–O) cm^{-1} .

A banda em 1146 cm^{-1} , atribuída à cristalinidade do PVA, diminuiu a sua intensidade com o aumento do número de varreduras. A intensidade menor desse pico nas amostras sinterizadas em relação ao PVA como recebido corresponde ao resultado apresentado no difratograma obtido por DRX (Figura 5.16).

Destaca-se que uma diferença de 6 W, entre 26 W e 32 W, influenciou de maneira significativa a estrutura química do PVA sinterizado para o número de varreduras 6.

Assim como ocorreu com 26 W, pode-se dizer que após o processo de SLS utilizando potência do laser de 32 W e número de varreduras do laser 1, 2, 4 e 6, houve uma diminuição da cristalinidade do material. Devido ao desaparecimento e aparecimento de picos de absorção, o processo de SLS alterou a estrutura química do PVA como recebido, principalmente do conjunto 16 com número de varreduras 6.

Em relação aos resultados de DRX, Shuai et al. (2013a) relataram que a intensidade dos picos de difração diminuiu gradualmente com o aumento da potência do laser (8, 12 e 16 W). Isso pode ter ocorrido porque a cristalização de polímeros está associada ao alinhamento das suas cadeias moleculares. O grau de cristalinidade irá aumentar quando as temperaturas forem elevadas acima da T_g e abaixo da T_m . Mas o grau de cristalinidade irá diminuir para temperaturas superiores à T_m devido ao fato de que temperaturas mais altas podem destruir as cadeias moleculares. Para alcançar uma condição de sinterização, o laser deve proporcionar uma densidade de energia elevada e a temperatura de sinterização deve ser superior à T_m . Portanto, a temperatura de sinterização superior à T_m do PVA (240 °C) na maior parte do tempo de sinterização leva a uma diminuição da cristalinidade.

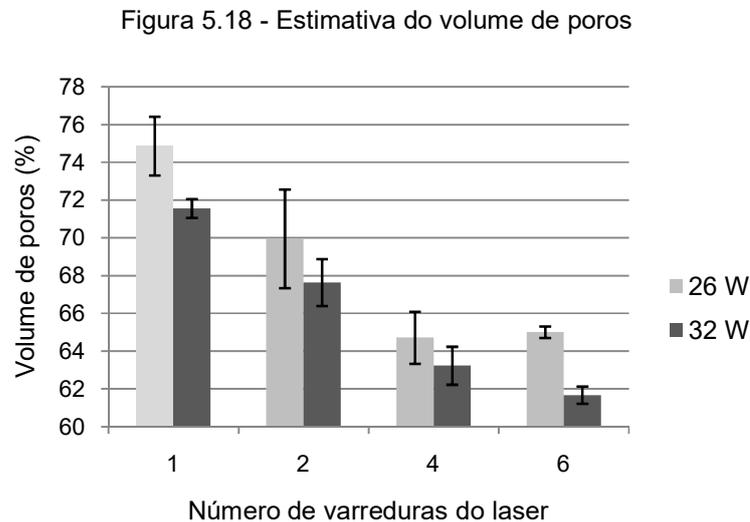
A estimativa do volume de poros foi obtida por meio da relação entre densidade e volume. A Tabela 5.3 apresenta a estimativa do volume de poros das amostras sinterizadas a laser dos conjuntos 1, 5, 9 e 13 que correspondem à potência de 26 W e número de varreduras do laser 1, 2, 4 e 6 respectivamente, e as amostras dos conjuntos 4, 8, 12 e 16 que correspondem à potência de 32 W e número de varreduras do laser 1, 2, 4 e 6 respectivamente.

Tabela 5.3 - Estimativa do volume de poros

Volume de poros (%)				
Potência do laser	Número de varreduras do laser			
	1	2	4	6
26 W	74,87 ± 1,55	69,95 ± 2,61	64,72 ± 1,38	65,01 ± 0,31
32 W	71,56 ± 0,50	67,64 ± 1,24	63,24 ± 1,01	61,69 ± 0,45

Fonte: A autora (2017).

O resultado pode ser melhor visualizado na Figura 5.18.



Fonte: A autora (2017).

É possível observar na Figura 5.18 que a estimativa do volume de poros das amostras sinterizadas a laser com 32 W é menor que o volume de poros das amostras com 26 W e que, em geral, o volume de poros diminuiu com o aumento do número de varreduras do laser. As imagens de MEV da Figura 5.13 mostram que com número de varreduras 1, ocorreu formação inicial de pescoço entre algumas partículas e maior fusão e formação de pescoço com número de varreduras 2, com número de varreduras 4 formaram-se pescoços mais largos entre partículas e com número de varreduras 6 houve a diminuição na quantidade de espaços vazios.

Esses resultados mostram que as amostras possuem alta porosidade, formada por poros inerentes ao processo de SLS, com esses conjuntos de parâmetros. A confiabilidade dessa estimativa do volume de poros pode ser afetada pelas incertezas na medição da densidade do material.

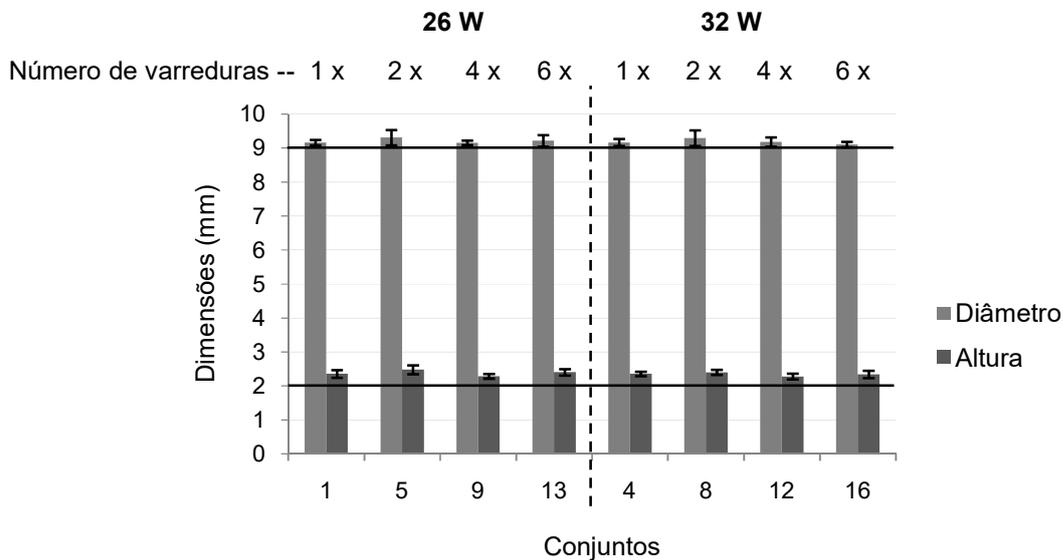
Uma análise dimensional foi realizada nas mesmas amostras nas quais foi estimado o volume de poros e o resultado pode ser visto na Tabela 5.4 e na Figura 5.19. Os valores de diâmetro e altura são apresentados em valores médios com os respectivos desvios-padrão e coeficiente de variação em porcentagem.

Tabela 5.4 - Análise dimensional das amostras

26 W	Conjunto	1	5	9	13
	Diâmetro (mm)		9,16 ± 0,08 (0,84%)	9,31 ± 0,22 (2,39%)	9,16 ± 0,06 (0,71%)
Altura (mm)		2,36 ± 0,11 (4,76%)	2,48 ± 0,13 (5,29%)	2,29 ± 0,07 (2,92%)	2,40 ± 0,09 (3,94%)
32 W	Conjunto	4	8	12	16
	Diâmetro (mm)		9,17 ± 0,10 (1,13%)	9,30 ± 0,23 (2,48%)	9,18 ± 0,13 (1,46%)
Altura (mm)		2,36 ± 0,07 (2,87%)	2,40 ± 0,07 (3,12%)	2,28 ± 0,08 (3,69%)	2,34 ± 0,11 (4,55%)

Fonte: A autora (2017).

Figura 5.19 - Análise dimensional das amostras



Fonte: A autora (2017).

A partir dos valores médios de diâmetro e altura, foram determinados os desvios dimensionais em relação ao valor definido no modelo digital, ou seja, 9 mm de diâmetro e 2 mm de altura (Tabela 5.5).

Tabela 5.5 - Desvios dimensionais das amostras

26 W	Conj. 1 (1 x)	Conj. 5 (2 x)	Conj. 9 (4 x)	Conj. 13 (6 x)
Diâmetro (%)	1,81	3,44	1,74	2,39
Altura (%)	17,92	24,00	14,33	20,17
32 W	Conj. 4 (1 x)	Conj. 8 (2 x)	Conj. 12 (4 x)	Conj. 16 (6 x)
Diâmetro (%)	1,87	3,28	2,02	1,20
Altura (%)	17,92	20,00	13,92	17,00

Fonte: A autora (2017).

Tanto para 26 W quanto para 32 W e número de varreduras 1, 2, 4 e 6, os diâmetros e alturas das amostras apresentaram desvios dimensionais semelhantes. Destaca-se o resultado dos desvios dimensionais das alturas.

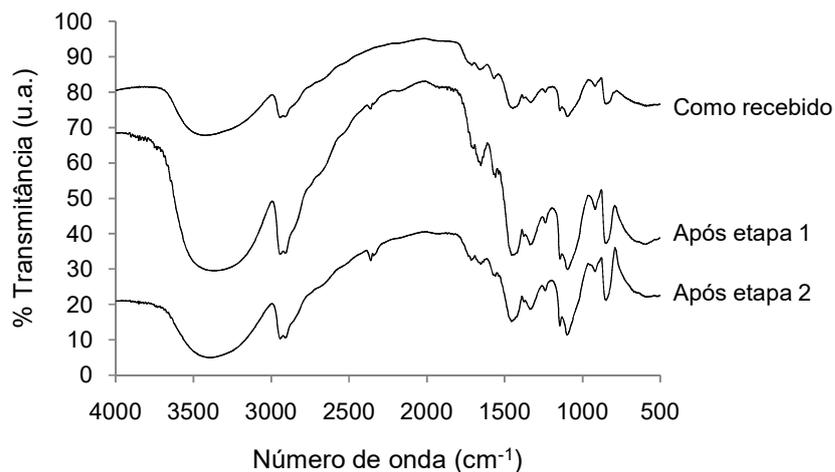
Em peças fabricadas por SLS, uma variação importante das dimensões é observada na direção Z de construção, um fenômeno conhecido como "Bonus-Z" ou "Z-growth", que leva em conta a sinterização extra do pó que ocorre sob a primeira camada construída. Essa sinterização extra ocorre devido à energia do laser estar além do ideal, que seria suficiente para sinterizar essa camada. Uma solução para reduzir o "Bonus-Z" pode ser a sinterização das primeiras camadas utilizando menor potência do laser, significando menos energia fornecida ao leito de pó (PAPADATOS et al., 1997).

5.3 TERCEIRA ETAPA

5.3.1 Caracterização do material PVA

A Figura 5.20 apresenta o espectro obtido por FTIR do PVA como recebido e do PVA retirado do leito de pó após o processo de SLS na primeira e segunda etapas.

