

KATIA YABUNAKA SAKAGUTI

Síntese, caracterização e eletrofiação de
poli(3-hidroxibutirato-co- ϵ -caprolactona)

SÃO PAULO

2015

Departamento de Engenharia
Metalúrgica e de Materiais da
Escola Politécnica da USP

KATIA YABUNAKA SAKAGUTI

Síntese, caracterização e eletrofiação de poli(3-hidroxibutirato-co- ϵ -caprolactona)

Trabalho de formatura apresentado à
Escola Politécnica da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de
Engenheiro de Materiais.

Área de concentração: Engenharia
Metalúrgica e de Materiais

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Wang Shu Hui

SÃO PAULO

2015

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Prof.^a Dr.^a Wang Shu Hui pelo incentivo, confiança, e por ter me ensinado e me aconselhado não somente durante a realização deste trabalho, mas durante toda minha graduação.

Agradeço aos meus pais, à minha irmã, e aos meus avós pelo apoio incondicional, paciência, compreensão e suporte em todos os momentos ao longo dessa jornada.

Também gostaria de agradecer todas as pessoas que contribuíram com este trabalho, alunos de pós-graduação, técnicos, professores e colegas, que me auxiliaram na realização de análises técnicas e na interpretação de resultados.

"Grandes realizações não são feitas por impulso, mas por uma soma de pequenas realizações."

Vincent van Gogh

RESUMO

Devido ao crescente interesse em polímeros biodegradáveis, muitos estudos têm sido realizados a fim de se obter polímeros biodegradáveis com melhores propriedades mecânicas e de processamento. O poli(3-hidroxibutirato) (PHB) tem sido apresentado como um substituto para polímeros não-biodegradáveis em aplicações comerciais. Porém, sua elevada cristalinidade, instabilidade térmica e alto custo de produção são problemas que dificultam sua comercialização. Uma alternativa para modificá-lo e melhorar suas propriedades mecânicas é através de reações de transesterificação com poli(ϵ -caprolactona) (PCL), um poliéster sintético, também biodegradável e com alto potencial para uso como biomaterial. Neste trabalho, realizou-se a extrusão reativa de blendas de PHB e PCL de duas massas molares distintas (PCL $M_n = 2.000$ e $80.000 \text{ g.mol}^{-1}$), e os copolímeros foram caracterizados por ensaios de solubilidade, calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RNM- ^1H) e de carbono (RNM- ^{13}C). Os resultados indicaram que houve modificação do PHB apenas na reação com PCL de $M_n = 80.000 \text{ g.mol}^{-1}$, resultando no copolímero P(HB-co-CL 80.000), que apresentou menor cristalinidade que os homopolímeros de partida. Com o P(HB-co-CL 80.000), foram feitas medidas de viscosidade e ensaios de eletrofiação, variando-se os parâmetros do processo e da solução. As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) indicaram formação de fibras lisas e uniformes de diâmetros médios entre 800 a 1.000 nm , adequadas para produção de mantas porosas.

Palavras-chave: Polímeros biodegradáveis. P(HB-co-CL). Eletrofiação. Biomateriais.

ABSTRACT

Due to the increasing interest in biodegradable polymers, many studies have been conducted in order to obtain biodegradable polymers with improved mechanical and processing properties. The poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) has been proposed as an ideal substitute for nonbiodegradable polymers in commercial applications. However, its high crystallinity, thermal instability and high production costs are problems that have limited its commercialization. An alternative to modify it and improve its mechanical properties is through transesterification reactions with poly(ϵ -caprolactone) (PCL), a synthetic polyester, also biodegradable and with high potential for use as a biomaterial. In this work, reactive extrusion of PHB/PCL blends with two different molecular weights of PCL (M_n 2,000 and 80,000) was carried out, and the copolymers were characterized by solubility tests, differential scanning calorimetry (DSC), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), nuclear magnetic resonance spectroscopy of proton (^1H -NMR) and carbon (^{13}C -NMR). The results indicated that the PHB was modified only in the reaction with PCL of molecular weight M_n 80,000, resulting in the copolymer P(HB-co-CL 80,000), showing lower crystallinity than the homopolymers. Viscosity measurements and electrospinning tests were made with (PHB-co-CL 80,000), varying processing and solution parameters. The scanning electron microscopy analysis (SEM) indicated the formation of uniformly smooth morphology with average fiber diameter of 800-1000 nm, suitable for the production of porous fiber mats.

Keywords: Biodegradable polymers. P(HB-co-CL). Electrospinning. Biomaterials.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estruturas químicas dos homopolímeros (a) PCL e (b) PHB.	1
Figura 2 – Estrutura química do PHB-co-PCL.....	2
Figura 3 – (a) Número de artigos publicados entre 2001-2011 no Web of Science, contendo as palavras-chave “polymer”, “nanofibers” e “electrospinning”. (b) Número de artigos por país. (c) Número de patentes publicadas entre 2001-2011, contendo as palavras-chave “polymer”, “nanofibers” e “electrospinning”. (d) Distribuição geográfica das patentes (e) Patentes publicadas por companhia ou instituição [17]. .	8
Figura 4 – Esquema simplificado de um processo de eletrofiação. A solução polimérica dentro da seringa (A) sai através de uma agulha metálica (B), conectada a uma fonte de alta voltagem (C), produzindo um jato finíssimo de solução (D), coletado na chapa (E) aterrada.	9
Figura 5 – Cones de Taylor (a) e suas respectivas trajetórias (b) para diferentes valores de velocidade de injeção da solução polimérica [18].	9
Figura 6 – Diferentes morfologias de fibras eletrofiadas: (a) “beaded”; (b) lisa; (c) fita; (d) tubular; (e) multicanal tubular; (f) nanofibra em microtubo; (g) “multi-core”; (h,i) fibras porosas [19].	10
Figura 7 – Áreas de aplicação dos artigos publicados sobre eletrofiação entre 2000 e 2010 [20].	11
Figura 8 – Técnica da engenharia de tecidos [14].	13
Figura 9 – Frascos com misturas poliméricas sobre a chapa de aquecimento dentro da <i>glove box</i>	18
Figura 10 – Copolímero PHB-co-PCL 80.000 saindo da extrusora LME.....	19
Figura 11 – Etapa de precipitação do copolímero PHB-co-PCL 80.000 em metanol.	20
Figura 12 – Equipamento de eletrofiação utilizado.....	23
Figura 13 – Comparação entre (a) PHB insolúvel em 1,2-DCE e (b) copolímero dissolvido em 1,2-DCE.....	26
Figura 14 – (a) Curvas DSC do PHB e (b) Determinação de sua T_g	27
Figura 15 – Curvas DSC dos polímeros (a) PCL 2.000 e (b) PCL 80.000.	28
Figura 16 – Curva DSC do copolímero PHB-co-PCL 2.000 e ampliação na região das T_g 's.	29

Figura 17 – Curva DSC do copolímero PHB-co-PCL 80.000 e ampliação na região das T_g 's.	29
Figura 18 – Espectros FTIR do PHB [31].	33
Figura 19 – Espectros FTIR do (a) PCL 2.000 e do (b) PCL 80.000 [Sigma-Aldrich].	34
Figura 20 – Espectros FTIR do copolímero PHB-co-PCL 2.000.	35
Figura 21 – Espectros FTIR do copolímero PHB-co-PCL 80.000.	36
Figura 22 – Espectro RMN- ^1H do PHB [31].	38
Figura 23 – Espectro RMN- ^1H do PCL [32].	38
Figura 24 – RMN- ^1H do copolímero PHB-co-PCL 2.000.	39
Figura 25 – RMN- ^1H do copolímero PHB-co-PCL 80.000.	40
Figura 26 – RMN- ^{13}C do PHB [31].	43
Figura 27 – RMN- ^{13}C do PCL [33].	43
Figura 28 – RMN- ^{13}C do copolímero PHB-co-PCL 2.000.	45
Figura 29 – RMN- ^{13}C do copolímero PHB-co-PCL 80.000.	45
Figura 30 – Gráfico de viscosidade em função da taxa de cisalhamento para as diferentes soluções poliméricas usadas na eletrofição.	47
Figura 31 – Imagens de MEV da amostra 4 com aumento de (a) 1.000x, (b) 2.500x, (c) 5.000x e (d) 10.000x.	53
Figura 32 – Dimensões da amostra 4.	54
Figura 33 – Imagens de MEV da amostra 5 com aumento de (a) 1.000x, (b) 2.500x, (c) 5.000x e (d) 10.000x.	55
Figura 34 – Imagens de MEV da amostra 6 com aumento de (a) 1.000x, (b) 2.500x, (c) 5.000x e (d) 10.000x.	56
Figura 35 – Dimensões da amostra 5.	57
Figura 36 – Dimensões da amostra 6.	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros da eletrofiação e seus efeitos na morfologia da fibra [22]. ...	12
Tabela 2 – Parâmetro de solubilidade dos solventes.	21
Tabela 3 – Comportamento dos polímeros em solvente.	25
Tabela 4 – Temperaturas encontradas nas curvas DSC dos homopolímeros e copolímeros.	30
Tabela 5 – Porcentagem de cristalinidade dos homopolímeros e copolímeros determinados por DSC.	32
Tabela 6 – Principais bandas do PHB, PCL e copolímero P(HB-co-CL) no FTIR e comparação com resultados encontrados na literatura.	37
Tabela 7 – Comparação entre deslocamento químico encontrado para os homopolímeros (PHB e PCL) e os copolímeros na análise RMN- ¹ H.	41
Tabela 8 – Cálculo da proporção de hidrogênios para PHB-co-PCL 2.000.	41
Tabela 9 – Cálculo da proporção de hidrogênios para PHB-co-PCL 80.000.	42
Tabela 10 – Comparação entre deslocamento químico encontrado para os homopolímeros (PHB e PCL) e os copolímeros na análise RMN- ¹³ C.	46
Tabela 11 – Parâmetros utilizados durante o processo de eletrofiação.	48
Tabela 12 – Parâmetros utilizados nas amostras 1 e 2, e respectivas imagens obtidas por microscopia ótica.	49
Tabela 13 – Parâmetros utilizados nas amostras 3 e 4, e respectivas imagens obtidas por microscopia ótica.	50
Tabela 14 – Parâmetros utilizados nas amostras 5 e 6, e respectivas imagens obtidas por microscopia ótica.	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1,2-DCE	1,2-dicloroetano
CHCl_3	Clorofórmio
DCM	Diclorometano
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
MeOH	Metanol
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MO	Microscopia ótica
M_n	Massa molar numérica média
M_w	Massa molar ponderal média
PCL 2.000	Poli(ϵ -caprolactona), $M_n = 2.000 \text{ g.mol}^{-1}$
PCL 80.000	Poli(ϵ -caprolactona), $M_n = 80.000 \text{ g.mol}^{-1}$
PHAs	Poli(hidroxiclcanoatos)
PHB	Poli(3-hidroxibutirato)
PHB-co-PCL 2.000	Poli(3-hidroxibutirato-co- ϵ -caprolactona), com PCL 2.000
PHB-co-PCL 80.000	Poli(3-hidroxibutirato-co- ϵ -caprolactona), com PCL 80.000
RNM- ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono
RNM- ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
THF	Tetra-hidrofurano

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1	<i>Polímeros biodegradáveis</i>	4
2.2	<i>Biomateriais</i>	5
2.3	<i>Técnica de eletrofiação</i>	7
2.3.1	Parâmetros do processo	11
2.3.2	Aplicação na engenharia de tecidos	13
3	OBJETIVOS	16
4	MATERIAIS E MÉTODOS	17
4.1	<i>Materiais utilizados</i>	17
4.2	<i>Síntese dos copolímeros</i>	17
4.2.1	Extrusão reativa	17
4.2.2	Purificação do material	19
4.3	<i>Caracterização dos copolímeros</i>	20
4.3.1	Ensaio de solubilidade	20
4.3.2	Ensaio de viscosidade	21
4.3.3	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	22
4.3.4	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	22
4.3.5	Ressonância Magnética Nuclear (RNM- ¹ H e RNM- ¹³ C)	23
4.4	<i>Testes de eletrofiação</i>	23
4.5	<i>Caracterização das fibras</i>	24
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1	<i>Síntese dos copolímeros</i>	25

5.2	<i>Ensaio de solubilidade</i>	25
5.3	<i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i>	27
5.4	<i>Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)</i>	33
5.5	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RNM-¹H)</i>	37
5.6	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RNM-¹³C)</i>	43
5.7	<i>Viscosimetria</i>	46
5.8	<i>Eletrofiação</i>	47
5.9	<i>Microscopia Ótica (MO)</i>	48
5.10	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	53
6	CONCLUSÕES	59
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

1 INTRODUÇÃO

Os polímeros biodegradáveis desenvolvidos até hoje são encontrados no mercado a um preço elevado, e suas propriedades físicas e processabilidade são frequentemente inferiores aos polímeros sintéticos não biodegradáveis. A fim de obter polímeros biodegradáveis com melhores propriedades mecânicas e de processamento, muitos estudos são feitos em síntese de copolímeros ou blendas dos polímeros correspondentes.

O poli(3-hidroxibutirato) (PHB), é um dos polímeros que mais se aproximam de um eco-material ideal e tem sido apresentado como um substituto para polímeros não-biodegradáveis em aplicações comerciais. Além de ser obtido a partir de fontes renováveis, é facilmente biodegradado em solos de compostagem, é biorreabsorvível e biocompatível. Porém, sua exploração é restrita devido a alguns fatores, como alta cristalinidade, alta rigidez mecânica, dificuldades de processamento e alto custo de produção.

Muitos estudos com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas do PHB têm sido feitos com sucesso, envolvendo a síntese de copolímeros com unidades de hidroxibutirato e a formação de blendas com outros polímeros [1]. Um destes polímeros é a poli(ε-caprolactona) (PCL), um poliéster sintético, também biodegradável e com alto potencial para uso como biomaterial,

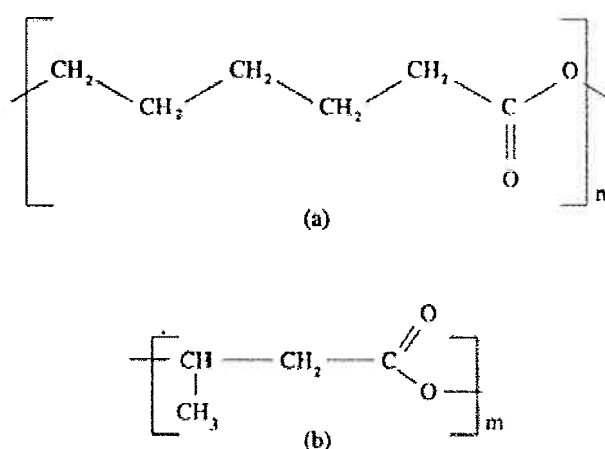


Figura 1 – Estruturas químicas dos homopolímeros (a) PCL e (b) PHB.

A poli(ϵ -caprolactona) exibe miscibilidade com grande variedade de polímeros [2] e, contrastando com o poli(3-hidroxibutirato), apresenta boas propriedades mecânicas, é tenaz e flexível.

A blenda PHB/PCL é imiscível [3], e por isso, é interessante o uso de um agente compatibilizante para melhorar suas propriedades.

Além de blendas, é possível realizar reações de transesterificação do PHB e do PCL, obtendo-se o copolímero poli(3-hidroxibutirato-co- ϵ -caprolactona), mostrado na Figura 2.

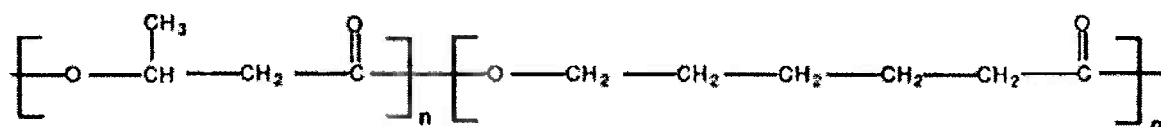


Figura 2 – Estrutura química do PHB-co-PCL.

O copolímero PHB-co-PCL é um material que, além de manter diversas características dos homopolímeros de origem, pode atuar como compatibilizante da blenda PHB/PCL [4].

Impallomeni et al. [5] sintetizaram com sucesso o copolímero poli(3-hidroxibutirato-co- ϵ -caprolactona), P(HB-co-CL), por transesterificação a partir de PHB e PCL, usando o ácido *p*-toluenossulfônico como catalisador. A rota de obtenção do copolímero empregada consistiu na preparação de misturas de PHB/PCL dissolvidas em tolueno/dicloroetano a 3:1 (v/v), mantidas sob refluxo por 4 horas. Em seguida, removeu-se água do sistema usando um Dean Stark, durante 2 horas. O solvente foi evaporado, e o material obtido foi dissolvido em clorofórmio, para depois ser precipitado em etanol.

Roa et al. [1] também o sintetizaram, usando um método baseado no de Impallomeni et al. [5], e catalisador acetilacetato de zircônio (IV).

Este material une as ótimas propriedades do biopolímero PHB, como biodegradabilidade e biocompatibilidade com as propriedades mecânicas (tenacidade e flexibilidade) do PCL. Além disso, o PCL pode agir como plastificante

polimérico [6], diminuindo o módulo de rigidez e melhorando a processabilidade do PHB, permitindo a sua aplicação como biomaterial.

Neste trabalho, copolímeros de PHB e PCL foram sintetizados através de transesterificação, usando extrusão reativa. Suas propriedades foram estudadas utilizando técnicas espectroscópicas e termogravimétricas, e testes de eletrospinning foram realizados, a fim de se obter nanofibras do copolímero para aplicações em biomateriais.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Polímeros biodegradáveis

Na definição da norma ASTM D-5488-94d, biodegradável é aquele capaz de sofrer decomposição em dióxido de carbono, metano, água ou biomassa, em que o mecanismo predominante é a ação enzimática de micro-organismos (fungos, bactérias e algas) .

Polímeros biodegradáveis são provenientes de fontes renováveis ou não-renováveis, e seu tempo de degradação é de 6 a 12 meses, que pode sofrer influência de fatores como: morfologia, cristalinidade, massa molar, estrutura química e presença de aditivos.

Nos últimos anos tem havido um interesse crescente, em nível mundial, em relação aos polímeros biodegradáveis, principalmente quando se considera o desenvolvimento de novos produtos que provoquem menor impacto ambiental. No entanto, devido ao seu alto custo quando comparados com polímeros convencionais, para a maioria das empresas, a utilização de tais polímeros ainda é inviável.

Na década de 90, iniciou-se no Brasil o desenvolvimento de uma tecnologia para produção de plásticos biodegradáveis empregando como matéria-prima derivados da cana-de-açúcar, a partir de um projeto cooperativo desenvolvido pela Copersucar (Cooperativa dos Produtores de Cana-de-açúcar do Estado de São Paulo), IPT (Instituto de Pesquisas Tecnológicas) e ICB (Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo). Desta parceria, iniciou-se um estudo com os polímeros da família dos poli(hidroxialcanoatos) (PHAs), que podem ser produzidos por bactérias em biorreatores a partir de açúcares.

Os PHAs possuem propriedades semelhantes às dos plásticos petroquímicos, com a vantagem de poderem ser biodegradados por microrganismos presentes no meio ambiente, em curto espaço de tempo, após o descarte [7]. O principal representante dos PHAs é o poli(3-hidroxibutirato) (PHB).

O poli(3-hidroxibutirato) (PHB) é um poliéster sintetizado e acumulado como substância de reserva de carbono e energia, por uma grande variedade de micro-organismos, como a bactéria *Alcaligenes eutrophus*, através da fermentação da cana-de-açúcar.

Apesar disso, seu alto custo de produção é uma grande desvantagem em relação aos polímeros convencionais. Como uma solução para a questão do alto custo desses materiais, emerge a necessidade de desenvolvimento de misturas poliméricas biodegradáveis que consistam numa mistura física de dois ou mais tipos de materiais poliméricos ou copolímeros [8].

Poli(ϵ -caprolactona) (PCL) é também um polímero biodegradável obtido, entretanto, pela indústria petroquímica. O PCL é um poliéster biodegradado através da ação enzimática e se destaca em aplicações biomédicas. Devido ao seu baixo ponto de fusão, biocompatibilidade e alta biodegradabilidade, o PCL tem sido muito estudado como matriz para liberação controlada de fármacos [9].

2.2 Biomateriais

Muitos tecidos do corpo humano não têm a capacidade de se regenerar. Além da dificuldade de cura, lesões em tecidos como nervos, tendões, cartilagem e miocárdio também podem causar dor e deficiência física [10]. Mesmo com intervenção cirúrgica, muitas vezes o retorno à função inicial é limitado e a resposta curativa é mediada por cicatrizes, e não regenerativa.

Como solução aos danos nos tecidos e transplante de órgãos, a medicina regenerativa tem emergido como um campo de pesquisa interdisciplinar que engloba biologia, ciência dos materiais e engenharia, para desenvolver substitutos funcionais seguros e facilmente disponíveis para pacientes com tecidos ou órgãos danificados. Na medicina regenerativa, elementos como *scaffolds* (estruturas porosas tridimensionais) e controle celular são unidos para melhorar a capacidade de cura ou para substituir um tecido ou órgão [11].

Um biomaterial pode ser definido como um material que tem como objetivo atuar no sistema biológico para avaliar, aumentar, tratar ou substituir algum tecido, órgão ou função corporal.

