

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS**

GABRIELA BRUNOSI MEDEIROS

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE
ZEÍNA/POLI(ÓXIDO DE ETILENO) POR ELETROFIAÇÃO EM
SOLUÇÃO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

LONDRINA
2018

GABRIELA BRUNOSI MEDEIROS

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE
ZEÍNA/POLI(ÓXIDO DE ETILENO) POR ELETROFIAÇÃO EM
SOLUÇÃO**

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais, do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Área de Concentração: Polímeros, Aplicações.

Orientadora: Prof^a. Dra. Elisângela Corradini

Coorientador: Prof. Dr. Edvani Curti Muniz

LONDRINA
2018

TERMO DE LICENCIAMENTO

Esta Dissertação está licenciada sob uma Licença Creative Commons *atribuição uso não-comercial/compartilhamento sob a mesma licença 4.0 Brasil*. Para ver uma cópia desta licença, visite o endereço <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/> ou envie uma carta para Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, Califórnia 94105, USA.



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

M488p Medeiros, Gabriela Brunosi

Preparação e caracterização de nanofibras de zeína/poli (Óxido de etileno) por eletrofição em solução / Gabriela Brunosi Medeiros. - Londrina : [s.n.], 2018.
92 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Prof^a Dr^a Elizângela Corradini
Coorientador: Prof. Dr. Edvani Curti Muniz
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.
Londrina, 2018.
Bibliografia: f. 85-92.

1. Polímeros. 2. Nanocompósitos (Materiais). 3. Biocompatibilidade.
4. Fibras. I. Corradini, Elizângela, orient. II. Muniz, Edvani Curti, coorient.
III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. V. Título.

CDD: 620.11

Ficha catalográfica elaborada por Cristina Benedeti Guilhem - CRB: 9/911



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais
Câmpus Londrina



TERMO DE APROVAÇÃO

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOFIBRAS DE ZEÍNA/POLI(ÓXIDO DE ETILENO) POR ELETROFIAÇÃO EM SOLUÇÃO

por

GABRIELA BRUNOSI MEDEIROS

Dissertação de Mestrado apresentada no dia 10 de setembro de 2018, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Câmpus Londrina, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A mestranda foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo assinados. Após avaliação da Dissertação, a Banca Examinadora considerou a Dissertação **Aprovada**. O presente termo assinado ficará depositado na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais – PPGCEM.

Profa. Dra. Elisângela Corradini - Orientadora
(UTFPR – Londrina)

Profa. Dra. Ana Adelina Winkler Hechenleitner - Membro Titular
(UEM – Maringá)

Prof. Dr. Alessandro Francisco Martins - Membro Titular
(UTFPR – Apucarana)

Prof. Dr. Carlos Eduardo Cava
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais

**“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Mestrado em
Ciência e Engenharia de Materiais”**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, que guia meus caminhos e me trouxe até aqui hoje.

Agradeço à minha orientadora Prof^a. Dra. Elisângela Corradini e ao meu coorientador Prof. Dr. Edvani Curti Muniz pela orientação, paciência e amizade.

Aos colegas do programa, em especial, à Kamila, Érika e Juliana, pela amizade, apoio e companheirismo durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório L008, por toda ajuda, companheirismo e troca de conhecimento durante a pesquisa.

À todos os meus amigos pela amizade, carinho e apoio.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM), pela oportunidade de realização deste trabalho e aos professores e técnicos do Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais (DAEMA) por me auxiliarem na realização desta pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina (UEL) por me auxiliar nas pesquisas emprestando equipamentos.

Ao Laboratório de Inovação Tecnológica no Desenvolvimento de Fármacos e Cosméticos da Universidade Estadual de Maringá (UEM) por me auxiliarem nas análises.

Ao Laboratório Lab. 18 do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Maringá (UEM), em especial, ao aluno Paulo Souza, por me auxiliarem na realização das análises, juntamente com o Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP).