Figura 5.20 - Espectro de FTIR do PVA como recebido e após a primeira e segunda etapas



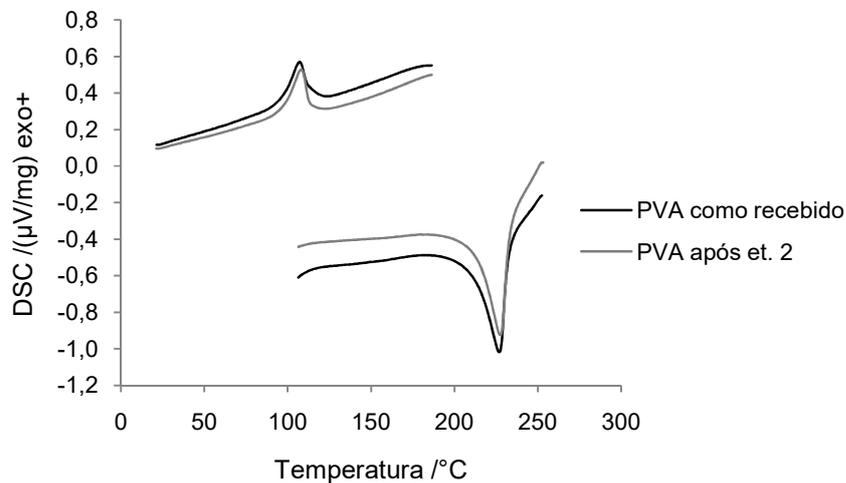
Fonte: A autora (2017).

É possível observar que o espectro do pó retirado do leito após a segunda etapa é semelhante ao obtido do pó retirado do leito após a primeira etapa, ou seja, os picos

de absorção foram preservados. Pode-se dizer que o processo de SLS não comprometeu a estrutura química do PVA do leito de pó.

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) foi utilizada para a caracterização do material PVA quanto às temperaturas de fusão e de cristalização. Além do PVA como recebido, também foi realizada uma análise por DSC do pó de PVA coletado do leito de pó após a fabricação das amostras da segunda etapa. A Figura 5.21 mostra as curvas de DSC do PVA como recebido e após a segunda etapa.

Figura 5.21 - Curvas de DSC do PVA como recebido e coletado do leito de pó após a segunda etapa



Fonte: A autora (2017).

Há um pico de fusão durante o ciclo de aquecimento e um pico de recristalização durante o ciclo de resfriamento. A Tabela 5.6 apresenta as temperaturas de fusão e de cristalização obtidas a partir das curvas de DSC do pó de PVA como recebido e do coletado do leito de pó após a segunda etapa.

Tabela 5.6 - Propriedades térmicas do PVA como recebido e após a segunda etapa

	T_m (°C)	T_c (°C)
PVA como recebido	226,4	161,4
PVA após a segunda etapa	227,2	162,2

Fonte: A autora (2017).

A temperatura de fusão cristalina do PVA como recebido é de 226,4 °C e corresponde à T_m do PVA com M_w de 89.000-98.000 g/mol e 99+% hidrolisado encontrada na literatura: 220-240 °C para PVA parcialmente e totalmente hidrolisado, respectivamente (CHUA et al., 2004), além das obtidas por DSC: 225,2 °C (PEDRAM; OMIDKHAH; AMOOGHIN, 2014), 220-230 °C (KARIMI; DAUD, 2015) e 226 °C (ROHATGI; DUTTA; CHOUDHURY, 2015).

Comparando com o PVA como recebido, as temperaturas de fusão e de cristalização do pó do leito não foram afetadas significativamente após a SLS das amostras da segunda etapa. Nota-se que no espectro da Figura 5.20 houve um aumento na intensidade da banda em 1146 cm^{-1} (atribuída à cristalinidade). Quanto maior a cristalinidade, maior a temperatura de fusão do polímero e isso pode justificar o leve aumento da T_m do pó de PVA após a segunda etapa.

A processabilidade do PVA por SLS é comprovada por um intervalo relativamente estreito de fusão e por picos de fusão e de recristalização não sobrepostos, indicando ser um material com taxa de recristalização lenta que pode resultar em peças com pouca distorção.

A localização dos picos de fusão e de recristalização pode ser utilizada para determinar a temperatura de construção do leito de pó. A consolidação a laser de pós de polímeros semi-cristalinos ocorre por aquecimento acima da T_m e geralmente a temperatura do leito de pó é mantida entre 2 °C e 4 °C abaixo da T_m .

Análises termogravimétricas realizadas com PVA com M_w de 89.000-98.000 g/mol e 99+% hidrolisado por Merle et al. (2012) indicaram que a decomposição do PVA começa por volta de 180 °C e perda de massa de aproximadamente 40% a 250 °C. Já Rohatgi, Dutta e Choudhury (2015) relataram que a degradação do PVA ocorre entre 100-200 °C. A temperatura de fusão do PVA como recebido é de 226,4 °C, ou seja, pode se degradar antes de fundir.

O recomendável seria então manter a temperatura do leito de pó abaixo de 100 °C. Nessa tese a temperatura do leito de pó foi selecionada em 80 °C, que demonstrou ser adequada para o processo de SLS do PVA, ou seja, não alterou significativamente as propriedades térmicas (T_m e T_c), o grau de cristalinidade e a estrutura química do PVA como recebido, durante o processo de SLS por um período de tempo de

aproximadamente 14 horas (tempo de exposição do material para a realização dos testes da primeira e segunda etapas).

É importante observar que no processo de sinterização a laser, apenas 10-20% do pó dentro da câmara é utilizado para construir as peças. O pó restante é varrido para dentro de coletores de excesso de pó ou permanece na câmara aquecida. Esse ambiente resulta no envelhecimento do pó, que pode limitar a sua capacidade de ser reciclado (BOURELL et al., 2014).

Manter materiais poliméricos a temperaturas elevadas pode alterar a natureza química das partículas de pó e a massa molar. Esses efeitos combinados significam que diferentes tipos de polímeros utilizados em processos de SLS alteram suas propriedades quando são reciclados e reutilizados. Para alguns materiais, essas mudanças são pequenas e, portanto, são considerados recicláveis. Por outro lado, em outros materiais essas mudanças são consideráveis e, como resultado, uma metodologia de reciclagem deve ser utilizada para manter consistentes as propriedades das peças entre construções (GIBSON; ROSEN; STUCKER, 2010).

A longa exposição ao calor leva ao crescimento da cadeia, a um aumento na massa molar e então a um aumento da viscosidade do material fundido, impedindo uma sinterização adequada. Pode observar-se também alteração nas propriedades mecânicas (KRUTH et al., 2008).

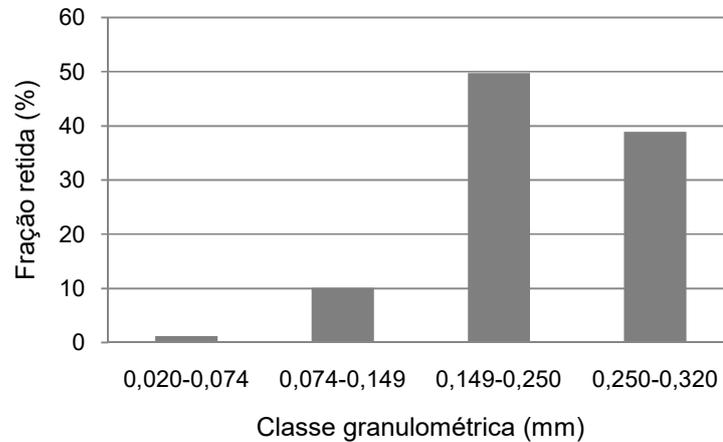
A distribuição granulométrica do pó de PVA foi determinada através de peneiramento utilizando jogo de peneiras de número 60, 100 e 200 (ASTM/ABNT), que correspondem às aberturas de malha de 0,250 mm, 0,149 mm e 0,074 mm, respectivamente. O resultado está apresentado na Tabela 5.7. Os resultados podem ser melhor visualizados na Figura 5.22.

Tabela 5.7 - Distribuição granulométrica do material PVA

Peneiras (n°)	Peneiras (mm)	Massa (g)	Retida (%)	Acumulada (%)
60	0,250	1959,65	38,92	38,92
100	0,149	2504,75	49,75	88,66
200	0,074	508,75	10,10	98,77
	Fundo	61,99	1,23	100,00
	Total	5035,14	100,00	

Fonte: A autora (2017).

Figura 5.22 - Distribuição granulométrica do pó de PVA



Fonte: A autora (2017).

Esse resultado indica que 49,75% das partículas do pó de PVA utilizado na primeira e segunda etapas encontrava-se com tamanho entre 149-250 μm , 38,92% entre 250-320 μm , 10,10% entre 74-149 μm e 1,23% entre 20-74 μm .

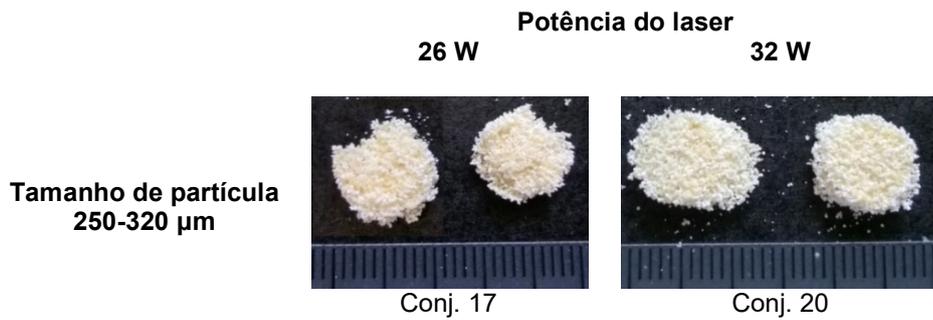
5.3.2 Fabricação e caracterização do PVA e das amostras após a SLS

Na terceira etapa foram realizados experimentos para cada faixa de tamanho de partícula variando a potência do laser e espessura da camada, conforme o tamanho de partícula. As faixas de tamanho de partícula foram: 20-250 μm , 20-74 μm , 74-149 μm , 149-250 μm e 250-320 μm . No caso das partículas entre 20-250 μm foi variado também o número de varreduras do laser. Os testes com partículas entre 20-250 μm foram realizados com a câmara fechada mantendo em 80 °C e 60 °C as temperaturas do leito de pó e dos alimentadores respectivamente. Com as outras faixas, devido à pouca quantidade de material, os testes foram realizados com a câmara aberta, mantendo em torno de 50 °C a temperatura do leito de pó e em temperatura ambiente a temperatura dos alimentadores. O espaçamento entre as varreduras do laser foi mantido em 0,12 mm.

O processo de SLS com os conjuntos de parâmetros 17 (26 W) - 20 (32 W) (Tabela 4.3) com partículas entre 250-320 μm resultou em amostras muito frágeis, sem

possibilidade de manuseio. A Figura 5.23 apresenta imagens das amostras sinterizadas a laser dos conjuntos 17 e 20.