Durante as duas últimas décadas, avanços significativos têm sido feitos no desenvolvimento de materiais poliméricos biodegradáveis para aplicação biomédica, incluindo tecnologias como engenharia de tecidos, medicina regenerativa, terapia gênica e bionanotecnologia.

Biomateriais poliméricos degradáveis são os favoritos para a aplicação em dispositivos terapêuticos, como próteses temporárias, estruturas porosas tridimensionais como *scaffolds* na engenharia de tecidos, e em sistemas de liberação controlada de fármacos [12]. Porém, cada aplicação demanda materiais com propriedades físicas, químicas, biológicas e biomecânicas específicas para proporcionar um tratamento eficiente.

O pré-requisito essencial para qualificar o material como biomaterial é a biocompatibilidade, ou seja, é a habilidade do material em executar determinada função sem reação biológica indesejada, em uma aplicação específica [13].

Um material biodegradável deve seguir algumas regras pra ser utilizado como biomaterial:

- não pode provocar reações inflamatórias ou ser tóxico ao ser implantado no corpo;
- deve ter tempo de vida aceitável;
- deve ter permeabilidade apropriada;
- o tempo de degradação do material deve ser compatível com o processo de regeneração do corpo;
- os produtos de degradação não podem ser tóxicos e devem ser expelidos pelo organismo.

Muitos fatores determinam a resposta inflamatória e a taxa de degradação dos polímeros biorreabsorvíveis, entre eles: local de implante, solicitação mecânica, massa molar, distribuição da massa molar, composição química, cristalinidade, sua morfologia, envolvendo o tamanho e geometria do suporte desenvolvido,

porosidade, rugosidade da superfície, energia livre de superfície, carga da superfície, pH, presença de aditivos e outros [14].

2.3 Técnica de eletrofiação

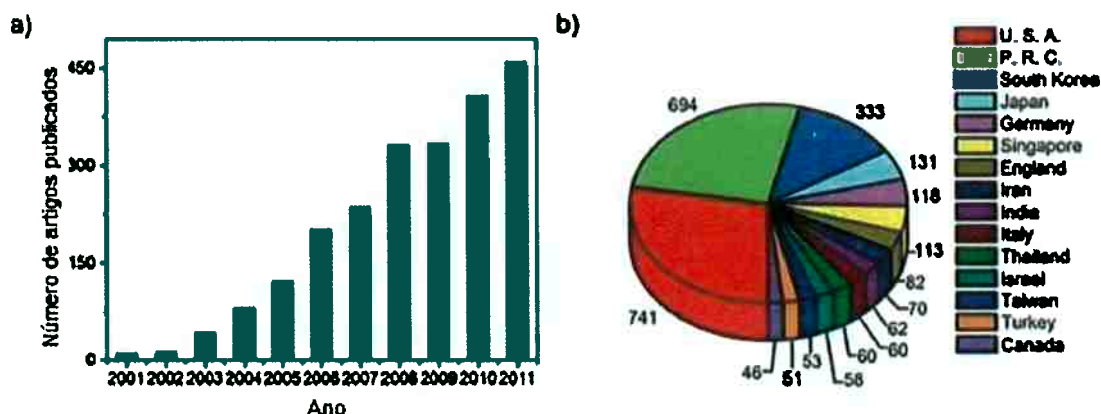
A eletrofiação ou *electrospinning* representa um método simples, eficiente e de baixo custo para produzir fibras de diâmetros nanométricos a partir de materiais poliméricos [15].

A técnica é conhecida desde a década de 1930, porém, somente com o advento da nanotecnologia esta técnica foi redescoberta [16].

A eletrofiação tem sido largamente estudada nos últimos anos, como demonstra a taxa crescente de contribuições científicas publicadas. O número de publicações em 2011 foi de aproximadamente dez vezes maior do que em 2003 (Figura 3a), ocorrendo em diversos países, como EUA, China e Coréia do Sul, responsáveis por 70% dos itens publicados (Figura 3b).

O número de patentes também aumentou significativamente; foram publicadas 960 patentes entre 2001 e 2011 (Figura 3c), sendo 75% do PCT (Tratado de Cooperação em Matéria de Patentes) (Figura 3d). Entre os detentores das patentes aparecem tanto empresas como DuPont (6%) quanto universidades (Figura 3d), cujo principal foco é a aplicação no campo de sistemas de filtração [17].

Artigos



Patentes

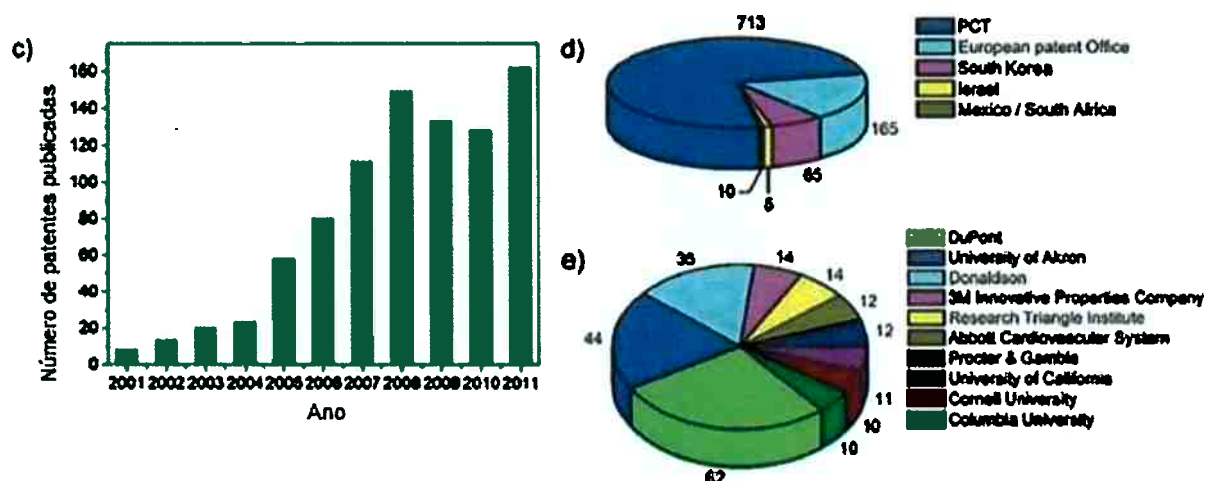


Figura 3 – (a) Número de artigos publicados entre 2001-2011 no Web of Science, contendo as palavras-chave “polymer”, “nanofibers” e “electrospinning”. (b) Número de artigos por país. (c) Número de patentes publicadas entre 2001-2011, contendo as palavras-chave “polymer”, “nanofibers” e “electrospinning”. (d) Distribuição geográfica das patentes (e) Patentes publicadas por companhia ou instituição [17].

A eletrofiação baseia-se na aplicação de um campo elétrico entre dois polos: um é a agulha da seringa contendo a solução polimérica, conectada a bomba injetora, e o outro é o coletor metálico, onde o material será depositado (Figura 4).

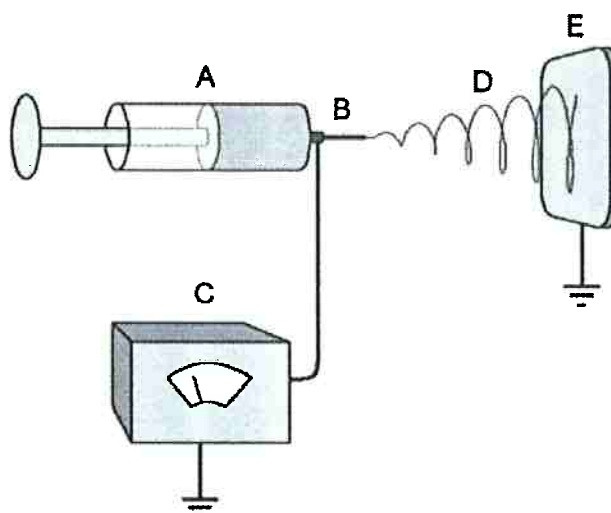


Figura 4 – Esquema simplificado de um processo de eletrofiação. A solução polimérica dentro da seringa (A) sai através de uma agulha metálica (B), conectada a uma fonte de alta tensão (C), produzindo um jato finíssimo de solução (D), coletado na chapa (E) aterrada.

Este campo elétrico induz uma carga elétrica na superfície da solução, e a repulsão mútua das cargas produz uma força diretamente oposta à tensão superficial. À medida que a intensidade do campo elétrico é aumentada, a superfície hemisférica da solução que sai da ponta da agulha toma a forma cônica, o chamado cone de Taylor (Figura 5). A uma determinada voltagem crítica, a força elétrica repulsiva supera a força da tensão superficial da solução, gerando um jato carregado eletricamente e quase estável. O solvente, então, evapora-se durante o trajeto para o polo oposto e formam-se fibras contínuas de tamanho micrométrico ou nanométrico em uma malha metálica coletora.

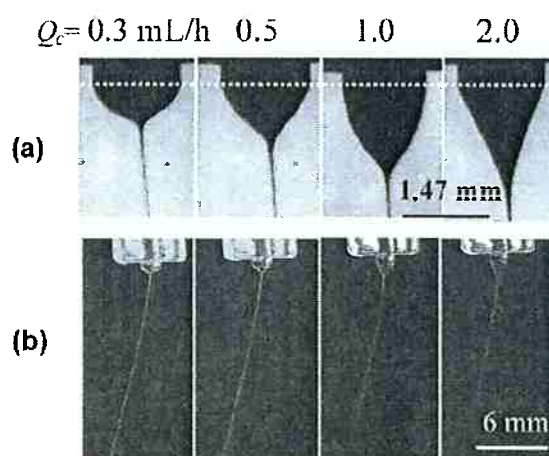


Figura 5 – Cones de Taylor (a) e suas respectivas trajetórias (b) para diferentes valores de velocidade de injeção da solução polimérica [18].

Através desta técnica, diferentes morfologias de fibras com diâmetros reduzidos podem ser obtidas através do controle das variáveis do processo [19] (Figura 6), e devido ao seu notável desempenho mecânico, têm grande potencial para aplicações tecnológicas.

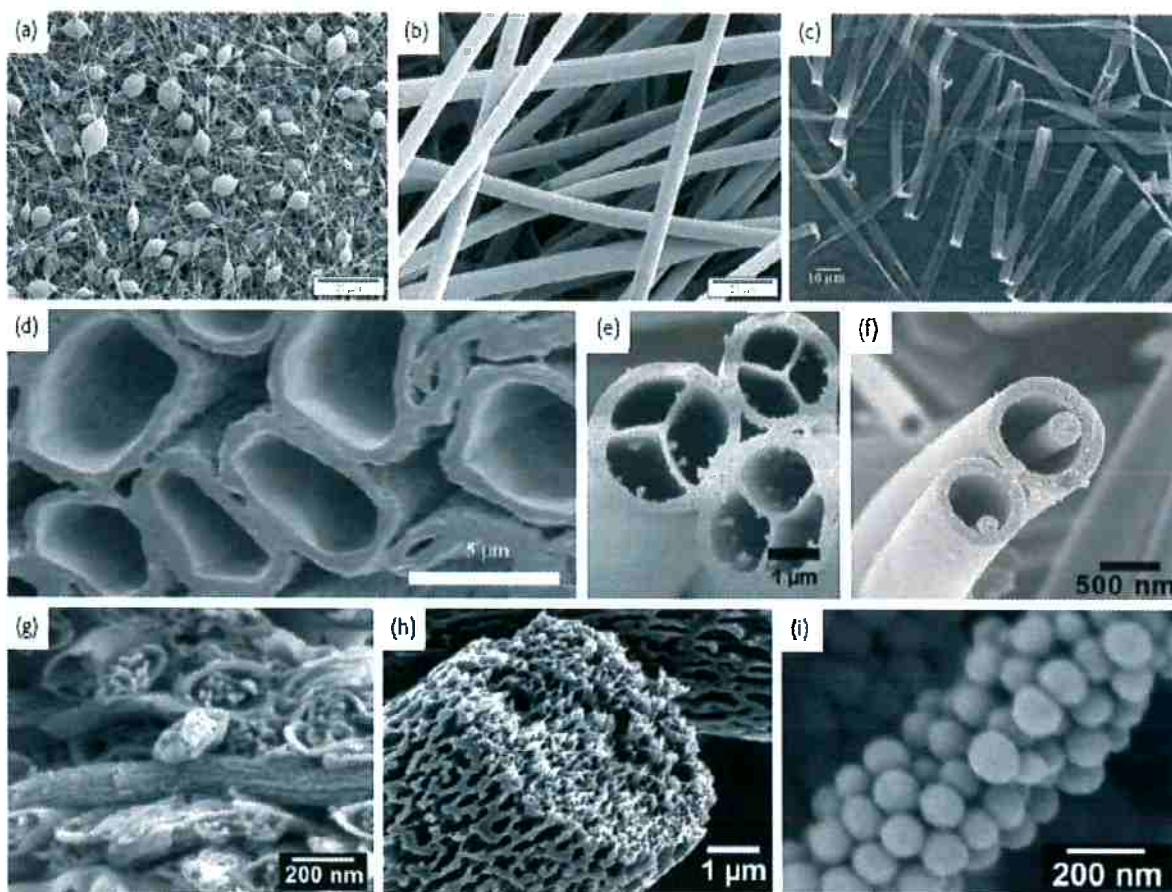


Figura 6 – Diferentes morfologias de fibras eletrofiadas: (a) “beaded”; (b) lisa; (c) fita; (d) tubular; (e) multicanal tubular; (f) nanofibra em microtubo; (g) “multi-core”; (h,i) fibras porosas [19].

A morfologia das superfícies fibrosas e as estruturas polidimensionais, associadas às propriedades físicas e químicas da organização fibrosa são objeto de estudo na busca de aplicações na nanotecnologia.

A grande variedade de nanofibras eletrofiadas em termos de material e morfologia resulta em uma extensa gama de aplicações: engenharia de tecidos, fabricação de sensores, fotocatalise, células solares, filtração, entre outras (Figura 7).

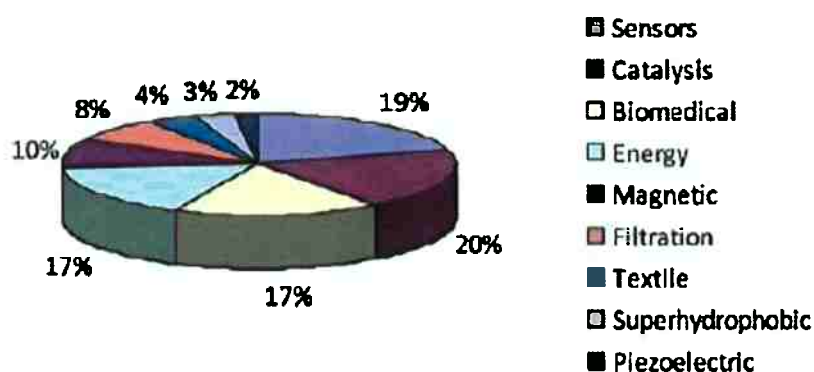


Figura 7 – Áreas de aplicação dos artigos publicados sobre eletrofiação entre 2000 e 2010 [20].

A técnica de eletrofiação já foi aplicada com sucesso em mais de 100 tipos diferentes de polímeros sintéticos e naturais, para a geração de nanofibras [11]. Atualmente, muitos estudos estão sendo feitos com relação à aplicação de nanofibras eletrofiadas na medicina regenerativa, principalmente na busca de um *scaffold* ideal, para exercer a funcionalidade do tecido ou órgão a ser substituído.

2.3.1 Parâmetros do processo

Apesar das potencialidades da eletrofiação realizada na sua configuração básica, existem limitações que condicionam o controle dos parâmetros da solução e de processamento, uma vez que o processo não é realizado isoladamente das variações ambientais.

Os parâmetros da solução, tais como viscosidade da solução polimérica e tensão superficial influenciam diretamente na morfologia e na geometria das nanofibras [16, 21].

A Tabela 1 mostra os principais parâmetros (da solução, do processo e do ambiente) que podem influenciar a obtenção das membranas nanofibrilicas durante a eletrofiação e seus efeitos na morfologia das fibras.

A concentração de polímero e, conseqüentemente, a viscosidade da solução, é um dos parâmetros mais importantes no processo de eletrofiação. Quando o valor da concentração é menor que o ideal, o grau de emaranhamento das cadeias poliméricas é pequeno, causando instabilidade capilar na extremidade do jato [16].

Isso pode causar espalhamento eletrostático ou *electrospraying*, que resulta na formação de gotículas esféricas ou nanofibras com *beads* (gotas de polímero não estiradas durante o processo).

O campo elétrico é responsável por fazer com que o material em solução saia do ponto de ejeção em direção à placa coletora. Quanto maior o campo elétrico aplicado ao sistema, maior a força exercida sobre a solução.

A distância de trabalho (entre a extremidade do capilar até a placa coletora) deve ter um valor mínimo pra garantir a total evaporação do solvente, e um valor máximo para não desestabilizar o cone de Taylor.

Tabela 1 – Parâmetros da eletrofiação e seus efeitos na morfologia da fibra [22].

PARÂMETROS	EFEITO NA MORFOLOGIA DA FIBRA
Solução	
Viscosidade	Aparecimento de <i>beads</i> , diâmetro da fibra.
Concentração da solução	Aumento do diâmetro da fibra com aumento da concentração.
Massa molar do polímero	Redução do número de <i>beads</i> e gotículas com aumento da massa molar.
Condutividade	Diminuição do diâmetro da fibra com aumento da condutividade.
Tensão superficial	Alta tensão superficial resulta em instabilidade do jato. Sem relação conclusiva com a morfologia da fibra.
Processo	
Voltagem aplicada	Diminuição do diâmetro da fibra com aumento da voltagem.
Distância de trabalho	Geração de <i>beads</i> se distância for não for adequada para formação de fibras uniformes.
Vazão de alimentação	Diminuição do diâmetro da fibra com diminuição da vazão de alimentação.
Ambiente	
Umidade	Alta umidade resulta em poros circulares nas fibras.
Temperatura	Aumento da temperatura resulta em diminuição do diâmetro da fibra.

2.3.2 Aplicação na engenharia de tecidos

A técnica de engenharia de tecidos consiste na regeneração de órgãos e tecidos vivos, através do recrutamento de tecido do próprio paciente, que são dissociados em células e cultivados sobre suportes biológicos ou sintéticos, os *scaffolds* [14], também conhecidos como arcabouços, matrizes tridimensionais que substituem temporariamente os tecidos em fase de regeneração. A Figura 8 ilustra o desenvolvimento idealizado da técnica.

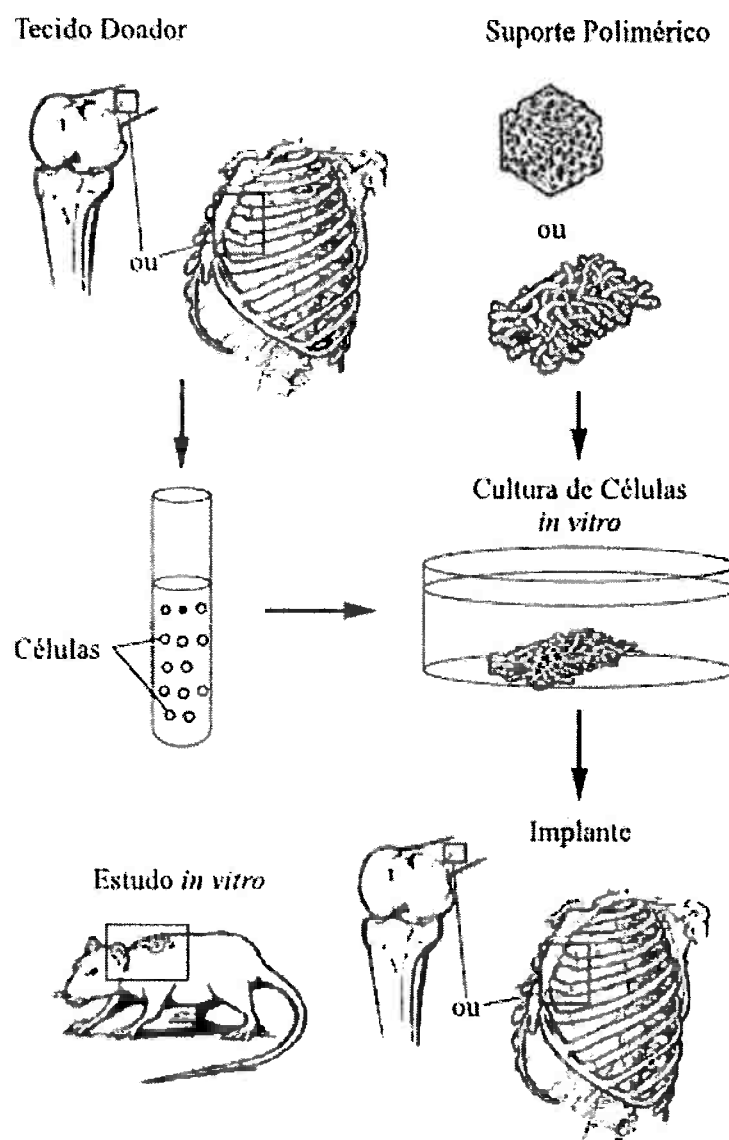


Figura 8 – Técnica da engenharia de tecidos [14].