À minha família, meus pais Valdir e Neusa e minha irmã Cláudia, pelo amor, apoio e força que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Enfim, à todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

RESUMO

MEDEIROS, Gabriela B. Preparação e caracterização de nanofibras de zeína/poli(óxido de etileno) por eletrofiação em solução. 2018. 92 f. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2018.

Eletrofiação é uma técnica muito utilizada para produção de fibras poliméricas. É um método simples e eficiente que pode resultar em fibras com diferentes morfologias, de acordo com os parâmetros utilizados. A zeína é um polímero natural, biocompatível e biodegradável. O poli(óxido de etileno) (PEO) é um polímero sintético, biocompatível e não tóxico. A combinação da zeína e do PEO formando uma blenda polimérica é uma estratégia interessante que pode possibilitar a produção de um biomaterial com melhores propriedades que as dos polímeros puros. Neste trabalho fibras de zeína/PEO foram obtidas por meio de eletrofiação em solução. Os polímeros puros foram caracterizados por meio do comportamento térmico, DSC e TGA, e estruturalmente por FTIR. Análises reológicas foram feitas para verificar o comportamento das soluções quanto à viscosidade. As morfologias das fibras obtidas foram analisadas por microscopia (MO e MEV), determinando o diâmetro médio das fibras por meio de imagens obtidas por MEV. A técnica de planejamento fracionário 2^{4-1} foi empregada para avaliar a influência de quatro fatores: teor de PEO na blenda; distância entre a ponta da agulha e coletor (distância de trabalho); tensão aplicada; fluxo da solução; sobre duas respostas: diâmetro médio das fibras e rendimento do processo. A relação entre o teor de PEO na blenda e as propriedades das fibras foram avaliadas por meio de FTIR, DSC, TGA, testes de tração e testes citotóxicos. A concentração da solução utilizada para produção de fibras foi fixada em 15% (massa polímero:volume do solvente) em etanol/água (80/20) (v/v). Dois planejamentos fatoriais foram realizados, um com fator teor de PEO variando entre 10 e 30 % e outro com este fator variando entre 2 e 82%. A partir do planejamento com teor de PEO variando entre 10 e 30%, foi observado que o efeito deste fator não apresentou significância estatística na resposta diâmetro médio. No entanto, quando o fator teor de PEO variou entre 2 e 82%, seu efeito naquela resposta tem significância estatística. Além disso, foi observado, em ambos planejamentos, que o fator que exerce maior efeito sobre a resposta diâmetro médio foi a tensão elétrica aplicada. O aumento do teor de PEO na blenda provocou diminuição na estabilidade térmica e um aumento no grau de cristalinidade da fibra. Os ensaios mecânicos mostraram que maiores teores de zeína são correlacionados com menor resistência à tração da fibras. Isto causa aumento tanto da elongação quanto do módulo de Young. Assim, a presença de zeína possibilita a formação de fibras mais rígidas. As fibras apresentaram características citocompatíveis, portanto com potencial para aplicações como um biomaterial. O controle dos parâmetros de solução e de processo na técnica de eletrofiação mostrou essencial para a obtenção de fibras com diâmetros na escala micro e nanométrica. O conhecimento das propriedades térmicas, mecânicas e biológicas das fibras também são essenciais para determinar eventuais tipos de aplicações.

Palavras-chaves: Eletrofiação. Nanofibras. Zeína. Poli(óxido de etileno). Materiais biocompatíveis.

ABSTRACT

MEDEIROS, Gabriela B. Preparation and characterization of nanofibers zein/poly(ethylene oxide) by electrospinning solution. 2018. 92 f. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2018.