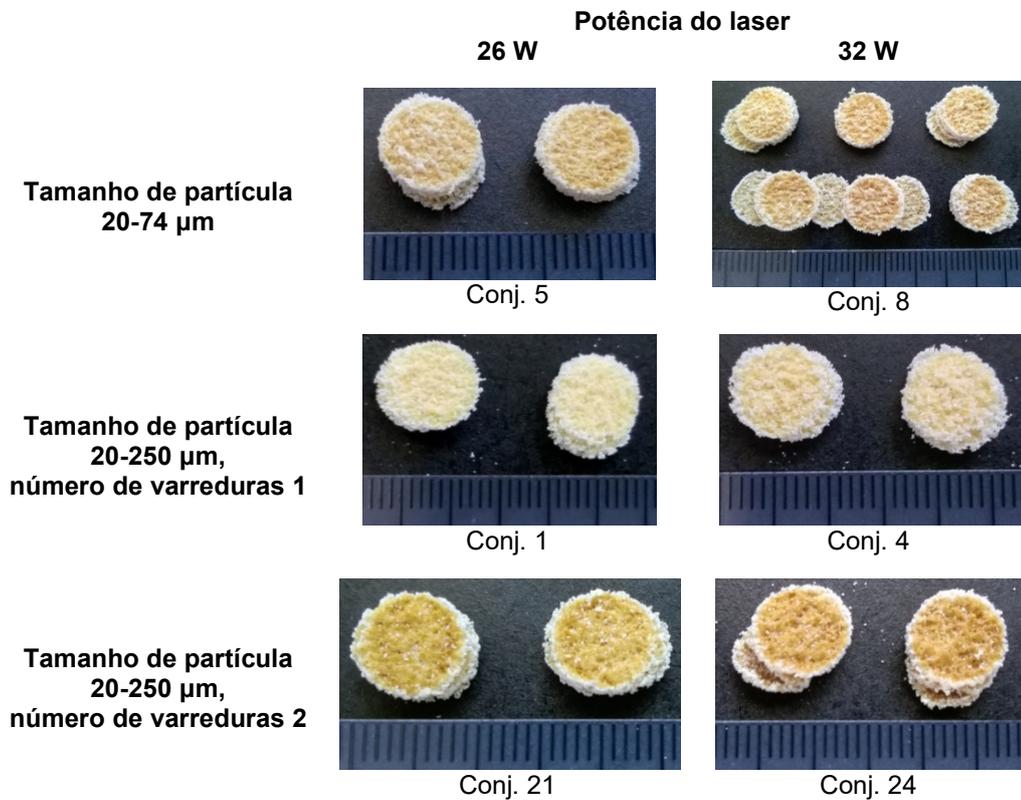
Figura 5.23 - Amostras após o processo de SLS: conjuntos 17 e 20



Fonte: A autora (2017).

Foram objeto de análise na terceira etapa as amostras produzidas com menor e maior potência, ou seja, 26 W e 32 W (Figura 5.24).

Figura 5.24 - Amostras após o processo de SLS: conjuntos 5, 8, 1, 4, 21 e 24



Fonte: A autora (2017).

A Figura 5.24 apresenta imagens das amostras sinterizadas a laser dos conjuntos 5 e 8 que correspondem à potência de 26 W e 32 W e tamanho de partícula entre 20-74 μm , e dos conjuntos 1 e 4 que correspondem à potência de 26 W e 32 W, número de varreduras do laser 1 e tamanho de partícula entre 20-250 μm , e conjuntos 21 e 24 que correspondem à potência de 26 W e 32 W, número de varreduras do laser 2 e tamanho de partícula entre 20-250 μm . Pode ser observado que houve um deslocamento das amostras durante o processo de SLS. Muito provavelmente a espessura da camada de pó utilizada foi menor que o necessário para um processo estável, e o rolo de espalhar o pó deslocou as camadas previamente sinterizadas, principalmente durante o início da construção da amostra, afetando a sua geometria.

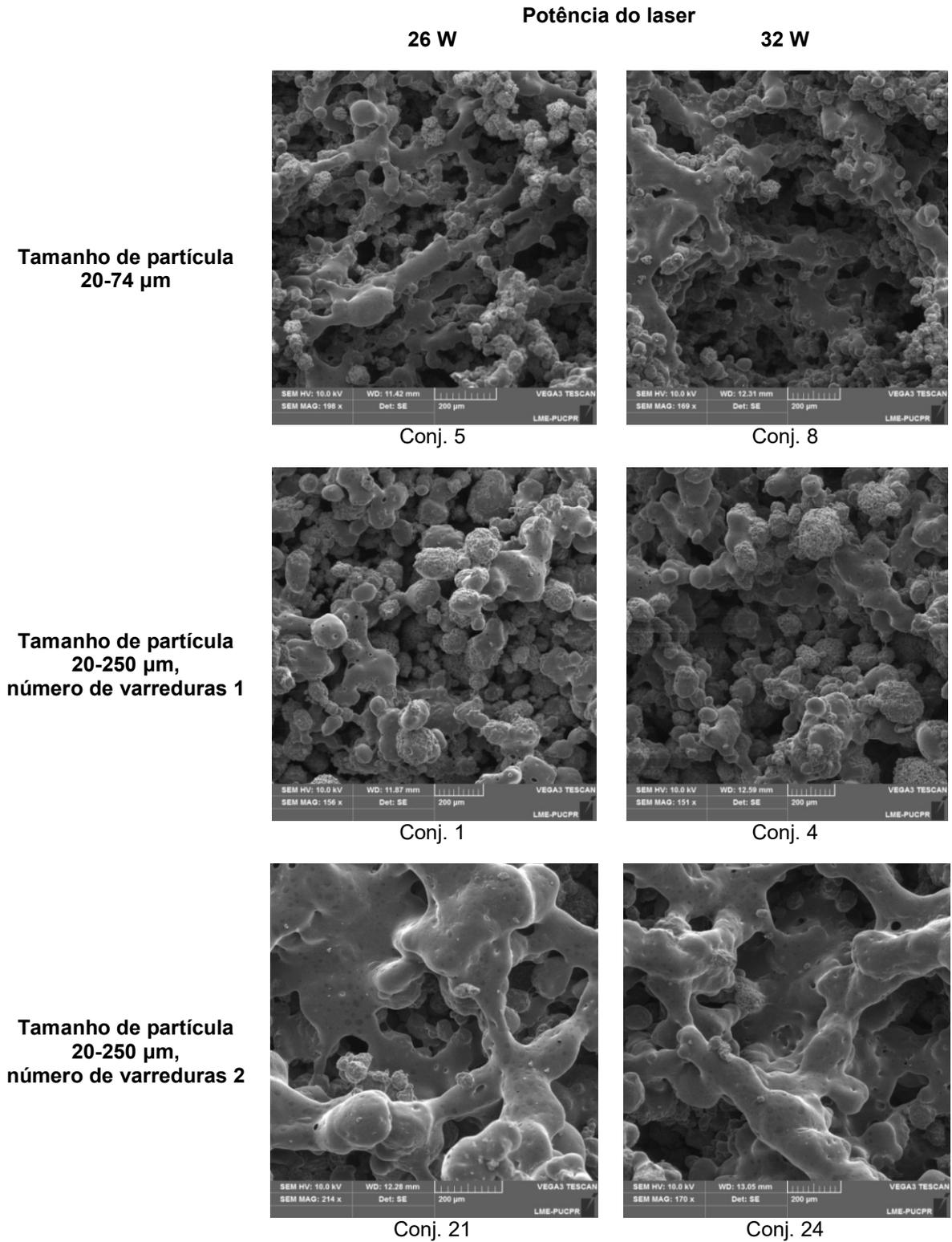
A Figura 5.25 apresenta imagens de MEV da superfície das amostras sinterizadas a laser dos conjuntos 5 (26 W) e 8 (32 W) e tamanho de partícula entre 20-74 μm , e dos conjuntos 1 (26 W), 4 (32 W), 21 (26 W - 2 x) e 24 (32 W - 2 x) e tamanho de partícula entre 20-250 μm .

Para o tamanho de partícula entre 20-74 μm é possível observar que com 26 W ocorreu fusão entre algumas partículas e formação de regiões densificadas. Já com 32 W houve maior fusão e maior formação de regiões densificadas. Para esse tamanho de partícula a potência do laser influenciou o grau de sinterização. Partículas menores absorvem a energia do laser de forma mais eficiente do que partículas maiores, uma vez que o tamanho e a distribuição do tamanho das partículas influenciam as características de absorção do laser.

Já com tamanho de partícula entre 20-250 μm e número de varreduras 1, tanto para 26 W quanto 32 W ocorreu fusão parcial fundindo apenas a casca, resultando na formação inicial de pescoço entre algumas partículas e grau de sinterização menor do que o obtido com tamanho de partícula entre 20-74 μm , sendo necessário uma maior densidade de energia para maior fusão das partículas.

Com tamanho de partícula entre 20-250 μm e número de varreduras 2, houve diferença significativa com os resultados com tamanho de partícula entre 20-74 μm e 20-250 μm e número de varreduras 1, sendo notável a maior fusão e formação de regiões densificadas e também de poros.

Figura 5.25 - Micrografias da superfície das amostras: conjuntos 5, 8, 1, 4, 21 e 24. Barra de escala = 200 μm



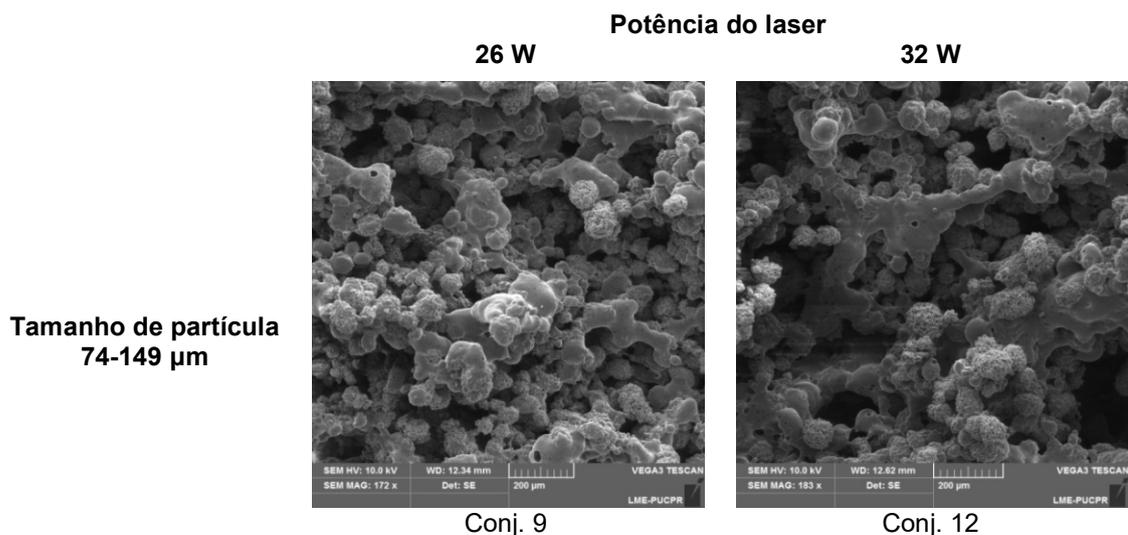
Fonte: A autora (2017).