O implante do conjunto polímero e células pode ocorrer tanto com um tecido prematuro quanto com um tecido maduro formado [14]. No primeiro caso, a função do *scaffold* é proporcionar suporte para o crescimento celular e adicionalmente servir como substituto mecânico/estrutural do tecido original até a formação do novo tecido e sua bioreabsorção completa. Já na segunda estratégia, o polímero é degradado e reabsorvido gradualmente durante a cultura *in vitro*, permitindo espaço para a proliferação celular e formação do tecido no reator biológico, e somente após a formação do tecido o implante, é inserido no organismo.

A seleção do material adequado para sua confecção é um critério importante, pois a natureza química do material tem influência sobre sua biocompatibilidade. As características ideais dos *scaffolds* são dependentes de sua aplicação, mas de maneira geral, devem ser biocompatíveis, bioabsorvíveis e com poros de dimensões suficientes para permitir a penetração celular e melhorar a intercomunicação célula-matriz e a troca de nutrientes e produtos de degradação [23].

Em geral, na eletrofiação são usados solventes voláteis para facilitar sua remoção durante o processo. Porém, podem causar instabilidade do jato ou entupimento da ponta da agulha [24]. Para a produção de nanofibras com aplicações biomédicas, recomenda-se o uso de clorofórmio como solvente, devido ao baixo ponto de ebulição, o que diminui a probabilidade de restar solvente no *scaffold* [25].

Para a fabricação de *scaffolds* de nanofibras eletrofiadas, podem ser incorporados variados tipos de moléculas bioativas. Estas são usadas para estimular a proliferação e diferenciação de células semeadas *in vitro*, incentivando, assim, a regeneração do tecido. Entre os tipos de moléculas bioativas, estão incluídos: fatores de crescimento, proteínas endógenas capazes de se ligar a receptores celulares e direcionar a atividade celular. Preservar a bioatividade dos *scaffolds* é um grande desafio, já que a própria técnica de eletrofiação pode desativá-la, devido à alta voltagem aplicada, o tipo de solvente, entre outros fatores [11].

A utilização de eletrofiação na engenharia de tecidos é bastante vantajosa, pois resulta em um material com alta área superficial e grande porosidade, facilitando a incorporação e perfusão celular. Além disso, é uma técnica versátil, permitindo a incorporação de outros polímeros ou moléculas bioativas, para melhorar suas propriedades.

Um dos grandes desafios no campo da engenharia de tecidos é o desenvolvimento de *scaffolds* que permitam a adesão, proliferação e produção da matriz extracelular a taxa em que decorre a sua degradação. Para isso, é necessário que ele tenha superfície química adequada [26], visto que as propriedades de superfície dos biomateriais e das células influenciam os eventos observados na interface célula-material resultando ou não na biocompatibilidade.

3 OBJETIVOS

Realizar extrusão reativa do copolímero poli(3-hidroxibutirato-co- ϵ -caprolactona) (PHB-co-PCL), e caracterizá-lo através de técnicas de caracterização estrutural e das propriedades físicas.

Produzir nanofibras do copolímero através da técnica de eletrofiação, visando à obtenção de estruturas segmentadas flexíveis, adequadas para a formação de mantas macroporosas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais utilizados

O poli(3-hidroxibutirato) (PHB; $M_w = 266.700 \text{ g.mol}^{-1}$) utilizado foi o BioCycle[®] produzido pela PHB Industrial (Usina de Pedra, SP).

Utilizou-se poli(ϵ -caprolactona) de diferentes valores de massa molar, fornecidos pela Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA): policaprolactona diol ($M_n = 2.000 \text{ g.mol}^{-1}$) e policaprolactona ($M_n = 80.000 \text{ g.mol}^{-1}$), de densidades $1,071 \text{ g.cm}^{-3}$ e $1,145 \text{ g.cm}^{-3}$, respectivamente, e denominados PCL 2.000 e PCL 80.000 neste trabalho.

Foi utilizado catalisador octanoato de estanho (Sigma-Aldrich).

Os solventes clorofórmio (CHCl_3), metanol (CH_4O) e diclorometano (CH_2Cl_2) foram fornecidos pela CAAL- Casa Americana Artigos para Laboratório. O tetra-hidrofurano ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$) e 1,2-dicloroetano ($\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$) utilizados foram fornecidos pela Synth e pela Merck, respectivamente. Todos os solventes foram utilizados sem prévia purificação.

4.2 Síntese dos copolímeros

4.2.1 Extrusão reativa

Inicialmente, foram preparados dois frascos, um contendo PHB e PCL 2.000, e outro com PHB e PCL 80.000, ambas misturas na proporção molar 1:1. Estes frascos foram levados a uma estufa a vácuo, a 60°C , onde permaneceram por 24 horas, até atingir um valor de massa constante, para que a umidade presente no material fosse mínima.

Em seguida, dentro de uma *glove box* com atmosfera inerte, adicionou-se o catalisador octanoato de estanho, aproximadamente 5% (p/p), em cada um dos frascos. Os componentes foram então misturados sobre uma placa de aquecimento

contida na *glove box*, até a fusão dos polímeros (Figura 9). Enquanto a mistura PHB/PCL 2.000 fundiu rapidamente e aparentou homogeneidade, a mistura PHB/PCL 80.000 não fundiu completamente, deixando alguns grãos de PHB visíveis.



Figura 9 – Frascos com misturas poliméricas sobre a chapa de aquecimento dentro da *glove box*.

As duas misturas obtidas foram então alimentadas pouco a pouco ao funil da minimisturadora/extrusora LME, no processo de extrusão reativa para a formação de copolímeros.

Para o PHB/PCL 2.000, o equipamento foi ajustado a aproximadamente 155 °C, e para PHB/PCL 80.000, 170 °C.

Durante a extrusão do PHB/PCL 80.000 foi possível ajustar os parâmetros da extrusora a fim de se obter fibras contínuas, como pode ser observado na Figura 10. As fibras de PHB-co-PCL 80.000 apresentaram homogeneidade e alta tenacidade.



Figura 10 – Copolímero PHB-co-PCL 80.000 saindo da extrusora LME

4.2.2 Purificação do material

Enquanto o PHB-co-PCL 80.000 dissolveu tanto em clorofórmio quanto em diclorometano, sob aquecimento, o PHB-co-PCL 2.000 mostrou-se muito mais resistente à solubilização, formando uma mistura não homogênea, bifásica, sendo possível identificar o PHB, que não se solubilizou e permaneceu em forma de “grânulos”.

Desta forma, realizou-se a purificação do PHB-co-PCL 80.000, apenas.

O copolímero foi dissolvido em diclorometano na concentração de 40% (m/v) e em seguida, dentro de um frasco fechado, levado ao banho ultrassônico a 38 °C, durante 3 horas. Após este tempo, ainda era possível ver alguns grãos de PHB não dissolvidos.

A solução foi, então, filtrada e precipitada em metanol na proporção 1:10 (v/v) sob agitação, com o auxílio de placa de agitação magnética, eliminando-se, então, o

PHB não reagido (Figura 11). Todo o cuidado foi tomado para que o polímero precipitado não se emulsificasse ou formasse fase dispersa fina.

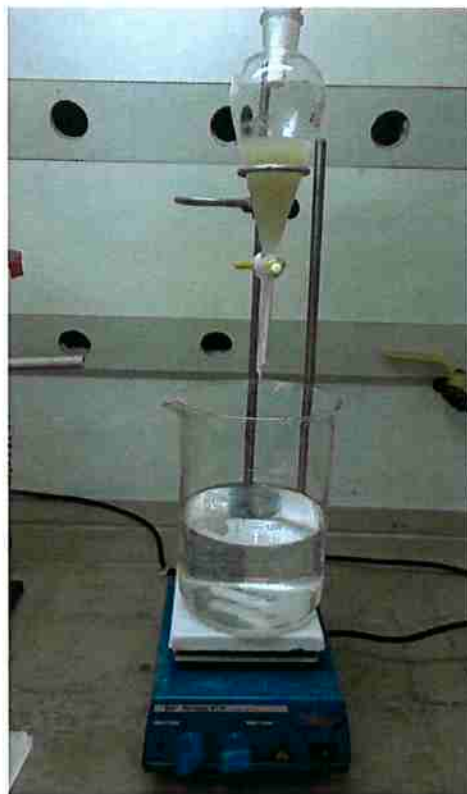


Figura 11 – Etapa de precipitação do copolímero PHB-co-PCL 80.000 em metanol.

Com o agitador desligado, esperou-se um tempo para que as partículas de polímero decantassem, para que fosse feita a filtração. Após a filtração, o líquido resultante foi descartado, e as partículas de copolímero deixadas para secar, primeiro a temperatura ambiente e depois na estufa a vácuo.

4.3 Caracterização dos copolímeros

4.3.1 Ensaios de solubilidade

A partir de testes de solubilidade, é possível confirmar se houve modificação do PHB, já que este se apresenta insolúvel em grande parte dos solventes, com

algumas exceções como o clorofórmio. O PCL, diferentemente do PHB, é solúvel na grande maioria dos solventes.

A solubilidade do copolímero PHB-co-PCL 80.000 foi testada com 5 solventes: clorofórmio (CHCl_3), diclorometano (DCM), tetra-hidrofurano (THF), 1,2-dicloroetano (1,2-DCE) e metanol (MeOH).

Em cada tubo de ensaio foram colocados aproximadamente 1 mg de polímero em 1 mL de solvente. Algumas amostras foram aquecidas a 50°C durante alguns minutos em banho ultrassônico.

A Tabela 2 apresenta os parâmetros de solubilidade dos solventes utilizados.

Tabela 2 – Parâmetro de solubilidade dos solventes.

Solvente	CHCl_3	THF	DCM	1,2-DCE	MeOH
Parâmetro de solubilidade δ ($\text{MPa}^{1/2}$)	19,0	19,4	19,8	20,1	29,7

Fonte: *Polymer Data Handbook*, 1999.

4.3.2 Ensaio de viscosidade

A viscosidade de um material é sua resistência à alteração de sua forma, associada ao atrito interno existente entre as moléculas de um fluido, e é um dos parâmetros mais importantes no processo de eletrofição.

Mediu-se a viscosidade de cada solução polimérica usada na eletrofição, nas concentrações 15 e 20% (p/p), de PHB-co-PCL 80.000, dissolvido em clorofórmio.

Utilizou-se o viscosímetro Brookfield modelo DV-II, com geometria de cilindros coaxiais.

4.3.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As análises de DSC foram realizadas no Departamento de Engenharia Metalúrgica da Escola Politécnica, no equipamento NETZSCH DSC 200F3.

Amostras de massa entre 5 e 10 mg contidas em cadinhos de alumínio foram submetidas a um programa controlado de temperatura, a uma taxa de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$, sob fluxo de nitrogênio.

O programa de temperatura utilizado foi: resfriamento da temperatura ambiente a -120°C ; isoterma de 5 minutos; aquecimento até 200°C a $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ (primeiro aquecimento); novo resfriamento até -120°C a $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$; e finalmente, aquecimento até 200°C , a $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ (segundo aquecimento).

4.3.4 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Um espectro no infravermelho é obtido pela passagem de radiação infravermelha através de uma amostra. É feita a determinação da fração da radiação incidente que é absorvida em cada frequência ou comprimento de onda. As frequências onde ocorre absorção geram as bandas de absorção num espectro no infravermelho, que correspondem a uma frequência de vibração de um conjunto de ligações de uma molécula da amostra, permitindo a identificação de grupos funcionais presentes.

As análises por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR) foram realizadas no Laboratório de Macromoléculas do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Poli-USP. Foi utilizado o espectrofotômetro Thermo Scientific Nicolet iS50, e as amostras foram analisadas por reflexão atenuada usando cristal de ZnSe.

4.3.5 Ressonância Magnética Nuclear (RNM- ^1H e RNM- ^{13}C)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de prótons (RNM- ^1H) e de carbono-13 (RNM- ^{13}C) foram feitos pela Central Analítica do Instituto de Química da USP.

As amostras de copolímeros foram dissolvidas em clorofórmio deuterado (CDCl_3) em temperatura ambiente e analisadas em tubos de vidro 5 mm de diâmetro no equipamento DPX300 operando a 300 MHz, durante uma hora.

4.4 Testes de eletrofiação

Realizou-se a eletrofiação do copolímero PHB-co-PCL 80.000 usando o equipamento montado no Laboratório de Processamento de Polímeros do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Poli-USP, que consiste em uma bomba de infusão (Nikkiso modelo PSK-01), uma fonte de tensão (Testtech) e uma placa coletora vertical (Figura 12).



Figura 12 – Equipamento de eletrofiação utilizado.

Foram utilizadas seringas plásticas de 20 mL, uma agulha sem ponta com diâmetro 22 G como ponto de ejeção, além de folhas de alumínio para revestir a placa coletora.

O polímero em solução é armazenado em uma seringa e posicionado na bomba de infusão. A saída da seringa é conectada ao ponto de ejeção através de uma cânula de polietileno.

O polímero em solução, eletricamente carregado, é atraído pela folha de alumínio, aterrada pelo terminal de terra da fonte de tensão.

Os parâmetros foram variados para cada amostra, mantendo apenas a distância entre o bico de ejeção e a placa coletora de 15 cm.

A duração de processo de eletrofiação para a preparação de cada membrana durou entre 15 a 30 minutos

4.5 Caracterização das fibras

As membranas eletrofiadas, depositadas sobre a folha de alumínio, foram analisadas por microscopia ótica e eletrônica, a fim de verificar a formação de fibras poliméricas.

Foram utilizados o microscópio ótico Olympus BX60M, e o microscópio eletrônico de varredura (MEV) FEI Inspect F50, ambos no Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Poli-USP.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese dos copolímeros

O processamento reativo dos polímeros PCL e PHB forneceu produtos que foram identificados como copolímeros PHB-co-PCL 2.000 e PHB-co-PCL 80.000, conforme descrição na seção 4.2.

Após a purificação e secagem, o PHB-co-PCL 80.000 apresentou-se em forma de finíssimas partículas brancas. Calculou-se o rendimento do processo de obtenção do copolímero, que foi de aproximadamente 60%. O rendimento não foi alto, pois grande parte do PHB não reagiu e foi eliminado na etapa de purificação.

Como apenas o PHB-co-PCL 80.000 foi purificado, ele foi o único a ser utilizado no preparo de soluções poliméricas para a etapa de eletrofiação, visando a obtenção de membranas macroporosas biodegradáveis.

No entanto ambos os copolímeros PHB-co-PCL 2.000 e PHB-co-PCL 80.000 foram caracterizados através de análises calorimétricas e espectroscópicas.

5.2 Ensaio de solubilidade

Os solventes clorofórmio, diclorometano e 1,2-dicloroetano se mostraram bons solventes para o copolímero, como mostra a Tabela 3.

Tabela 3 – Comportamento dos polímeros em solvente.

Polímero	Solvente				
	CHCl ₃	THF	DCM	1,2-DCE	MeOH
PHB	S*	I	I	I	I
PCL 80.000	S	S	S	S	E
PHB-co-PCL 80.000	S	E	S*	S	I

I (insolúvel); E (emulsificado); S (solúvel); S* (solúvel após aquecimento).

A Figura 13 faz uma comparação entre a solubilidade do PHB e do copolímero em 1,2-diclorometano. Enquanto o PHB apresentou-se completamente insolúvel no solvente, o copolímero PHB-co-PCL 80.000 solubilizou-se facilmente, à temperatura ambiente, resultando em uma solução homogênea e transparente.

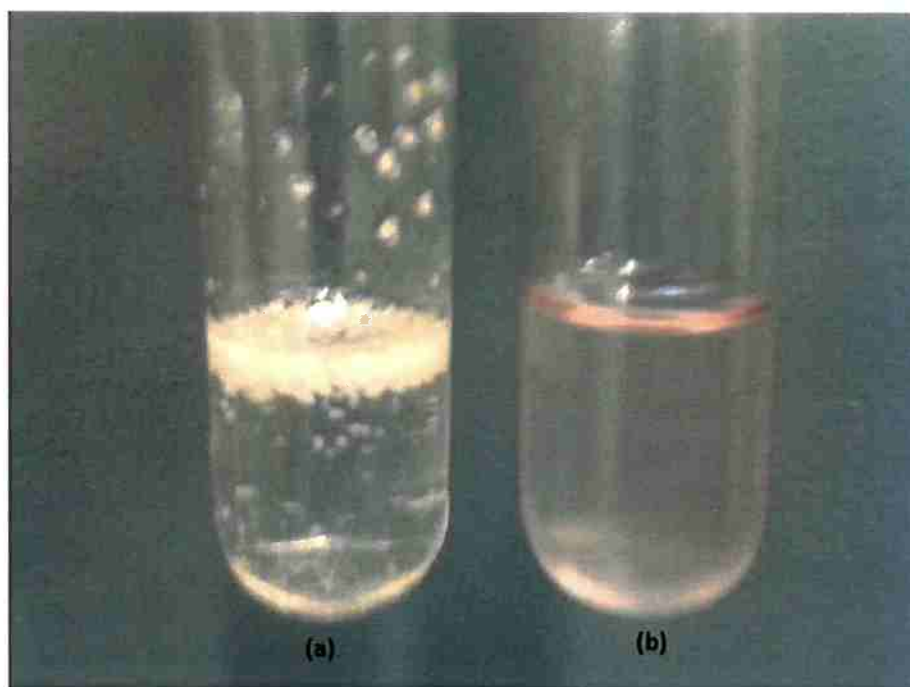


Figura 13 – Comparação entre (a) PHB insolúvel em 1,2-DCE e (b) copolímero dissolvido em 1,2-DCE.

Todos os solventes escolhidos têm parâmetros de solubilidade semelhantes, porém, não explica o resultado do teste com THF, já que a solução resultante entre copolímero e THF aparentou uma emulsão, mesmo após aquecimento.

Pelo fato deste parâmetro de solubilidade de Hildebrand não levar em conta interações dipolares e nem mesmo interações por pontes de hidrogênio, solventes mais polares não são bem diferenciados dos menos polares ou apolares.

A partir destes resultados, conclui-se que um maior número de solventes deveria ser testado, mas as análises comparativas de solubilidade indicam modificação do PHB, ou seja, possivelmente a formação de copolímero.

5.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Os gráficos contendo os resultados da análise DSC dos polímeros puros, PHB, PCL 2000 e PCL 80000, foram traçados utilizando-se o programa OriginPro 8.

Como pode ser observado na Figura 14a, que mostra o resultado do segundo aquecimento, na curva DSC do PHB, estão assinaladas as transições térmicas, tais como, a temperatura de transição vítrea (T_g), a temperatura de cristalização (T_c) e a temperatura de fusão (T_m), que aparecem bem definidos.

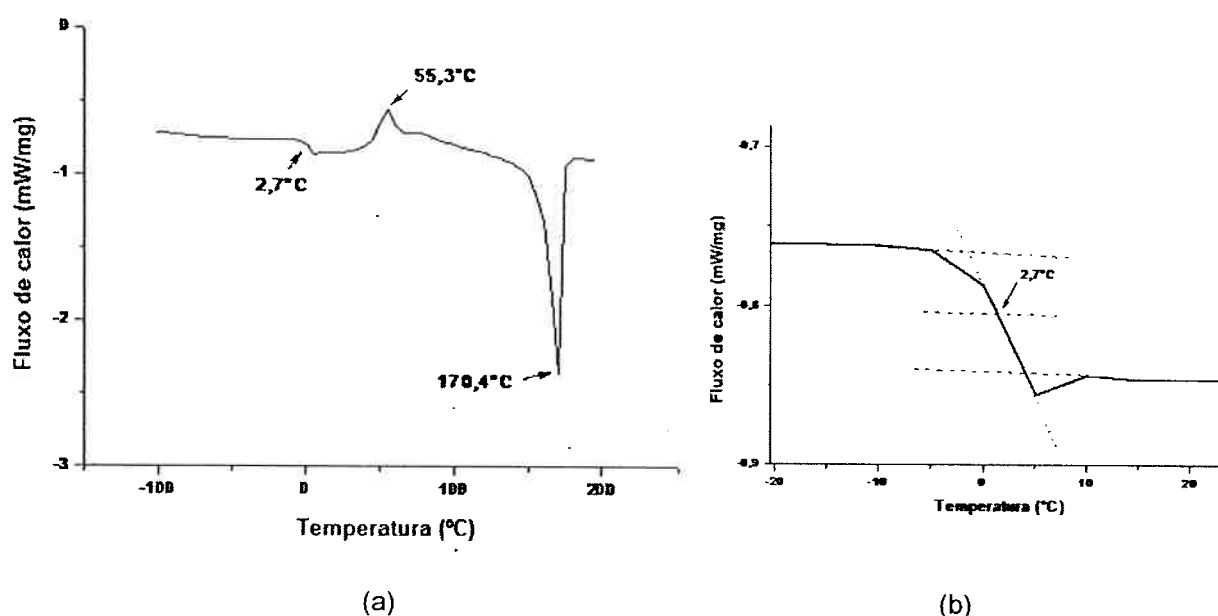


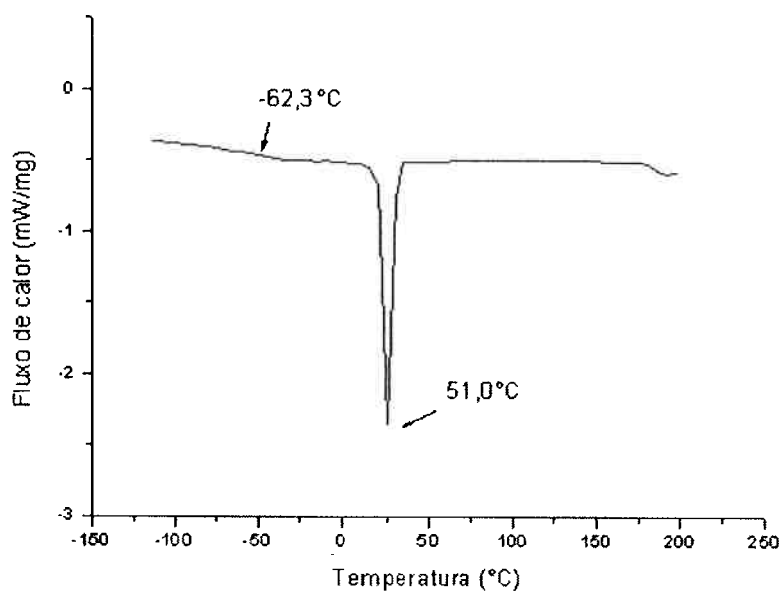
Figura 14 – (a) Curvas DSC do PHB e (b) Determinação de sua T_g .