Electrospinning is a widely used technique for the production of polymeric nanofibers. It is a simple and efficient method that can result in fibers with different morphologies, according to the used and controlled parameters. Zein is a natural, biocompatible and biodegradable polymer. Poly(ethylene oxide) (PEO) is a synthetic, biocompatible and non-toxic polymer. The combination of zein and PEO forming a polymer blend is an interesting strategy that can enable the production of a biomaterial with better properties than pure constituents. In this work zein/PEO fibers were obtained through solution electrospinning. The thermal behaviors of pure polymers and its mixtures were characterized through DSC, TGA and structurally by infrared spectroscopy (FTIR). Rheological analyzes were performed to verify the viscosity behavior of the solutions. The morphologies of the obtained fibers were analyzed by optical and electronic microscopies (MO and MEV), determining the average diameter of the fibers based in data collected from SEM images. The fractional factorial design 2^{4-1} was used to evaluate the influences of four factors: PEO content in the blend; distance between needle tip and collector (working distance); electric applied tension; solution flow; on two responses: average fiber diameter and process yielding. The relationship between the PEO content in the blend and the fiber properties were evaluated by means of FTIR, DSC, TGA, tensile tests and cytotoxic tests. The concentration of the solution used for fiber production was set at 15% (polymer mass: solvent volume) in ethanol / water (80/20) (v/v). Two factorial envelopes were performed, one with a PEO factor varied between 10 and 30% and another with this factor ranging from 2 to 82%. From the design with PEO content fixed between 10 and 30%, it was observed that the effect of this factor did not present statistical significance in the average fiber diameter response. However, when the PEO factor varied between 2 and 82%, its effect on that response became statistically significant. In addition, it was observed in both envelopes that the factor that exerts the greatest effect on the average fiber diameter response was the applied electrical voltage. The increase in PEO content in the blend caused a decrease in thermal stability and an increased the degree of fiber crystallinity. The mechanical tests showed that higher levels of zein are correlated with lower tensile strength of the fibers. This causes both elongation and Young's modulus increase. Thus, the presence of zein makes it possible to form more rigid fibers. The fibers presented cytocompatible characteristics, thus with potential for applications as a biomaterial. The control of the solution and process parameters in the electro-spinning technique proved to be essential for obtaining fibers with diameters at the micro and nanometric scale. Knowledge of the thermal, mechanical and biological properties of fibers are also essential to determine possible types of applications.

Keywords: Electrospinning. Nanofibers. Zein. Poly(ethylene oxide). Biocompatible materials.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema de eletrofição.	16