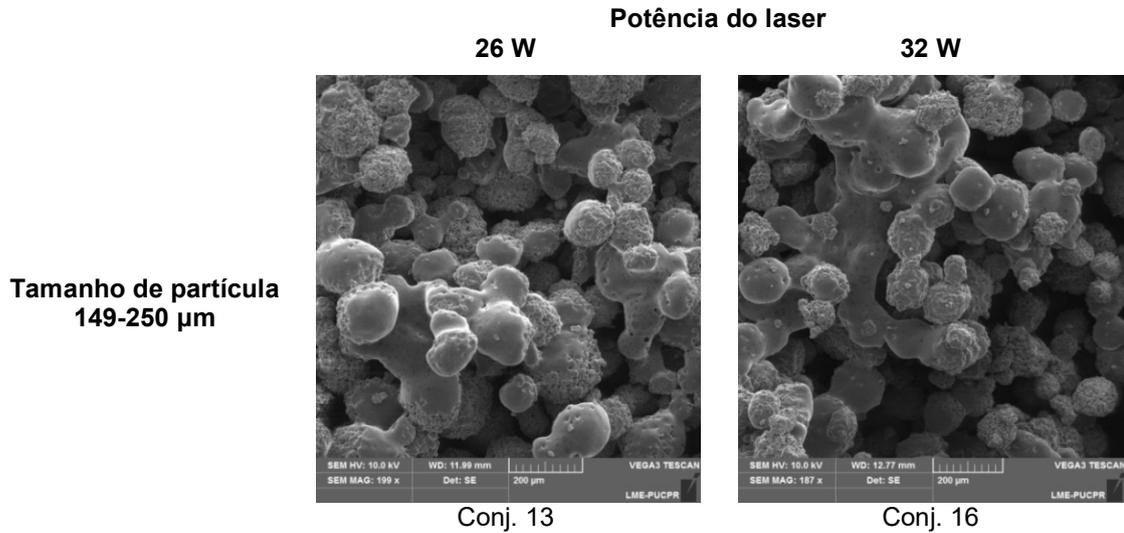
É interessante notar que resultados semelhantes foram obtidos com tamanho de partícula entre 20-250 μm e número de varreduras 2 dessa etapa e tamanho de partícula de aproximadamente 20-320 μm do PVA como recebido (conforme imagens de MEV) e número de varreduras 4 utilizado na segunda etapa (Figura 5.13). Diminuindo-se o tamanho de partícula, o número de varreduras também diminui para resultar em maiores regiões densificadas e formação de poros.

Wiria, Leong e Chua (2010) utilizaram tamanho médio de partícula de 150 μm , velocidade de varredura de 1778 mm/s e potência do laser de 13 e 14 W e notaram uma diferença considerável no efeito de sinterização (Figura 3.10) com potências do laser separadas por apenas 1 W. Observou-se que com 13 W o efeito de sinterização atingiu apenas o estágio inicial da formação de pescoço e com 14 W resultou em maior efeito de sinterização, alcançando o estágio final de estrutura totalmente coalescida.

A diferença no efeito de sinterização com o aumento da potência do laser também foi observada nessa etapa utilizando velocidade de varredura de 2000 mm/s, potência de 26 W e 32 W e tamanho de partícula entre 20-74 μm , 74-149 μm (conjuntos 9 e 12) e 149-250 μm (conjuntos 13 e 16) (Figura 5.26), em que o grau de sinterização foi maior utilizando maiores potências. Pode-se concluir que quanto menor o tamanho de partícula e mais uniforme a distribuição de tamanho de partícula, maior pode ser a influência da potência do laser.

Figura 5.26 - Micrografias da superfície das amostras: conjuntos 9, 12, 13 e 16. Barra de escala = 200 μm

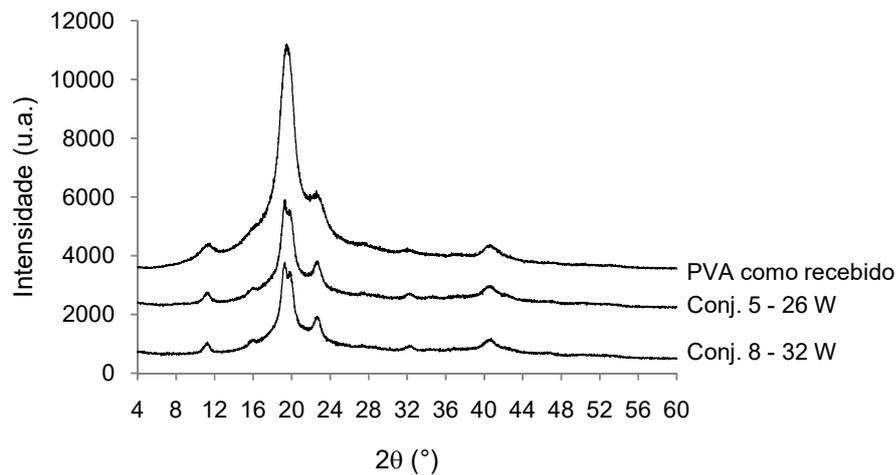




Fonte: A autora (2017).

A Figura 5.27 apresenta o difratograma do PVA após o processo de SLS com os conjuntos de parâmetros 5 e 8 que correspondem à potência de 26 W e 32 W e ao tamanho de partícula entre 20-74 μm .

Figura 5.27 - Difratograma obtido por DRX do PVA como recebido e sinterizado (tamanho de partícula 20-74 μm)



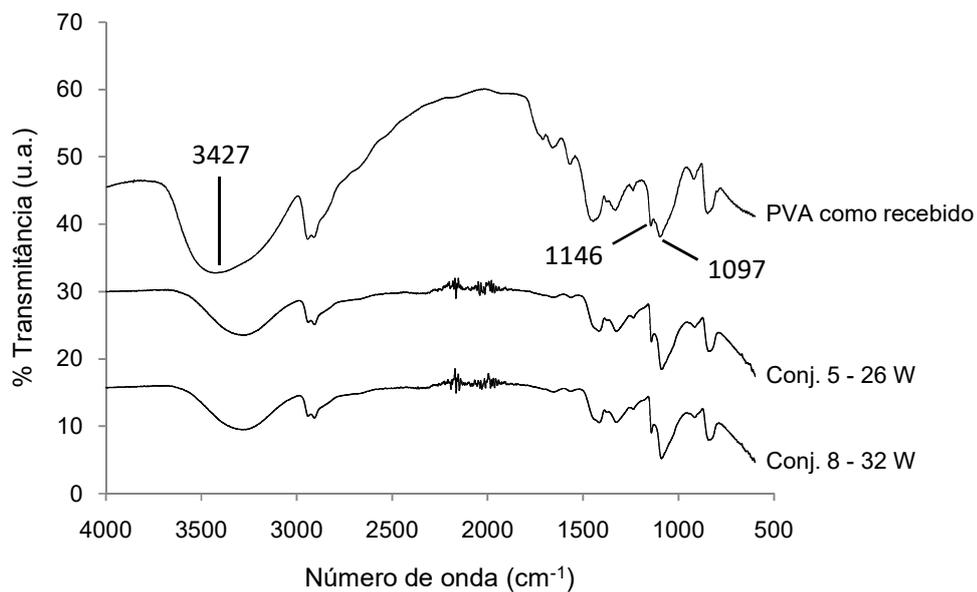
Fonte: A autora (2017).

O processo de SLS utilizando os conjuntos 5 e 8 resultou em diminuição da intensidade dos picos de difração característicos do PVA, porém não houve diferença significativa na intensidade relativa dos dois conjuntos, ou seja, a intensidade dos picos

não aumentou e nem diminuiu com o aumento da potência do laser com tamanho de partícula entre 20-74 μm . A diminuição da intensidade dos picos de difração indicou a diminuição do grau de cristalinidade do PVA.

A Figura 5.28 apresenta o espectro obtido por FTIR do PVA como recebido e após o processo de SLS com os conjuntos de parâmetros 5 e 8 que correspondem à potência de 26 W e 32 W e ao tamanho de partícula entre 20-74 μm .

Figura 5.28 - Espectro de FTIR do PVA como recebido e sinterizado (tamanho de partícula 20-74 μm)



Fonte: A autora (2017).

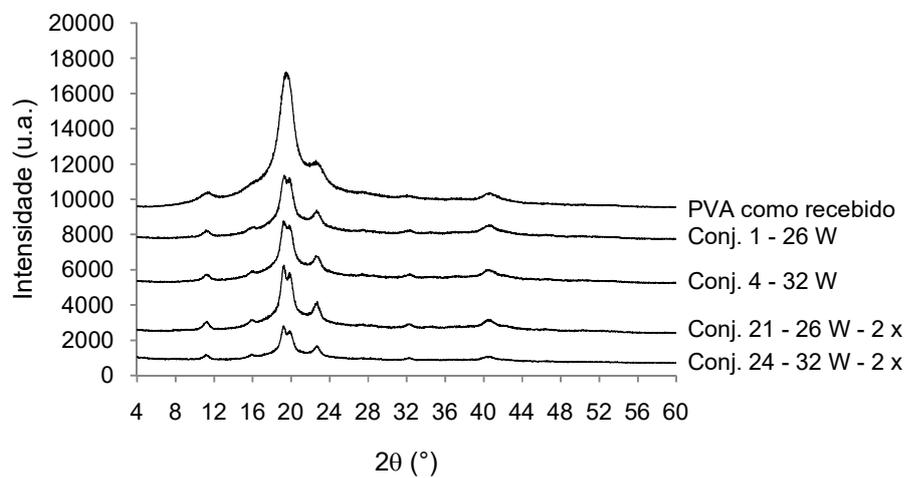
É possível verificar que os conjuntos 5 e 8 possuem espectros semelhantes, com bandas aparecendo nos mesmos números de onda para cada ligação. Em relação ao pó de PVA como recebido, houve um aumento na intensidade da banda em 1097 cm^{-1} (C–O). O deslocamento de pico no número de onda 3427 cm^{-1} atribuído à vibração de grupos hidroxila se manteve conforme mostrado na análise do pó retirado do leito após a primeira etapa. A banda em 1146 cm^{-1} (C–O), atribuída à cristalinidade do PVA, apresentou menor intensidade nas amostras sinterizadas em relação ao PVA como recebido, correspondendo ao resultado apresentado no difratograma obtido por DRX (Figura 5.27).

Após o processo de sinterização a laser utilizando potência do laser de 26 W e 32 W e tamanho de partícula entre 20-74 μm , houve uma diminuição do grau de cristalinidade do PVA. O processo de SLS não alterou a estrutura química do PVA como recebido de maneira significativa.

Em relação à estabilidade química do PVA, a análise por FTIR de Wiria et al. (2008) (Figura 3.12) da amostra sinterizada com tamanho de partícula entre 50-100 μm , velocidade de varredura de 2032 mm/s, espessura da camada de 0,1524 mm e potência do laser de 13 W, mostrou que o processo de SLS não alterou a composição química do PVA e nem causou degradação. Esse resultado está próximo ao obtido com tamanho de partícula entre 20-74 μm , velocidade de varredura do laser de 2000 mm/s, espessura da camada de 0,22 mm e com maior potência do laser, 26 W e 32 W.

A Figura 5.29 apresenta o difratograma do PVA após o processo de SLS com os conjuntos de parâmetros 1 (26 W), 4 (32 W), 21 (26 W - 2 x) e 24 (32 W - 2 x) que correspondem ao tamanho de partícula entre 20-250 μm .

Figura 5.29 - Difratograma obtido por DRX do PVA como recebido e sinterizado (tamanho de partícula 20-250 μm)



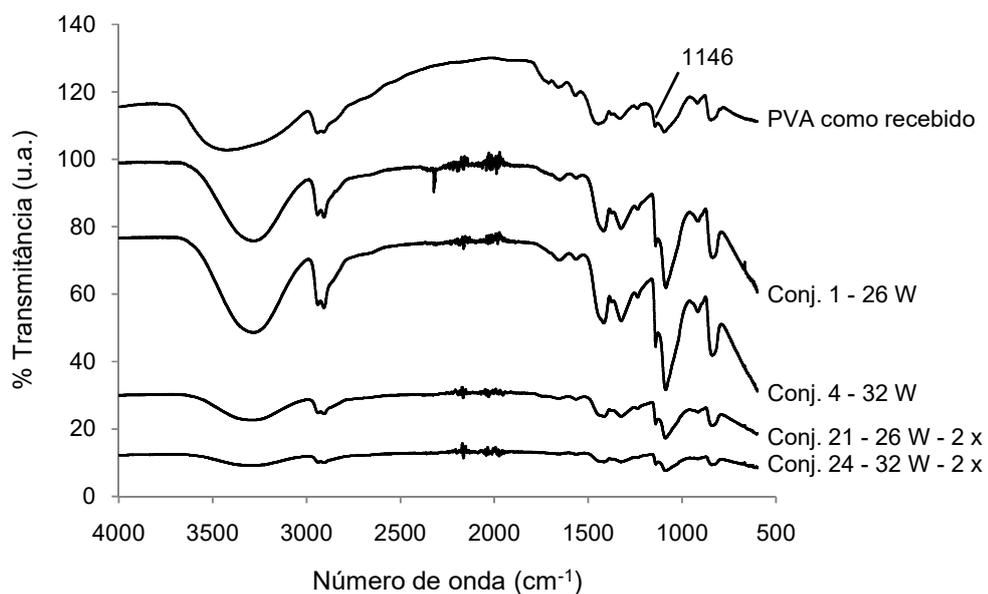
Fonte: A autora (2017).