Neste trabalho, para determinar a temperatura de transição vítrea de todos os polímeros e copolímeros estudados, utilizou-se o método mostrado na Figura 14b, uma ampliação da Figura 14a na região da T_g do polímero.

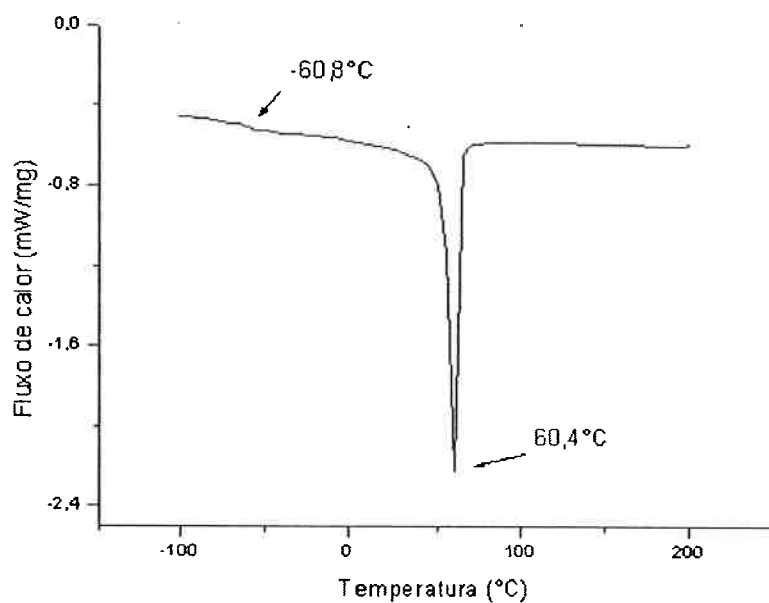
Todas as curvas DSC mostradas são referentes ao segundo aquecimento do ciclo térmico aplicado.

Para os homopolímeros poli(ϵ -caprolactona) de diferentes massas molares, obtiveram-se os gráficos da Figura 15. Observa-se que os valores de T_g e T_m , apresentam-se maiores para o PCL com maior massa molar, o que já era esperado,

uma vez que as terminações de cadeia são diferentes das unidades internas e apresentam maior mobilidade, refletindo no aumento do volume livre na fase amorfa e do número relativo de “defeitos” na estrutura cristalina.



(a)



(b)

Figura 15 – Curvas DSC dos polímeros (a) PCL 2.000 e (b) PCL 80.000.

As Figuras 16 e 17 mostram as curvas DSC, obtidas durante o segundo aquecimento, para os copolímeros, e ampliação na região das T_g 's, que foram encontradas com auxílio da primeira derivada da curva DSC.

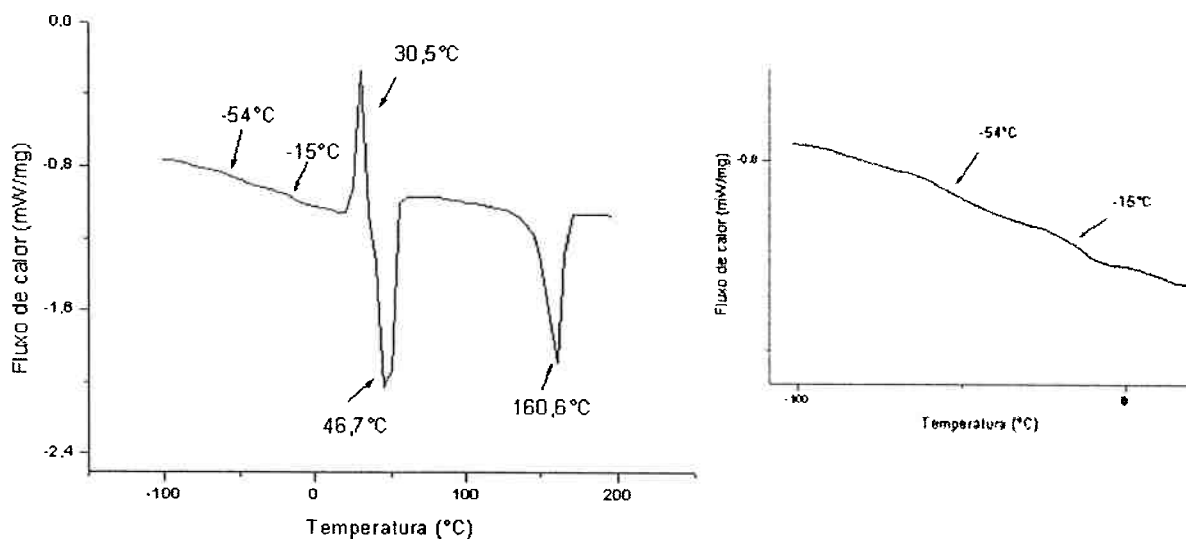


Figura 16 – Curva DSC do copolímero PHB-co-PCL 2.000 e ampliação na região das T_g 's.

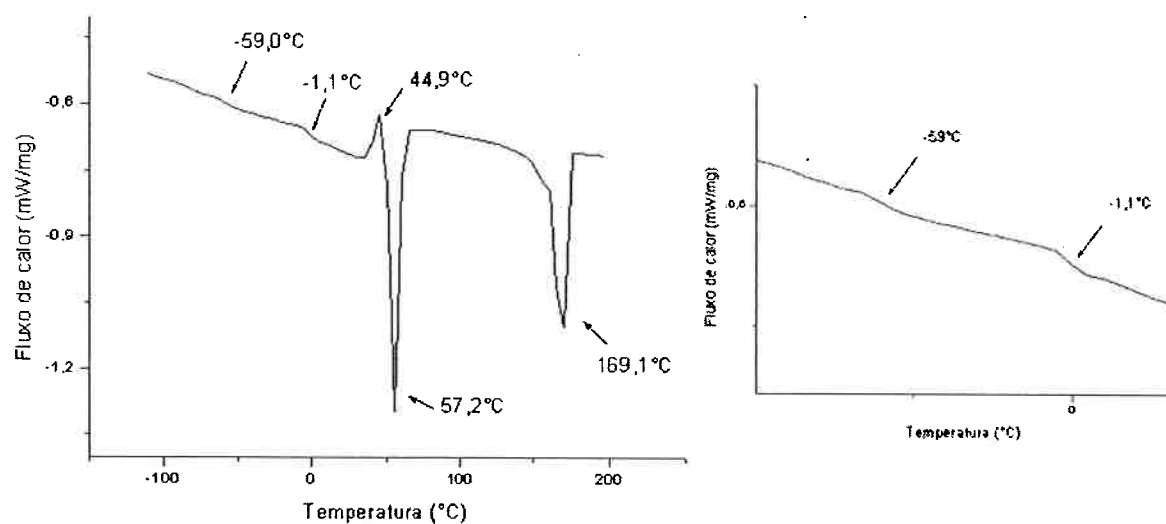


Figura 17 – Curva DSC do copolímero PHB-co-PCL 80.000 e ampliação na região das T_g 's.

Os dados obtidos pelas curvas DSC do segundo aquecimento, são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Temperaturas encontradas nas curvas DSC dos homopolímeros e copolímeros.

Polímero	T _g (°C)	T _c (°C)	T _m (°C)	
			PCL	PHB
PHB	2,7	55,3	-	170,4
PCL 2.000	-62,3	NO	51,0	-
PCL 80.000	-60,8	NO	60,4	-
PHB-co-PCL 2.000	-54,0 / -15,3	30,5	46,7	160,6
PHB-co-PCL 80.000	-59,0 / -1,1	44,9	57,2	169,1

NO: não observado

Para os homopolímeros, os dados estão condizentes com os encontrados na literatura [27]. Para os copolímeros, não há muitas referências para comparação. Verificando-se os resultados com os copolímeros PHB-co-PCL de Roa et al. [28], percebeu-se certa semelhança, apesar da massa molar e proporção inicial de PHB e PCL serem diferentes dos analisados neste trabalho. Outra diferença foi no número de T_g's encontrado para os copolímeros. Neste trabalho, foram encontrados duas T_g's para os ambos os copolímeros, enquanto Roa et al. [28] encontraram apenas um valor.

Em um sistema de dois componentes, teoricamente, podem ser encontrados até 5 T_g's, ou seja cinco fases possíveis, duas T_g's referentes aos segmentos exclusivos de PCL e PHB, uma perfeitamente miscível numa determinada proporção e outras duas em que existe uma solubilização parcial com matriz formada por segmentos de PCL ou PHB. Portanto, a identificação de duas T_g's indica duas fases amorfas presentes, uma de PCL como matriz, e outra de PHB como matriz.

Para entender melhor a fase amorfa dos materiais obtidos, foi estimada a porcentagem em massa dos componentes através da equação de Fox-Flory (1):

$$\frac{1}{T_g} = \frac{w_{PCL}}{T_{gPCL}} + \frac{w_{PHB}}{T_{gPHB}} \quad (1)$$

sendo w_{PCL} , w_{PHB} , T_{gPCL} e T_{gPHB} as frações em massa e temperaturas de transição vítrea, respectivamente.

Para o copolímero PHB-co-PCL 2.000, as porcentagens estimadas de PCL foram 22,6% na fase com PHB como matriz e 83,9% na fase com PCL como matriz. Para o copolímero PHB-co-PCL 80.000, as porcentagens estimadas foram 5,2% na fase com PHB como matriz e 96,3% na fase amorfa de PCL como matriz.

Estes resultados mostram a baixa solubilidade de segmentos de PCL na matriz amorfa de PHB, possivelmente devido à estrutura segmentada das cadeias que inibe a mistura e ao mesmo tempo possibilita a separação e a formação de fase dentro de fase.

A curva DSC do copolímero PHB-co-PCL 2.000 mostrou uma cristalização seguida de fusão, a 30,5 °C e 46,7 °C, respectivamente. A cristalização a frio dos segmentos do PHB ocorreu em temperatura mais baixa que aquela observada para o PHB puro, devido à provável miscibilidade parcial com segmentos PCL, e estes apresentaram temperatura de fusão também mais baixa, aproximadamente 5 °C menor. Outro efeito observado foi a redução da temperatura de fusão dos cristalitos, formados pelos segmentos de PHB no copolímero PHB-co-PCL 2.000, 11 °C inferior, indicando existência de interação entre segmentos PCL e PHB que dificultam o dobramento das cadeias para formar cristalitos maiores e mais perfeitos.

Assim como o PHB-co-PCL 2.000, o copolímero PHB-co-PCL 80.000 também apresentou uma cristalização seguida de fusão, a 44,9 °C e 57,2 °C, respectivamente, e depois, mais uma fusão, a 169,1 °C, correspondente ao outro segmento, PHB. Roa et al. [28] também observaram cristalização seguida de fusão em seu copolímero de proporção 50/50 em massa. Estas mesmas temperaturas observadas foram 43 °C (T_c), 54 °C (T_f PCL) e 162 °C (T_f PHB). Comparativamente, há semelhança entre os copolímeros. Apesar de Roa et al. terem utilizado um PHB diferente, de maior massa molar, o PCL é do mesmo fornecedor e com a mesma massa molar.

Na análise do copolímero PHB-co-PCL 80.000, foi observada uma diminuição na área do pico de fusão, relacionada com a diminuição da cristalização do sistema.

Os diferentes meros e o aumento de grupos terminais dificultam o empacotamento das cadeias, resultando em queda na cristalinidade [1].

Os homopolímeros PHB e PCL são altamente cristalizáveis (Tabela 5). Para calcular a fração mássica de fase cristalina nos homopolímeros e copolímeros, X_{PCL} e X_{PHB} , foram utilizados os valores de entalpia de fusão teóricos dos homopolímeros 100% cristalinos, de acordo com as equações (2):

$$X_{PCL} = \frac{\Delta H_{m,PCL}}{\Delta H_{m,PCL}^0}$$

$$X_{PHB} = \frac{\Delta H_{m,PHB}}{\Delta H_{m,PHB}^0} \quad (2)$$

sendo ΔH^0 iguais a 146 J.g^{-1} [29] para o PHB 100% cristalino, e 135 J.g^{-1} [30] para o PCL, e ΔH o calor de fusão associado a cada pico de fusão, observado para PHB e PCL. Para ambos os copolímeros, as curvas DSC indicaram dois picos endotérmicos, referentes aos dois tipos de segmentos, PCL e PHB.

Tabela 5 – Porcentagem de cristalinidade dos homopolímeros e copolímeros determinados por DSC.

Polímero	$\Delta H_m (\text{J.g}^{-1})$		X_m		%Cristalinidade
	PCL	PHB	PCL	PHB	
PHB	-	96,9	-	0,664	66,4
PCL 2.000	83,6	-	0,619	-	61,9
PCL 80.000	61,5	-	0,456	-	45,6
PHB-co-PCL 2.000	67,4	61,6	0,499	0,422	92,1
PHB-co-PCL 80.000	30,6	19,7	0,227	0,135	36,2

A grande diferença na porcentagem de cristalinidade para as amostras preparadas PHB-co-PCL 2.000 e PHB-co-PCL 80.000 indica que a primeira deve ser essencialmente uma mistura e não um copolímero. No caso de misturas poliméricas,

o fato do PHB não ter reagido causa diminuição da viscosidade do sistema. Dessa forma, o PHB consegue se cristalizar, justificando a alta porcentagem de cristalinidade do PHB-co-PCL 2.000. No caso do PHB-co-PCL 80.000 houve redução do grau de cristalinidade, em geral, esperada para copolímeros.

5.4 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho mostrou algumas bandas importantes correspondentes aos grupos funcionais presentes nos copolímeros.

As Figuras 18 e 19 mostram espectros FTIR dos homopolímeros PHB e PCL.

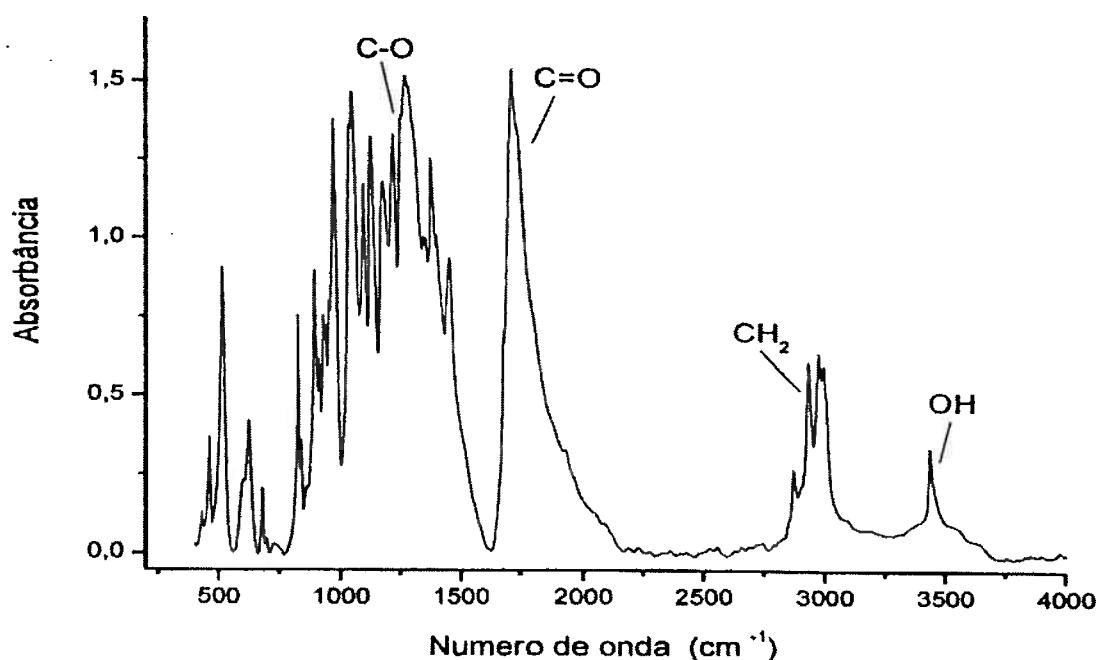
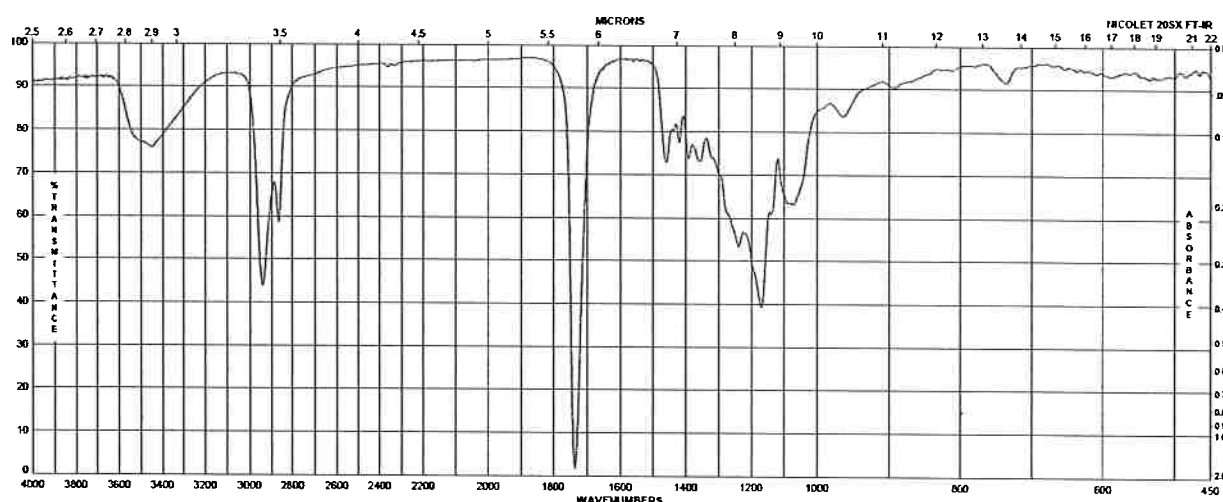
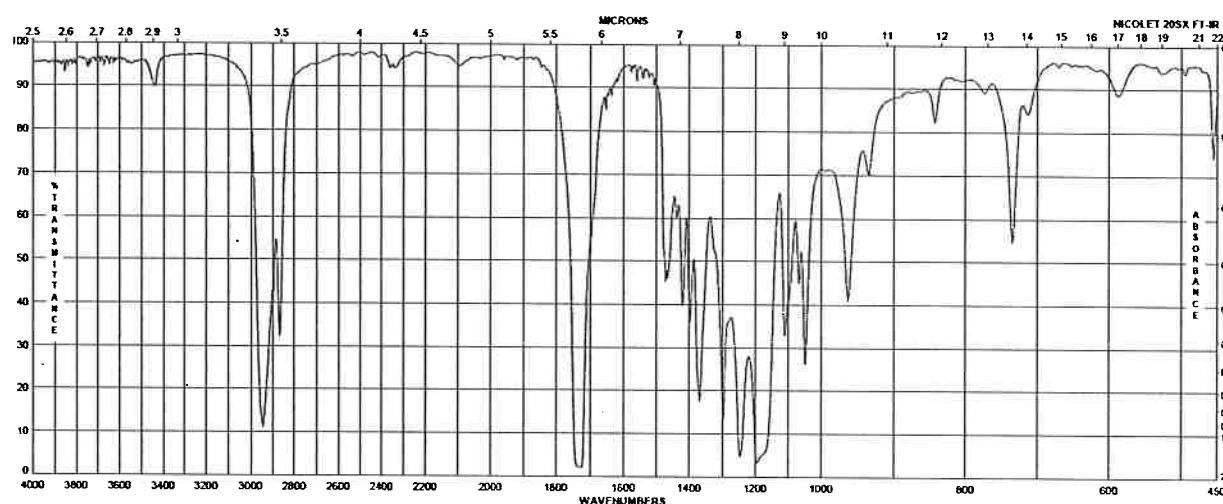


Figura 18 – Espectros FTIR do PHB [31].