Figura 2 - Estrutura molecular da α -zeína.	23
Figura 3 - Unidade repetitiva da α -zeína.	23
Figura 4 - Estrutura molecular do PEO.	25
Figura 5 - Temperatura de transição vítrea em função da massa molecular do PEO.....	27
Figura 6 - Morfologias das nanofibras produzidas relacionadas em (a) diagrama de fases ternário e (b) mapa de contorno da viscosidade.	30
Figura 7 - Aparelho de eletrofição instalado na UTFPR, campus Londrina.	33
Figura 8 - Esquema da posição das lamínulas no coletor de amostra.....	36
Figura 9 - Espectro de FTIR para zeína em pó.	39
Figura 10 - Espectro de FTIR para o PEO em pó.	40
Figura 11 - Curvas TGA e DTG obtidas para zeína em pó, sob atmosfera de N ₂	41
Figura 12 - Curvas TGA e DTG obtidas para PEO em pó, sob atmosfera de N ₂	42
Figura 13 - Curva DSC obtida para zeína em pó, sob atmosfera de N ₂	43
Figura 14 - Curva DSC obtida para PEO em pó, sob atmosfera de N ₂	44
Figura 15 - Imagens de MO das fibras formadas a partir da eletrofição das soluções com concentrações de: (a) 10% de zeína (b) 2% de PEO (c) 30% de zeína (d) 10% de PEO em etanol/água na proporção 80:20 (v/v).	45
Figura 16 - Imagens obtidas por MEV das fibras eletrofiadas a partir das soluções de (a) zeína a 30% e (b) PEO a 10%, em etanol/água 80/20 (v/v).	46
Figura 17 - Imagens de MO das fibras eletrofiadas a partir das soluções da blenda zeína/PEO na concentração de (a) 10% e (b) 20%.	47
Figura 18 - Imagens obtidas por MEV das fibras eletrofiadas a partir de soluções zeína/PEO em (a) DMF (b) ácido acético/água (80:20) e (c) etanol/água (80:20).	48
Figura 19 - Curvas de tensão de cisalhamento <i>versus</i> taxa de cisalhamento para soluções com: (a) 0 e 2% de PEO; (b) 10, 20, 30 e 42% de PEO; (c) 82 e 100% de PEO na blenda zeína/PEO em etanol/água (80/20) (v/v).	49
Figura 20 - Curvas de viscosidade aparente <i>versus</i> taxa de cisalhamento para soluções com: (a) 0 e 2% de PEO; (b) 10, 20, 30 e 42% de PEO; (c) 82 e 100% de PEO na blenda zeína/PEO em etanol/água (80/20) (v/v).	51
Figura 21 - Gráfico da viscosidade η_0 em função do teor de PEO na blenda zeína/PEO.	51
Figura 22 - Imagens obtidas por MEV das fibras coletadas na eletrofição a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20), nas condições dos experimentos de 1 a 11 (Tabela 2), para o planejamento com teor de PEO na blenda fixado em 10, 20 ou 30%.	54
Figura 23 - Histogramas de distribuição de diâmetros das fibras obtidas na eletrofição dos experimentos de 1 a 11 (Tabela 2), conforme respectiva numeração (1) a (11), para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.	55
Figura 24 - Diâmetro médio das fibras obtidas nos experimentos de 1 a 11 (Tabela 2), para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.	56
Figura 25 - Gráfico de superfície de resposta indicando o diâmetro de fibra em função do teor de PEO e da tensão, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.	58
Figura 26 - Gráfico de superfície de resposta indicando o diâmetro de fibra em função do teor de PEO e da distância de trabalho, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.	58
Figura 27 - Gráfico de superfície de resposta indicando o diâmetro de fibra em função do teor de PEO e do fluxo, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.	59