O processo de SLS utilizando os conjuntos 1, 4, 21 e 24 resultou em diminuição da intensidade dos picos de difração característicos do PVA, indicando diminuição da cristalinidade, porém não houve diferença significativa na intensidade relativa dos

conjuntos 1, 4 e 21. No caso do conjunto 24, houve uma diminuição significativa na intensidade dos picos.

A Figura 5.30 apresenta o espectro obtido por FTIR do PVA como recebido e após o processo de SLS com os conjuntos de parâmetros 1 (26 W), 4 (32 W), 21 (26 W - 2 x) e 24 (32 W - 2 x) que correspondem ao tamanho de partícula entre 20-250 μm .

Figura 5.30 - Espectro de FTIR do PVA como recebido e sinterizado (tamanho de partícula 20-250 μm)



Fonte: A autora (2017).

Os espectros dos conjuntos 1 e 4 apresentaram comportamento semelhante, com um aumento na intensidade de todos os picos. Com o aumento do número de varreduras para 2, houve uma diminuição na intensidade dos picos, sendo que com 32 W a diminuição foi bastante significativa. Nos quatro conjuntos não ocorreu o aparecimento e nem o desaparecimento de bandas. A banda em 1146 cm^{-1} , atribuída à cristalinidade do PVA, teve sua intensidade aumentada nos conjuntos 1 e 4 e diminuída nos conjuntos 21 e 24.

Após o processo de SLS utilizando potência do laser de 26 W e 32 W, número de varreduras 1 e 2 e tamanho de partícula entre 20-250 μm , houve uma diminuição do grau de cristalinidade do PVA. O processo de SLS não alterou a estrutura química do PVA como recebido de maneira significativa nos conjuntos 1, 4, 21 e 24, com picos de

absorção preservados. Com 32 W e número de varreduras 2, houve uma diminuição significativa na intensidade dos picos de difração e das bandas de absorção.

Em resumo, para o processo de SLS de PVA com tamanho de partícula entre 20-320 μm , potência do laser de 26 W e 32 W e número de varreduras do laser 1, 2, 4 e 6, a diferença de 6 W não influencia na microestrutura das amostras para todos os números de varreduras do laser, mas quanto maior o número de varreduras, maiores são as regiões densificadas e menor a quantidade de espaços vazios, tanto para 26 W quanto para 32 W. O volume de poros das amostras sinterizadas a laser com 32 W é menor que com 26 W e, em geral, diminui com o aumento do número de varreduras.

Para partículas entre 20-74 μm , a potência do laser de 26 W e 32 W influenciou a microestrutura da amostra e pode-se concluir que quanto menor o tamanho de partícula e mais uniforme a distribuição de tamanho de partícula, maior pode ser a influência da potência do laser. Já com tamanho de partícula entre 20-250 μm , foram obtidas microestruturas semelhantes utilizando 26 W e 32 W e com o dobro do número de varreduras, houve diferença significativa na microestrutura para ambas as potências.

Após o processo de SLS utilizando os conjuntos de parâmetros estudados e tamanho de partícula entre 20-320 μm , 20-74 μm e 20-250 μm , houve uma diminuição do grau de cristalinidade do PVA.

Com tamanho de partícula entre 20-320 μm , o processo de SLS alterou a estrutura química do PVA como recebido, principalmente utilizando potência de 32 W e número de varreduras 6. Uma diferença de 6 W, entre 26 W e 32 W, com número de varreduras 6, influenciou de forma significativa a estrutura química do PVA sinterizado. Com tamanho de partícula entre 20-74 μm e 20-250 μm , o processo de SLS não alterou a estrutura química do PVA como recebido de maneira significativa, porém, no caso do tamanho de partícula entre 20-250 μm , com 32 W e número de varreduras 2, houve uma diminuição significativa na intensidade dos picos de difração e das bandas de absorção.

Vale ressaltar que com tamanho de partícula entre 20-320 μm o processo de SLS pode ter alterado a estrutura química do PVA, principalmente utilizando potência de 32 W e número de varreduras 6, provavelmente devido à distribuição do tamanho de partícula. Partículas grandes tendem a necessitar de mais energia para fundir do que

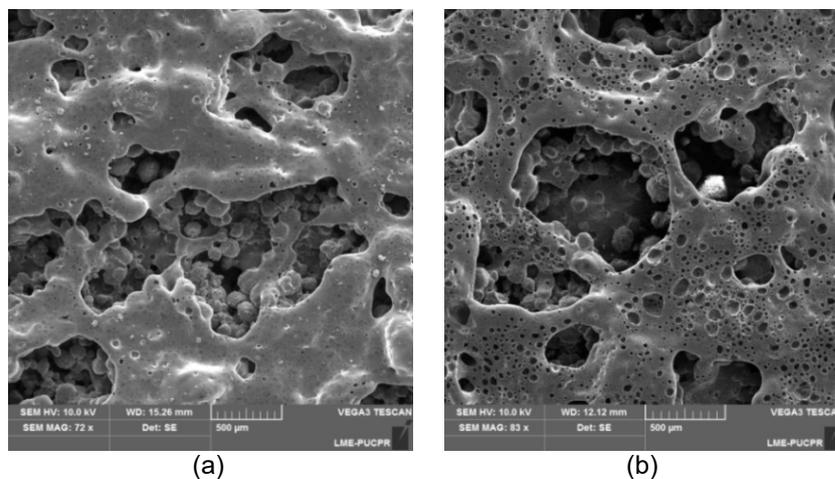
partículas pequenas e uma grande variação no tamanho pode fazer com que partículas menores absorvam energia em excesso.

Em relação à análise do pó de PVA retirado do leito de construção pode-se dizer que a temperatura de 80 °C foi adequada pois não alterou de maneira significativa as propriedades térmicas (T_m e T_c), o grau de cristalinidade e a estrutura química do PVA como recebido, durante o processo de SLS por um período de tempo de aproximadamente 14 horas (tempo de exposição do material para a realização dos testes da primeira e segunda etapas).

5.4 CULTURA CELULAR

Primeiramente é interessante notar que, após a cultura celular, durante a análise por MEV, foi observado que ocorreu a abertura de microporos em todas as amostras submetidas aos testes de cultura celular. Por exemplo, a Figura 5.31 apresenta imagens de MEV da superfície de uma amostra sinterizada a laser do conjunto 16, que corresponde à potência de 32 W e número de varreduras do laser 6, antes (a) e depois (b) da cultura celular por 3 dias. Não é possível observar as células na Figura 5.31 (b) devido à baixa ampliação. Posteriormente foi verificado que esses microporos foram abertos após o processo de lavagem das amostras por ultrassom em água deionizada.

Figura 5.31 - Micrografias da superfície das amostras - conjunto 16: (a) antes e (b) depois da cultura celular. Barra de escala = 500 μm

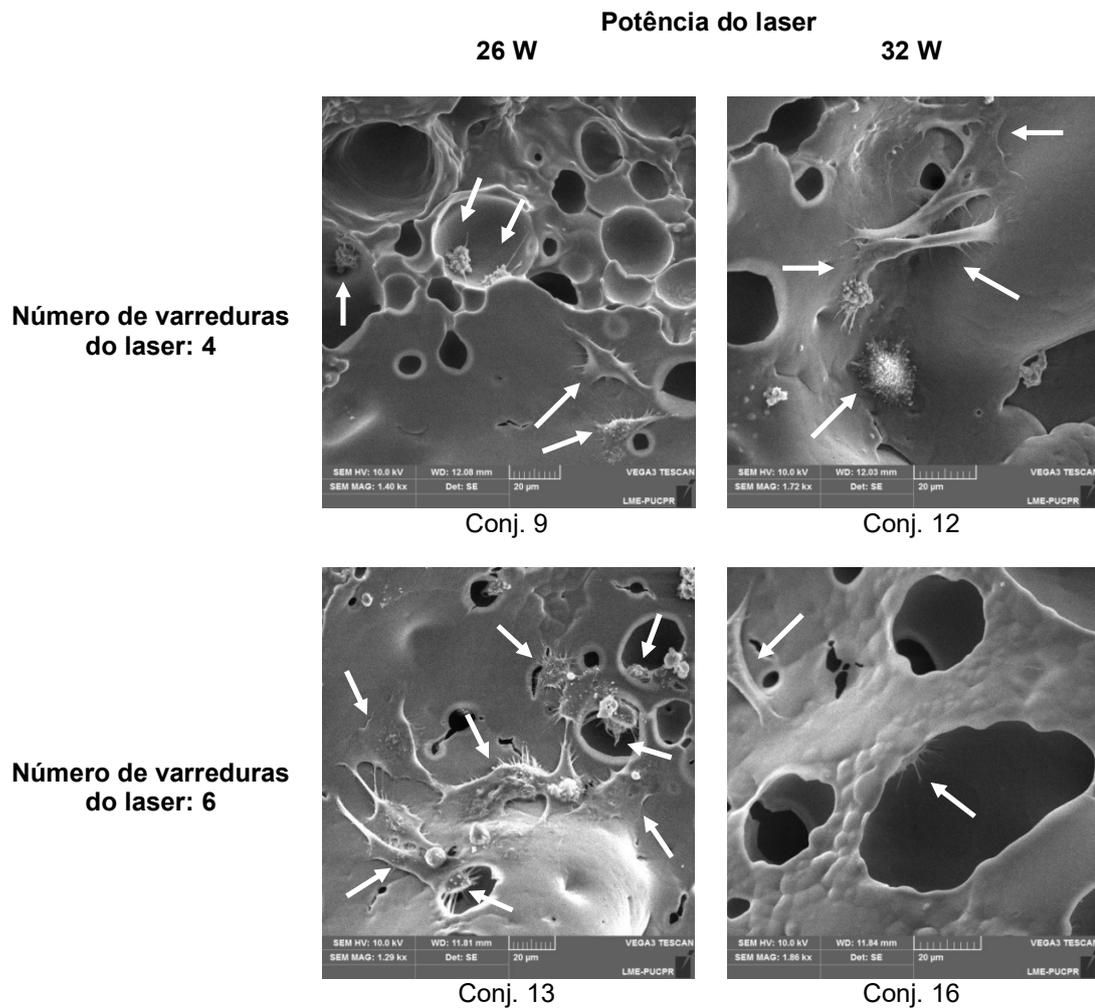


Fonte: A autora (2017).

A investigação de biocompatibilidade foi realizada pela análise da adesão de células de osteossarcoma (SaOs-2) e fibroblastos humanos por meio de MEV.

Foram submetidas a testes de cultura celular de osteoblastos amostras produzidas na segunda etapa através dos conjuntos 9 e 13 que correspondem à potência de 26 W e número de varreduras do laser 4 e 6 respectivamente, e as amostras dos conjuntos 12 e 16 que correspondem à potência de 32 W e número de varreduras do laser 4 e 6 respectivamente. Imagens de MEV (Figuras 5.32 e 5.33) mostram osteoblastos após 3 dias de incubação.