(a)



(b)

Figura 19 – Espectros FTIR do (a) PCL 2.000 e do (b) PCL 80.000 [Sigma-Aldrich].

Os espectros do PCL (Figura 19) são similares quanto às absorções mais intensas devidas aos grupos C-H, estiramento (2860 e 2930 cm^{-1}), C=O, estiramento (1725 cm^{-1}) e C-O, estiramento (1180 e 1250 cm^{-1}).

O PCL 2.000 destaca-se pela presença dos grupos hidroxilas terminais, cuja absorção no infravermelho é observada como uma banda larga intensa devido a estiramento de ligações O-H associadas (3500 cm^{-1}). O espectro de PCL 80.000 apresenta muitos picos de absorção na região de impressão digital e uma absorção mais intensa, em comparação com PCL 2.000, a 730 cm^{-1} atribuída à deformação (*rocking*) da ligação C-H fora do plano zig-zag da cadeia estendida.

As Figuras 20 e 21 mostram os espectros FTIR dos copolímeros PHB-co-PCL 2.000 e PHB-co-PCL 80.000, respectivamente.

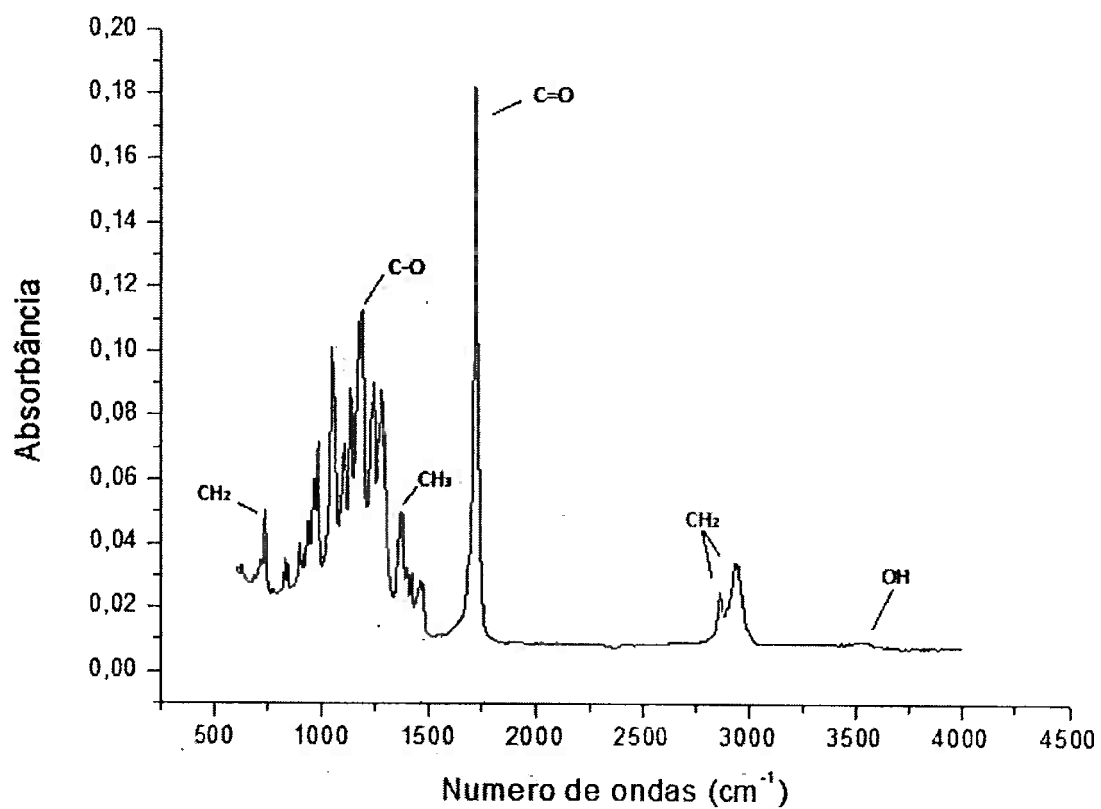


Figura 20 – Espectros FTIR do copolímero PHB-co-PCL 2.000.

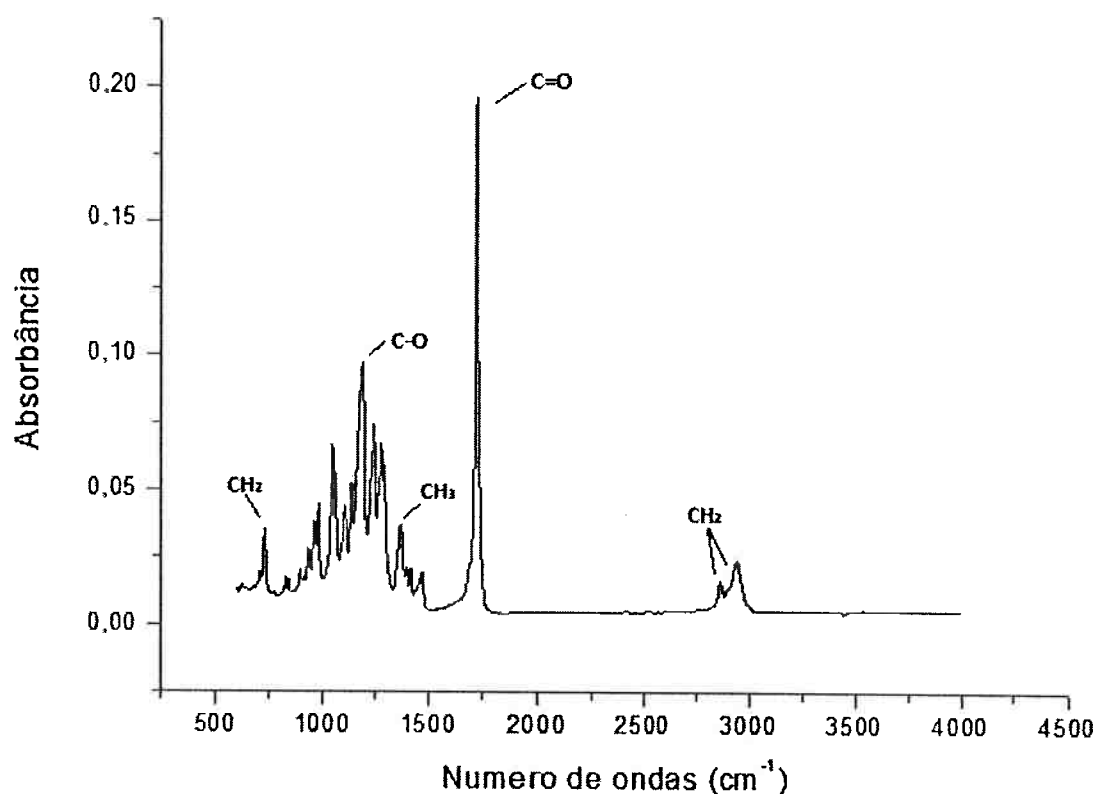


Figura 21 – Espectros FTIR do copolímero PHB-co-PCL 80.000.

A absorção relativa ao estiramento da carbonila, a aproximadamente 1725 cm^{-1} , é praticamente idêntica às bandas correspondentes do PHB e do PCL. Nota-se ainda que as razões entre as intensidades de algumas bandas e a intensidade da banda da carbonila do copolímero não apresentaram mudanças significativas em relação aos espectros dos homopolímeros. As bandas intensas de deformação axial na região de 1100 a 1300 cm^{-1} são atribuídas a um éster, indicando a manutenção da estrutura química.

Os ésteres possuem as chamadas “vibrações de deformação axial de C-O”, que são duas vibrações assimétricas acopladas: $\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}$ e $\text{O}-\text{C}-\text{C}$. A banda de $\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}$ dos ésteres saturados é muito intensa e é observada entre 1210 e 1163 cm^{-1} .

Observa-se para o PHB-co-PCL 2.000 uma banda fraca a 3500 cm^{-1} , também observada nos homopolímeros, indicando a presença de grupos hidroxila terminal.

As bandas presentes nos dois copolímeros são bastante semelhantes, sendo as mais importantes aquelas indicadas na Tabela 6, que compara os valores de número de onda obtidos com os encontrados por Roa et al. [1].

Tabela 6 – Principais bandas do PHB, PCL e copolímero P(HB-co-CL) no FTIR e comparação com resultados encontrados na literatura.

Tipo de interação	Número de onda (cm ⁻¹)		
	PHB	PCL	P(HB-co-CL)
Estiramento C=O	1725 (Lit. 1724)	1725 (Lit. 1725)	1725 (Lit. 1723)
Estiramento CH ₃	2950 (Lit. 2976)	-	NI (Lit. 2976)
Estiramento CH ₂	2935 (Lit. 2934)	2930, 2860 (Lit. 2945, 2866)	2940, 2865 (Lit. 2943, 2866)
Estiramento C-O	1254, 1040 (Lit. 1279, 1185)	1250, 1180 (Lit. 1243, 1190)	1183 (Lit. 1278, 1184)
Deformação CH ₃ ang.	NI (Lit. 1380)	-	1383 (Lit. 1379)
Deformação CH ₂ ang.	NI (Lit. 1228)	1070 (Lit. 1107)	NI (Lit. 1229, 1101)
Deformação CH <i>rock</i> .	-	730 (Lit. 733)	730 (Lit. 730)

NI: não identificado

5.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN-¹H)

Os espectros RMN-¹H dos homopolímeros são apresentados como referências para comparação com os dos copolímeros.

O espectro do PHB (Figura 22) mostra que este polímero apresenta uma microestrutura perfeitamente isotática e os sinais de ressonância observados para CH, CH₂ e CH₃ correspondem individualmente a apenas um isômero ótico. Os hidrogênios do CH₃ apresentam-se a 1,26 ppm como dubleto (acoplamento com CH), enquanto CH₂ a 2,51 ppm, multipeto (acoplamento com CH e CH₃), e CH a 5,25 ppm, também multipeto (acoplamento com CH₂ e CH₃).

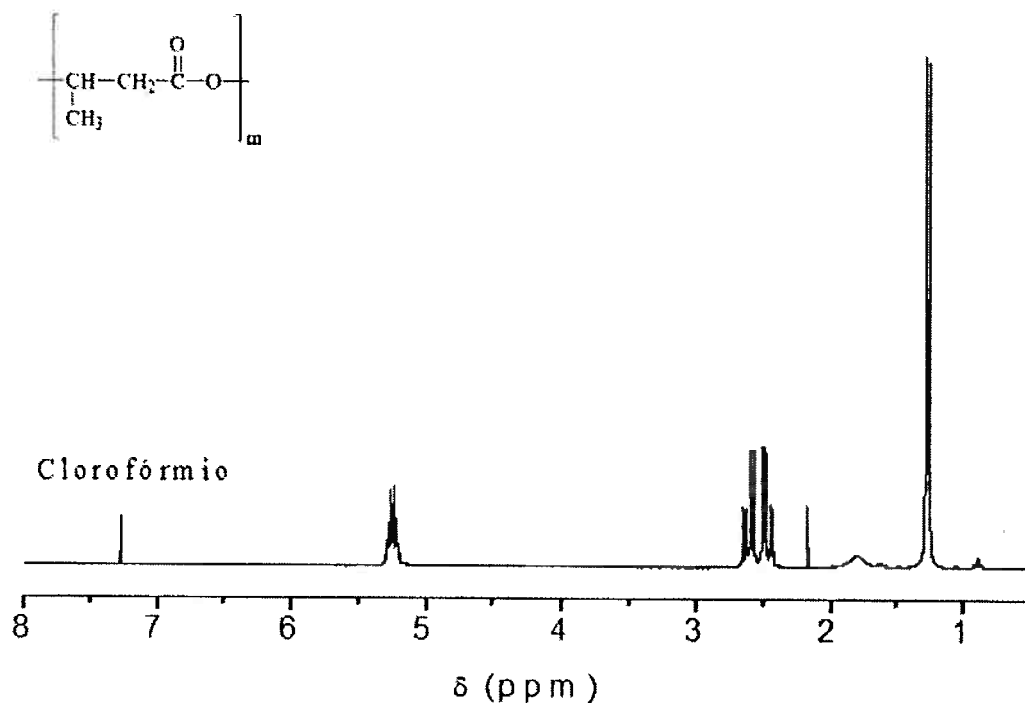


Figura 22 – Espectro RMN- ^1H do PHB [31].

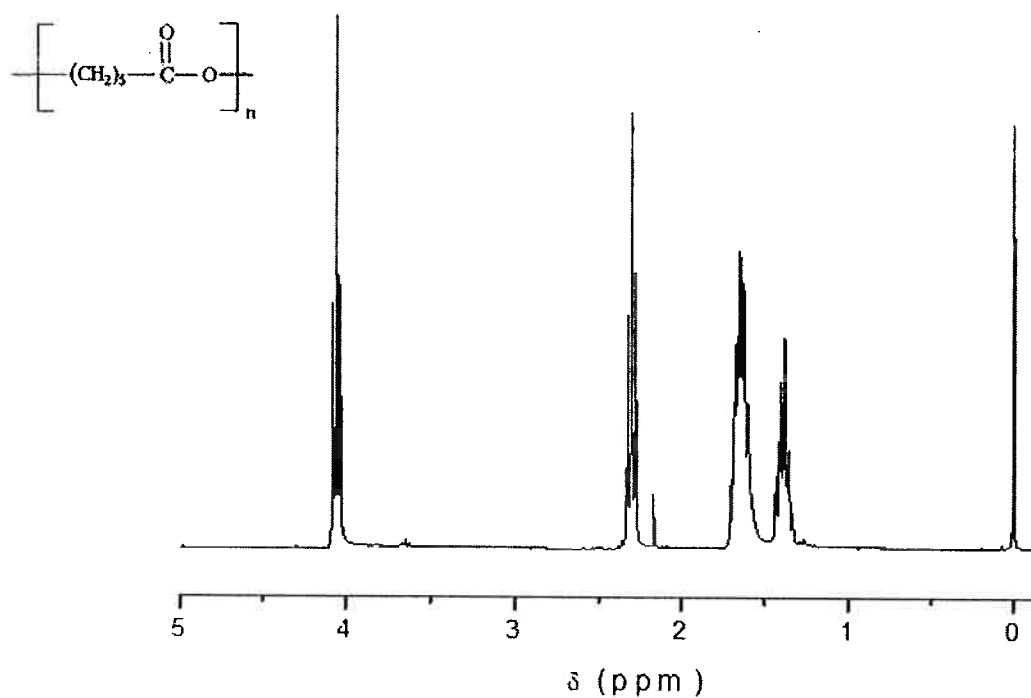


Figura 23 – Espectro RMN- ^1H do PCL [32].

Para o PCL (Figura 23), os deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos aparecem a 4,06 (O-CH₂, tripleto) que apresenta pequeno sinal a 3,65 ppm correspondente, provavelmente, a terminação da cadeia, a 2,31 ppm (O=C-CH₂, tripleto), e mais seis hidrogênios, quatro a 1,65 ppm (multipletto) e dois a 138 ppm (multipletto).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ¹H dos copolímeros são apresentados nas Figuras 24 e 25.

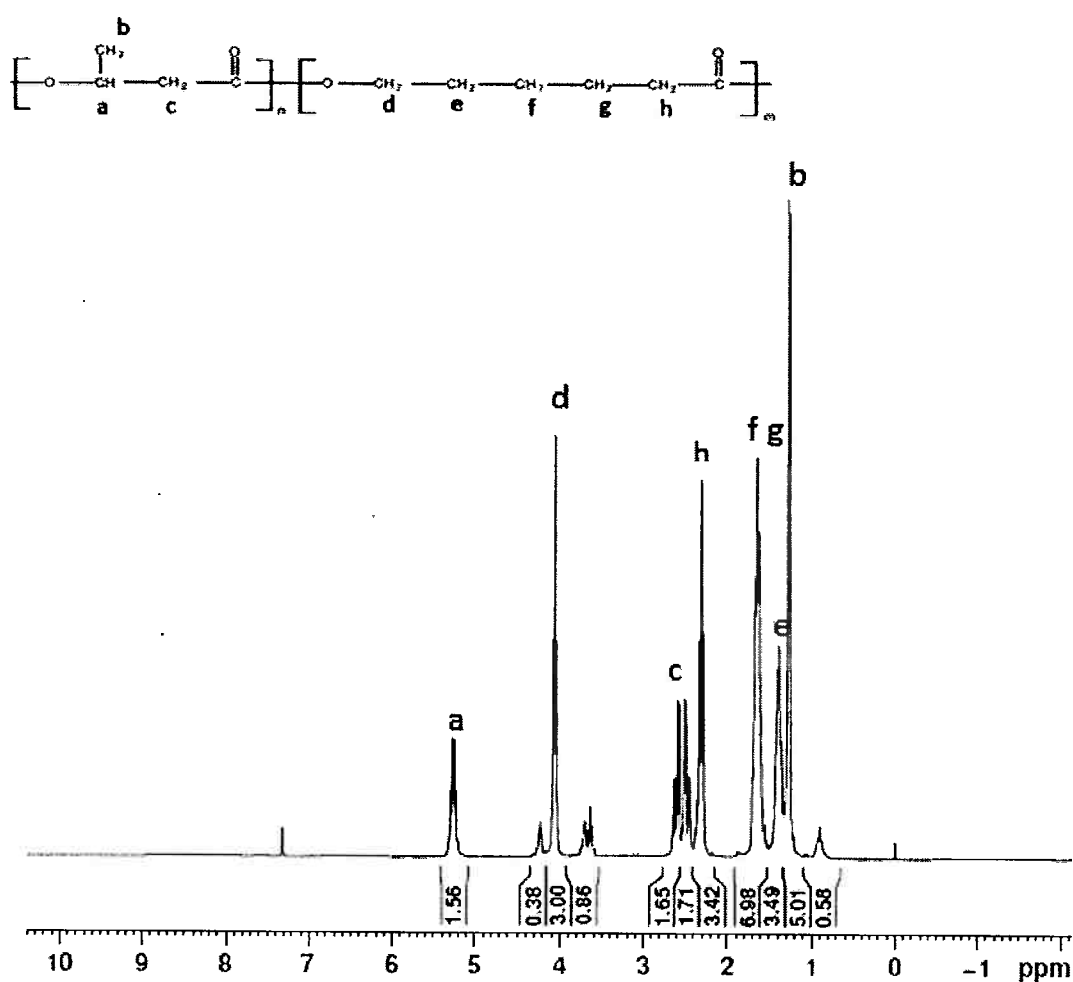


Figura 24 – RMN-¹H do copolímero PHB-co-PCL 2.000.

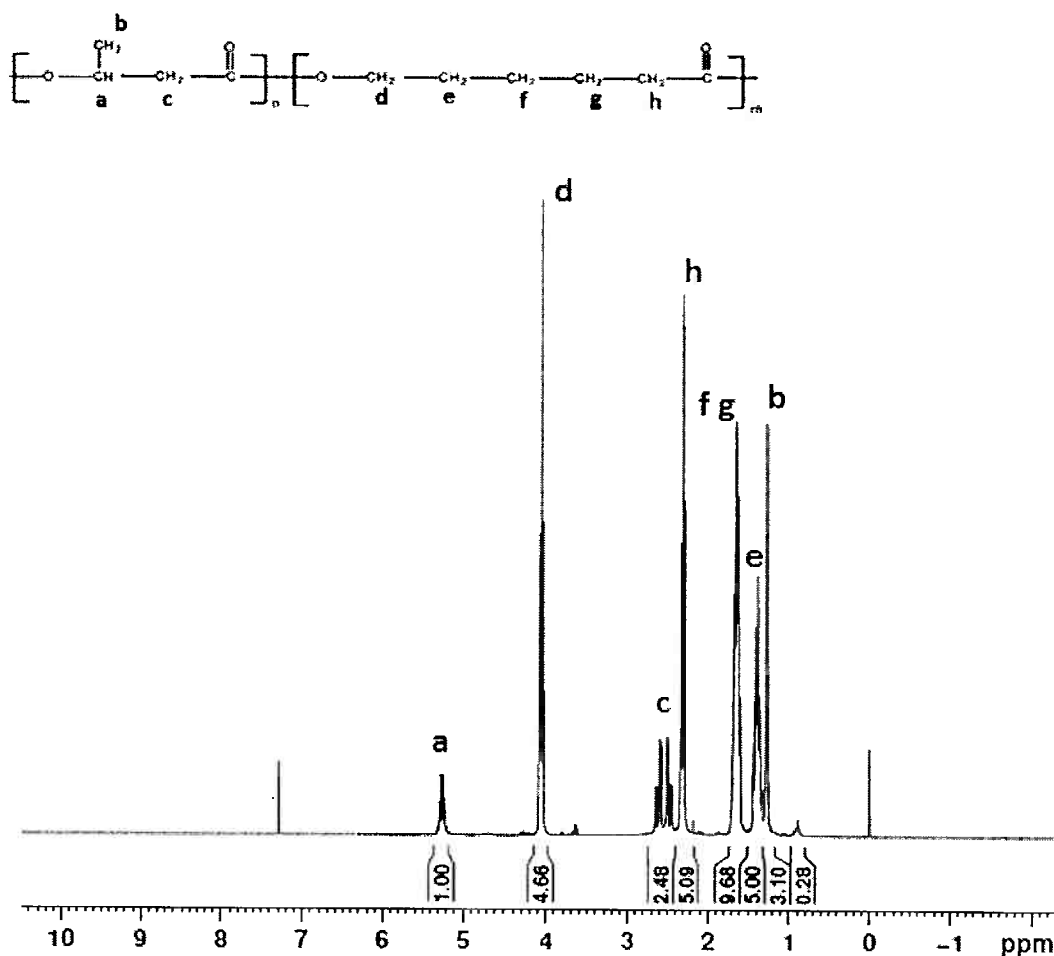


Figura 25 – RMN- ^1H do copolímero PHB-co-PCL 80.000.