Figura 28 - Gráfico de superfície de resposta indicando o rendimento em função da tensão e do teor de PEO, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%	61
Figura 29 - Gráfico de superfície de resposta indicando o rendimento em função do teor de PEO e do fluxo, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%	61
Figura 30 - Imagens obtidas por MEV das fibras coletadas na eletrofiação a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20), nas condições dos experimentos de 1 a 11, (Tabela 6), para o planejamento com teor de PEO na blenda fixado em 2, 42 ou 82%	63
Figura 31 - Histogramas de distribuição de diâmetros das fibras obtidas na eletrofiação dos experimentos de 1 a 11, conforme respectiva numeração (1) a (11) (Tabela 6), para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%	64
Figura 32 - Diâmetro médio das fibras obtidas nos experimentos de 1 a 11 (Tabela 6), para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%	65
Figura 33 - Gráfico de superfície de resposta indicando o diâmetro de fibra em função do teor de PEO e da tensão, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%	67
Figura 34 - Gráfico de superfície de resposta indicando o diâmetro de fibra em função do teor de PEO e da distância de trabalho, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%	67
Figura 35 - Gráfico de superfície de resposta indicando o diâmetro de fibra em função do teor de PEO e do fluxo, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%	68
Figura 36 - Gráfico de superfície de resposta indicando o rendimento em função do teor de PEO e da tensão, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%	70
Figura 37 - Gráfico de superfície de resposta indicando o rendimento em função do teor de PEO e da distância de trabalho, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%	71
Figura 38 - Espectro de FTIR das fibras obtidas na eletrofiação a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), com teores de PEO na blenda zeína/PEO: 2% (verde); 10% (laranja); 42% (azul); 82% (vermelha); e dos polímeros na forma de pó: zeína (amarelo); PEO (preto)	73
Figura 39 - Bandas do espectro de FTIR para as fibras com teores de PEO na blenda de 2% (verde); 10% (laranja); 42% (azul); 82% (vermelha), zeína (amarelo) e PEO (preto) puros na forma de pó referentes ao: (a) estiramento da carbonila da zeína; (b) estiramento da ligação carbono-oxigênio do PEO	74
Figura 40 - Curvas TGA das fibras de blenda zeína/PEO obtidas na eletrofiação a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), em diferentes teores de PEO: 2% (verde); 10% (laranja); 42% (azul); 82% (vermelha); e 100% (preta), sob atmosfera de nitrogênio	75
Figura 41 - Curvas DSC das fibras obtidas obtidas na eletrofiação a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), para diferentes teores de PEO na blenda zeína/PEO: 2% (verde); 10% (laranja); 42% (azul); 82% (vermelha); e 100% (preta), sob atmosfera de nitrogênio	76
Figura 42 - Tensão máxima para fibras zeína/PEO obtidas na eletrofiação a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), em relação ao teor de PEO na blenda	78
Figura 43 - Elongação para fibras zeína/PEO obtidas na eletrofiação a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), em relação ao teor de PEO na blenda	79
Figura 44 - Módulo de Young para fibras zeína/PEO obtidas na eletrofiação a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), em relação ao teor de PEO na blenda	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de k, n e R ² para as soluções com diferentes teores de PEO ajustadas a Lei das Potências.	50
Tabela 2 - Valores dos parâmetros utilizados nos experimentos gerados por planejamento fracionário 2 ⁴⁻¹ , com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.	53
Tabela 3 - ANOVA obtida para a resposta diâmetro médio, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.	57
Tabela 4 - Rendimento da técnica de eletrofição para os experimentos de 1 a 11 (Tabela 2), para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 e 30%.	60
Tabela 5 - ANOVA obtida para a resposta rendimento, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.	60
Tabela 6 - Valores dos parâmetros utilizados nos experimentos gerados por planejamento fracionário 2 ⁴⁻¹ , com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%	62
Tabela 7 - ANOVA obtida para a resposta diâmetro médio, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.	66
Tabela 8 - Rendimento da técnica de eletrofição para os experimentos de 1 a 11 (Tabela 6), para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.	69
Tabela 9 - ANOVA obtida para a resposta rendimento, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.	69
Tabela 10 - Temperatura de início de decomposição térmica (T _{onset}) das fibras e porcentagem de perda de massa referente à degradação observadas nas curvas de TGA de fibras zeína/PEO com diferentes teores de PEO.	76
Tabela 11 - Variação da entalpia de fusão e grau de cristalinidade para diferentes teores de PEO na blenda zeína/PEO.	77
Tabela 12 - Viabilidade celular das células em contato com as fibras com teor de PEO de 2 e 82%.	81