Figura 5.32 - Imagens de MEV de células SaOs-2 após cultura celular por 3 dias: conjuntos 9 e 13 (26 W) e 12 e 16 (32 W). Barra de escala = 20 µm

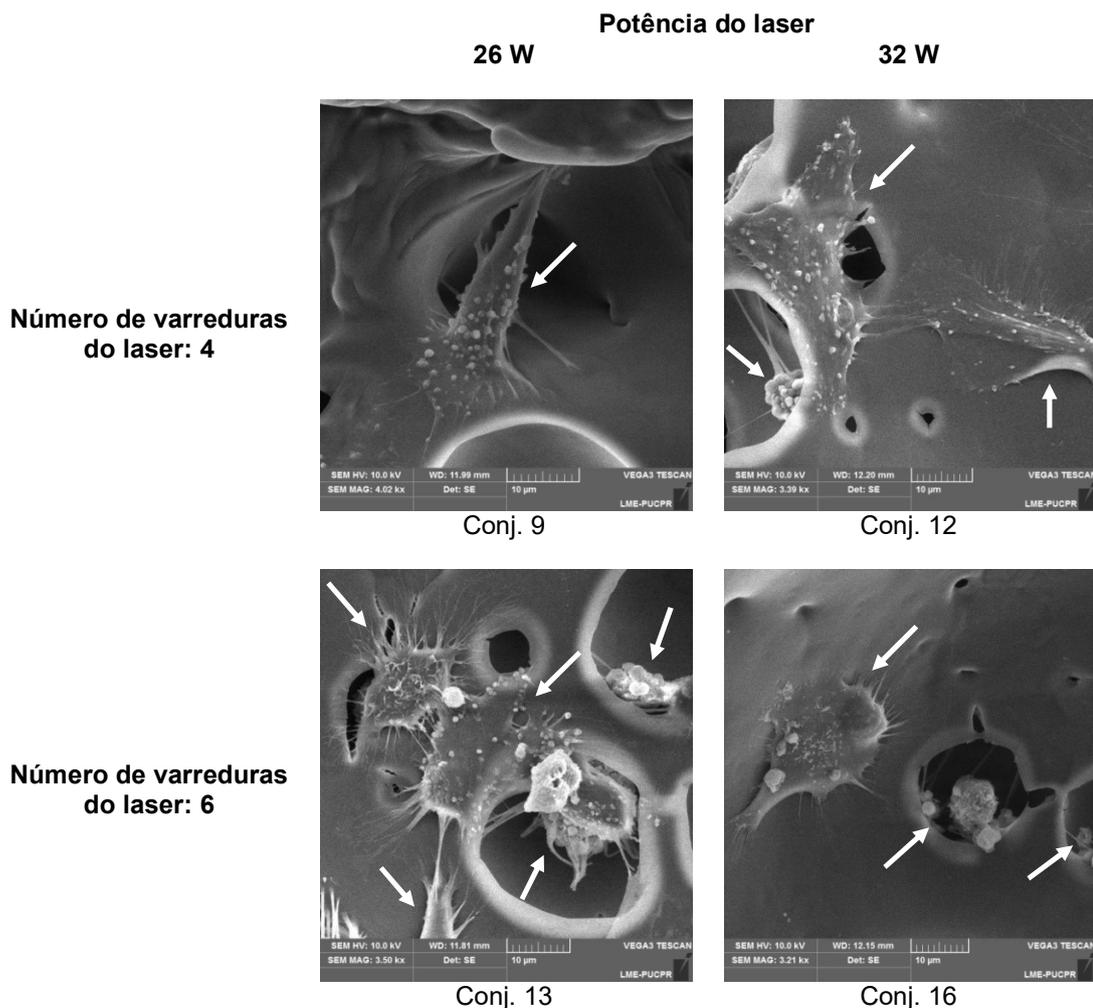


Fonte: A autora (2017).

As imagens de MEV (Figuras 5.32 e 5.33) mostram que após 3 dias de incubação as células SaOs-2 aderiram ao PVA sinterizado a laser, demonstrando que as características do material proporcionaram às células um ambiente propício ao ancoramento. Essas células aderiram tanto na superfície quanto dentro dos microporos abertos, como indicado pelas setas nas Figuras 5.32 e 5.33. Foram encontradas células aderidas ao PVA em todas as amostras analisadas, ou seja, sinterizadas com potência de 26 W e 32 W e número de varreduras 4 e 6.

A Figura 5.33 apresenta imagens de MEV de células aderidas, em maior ampliação, em diferentes regiões das amostras.

Figura 5.33 - Imagens de MEV de células SaOs-2 após cultura celular por 3 dias: conjuntos 9 e 13 (26 W) e 12 e 16 (32 W). Barra de escala = 10 μ m



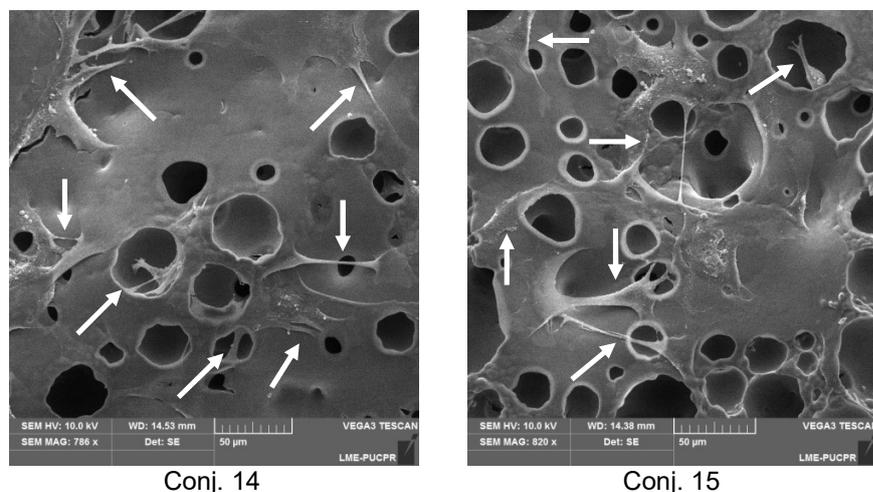
Fonte: A autora (2017).

Observa-se que em geral as células aderidas à superfície mantiveram características morfológicas, apresentando formato achatado e espraiado cobrindo a superfície com uma fina camada. Já as células que se infiltraram e aderiram dentro dos microporos foram possíveis de serem vistas de uma forma tridimensional. De uma forma geral, foi possível observar células dentro dos microporos e recobrendo as superfícies.

Testes de cultura celular foram realizados para avaliar a biocompatibilidade entre o PVA sinterizado e células osteoblásticas SaOs-2 e os resultados indicam biocompatibilidade entre o PVA sinterizado e células SaOs-2. Comparando-se os 4 conjuntos pode-se concluir que uma alteração na estrutura química do PVA não influenciou a biocompatibilidade, com destaque para o conjunto 16 que apresentou estrutura química alterada de maneira significativa.

Também foram submetidas a testes de cultura celular amostras dos conjuntos 14 e 15 da segunda etapa, sinterizadas a laser com potências de 28 W e 30 W respectivamente, e número de varreduras do laser 6, utilizando fibroblastos humanos HFF-1. As análises ocorreram após 3 e 6 dias de cultivo. A Figura 5.34 mostra imagens de MEV de fibroblastos aderidos à superfície das amostras após 3 dias de cultura celular, com as setas indicando os filopódios (prolongamentos da membrana celular projetados pela célula para o ancoramento na superfície).

Figura 5.34 - Imagens de MEV de fibroblastos após cultura celular por 3 dias: conjuntos 14 e 15. Barra de escala = 50 μ m

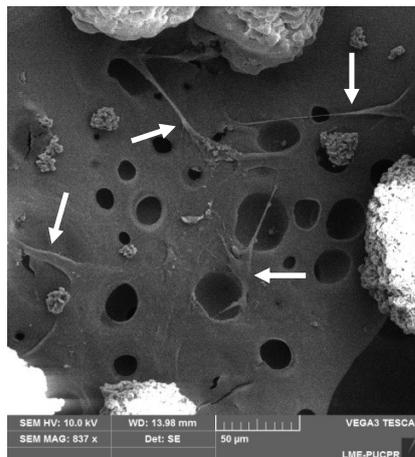


Fonte: A autora (2017).

Os fibroblastos aderiram tanto na superfície quanto dentro dos microporos abertos, porém em maior parte na superfície das amostras, diferente dos osteoblastos, característica essa compatível com o modelo celular escolhido, que em um ambiente *in vivo* apresentaria um comportamento similar, seguindo para formação de multicamadas de células. Foram encontrados fibroblastos aderidos ao PVA em todas as amostras analisadas, ou seja, sinterizadas com potência de 28 W e 30 W e número de varreduras 6.

Foi realizado um corte em uma amostra do conjunto 14, partindo-a ao meio e retirando a metade na qual se encontrava a superfície onde foram depositadas as células, para verificar a presença de células na parte interna da amostra. Na Figura 5.35 é possível observar que fibroblastos infiltraram e aderiram no interior na amostra.

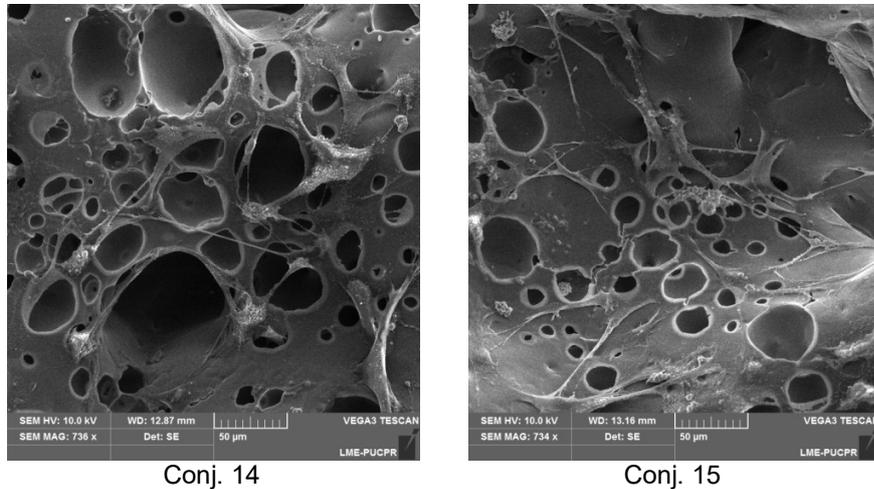
Figura 5.35 - Imagem de MEV de fibroblastos no interior da amostra após cultura celular por 3 dias. Barra de escala = 50 μ m



Fonte: A autora (2017).

Imagens de MEV (Figura 5.36) mostram fibroblastos aderidos à superfície das amostras após 6 dias de cultura celular, demonstrando que mesmo após um período prolongado de incubação, as células não apresentaram rejeição à superfície proposta.

Figura 5.36 - Imagens de MEV de fibroblastos após cultura celular por 6 dias: conjuntos 14 e 15. Barra de escala = 50 μ m



Fonte: A autora (2017).

Esses testes de cultura celular indicam biocompatibilidade entre o PVA sinterizado e fibroblastos humanos HFF-1.