Após as análises de RMN, fez-se uma observação de que as soluções poliméricas estavam muito concentradas para prótons. Este fato pode ter contribuído nos resultados pouco precisos. O aumento da concentração da amostra gera sinais de RMN mais fortes, mas também aumentam a largura dos picos, podendo encobrir picos referentes a núcleos mais escassos, por exemplo, aqueles que ligam os segmentos PCL e PHB nos copolímeros.

Nos espectros de RMN- ^1H , o pico na posição de deslocamento químico $\delta = 7,26$ ppm é referente ao solvente CDCl_3 .

A análise dos espectros de RMN dos copolímeros mostrou que houve incorporação de ambos os homopolímeros. A Tabela 7 mostra que as absorções referentes aos constituintes individuais estão presentes no copolímero, sugerindo formação de copolímeros tipo bloco.

Tabela 7 – Comparação entre deslocamento químico encontrado para os homopolímeros (PHB e PCL) e os copolímeros na análise RMN-¹H.

Polímero		Deslocamento químico δ (ppm)			
PHB	Segmento PHB	1,26 (dubleto)	2,51 (multiplete)	5,25 (multiplete)	
PHB-co-PCL 2.000		1,28 (dubleto)	2,54 (multiplete)	5,25 (multiplete)	
PHB-co-PCL 80.000		1,28 (dubleto)	2,55 (multiplete)	5,26 (multiplete)	
PCL	Segmento PCL	1,37 (multiplete)	1,65 (multiplete)	2,31 (triplete)	4,06 (triplete)
PHB-co-PCL 2.000		1,37 (multiplete)	1,65 (multiplete)	2,31 (triplete)	4,06 (triplete)
PHB-co-PCL 80.000		1,39 (multiplete)	1,65 (multiplete)	2,31 (triplete)	4,06 (triplete)

Para os valores de deslocamento químico do PCL, foram tomados como referência os deslocamentos encontrados por RMN-¹H (CDCl₃, 200MHz) de Roa et al [1]. Os deslocamentos químicos obtidos foram muito próximos aos da literatura.

No espectro RMN-¹H, a área sob cada pico é proporcional ao número de prótons que geram esse pico, permitindo quantificar as composições das substâncias.

Devido ao fato das amostras estarem muito concentradas para análise de prótons, os valores correspondentes às áreas dos picos não são totalmente confiáveis. Os resultados para o copolímero PHB-co-PCL 2.000 apresentaram-se mais precisos. Apesar de conter fontes de erros, a integração da área correspondente aos picos foi utilizada para encontrar a proporção de hidrogênios nas estruturas químicas, como mostram as Tabelas 8 e 9.

Tabela 8 – Cálculo da proporção de hidrogênios para PHB-co-PCL 2.000.

	PHB			PCL				
Carbono	a	b	c	d	e	f	g	h
Área pico	1,56	5,01	3,36	3,00	3,49	6,98		3,42
Área pico/ Área H esperada	0,94	3,02	2,02	1,78	2,07	4,14		2,03
Proporção H aproximada	1	3	2	2	2	4		2

Tabela 9 – Cálculo da proporção de hidrogênios para PHB-co-PCL 80.000.

	PHB			PCL				
Carbono	a	b	c	d	e	f	g	h
Área pico	1,00	3,10	2,48	4,66	5,00	9,68		5,09
Área pico/ Área H esperada	0,91	2,83	2,26	1,91	2,05	3,97		2,09
Proporção H aproximada	1	3	2	2	2	4		2

O pico referente ao deslocamento químico $\delta = 1,65$ ppm, mostrado nas Figura 24 24 e 25, abrange 4 hidrogênios. Este dado também foi encontrado na literatura. Isto acontece pois é difícil interpretar espectros com acoplamento de prótons de moléculas grandes, sendo comum os multipletos de diferentes hidrogênios se sobreporem.

A razão molar (PHB:PCL) nos copolímeros foi determinada a partir dos espectros RMN- ^1H usando a equação (3):

$$\frac{PBH}{PCL} = \frac{\frac{A_{PHB}}{n_{H_{PBH}}}}{\frac{A_{PCL}}{n_{H_{PCL}}}} = \frac{5}{3} \frac{A_{PHB}}{A_{PCL}} \quad (3)$$

onde A_{PHB} e A_{PCL} correspondem à soma das integrações de área dos grupos relacionados aos segmentos PHB e PCL, respectivamente, e $n_{H_{PBH}}$ e $n_{H_{PCL}}$ correspondem ao números de hidrogênios presentes em cada segmento.

Dessa forma, foram encontrados as razões molares aproximadas PHB:PCL de 1:1 para o PHB-co-PCL 2.000 e 1:2 para o PHB-co-PCL 80.000. Isso porque, como o PHB-co-PCL 2.000 não foi purificado, manteve sua composição inicial de 1:1. O PHB-co-PCL 80.000, após a purificação, teve rendimento de apenas 60% pois grande parte do PHB não reagiu e, por isso, obteve-se uma proporção menor de PHB no copolímero PHB-co-PCL 80.000.

5.6 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN- ^{13}C)

As Figuras 26 e 27 mostram os espectros RMN- ^{13}C dos homopolímeros.

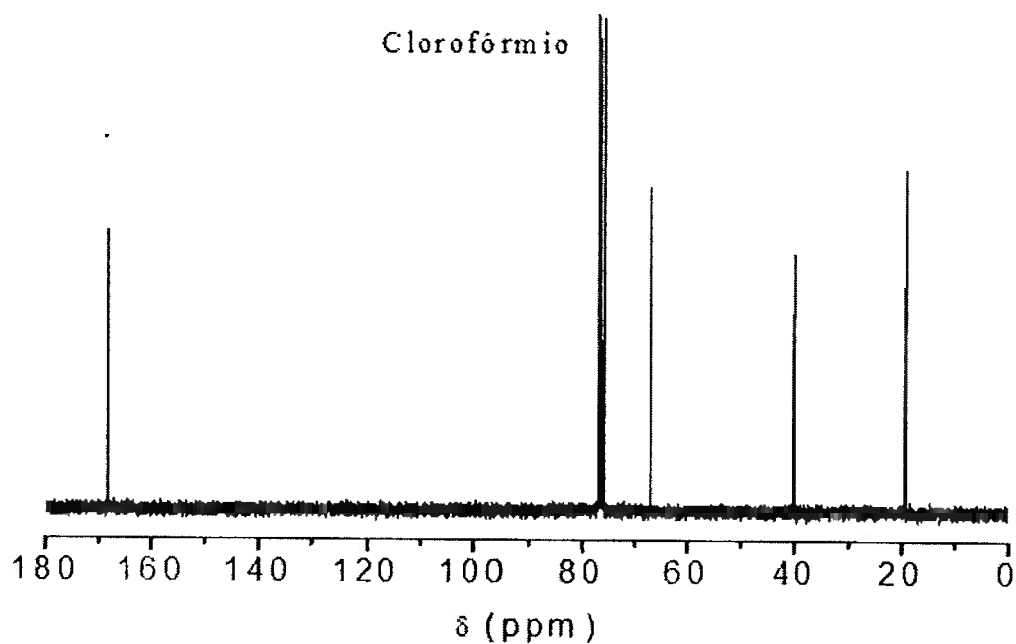


Figura 26 – RMN- ^{13}C do PHB [31].

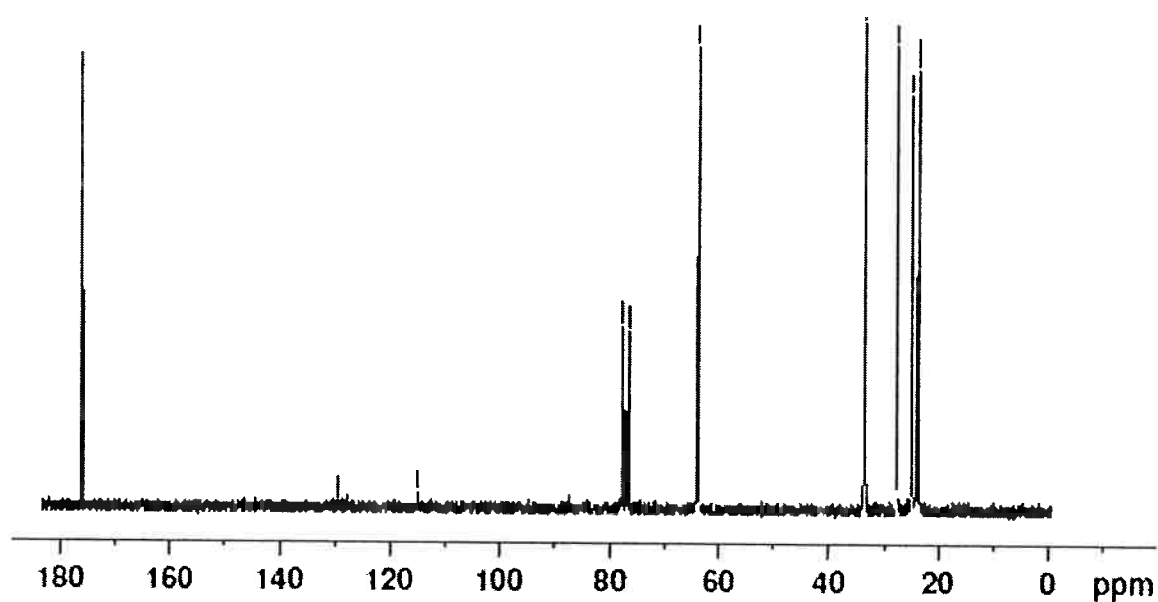


Figura 27 – RMN- ^{13}C do PCL [33].

Aqui, novamente, o espectro do PHB (Figura 26) comprova que o polímero possui uma microestrutura perfeitamente isotática e os sinais de ressonância observados para C=O (169 ppm), CH (67 ppm), CH₂ (40 ppm) e CH₃ (20 ppm) correspondem individualmente a apenas um isômero ótico.

A análise do espectro RMN-¹³C do PCL (Figura 27) mostra um número de picos intensos igual ao número de carbonos magneticamente distintos presentes na sua estrutura, entretanto são observados alguns sinais de baixa intensidade a 87, 114 e 126 ppm.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ¹³C dos copolímeros são apresentados nas Figuras 28 e 29.

A análise dos espectros RMN-¹³C mostra um número de picos intensos igual ao número de carbonos magneticamente distintos presentes na estrutura dos copolímeros.

A amostra PHB-co-PCL 2.000 apresenta um número muito elevado de picos de baixa intensidade que podem ser atribuídos ao fato do material não ter sido purificado, portanto, é possível que apresente impurezas em quantidades significativas devido a solventes utilizados, catalisador, entre outros.

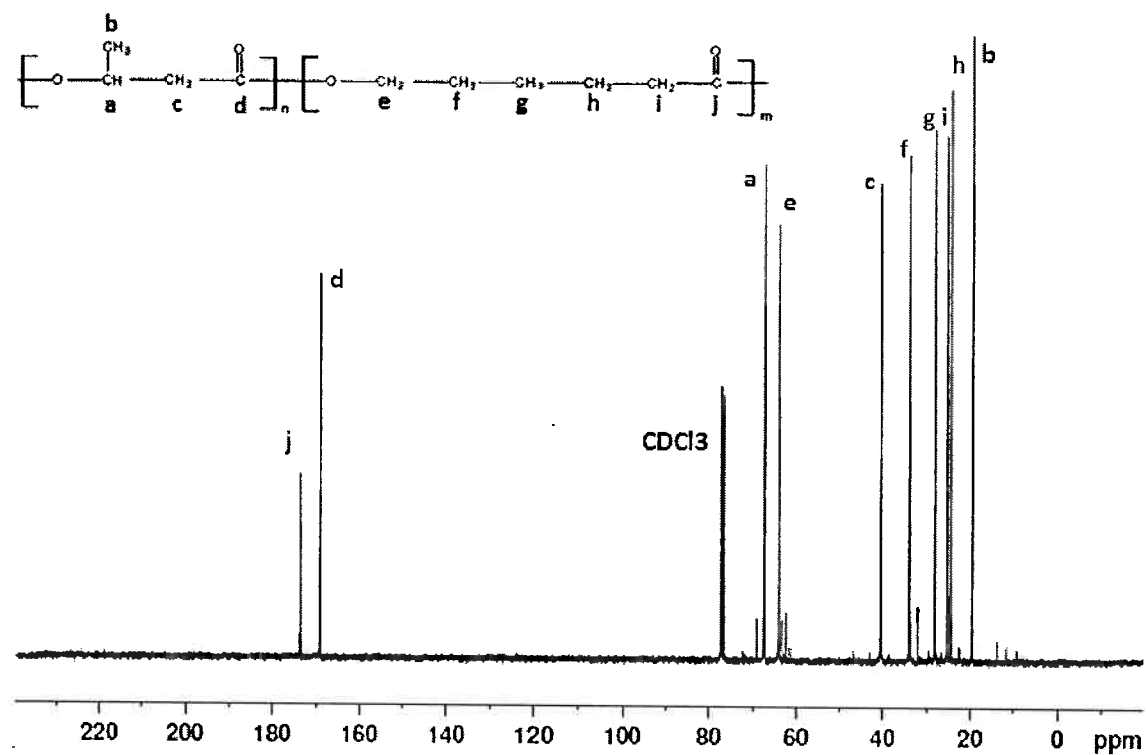


Figura 28 – RMN-¹³C do copolímero PHB-co-PCL 2.000.

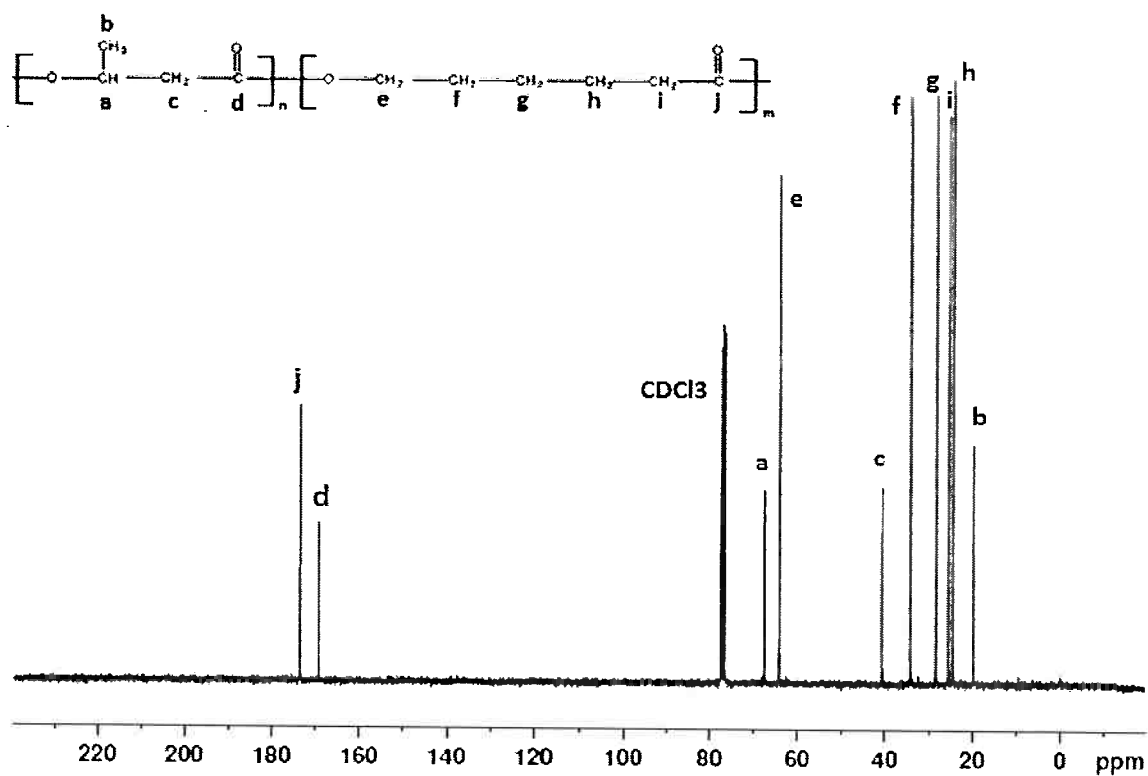


Figura 29 – RMN-¹³C do copolímero PHB-co-PCL 80.000.

Nos espectros de RMN- ^{13}C , o pico na posição de deslocamento químico referente ao solvente CDCl_3 aparece em $\delta = 78$ ppm, aproximadamente.

A Tabela 10 mostra as absorções referentes aos constituintes individuais presentes nos copolímeros.

Tabela 10 – Comparação entre deslocamento químico encontrado para os homopolímeros (PHB e PCL) e os copolímeros na análise RMN- ^{13}C .

Polímero		Deslocamento químico δ (ppm)					
PHB	Segmento PHB	19,7	40,7	67,6	169,1		
PHB-co-PCL 2.000		19,59	40,60	67,45	169,03		
PHB-co-PCL 80.000		19,68	40,70	67,55	169,12		
PCL	Segmento PCL	24,7	25,7	28,5	34,3	64,3	175,7
PHB-co-PCL 2.000		24,40	25,35	28,16	33,95	63,99	173,43
PHB-co-PCL 80.000		24,49	25,46	28,26	34,04	64,09	173,52

Os resultados obtidos foram muito próximos aos deslocamentos encontrados por Roa et al [1], por RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz). A análise dos espectros de RMN- ^{13}C dos copolímeros mostrou que houve incorporação de ambos os homopolímeros.

5.7 Viscosimetria

Para realizar os testes exploratórios de eletrofiação, diferentes soluções poliméricas foram preparadas, nas concentrações 15 e 20% (p/p).

O comportamento reológico das soluções é mostrado na Figura 30.

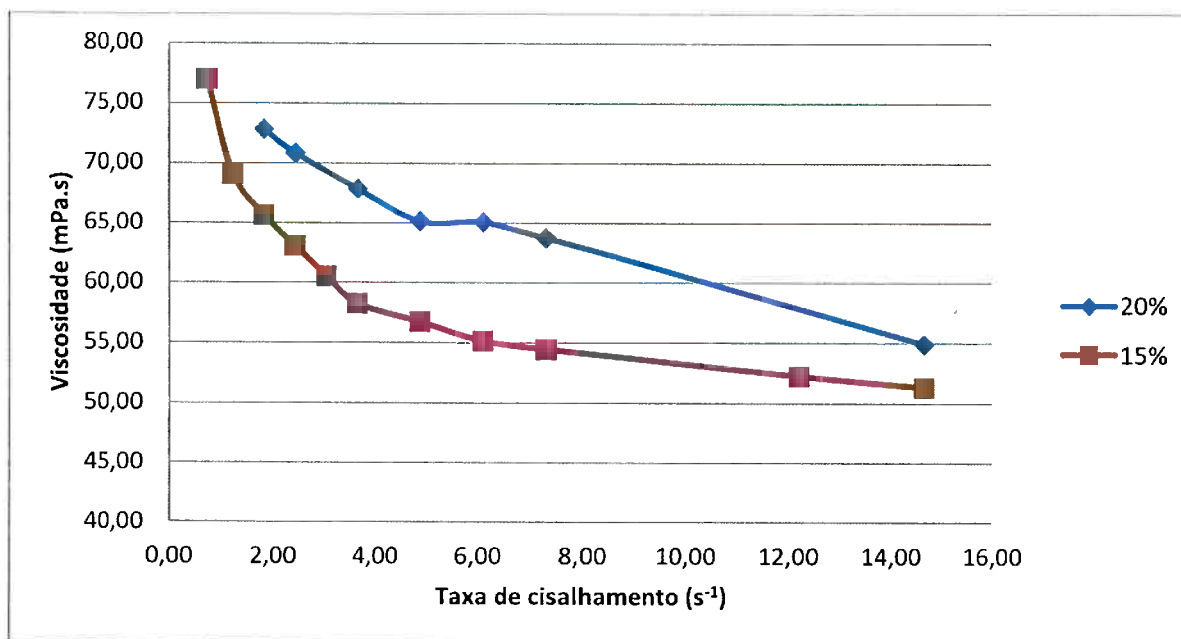


Figura 30 – Gráfico de viscosidade em função da taxa de cisalhamento para as diferentes soluções poliméricas usadas na eletrofiação.

As soluções apresentaram viscosidade de 52 e 55 cP para as soluções 15% e 20%, respectivamente. Observou-se que a diferença de 5% de concentração das soluções não apresentou diferença significativa na viscosidade da solução de PHB-co-PCL 80.000 em clorofórmio.

5.8 Eletrofiação

Diferentes testes foram realizados, para diferentes soluções poliméricas, e variando os parâmetros operacionais do processo. A Tabela 11 mostra os parâmetros adotados para cada experimento.

Tabela 11 – Parâmetros utilizados durante o processo de eletrofiação.