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Efeito dos parâmetros de eletrofição sobre a morfologia das fibras.	20
Quadro 2– Planejamento fatorial 2 ⁴⁻¹ para o estudo das variáveis de solução e de processo, com teor de PEO entre 10 e 30%.	35
Quadro 3 – Planejamento fatorial 2 ⁴⁻¹ para o estudo das variáveis de solução e de processo, com teor de PEO entre 2 e 82%.	35

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

ANOVA	Análise de Variância
ASTM	<i>American Society for Testing and Material</i>
ATR	Acessório de Reflexão Total Atenuada
CSS	<i>Controlled Shear Stress</i>
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Termogravimetria Derivada
FTIR	Espectrofotometria de Infravermelho com Transformada de Fourier
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
MEK	Etil-metil-cetona
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MO	Microscopia Óptica
MTT	(3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio)
PCL	Policaprolactona
PEG	Poli(etileno glicol)
PEO	Poli(óxido de etileno)
PGS	Poli(sebacato de glicerol)
PHBV	Poli(hidroxibutirato-co-valerato)
PLA	Poli(ácido láctico)
PVA	Poli(álcool vinílico)
SFB	Soro Fetal Bovino
TGA	Análise Termogravimétrica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 OBJETIVOS	14
1.1.1 Objetivo geral	14
1.1.2 Objetivos específicos	14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1 ELETROFIAÇÃO	15
2.1.1 Parâmetros do processo de eletrofiação	16
2.1.1.1 Parâmetros de solução	16
2.1.1.2 Parâmetros de processo	18
2.1.1.2 Parâmetros ambientais	19
2.1.2 Aplicações	20
2.2 BIOMATERIAIS	21
2.3 ZEÍNA	22
2.4 POLI(ÓXIDO DE ETILENO) (PEO)	25
2.5 BLENDAS ZEÍNA/PEO	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
3.1 MATERIAIS	31
3.2 MÉTODOS EXPERIMENTAIS	31
3.2.1 Caracterização dos Polímeros.....	31
3.2.1.1 Espectrofotometria de Infravermelho (FTIR).....	31
3.2.1.2 Análise Térmica.....	32
3.2.2 Testes Preliminares para Obtenção das Fibras	32
3.2.3 Análise Reológica das Soluções Poliméricas	34
3.2.4 Estudo das Variáveis de Processo e de Solução	34
3.2.5 Caracterização das fibras	36
3.2.5.1 Análise Morfológica	36
3.2.5.2 Espectrofotometria de Infravermelho (FTIR).....	37
3.2.5.3 Análise Térmica.....	37
3.2.5.4 Análise Mecânica	37
3.2.5.5 Análise Biológica	38
4 RESULTADOS	39
4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS	39
4.1.1 Espectrofotometria de Infravermelho (FTIR).....	39
4.1.2 Análise Térmica.....	41
4.1.2.1 Análise Termogravimétrica (TGA)	41
4.1.2.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC).....	43
4.2 TESTES PRELIMINARES PARA OBTENÇÃO DAS FIBRAS	45
4.3 ANÁLISE REOLÓGICA DAS SOLUÇÕES POLIMÉRICAS.....	48
4.4 ESTUDO DAS VARIÁVEIS DE PROCESSO E DE SOLUÇÃO.....	52
4.4.1 Teor de PEO na blenda zeína/PEO fixado em 10, 20 ou 30%	52
4.4.2 Teor de PEO na blenda PEO/zeína fixado em 2, 42 ou 82%	62
4.4 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL, TÉRMICA, MECÂNICA E BIOLÓGICA DAS FIBRAS	72
4.4.1 Espectrofotometria de Infravermelho (FTIR).....	72
4.4.2 Análise Térmica.....	74
4.4.2.1 Análise Termogravimétrica (TGA)	74
4.4.2.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC).....	76

4.4.3 Análise Mecânica	78
4.4.4 Análise Biológica	81
5 CONCLUSÃO.....	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85

1 INTRODUÇÃO

A eletrofiação é uma técnica relativamente simples e de fácil operação, que consiste na aplicação de um campo elétrico sob uma gota de solução ou material fundido, de modo a forçar a formação de um estiramento e com isso produzir fios (fibras) de um determinado material, geralmente um polímero (GREINER; WENDORFF, 2007; LI; XIA, 2004).

Durante o processo de eletrofiação, muitos parâmetros podem ser modificados e/ou controlados afim de provocar modificações desejáveis nas nanofibras formadas. Dentre esses parâmetros estão: propriedades da solução polímero/solvente (viscoelasticidade, condutividade e tensão superficial); variáveis de processo (tensão aplicada, distância entre a ponta do injetor e o coletor e taxa de injeção da solução) e fatores ambientais (temperatura, umidade e composição e velocidade do ar) (COSTA et al., 2012a; GREINER; WENDORFF, 2007; HUANG et al., 2003; PHAM; SHARMA; MIKOS, 2006).

A aplicação de fibras produzidas por eletrofiação, em diversas áreas, vem crescendo ao longo dos últimos anos devido, principalmente, à três características inerentes das fibras formadas: tamanho das fibras (escalas submicro e/ou nanométrica); baixo número de defeitos (próximo do teórico) e elevada área superficial para uma pequena massa de material, além da simplicidade e baixo custo da técnica (OLIVEIRA, 2011). Dentre as aplicações, pode-se citar as áreas: processos de separação; sensores; catálise; ambiental e médica (COSTA et al., 2012b; GREINER; WENDORFF, 2007; HUANG et al., 2003).