Pode-se concluir que as amostras sinterizadas a laser utilizando potência do laser entre 26 W e 32 W e número de varreduras 4 e 6, com temperatura do leito de pó de 80 °C e dos alimentadores de 60 °C, espaçamento entre as varreduras do laser de 0,12 mm, espessura da camada de pó de 0,46 mm, velocidade de varredura do laser de 2000 mm/s e tamanho de partícula entre 20-320 μ m, se mostraram adequadas para cultura celular de osteoblastos e fibroblastos humanos.

Os resultados dos testes de cultura celular permitem que novas análises possam ser planejadas e realizadas para buscar maior conhecimento em relação ao crescimento das células em três dimensões, proliferação, diferenciação celular, migração e muitos outros aspectos, através de cultura celular em arcabouços de PVA sinterizado a laser.

6 CONCLUSÕES

A presente tese de doutorado teve como objetivo principal o estudo do processo de SLS do polímero PVA, através de testes experimentais, com a finalidade de produzir arcabouços para serem utilizados em estudos *in vitro*. Foi investigada a influência dos parâmetros do processo de SLS potência do laser e número de varreduras do laser na microestrutura na superfície das amostras e nas propriedades do material PVA, grau de cristalinidade e estabilidade química, com diferentes faixas de tamanho de partícula.

Para a fabricação de peças a partir do pó do material PVA através de SLS utilizando a máquina Sinterstation 2000, potência do laser de 26 W e 32 W, diferentes números de varreduras e tamanho de partícula entre 20-320 μm , 20-74 μm e 20-250 μm , pode-se concluir que:

1. Para a sinterização do pó com grandes variações no tamanho de partícula, como entre 20-320 μm e 20-250 μm , o parâmetro que tem maior influência na microestrutura é o número de varreduras e não a potência do laser.
2. Já para a sinterização do pó com tamanho de partícula entre 20-74 μm , a potência do laser tem influência na microestrutura, ou seja, quanto menor o tamanho de partícula e mais uniforme a distribuição de tamanho de partícula, maior pode ser a influência da potência do laser na microestrutura e menor a necessidade de se aumentar o número de varreduras.
3. O processo de SLS causou uma diminuição do grau de cristalinidade do PVA.
4. O processo de SLS com tamanho de partícula entre 20-320 μm alterou a estrutura química do PVA como recebido, sobretudo utilizando maior potência do laser e maior número de varreduras. Já com tamanho de partícula entre 20-74 μm e 20-250 μm , não houve alteração da estrutura química de maneira significativa, mas houve uma diminuição significativa na intensidade dos picos de difração e das bandas de absorção no caso do tamanho de partícula entre 20-250 μm , com maior potência do laser e maior número de varreduras.
5. Sobre o pó de PVA do leito de construção concluiu-se que a temperatura de 80 °C foi adequada, pois não alterou de maneira significativa as propriedades térmicas (T_m e

T_c), o grau de cristalinidade e a estrutura química do PVA como recebido após, aproximadamente, 14 horas de exposição.

Testes de cultura celular mostraram que o material PVA sinterizado a laser com potência do laser de 26 W e 32 W e número de varreduras 4 e 6 é biocompatível com células osteoblásticas de osteossarcoma humano SaOs-2, e o PVA sinterizado a laser com potência de 28 W e 30 W e número de varreduras 6 é biocompatível com fibroblastos humanos HFF-1.

Vale ressaltar que, apesar da processabilidade do PVA por SLS, essa tecnologia pode não ser viável para a produção de arcabouços para estudos *in vitro* utilizando máquinas de SLS que não permitem processar apenas a quantidade necessária de material para a fabricação de arcabouços como, por exemplo, a Sinterstation 2000 localizada no CTI, devido à grande quantidade de material necessária para um processo automático nessa máquina, pelo menos 5 kg de pó de PVA, uma vez que o custo total do PVA em pó pode ser alto.

Sugestões para trabalhos futuros incluem projetar arcabouços com diferentes geometrias internas (como a inclusão de canais por exemplo), avaliar a biocompatibilidade entre o material PVA como recebido e células SaOs-2 e HFF-1 e comparar com o resultado obtido com amostras de PVA sinterizado em termos de adesão celular e, por fim, avaliar o desempenho dos arcabouços de PVA em ensaios de cultura celular *in vitro* de maneira mais detalhada e também com outros tipos de células.

REFERÊNCIAS

AGARWALA, M.; BOURELL, D.; BEAMAN, J.; MARCUS, H.; BARLOW, J. Direct selective laser sintering of metals. **Rapid Prototyping Journal**, USA, v. 1, n. 1, p. 26-36, 1995.

ASTM F2150-13. **Standard Guide for Characterization and Testing of Biomaterial Scaffolds Used in Tissue-Engineered Medical Products**. ASTM - American Society for Testing and Materials, 2013.

ASTM F2312-11. **Standard Terminology Relating to Tissue Engineered Medical Products**. ASTM - American Society for Testing and Materials, 2011.

ASTM F2450-10. **Standard Guide for Assessing Microstructure of Polymeric Scaffolds for Use in Tissue-Engineered Medical Products**. ASTM - American Society for Testing and Materials, 2010.

ASTM F2792-12a. **Standard Terminology for Additive Manufacturing Technologies**. ASTM - American Society for Testing and Materials, 2012.

BAKER, M. I.; WALSH, S. P.; SCHWARTZ, Z.; BOYAN, B. D. A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications. **Journal of Biomedical Materials Research Part B**, USA, p. 1-7, 2012.

BERGENSTOCK, M. K.; LAU, W.; SUN, W.; LIU, Q. Engineered Polystyrene Scaffolds For *In Vitro* Three-Dimensional Disease Models. **34th Annual Meeting of the Society for Biomaterials**, USA, v. 32, n. 1, 2010.

BOURELL, D.L. (Ed.); LEU, M. C. (Ed.); ROSEN, D. W. (Ed.). **Roadmap for Additive Manufacturing - Identifying the Future of Freeform Processing**. Austin: The University of Texas at Austin, USA, 2009.

BOURELL, D. L.; WATT, T. J.; LEIGH, D. K.; FULCHER, B. Performance limitations in polymer laser sintering. **Physics Procedia**, United States, v. 56, p. 147-156, 2014.

CAICEDO-CARVAJAL, C. E.; LIU, Q.; REMACHE, Y.; GOY, A.; SUH, K. S. Cancer Tissue Engineering: A Novel 3D Polystyrene Scaffold for *In Vitro* Isolation and Amplification of Lymphoma Cancer Cells from Heterogeneous Cell Mixtures. **Journal of Tissue Engineering**, USA, p. 1-10, 2011.

CANEVAROLO Jr., S. V. **Ciência dos Polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 3. ed. São Paulo: Artliber Editora Ltda., 2013.

CHAN, L. W.; HAO, J. S.; HENG, P. W. Evaluation of Permeability and Mechanical Properties of Composite Polyvinyl Alcohol Films. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Singapore, v. 47, n. 10, p. 1412-1416, 1999.

CHAN, B. P.; LEONG, K. W. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. **European Spine Journal**, China , v. 17, p. S467-S479, 2008.

CHANG, H.-I.; WANG, Y. Cell Responses to Surface and Architecture of Tissue Engineering Scaffolds. In: EBERLI, D. (Ed.). **Regenerative Medicine and Tissue Engineering - Cells and Biomaterials**. InTech, p. 569-588, 2011.

CHUA, C. K.; LEONG, K. F.; TAN, K. H.; WIRIA, F. E.; CHEAH, C. M. Development of tissue scaffolds using selective laser sintering of polyvinyl alcohol/hydroxyapatite biocomposite for craniofacial and joint defects. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, Singapore, v. 15, issue 10, p. 1113-1121, 2004.

CHUA, C. K.; LEONG, K. F.; AN, J. Introduction to rapid prototyping of biomaterials. In: NARAYAN, R. (Ed.). **Rapid prototyping of biomaterials: Principles and applications**. Cambridge, Woodhead Publishing Limited, p. 1-15, 2014.

COATES, J. Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. In: MEYERS, R. A. (ed.). **Encyclopedia of Analytical Chemistry**, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, p. 10815-10837, 2000.

EOSOLY, S.; BRABAZON, D.; LOHFELD, S.; LOONEY, L. Selective laser sintering of hydroxyapatite/poly- ϵ -caprolactone scaffolds. **Acta Biomaterialia**, Ireland, v. 6, p. 2511-2517, 2010.

ESHRAHGI, S.; DAS, S. Micromechanical finite-element modeling and experimental characterization of the compressive mechanical properties of polycaprolactone–hydroxyapatite composite scaffolds prepared by selective laser sintering for bone tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, USA, v. 8, p. 3138-3143, 2012.

GIBSON, I.; SHI, D. Material properties and fabrication parameters in selective laser sintering process. **Rapid Prototyping Journal**, Hong Kong, v. 3, n. 4, p. 129-136, 1997.

GIBSON, I.; ROSEN, D. W.; STUCKER, B. **Additive Manufacturing Technologies: Rapid Prototyping to Direct Digital Manufacturing**. New York: Springer Science+Business Media, 2010. 462 p.

GRIFFITH, L. G.; NAUGHTON, G. Tissue Engineering - Current Challenges and Expanding Opportunities. **Science**, USA, v. 295, p. 1009-1016, 2002.

HASSAN, C. M.; PEPPAS, N. A. Structure and Applications of Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods. **Advances in Polymer Science**, USA, v. 153, p. 37-65, 2000.

HAYCOCK, J. W. (Ed.); AHLUWALIA, A. (Ed.); WILKINSON, J. M. (Ed.). **Cellular In Vitro Testing: Methods and Protocols**. Boca Raton: CRC Press. 2014. 192 p.

HODGKINSON, N.; TAYLOR, M. Thermoplastic Poly(Vinyl Alcohol) PVOH. **Materials World**, v. 8, p. 25-25, 2000.

HUANG, H.; KOJIMA, N.; NARUKE, H.; OIZUMI, S.; NIINO, T.; SAKAI, Y. A Porous Perfusion Bioreactor That Possess Microchannels: It's Fabrication by Selective Laser Sintering and Preliminary Evaluation of Culture of Human Hepatoma Hep G2 Cells. In: PEPPAS, N. A.; HOFFMAN, A. S.; KANAMORI, T.; TOJO, K. (eds). **Advances in Medical Engineering, Drug Delivery Systems and Therapeutic Systems**, AIChE, New York, p. 58-63, 2006.

HUTMACHER, D. W. Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissues — state of the art and future perspectives. **Journal of Biomaterials Science Polymer Edition**, Singapore, v. 12, n. 1, p. 107-124, 2001.

JONES, S. A.; BROWN, M.; MARTIN, G. P. Determination of Polyvinyl Alcohol Using Gel Filtration Liquid Chromatography. **Chromatographia**, UK, v. 59, n. 1/2, p. 43-46, 2004.

KARIMI, A.; DAUD, W. M. A. W. Harmless Hydrogels Based on PVA/Na⁺-MMT Nanocomposites for Biomedical Applications: Fabrication and Characterization. **Polymer Composites**, Malaysia, p. 1-9, 2015.

KIVELIO, A.; EHRBAR, M. Recent Advances in 3D Tissue Models. In: AKASHI, M.; AKAGI, T.; MATSUSAKI, M. (Eds). **Engineered Cell Manipulation for Biomedical Application**, Springer, p. 3-42, 2014.

KRIMM, S.; LIANG, C. Y.; SUTHERLAND, G. B. B. M. Infrared Spectra of High Polymers. V. Polyvinyl Alcohol. **Journal of Polymer Science**, USA, v. XXII, p. 227-247, 1956.