Amostra	Concentração da solução (%)	Tensão (kV)	Vazão (mL.h⁻¹)	Distância de trabalho (cm)	Bico de ejeção
1	15	16	1,0	15	22G
2	15	10	0,5	15	22G
3	20	10	1,0	15	22G
4	20	12	1,0	15	22G
5	25	12	1,0	15	22G
6	25	11	1,2	15	22G

Instabilidade da tensão elétrica no início do processo e entupimento do bico de ejeção durante a eletrofiação da solução mais viscosa (25% de concentração) foram algumas dificuldades observadas no processo de eletrofiação.

5.9 Microscopia Ótica (MO)

Após os testes de eletrofiação, foram feitas análises do material eletrofiado utilizando microscopia ótica, com o objetivo de verificar a formação de fibras contínuas.

Nas Tabelas 12, 13 e 14, são apresentadas as imagens de microscopia ótica das amostras, para diferentes aumentos. As linhas paralelas presentes nas micrografias são da folha de alumínio usada como superfície de deposição das fibras.

Tabela 12 – Parâmetros utilizados nas amostras 1 e 2, e respectivas imagens obtidas por microscopia ótica.

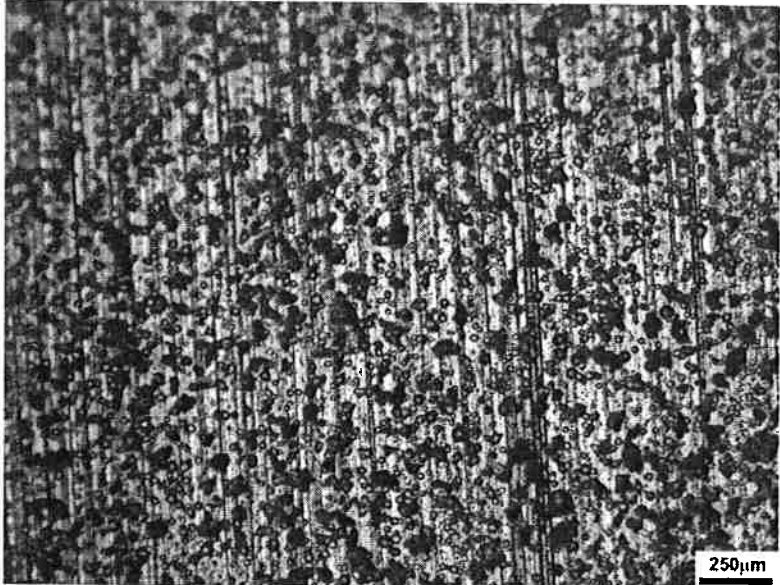
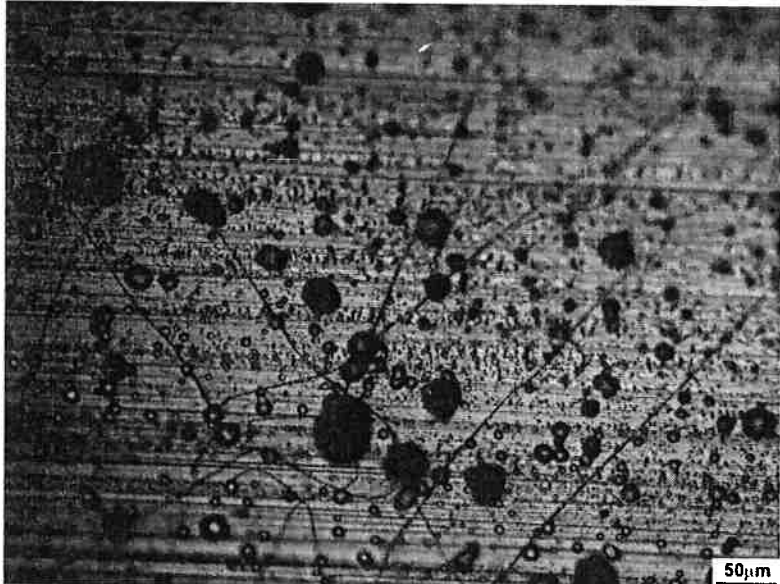
AMOSTRA	AUMENTO	MICROSCOPIA ÓTICA
1 15% 16 kV 1,0 mL.h ⁻¹	50x	
2 15% 10 kV 0.5 mL.h ⁻¹	200x	

Tabela 13 – Parâmetros utilizados nas amostras 3 e 4, e respectivas imagens obtidas por microscopia ótica.

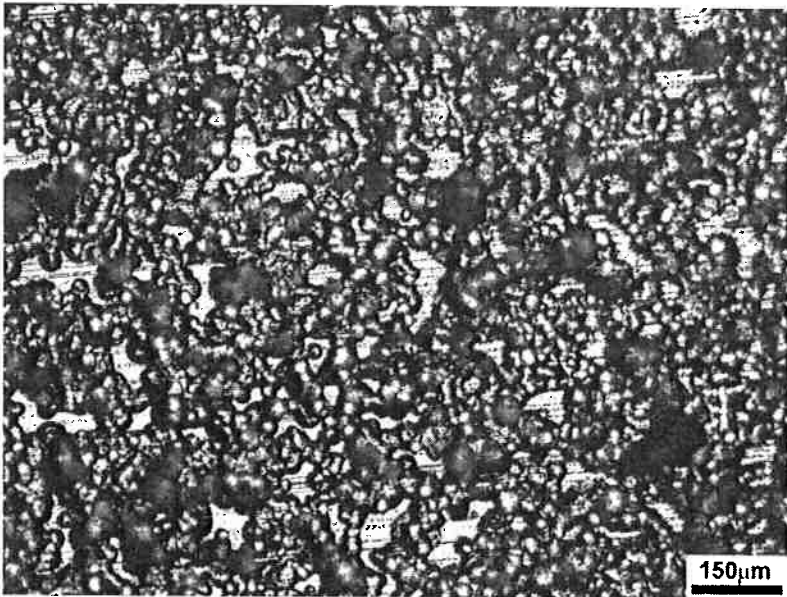
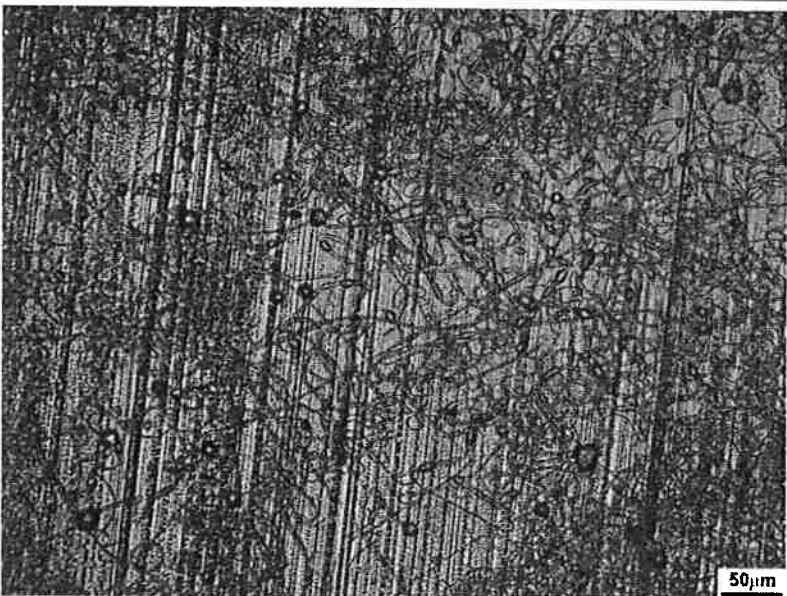
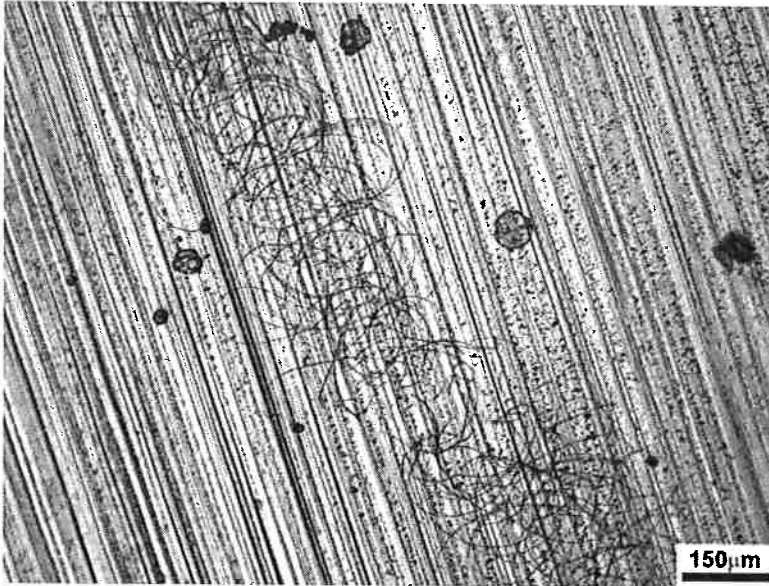
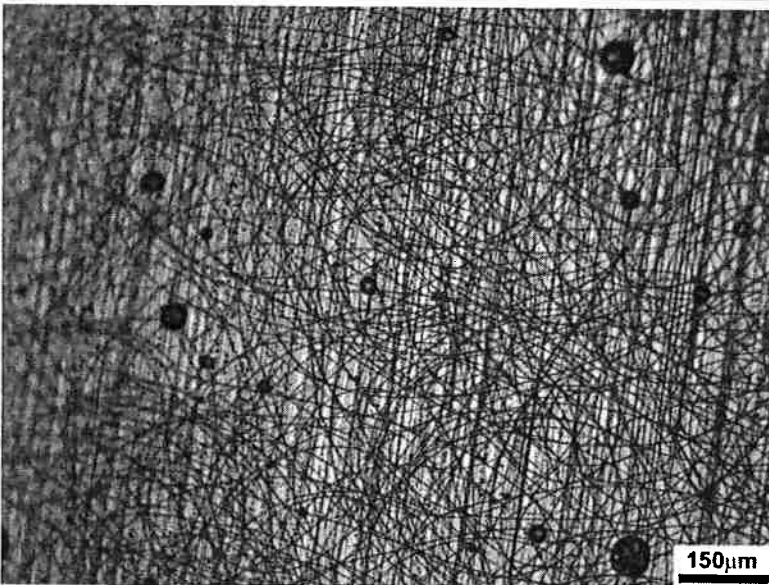
AMOSTRA	AUMENTO	MICROSCOPIA ÓTICA
3 20% 10 kV 1,0 mL.h ⁻¹	100x	
4 20% 12 kV 1,0 mL.h ⁻¹	200x	

Tabela 14 – Parâmetros utilizados nas amostras 5 e 6, e respectivas imagens obtidas por microscopia ótica.

AMOSTRA	AUMENTO	MICROSCOPIA ÓTICA
5 25% 12 kV 1,0 mL.h ⁻¹	100x	
6 25% 11 kV 1,2 mL.h ⁻¹	100x	

As amostras 1 e 3 não apresentaram formação de fibras, e sim, pequenas gotículas de solução polimérica.

Para a amostra 1, a tensão aplicada foi, provavelmente, muito elevada para a solução em estudo, de baixa viscosidade. Quando a viscosidade da solução é muito baixa, pode ocorrer formação de gotículas, ou *electrospraying*, em vez do jato fibroso. Já para a amostra 3, a tensão pode ter sido mais baixa que o adequado. O baixo valor de campo elétrico aplicado, combinado com baixa viscosidade da solução, pode ter causado espalhamento eletrostático.

A amostra 2, preparada com a mesma solução da amostra 1, mas reduzindo-se a tensão elétrica, apresentou os primeiros indícios de formação de fibras do copolímero P(HB-co-CL 80.000), junto com gotas de solução. O número excessivo de gotas pode ser explicado pela baixa viscosidade da solução. Em soluções pouco viscosas, o polímero tende a se dividir em gotas antes de alcançar o coletor, devido aos efeitos de tensão superficial.

A amostra 4 foi obtida com os parâmetros semelhantes aos da amostra 3, alterando-se somente a tensão aplicada. Nela foi observada uma rede de fibras e fusão entre as mesmas, fazendo com que seu diâmetro fosse irregular ao longo de seu comprimento. Essa morfologia é causada pela presença de solvente ao ser depositada na placa coletora, causando a junção das fibras. Uma forma de evitar essa ocorrência seria aumentar a distância de trabalho, para dar mais tempo para o solvente evaporar até chegar na placa coletora.

As amostras 5 e 6 apresentaram morfologia semelhante pelas análises de microscopia ótica. Foi observada em ambas a presença de fibras contínuas, além de algumas gotas de solução. Por microscopia ótica, observou-se que a amostra 6 apresentou morfologia mais regular e maior área fibrosa, enquanto a amostra 5 apresentou somente alguns pontos onde houve formação de fibras e maior.

As amostras 4, 5 e 6 que apresentaram estruturas fibrosas mais contínuas, foram analisadas também em microscópio eletrônico de varredura (MEV), a fim de se obter mais detalhes de morfologia e dimensões das fibras.

5.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Como mencionado na seção 5.9, as amostras 4, 5 e 6 foram analisadas com microscopia eletrônica de varredura, a fim de avaliar as fibras dimensionalmente.

Na amostra 4 (Figura 31), como verificado por microscopia ótica, houve junção entre as fibras, gerando uma rede de fibras de diâmetro não uniforme interconectadas.

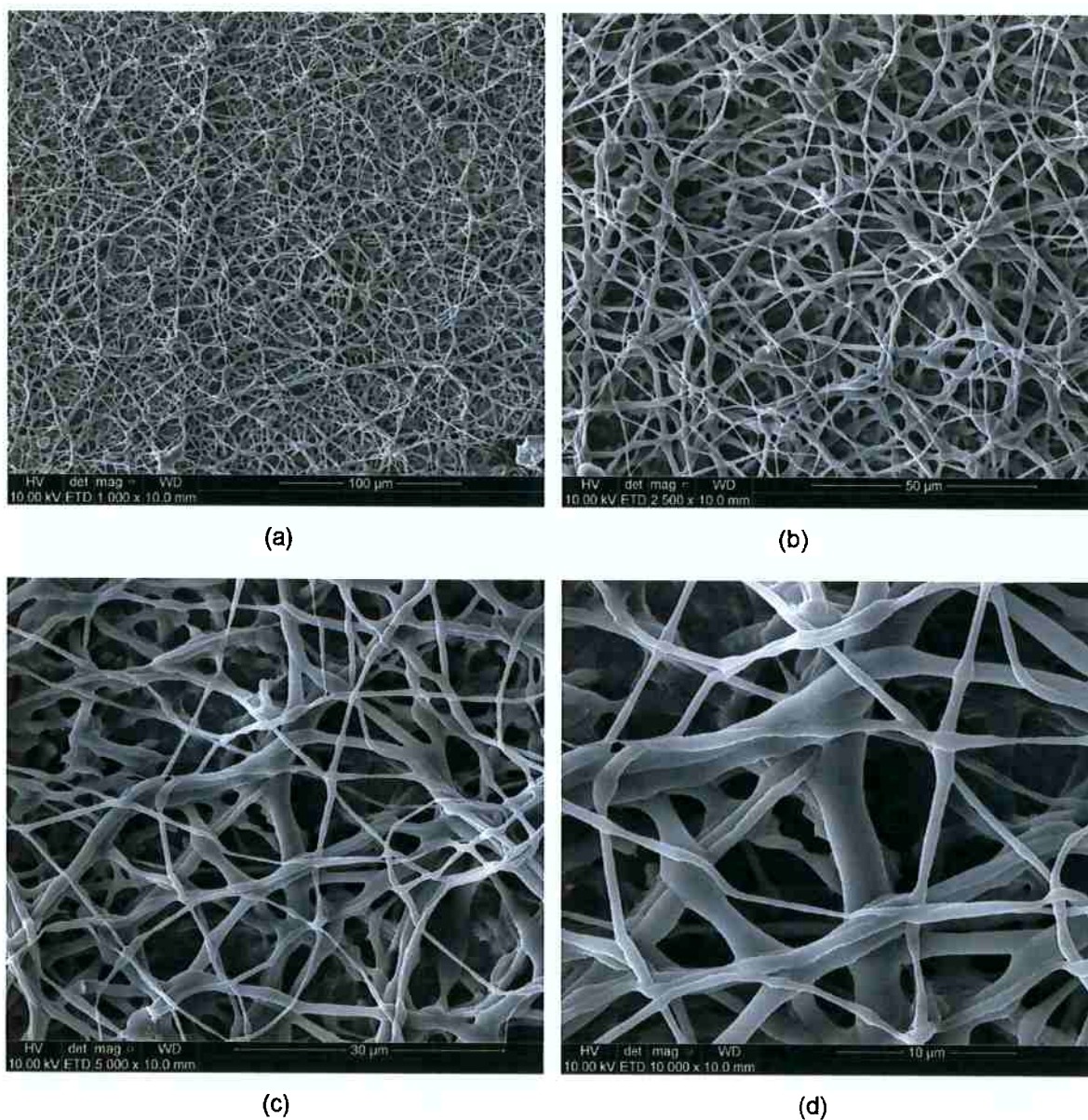


Figura 31 – Imagens de MEV da amostra 4 com aumento de (a) 1.000x, (b) 2.500x, (c) 5.000x e (d) 10.000x.

Na Figura 32, é possível ver com mais detalhes que as fibras mais próximas a superfícies tiveram diâmetros menores em relação às fibras depositadas nas camadas inferiores. A variação de diâmetro das fibras pode ter sido consequência da instabilidade do jato durante o processo. Percebe-se também que houve pontos de aglomeração de material, com grande entrelaçamento das fibras.

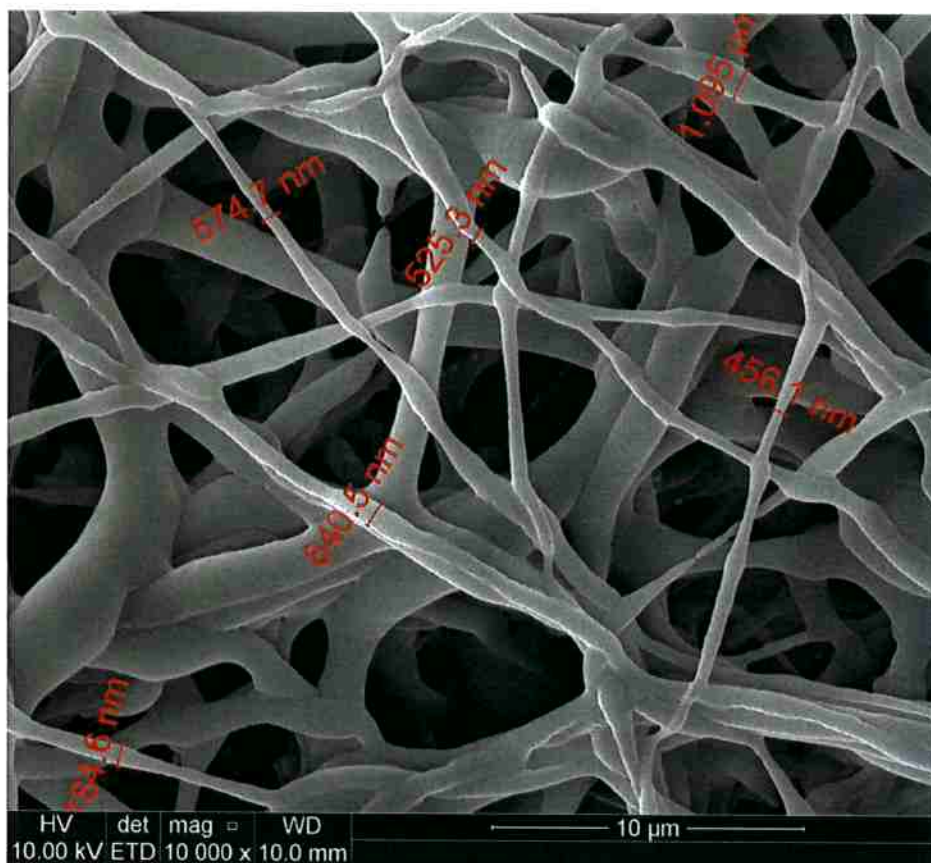


Figura 32 – Dimensões da amostra 4.

Nas amostras 5 e 6, foi observada a presença de algumas gotas abaixo das membranas fibrosas, provavelmente decorrentes na variação da tensão elétrica no início do processo de eletrofiação. As duas amostras, obtidas da solução polimérica de concentração 25%, apresentaram semelhança na morfologia. No entanto, na amostra 5 foi detectada maior variação nas dimensões e na morfologia das fibras. Já a amostra 6 apresentou menor quantidade de gotas e maior estabilidade dimensional.

As Figura 33 e 34 mostram as imagens de MEV das amostras 5 e 6, para variados aumentos.