KRUTH, J.P.; WANG, X.; LAOUI, T.; FROYEN, L. Lasers and materials in selective laser sintering. **Assembly Automation**, Belgium, v. 23, n. 4, p. 357-371, 2003.

KRUTH, J-P.; MERCELIS, P.; VAERENBERGH, J. V.; FROYEN, L.; ROMBOUTS, M. Binding mechanisms in selective laser sintering and selective laser melting. **Rapid Prototyping Journal**, Belgium, v. 11, p. 26 - 36, 2005.

KRUTH, J.-P.; LEVY, G.; KLOCKE, F.; CHILDS, T. H. C. Consolidation phenomena in laser and powder-bed based layered manufacturing. **Annals of the CIRP**, Belgium, 56, p. 730-759, 2007.

KRUTH, J.-P.; LEVY, G.; SCHINDEL, R.; CRAEGHS, T.; YASA, E. Consolidation of Polymer Powders by Selective Laser Sintering. In: PROCEEDINGS OF THE 3rd INTERNATIONAL CONFERENCE ON POLYMERS AND MOULDS INNOVATIONS, p. 15-30, 2008.

LEE, M.-Y.; LIU, S.-W.; CHEN, J.-P.; LIAO, H.-T.; TSAI, W.-W.; WANG, H.-C. *In Vitro* Experiments on Laser Sintered Porous PCL Scaffolds with Polymer Hydrogel for Bone Repair. **Journal of Mechanics in Medicine and Biology**, Taiwan, v. 11, n. 5, p. 983-992, 2011.

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

LEVY, G. N. Additive Manufacturing in Manufacturing: A future oriented technology with high degree of innovation potentials - are we ready? Challenges and Chances to handle. In: EUROPEAN FORUM ON ADDITIVE MANUFACTURING - 18th edition of the AEPR (Assises Européennes de Prototypage Rapide) forum, Paris, 2013.

LIAO, H.-T.; CHANG, K.-H.; JIANG, Y.; CHEN, J.-P.; LEE, M.-Y. Fabrication of tissue engineered PCL scaffold by selective laser-sintered machine for osteogenesis of adipose-derived stem cells. **Virtual and Physical Prototyping**, Taiwan, v. 6, n. 1, p. 57-60, 2011.

LIU, D.; ZHUANG, J.; SHUAI, C.; PENG, S. Mechanical properties' improvement of a tricalcium phosphate scaffold with poly-L-lactic acid in selective laser sintering. **Biofabrication**, China, v. 5, p. 1-10, 2013.

LOHFELD, S.; TYNDYK, M. A.; CAHILL, S.; FLAHERTY, N.; BARRON, V.; MCHUGH, P. E. A method to fabricate small features on scaffolds for tissue engineering via selective laser sintering. **Journal of Biomedical Science and Engineering**, Ireland, v. 3, p. 138-147, 2010.

LÜ, L.; FUH, J.; WONG, Y.-S. **Laser-induced Materials and Processes for Rapid Prototyping**. USA: Kluwer Academic Publishers, 2001.

MANSUR, A. A. P.; MANSUR, H. S. Estimativa do grau de hidrólise do PVA através de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier. **Anais do 8º Congresso Brasileiro de Polímeros**, Brasil, p. 349-350, 2005.

MARTEN, F. L. Vinyl Alcohol Polymers. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 2002.

MERLE, G.; HOSSEINY, S. S.; WESSLING, M.; NIJMEIJER, K. New cross-linked PVA based polymer electrolyte membranes for alkaline fuel cells. **Journal of Membrane Science**, The Netherlands, 409-410, p. 191-199, 2012.

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO. **Laboratórios têm cinco anos para adotar 17 métodos alternativos**. 2014. Disponível em: <http://www.mcti.gov.br/visualizar/-/asset_publisher/jlPU0I5RgRmq/content/laboratorios-tem-cinco-anos-para-adotar-17-metodos-

alternativos;jsessionid=03D9BC857A5F8B703C20643B43C8D10F>. Acesso em: 16 nov 2016.

MOTA, C.; PUPPI, D.; CHIELLINI, F.; CHIELLINI, E. Additive manufacturing techniques for the production of tissue engineering constructs. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, Italy, p. 1-17, 2012.

PAPADATOS, A. L.; AHZI, S.; DECKARD, C. R.; PAUL, F. W. On dimensional stabilities: Modeling of the Bonus-Z during the SLS Process. In: Proceedings of the Solid Freeform Fabrication Symposium, p. 709-716, 1997.

PEDRAM, M. Z.; OMIDKHAH, M.; AMOOGHIN, A. E. Synthesis and characterization of diethanolamine-impregnated cross-linked polyvinylalcohol/glutaraldehyde membranes for CO₂/CH₄ separation. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, Iran, v. 20, p. 74-82, 2014.

PEREIRA, T. F. **Impressão 3D de Poli (3-hidroxibutirato) pela Técnica de Sinterização Seletiva a Laser visando a Produção de Arcabouços para Regeneração Óssea**. 2015. 212 f. Tese (doutorado) – COPPE / Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

POLYSCIENCES, Inc. 2017. Disponível em: < <http://www.polysciences.com/default/>>. Acesso em: 22 dez 2017.

PUPPI, D.; CHIELLINI, F.; PIRAS, A. M.; CHIELLINI, E. Polymeric materials for bone and cartilage repair. **Progress in Polymer Science**, Italy, v. 35, p. 403-440, 2010.

ROHATGI, C. V.; DUTTA, N. K.; CHOUDHURY, N. R. Separator Membrane from Crosslinked Poly(Vinyl Alcohol) and Poly(Methyl Vinyl Ether-alt-Maleic Anhydride). **Nanomaterials**, Australia, 5(2), p. 398-414, 2015.

SHUAI, C.; MAO, Z.; LU, H.; NIE, Y.; HU, H.; PENG, S. Fabrication of porous polyvinyl alcohol scaffold for bone tissue engineering via selective laser sintering. **Biofabrication**, China, n. 5, p. 1-8, 2013a.

SHUAI, C.; MAO, Z.; GAO, C.; LIU, J.; PENG, S. Development of Complex Porous Polyvinyl Alcohol Scaffolds: Microstructure, Mechanical, and Biological Evaluations. **Journal of Mechanics in Medicine and Biology**, China, v. 13, n. 3, p. 1-12, 2013b.

SHUAI, C.; MAO, Z.; HAN, Z.; PENG, S. Preparation of complex porous scaffolds via selective laser sintering of poly(vinyl alcohol)/calcium silicate. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, China, v. 29, n. 2, p. 110-120, 2014.

SHUAI, C.; FENG, P.; GAO, C.; SHUAI, X.; XIAO, T.; PENG, S. Graphene oxide reinforced poly(vinyl alcohol): nanocomposite scaffolds for tissue engineering applications. **RSC Advances**, China, v. 5, p. 25416-25423, 2015.

SIGMA-ALDRICH. 2017. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/united-states.html>>. Acesso em: 22 dez 2017.

SLAUGHTER, B.; KHURSHID, S. S.; FISHER, O. Z.; KHADEMHOSEINI, A.; PEPPAS, N. A. Hydrogels in Regenerative Medicine. **Advanced Materials**, USA, n. 21, p. 3307-3329, 2009.

STAMPELLA, A.; PAPI, A.; RIZZITELLI, G.; COSTANTINI, M.; COLOSI, C.; BARBETTA, A.; MASSIMI, M.; DEVIRGILIIS, L. C.; DENTINI, M. Synthesis and characterization of a novel poly(vinyl alcohol) 3D platform for the evaluation of hepatocytes' response to drug administration. **Journal of Materials Chemistry B**, Italy, v. 1, p. 3083-3098, 2013.

SUNDARARAJAN, P. R. Poly(vinyl alcohol). In: MARK, J. E. (Ed.). **Polymer Data Handbook**. USA: Oxford University Press, p. 890-909, 1999.

TADOKORO, H. Crystallization-sensitive Band of Polyvinyl Alcohol. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 32, n. 12, p. 1334-1339, 1959.

TAN, K. H.; CHUA, C. K.; LEONG, K. F.; CHEAH, C. M.; GUI, W. S.; TAN, W. S.; WIRIA, F. E. Selective laser sintering of biocompatible polymers for applications in tissue engineering. **Bio-Medical Materials and Engineering**, Singapore, v. 15, p. 113-124, 2005.

UNGARO, F.; BIONDI, M.; INDOLFI, L.; DE ROSA, G.; LA ROTONDA, M. I.; QUAGLIA, F.; NETTI, P. Bioactivated Polymer Scaffolds for Tissue Engineering. In: ASHAMMAKHI, N.; REIS, R. L. (Eds). **Topics in Tissue Engineering**, v. 2. Helsinki: Expertissues, p. 1-38, 2005.

VACANTI, J. P.; VACANTI, C. A. The History and Scope of Tissue Engineering. In: LANZA, R.; LANGER, R.; VACANTI, J. (Eds). **Principles of Tissue Engineering**. 4th edition. Oxford: Academic Press, p. 3-8, 2014.

WILLIAMS, J. M.; ADEWUNMI, A.; SCHEK, R. M.; FLANAGAN, C. L.; KREBSBACH, P. H.; FEINBERG, S. E.; HOLLISTER, S. J.; DAS, S. Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering. **Biomaterials**, USA, v. 26, p. 4817-4827, 2005.

WIRIA, F. E.; LEONG, K. F.; CHUA, C. K.; LIU, Y. Poly- ϵ -caprolactone/hydroxyapatite for tissue engineering scaffold fabrication via selective laser sintering. **Acta Biomaterialia**, Singapore, v. 3, p. 1-12, 2007.

WIRIA, F. E.; CHUA, C. K.; LEONG, K. F.; QUAH, Z. Y.; CHANDRASEKARAN, M.; LEE, M. W. Improved biocomposite development of poly(vinyl alcohol) and hydroxyapatite for tissue engineering scaffold fabrication using selective laser sintering. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, Singapore, v. 19, issue 3, p. 989-996, 2008.

WIRIA, F. E.; LEONG, K. F.; CHUA, C. K. Modeling of powder particle heat transfer process in selective laser sintering for fabricating tissue engineering scaffolds. **Rapid Prototyping Journal**, Singapore, v. 16, issue 6, p. 400-410, 2010.

YANG, S.; LEONG, K.-F.; DU, Z.; CHUA, C.-K. The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part I. Traditional Factors. **Tissue Engineering**, Singapore, v. 7, n. 6, p. 679-689, 2001.

YANG, S.; LEONG, K.-F.; DU, Z.; CHUA, C.-K. The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part II. Rapid Prototyping Techniques. **Tissue Engineering**, Singapore, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2002.

YEONG, W.-Y.; CHUA, C.-K.; LEONG, K.-F.; CHANDRASEKARAN, M. Rapid prototyping in tissue engineering: challenges and potential. **TRENDS in Biotechnology**, Singapore, v. 22, n. 12, p. 643-652, 2004.

YEONG, W. Y.; SUDARMADJI, N.; YU, H. Y.; CHUA, C. K.; LEONG, K. F.; VENKATRAMAN, S. S.; BOEY, Y. C. F.; TAN, L. P. Porous polycaprolactone scaffold for cardiac tissue engineering fabricated by selective laser sintering. **Acta Biomaterialia**, Singapore, v. 6, p. 2028-2034, 2010.

ZHOU, W. Y.; LEE, S. H.; WANG, M.; CHEUNG, W. L.; IP, W. Y. Selective laser sintering of porous tissue engineering scaffolds from poly(L-lactide)/carbonated hydroxyapatite nanocomposite microspheres. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, China, v. 19, p. 2535-2540, 2008.