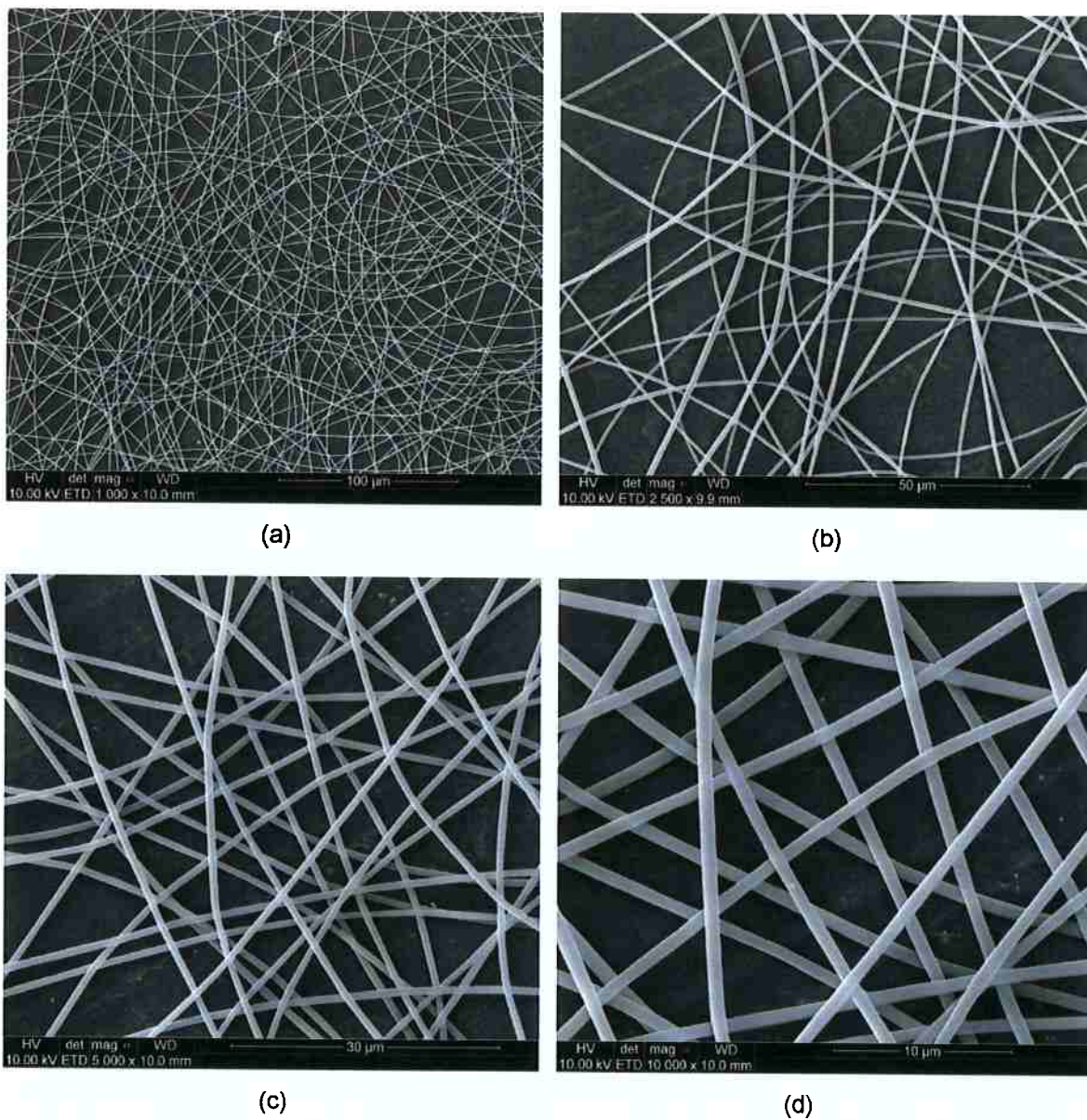


Figura 33 – Imagens de MEV da amostra 5 com aumento de (a) 1.000x, (b) 2.500x, (c) 5.000x e (d) 10.000x.

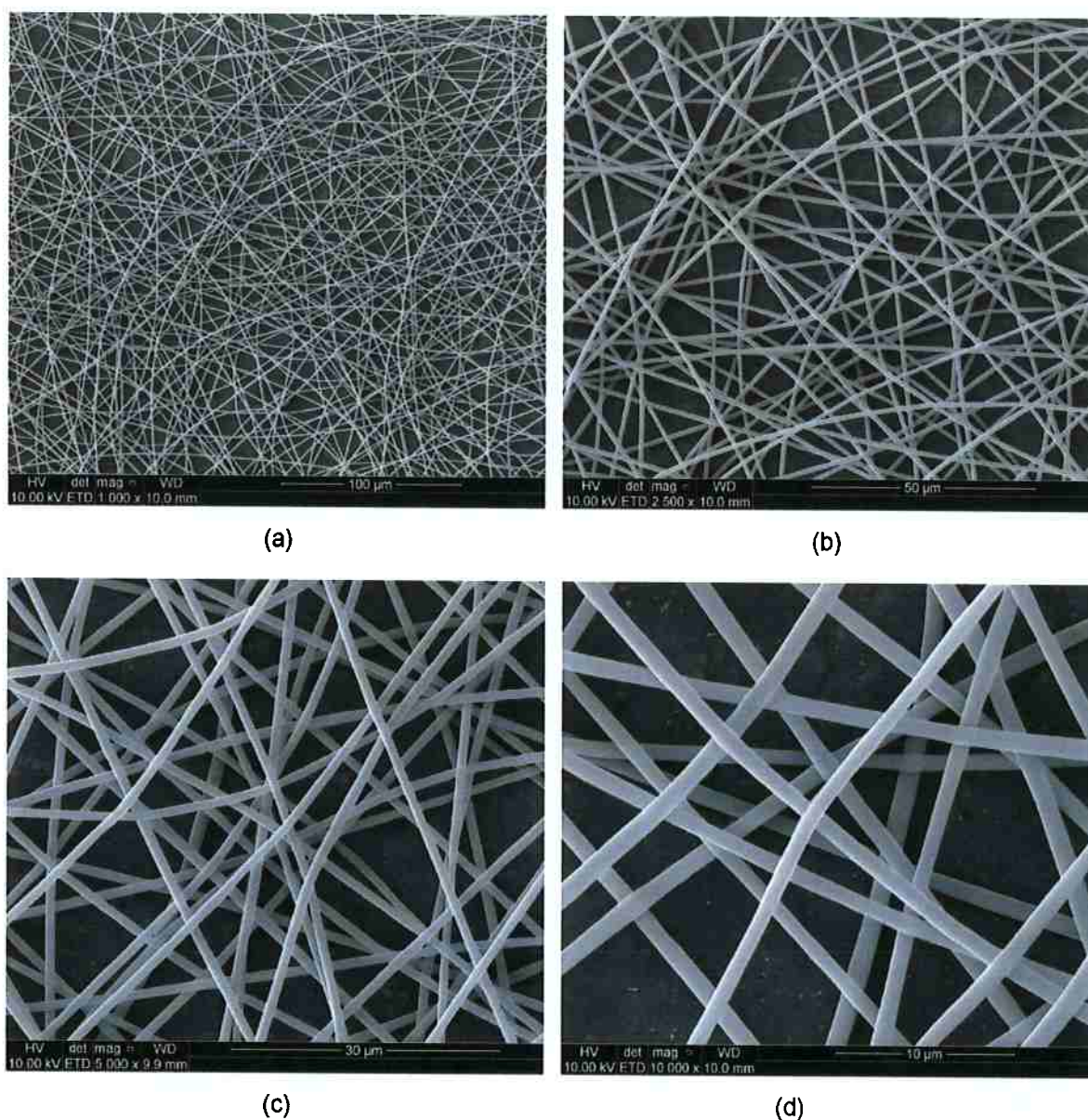


Figura 34 – Imagens de MEV da amostra 6 com aumento de (a) 1.000x, (b) 2.500x, (c) 5.000x e (d) 10.000x.

As Figura 35 e 36 mostram que os diâmetros obtidos nas fibras da amostra 5 foram ligeiramente menores que os da amostra 6. Enquanto a amostra 5 apresentou valor médio entre 800 a 900 nm de diâmetro, as fibras da amostra 6 exibiram diâmetro médio entre 900 a 1000 nm, na faixa do micron.

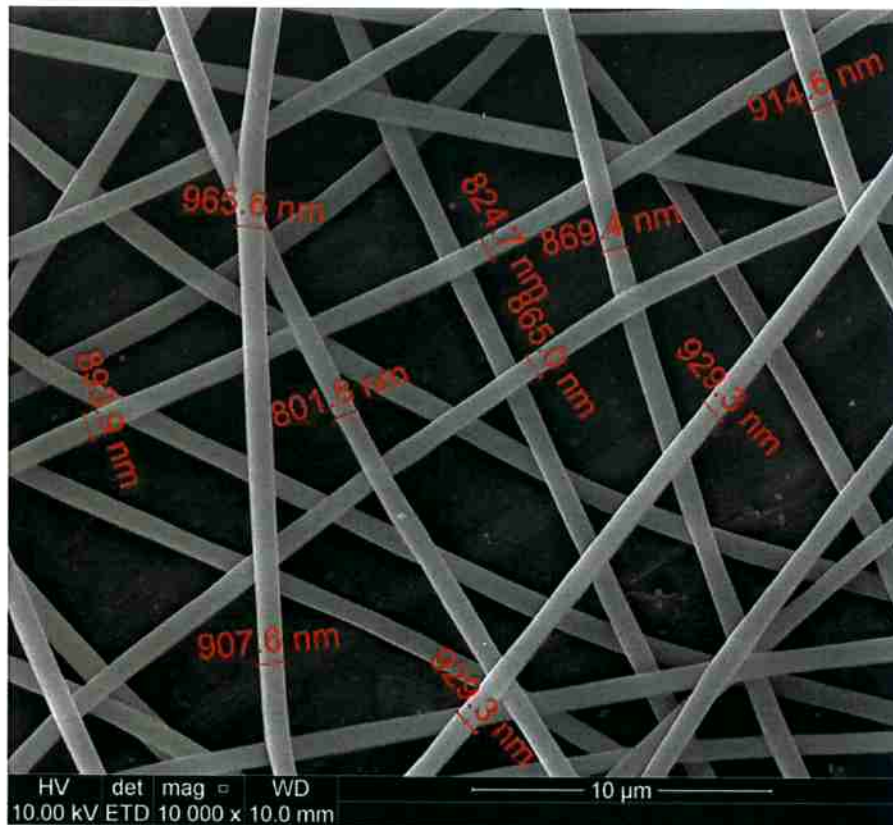


Figura 35 – Dimensões da amostra 5.

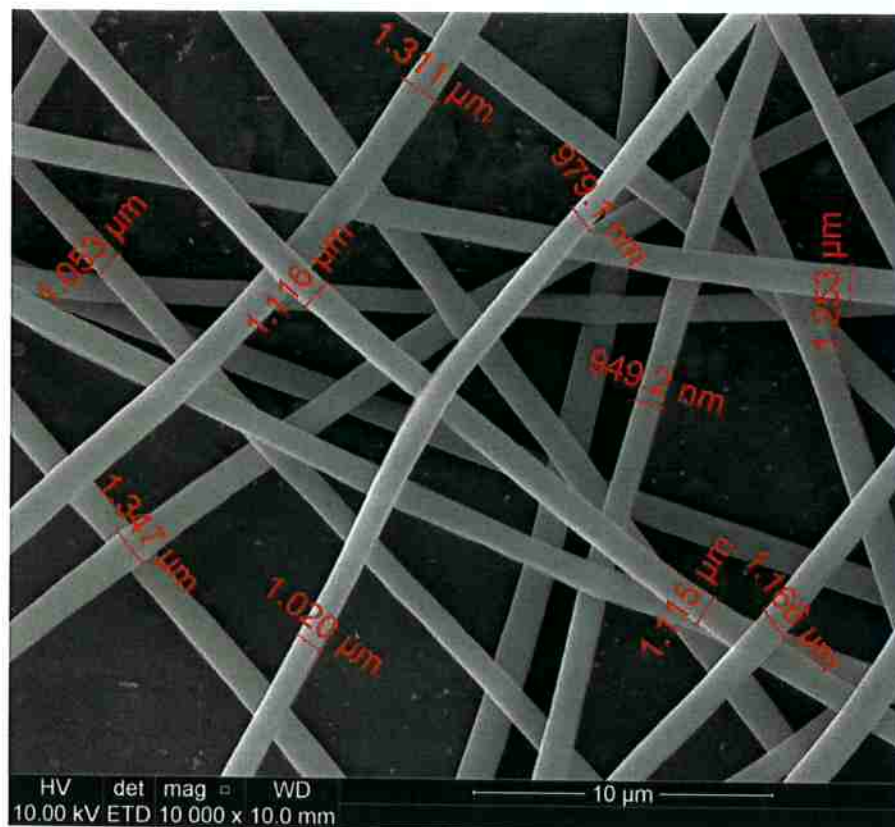


Figura 36 – Dimensões da amostra 6.

Essa diferença de diâmetro pode ser explicada pela maior vazão da solução na alimentação adotada na eletrofiação da amostra 6. Valores menores de vazão resultam em fibras com diâmetros menores.

As amostras 5 e 6, obtidas com a solução mais concentrada, resultaram em fibras mais homogêneas. Quando a concentração da solução é alta, aumenta-se o número de emaranhamentos das cadeias poliméricas, causando o aumento da viscosidade da solução, o que diminui os efeitos da instabilidade à medida que o jato se estende numa estrutura filamentosa coerente ao invés de se dividir em pequenas gotas. Como consequência, são formadas fibras mais uniformes.

Nas imagens MEV, é possível visualizar a existência de grandes espaços entre as fibras, decorrente do direcionamento aleatório da deposição do material sobre a placa. Para a aplicação em biomateriais, esses poros facilitam a passagem de gases pela membrana.

Outros fatores que podem ter influenciado a morfologia das fibras são a tensão superficial da solução, umidade e temperatura durante o processo de eletrofiação.

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho, o copolímero P(HB-co-CL 80.000) foi sintetizado com sucesso através de transesterificação.

As análises térmicas mostraram que houve redução na cristalinidade do copolímero P(HB-co-CL 80.000), facilitando sua aplicação no setor biomédico.

Não foram encontrados na literatura estudos envolvendo a produção de fibras por eletrofiação do copolímero estudado.

Através da técnica de eletrofiação foram obtidas fibras lisas e uniformes, de diâmetros médios entre 800 a 1000 nm, do copolímero P(HB-co-CL 80.000).

Os melhores resultados de eletrofiação foram obtidos com soluções mais concentradas, pois apresentaram morfologia mais uniforme. Além da concentração da solução, outros parâmetros como tensão aplicada pela fonte e vazão também afetaram a formação e dimensão das fibras.

A realização deste trabalho mostrou que é possível a formação de fibras (sub)micrométricas de P(HB-co-CL) por eletrofiação, adequadas para a produção de membranas porosas, mas que maiores estudos devem ser feitos para apropriar o sistema para a produção de mantas fibrosas desejadas.

Acredita-se que o copolímero P(HB-co-CL) seja um material com potencial para ser disponibilizado futuramente na área de biomedicina. O fato de ser um material com ótimas propriedades e pouco estudado torna este projeto bastante promissor.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ROA, J. P. B.; MANO, V. et al. Síntese e caracterização do copolímero Poli(3-Hidroxibutirato-co- ϵ -Caprolactona) a partir de Poli(3-Hidroxibutirato) e Poli(ϵ -Caprolactona). **Polímeros**, v. 20, n. 3, p. 221-226, 2010.
2. LOVERA, D.; MÁRQUEZ, L. et al. Crystallization, Morphology and Enzymatic degradation of polyhydroxybutyrate/polycaprocactone (PHB/PCL) blends. **Macromolecular Chemistry Physics**, v. 208, p. 924-937, 2007.
3. CARA, F. L.; IMMIRZI, B. et al. Biodegradation of poly- ϵ -caprolactone/poly- β -hydroxybutyrate blend. **Polymer Degradation and Stability**, v. 79, p. 37-43, 2003.
4. KIM, B. O.; WOO, S. I. Compatibilizing capability of poly(β -hydroxybutyrate-co- ϵ -caprolactone) in the blend of poly(β -hydroxybutyrate) and poly(ϵ -caprolactone). **Polymer Bulletin**, v. 41, n. 6, p. 707-712, 1998.
5. IMPALLOMENI, G.; GIUFFRIDA, M. et al. Acid Catalyzed Transesterification as a Route to Poly(3-hydroxybutyrate-co- ϵ -caprolactone) Copolymers from Their Homopolymers. **Biomacromolecules**, v. 3, n. 4, p. 835-840, 2002.
6. VOGELSANGER, N.; FORMOLO, M. C. et al. Blendas biodegradáveis de Poli(3-Hidroxibutirato)/Poli(ϵ -Caprolactona): Obtenção e estudo da miscibilidade. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p. 359-365, 2003.
7. FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis-uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811, 2006.
8. STEVENS, M. P. **Polymer Chemistry: An Introduction**. 3rd ed. New York: Oxford University Press, 1999.
9. FLIEGER, M.; KANTOROVÁ, M. et al. Biodegradable plastics from renewable sources. **Folia Microbiol**, v. 48, p. 27-44, 2003.
10. BADYLAK, S. F.; TAYLOR, D.; UYGUN, K. Whole-Organ Tissue Engineering: Decellularization and Recellularization of Three-Dimensional Matrix Scaffolds. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 13, 2011.
11. LIU, W.; THOMOPOULOS, S.; XIA, Y. Electrospun Nanofibers for Regenerative Medicine. **Advanced Healthcare Materials**, v. 1, n. 1, p. 10-25, 2012.
12. ROSA, D. S.; FRANCO, B. L. M.; CALIL, M. R. Biodegradabilidade e propriedades mecânicas de novas misturas poliméricas. **Polímeros**, v. 11, p. 82-88, 2001.

13. NAIR, L. S.; LAURENCIN, C. T. Biodegradable polymers as biomaterials. **Progress in Polymer Science**, v. 32, n. 8, p. 762-798, 2007.
14. BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A.; DUEK, E. A. Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 1, p. 13-21, 2005.
15. GONÇALVES, J.; BRANCIFORTI, M. C. et al. 2009. Caracterização das mantas de poli(3-hidroxibutirato) obtidas pelo método de eletrospiação. *Anais do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros*. Foz do Iguaçu.
16. COSTA, R. G. F.; OLIVEIRA, J. E. D. et al. Eletrospiação de polímeros em solução. Parte I: Fundamentação teórica. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 170-177, 2012.
17. PERSANO, L.; CAMPOSEO, A. et al. Industrial upscaling of electrospinning and applications of polymer nanofibers: a review. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 298, n. 5, p. 504-520, 2013.
18. WANG, C.; YAN, K.-W. et al. Biodegradable core/shell fibers by coaxial electrospinning: processing, fiber characterization, and its application in sustained drug release. **Macromolecules**, v. 43, n. 15, p. 6389-6397, 2010.
19. DING, B.; WANG, M. et al. Electrospun nanomaterials for ultrasensitive sensors. **Materials Today**, v. 13, n. 11, p. 16-27, 2010.
20. CAVALIERE, S.; SUBIANTO, S. et al. Electrospinning: designed architectures for energy conversion and storage devices. **Energy & Environmental Science**, v. 4, n. 12, p. 4761-4785, 2011.
21. GREINER, A.; WENDORFF, J. H. Electrospinning: a fascinating method for the preparation of ultrathin fibers. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, n. 30, p. 5670-5703, 2007.
22. BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology advances**, v. 28, n. 3, p. 325-347, 2010.
23. MENDONÇA, R. H.; THIRÉ, R. M. S. M. et al. Adsorção de fibronectina a arcabouços de polihidroxibutirato aplicáveis à engenharia óssea. **Polímeros**, v. 19, p. 143-148, 2009.
24. BATABYAL, S. K.; PEEDIKAKKAL, A. M. P. et al. Coordination-Polymeric Nanofibers and their Field-Emission Properties. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 30, n. 15, p. 1356-1361, 2009.
25. BAKER, S. C.; ATKIN, N. et al. Characterisation of electrospun polystyrene scaffolds for three-dimensional in vitro biological studies. **Biomaterials**, v. 27, n. 16, p. 3136-3146, 2006.

26. LIU, X.; MA, P. Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 32, n. 3, p. 477-486, 2004.
27. MARK, J. E. **Polymer data handbook**. 2nd ed. Oxford ; New York: Oxford University Press, 2009.
28. ROA, J. P. B.; MANO, V. et al. 2007. Análise da degradação térmica do copolímero P(HB-co-CL). *Anais do 9º Congresso Brasileiro de Polímeros*. Campina Grande - PB.
29. CHIELLINI, E.; SOLARO, R. Biodegradable polymeric materials. **Advanced Materials**, v. 8, n. 4, p. 305-313, 1996.
30. SALOM, C.; NAVA, D. et al. Poly (ϵ -caprolactone)+ unsaturated isophthalic polyester blends: Thermal properties and morphology. **European polymer journal**, v. 42, n. 8, p. 1798-1810, 2006.
31. ALMEIDA, L. L. D. *Síntese e propriedades do copolímero anfifílico poli(3-hidroxibutirato)-bloco-poli(óxido de etileno) e preparação de nanopartículas*. Dissertação de mestrado. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2012.
32. DRUMOND, W. S. Membranas Poliméricas Reabsorvíveis para Regeneração Óssea Guiada. p. 29, 2009.
33. CASTRO, M. L. D. *Copolímeros estatísticos biodegradáveis de ϵ -caprolactona e l,l-dilactídeo - síntese, caracterização e propriedades*. Tese de Doutorado. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2006.