Na área biomédica, a aplicação de materiais produzidos por eletrofiação tem sido alvo de muitos estudos, principalmente na produção de materiais para engenharia de tecidos, liberação controlada de fármacos e curativos (GREINER; WENDORFF, 2007). Além disso, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas afim de produzir nanofibras a partir de polímeros naturais tais como polissacarídeos e proteínas (MENDES; STEPHANSEN; CHRONAKIS, 2017). Os polímeros naturais são obtidos a partir de fontes renováveis e geralmente são biocompatíveis e biodegradáveis, porém esses polímeros apresentam baixa resistência mecânica, o que limita a sua aplicação como biomaterial (SAINI; ARORA; KUMAR, 2016). Uma alternativa interessante é produzir nanofibras a partir da mistura de polímeros naturais e sintéticos, formando blendas poliméricas.

Blendas poliméricas são misturas físicas de um ou mais polímeros visando o desenvolvimento de novos materiais com propriedades intermediárias ou superiores à aquelas observadas pelos constituintes puros (COSTA et al., 2012b). Assim, conhecendo-se as

propriedades de cada polímero, como sua estrutura, características térmica e mecânicas, é possível unir, de maneira sinérgica, suas propriedades em uma blenda polimérica e buscar um material mais eficaz para determinada aplicação.

A zeína é uma proteína obtida do grão de milho que apresenta, além da biodegradabilidade e biocompatibilidade, propriedades tais como: hidrofobicidade; resistência ao ataque microbiano e atividade antioxidante (BRAHATHEESWARAN et al., 2012; CORRADINI et al., 2014). A zeína, sozinha ou combinada com outros polímeros, vem sendo estudada para a obtenção de fibras poliméricas por eletrofição, principalmente para aplicação biomédica (CORRADINI et al., 2014). Outro polímero promissor para a produção de fibras poliméricas por eletrofição é o poli(óxido de etileno) (PEO), por apresentar algumas propriedades tais como: biocompatibilidade; taxa de degradação elevada no corpo e baixa citotoxicidade (LIN; DAI; CUI, 2017; SMITH et al., 2017).

A obtenção de fibras a partir de blends de zeína com PEO pode resultar em um biomaterial com melhores características em relação às fibras obtidas a partir dos polímeros puros. A zeína apresenta caráter hidrofóbico e baixa resistência mecânica. O PEO apresenta excelentes propriedades tal como formação de fibra e hidrofiliabilidade, entre outras. A adição de PEO à solução de zeína, aumenta a viscosidade da solução, podendo facilitar o processo de eletrofição e produzindo fibras com características desejáveis para aplicação na área biomédica.

O presente trabalho apresenta um estudo sobre a obtenção de fibras poliméricas por meio do processo de eletrofição, a partir da mistura de zeína com o PEO, visando o melhoramento das propriedades das fibras com relação aos polímeros puros. As características morfológicas, térmicas, mecânicas e biológicas das fibras foram investigadas. Um planejamento fatorial foi utilizado para analisar como os parâmetros de solução (teor de PEO na blenda) e de processo (tensão aplicada, distância entre a ponta do injetor e o coletor e taxa de injeção da solução) influenciam no diâmetro médio das fibras obtidas e no rendimento do processo.

A inovação desse estudo foi verificar como o teor de PEO, na blenda zeína/PEO, influencia nas características das fibras obtidas, além de verificar como os parâmetros de processo modificam o diâmetro das fibras e o rendimento do processo de eletrofição a partir da solução da blenda zeína/PEO.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Obter e caracterizar nanofibras com potencial de citocompatibilidade e biodegradabilidade a partir da formação de blendas poliméricas zeína/PEO por meio da técnica de eletrospinning em solução.

1.1.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos para o desenvolvimento do trabalho foram:

- Caracterizar os polímeros formadores da blenda, zeína e PEO, por meio de análise: reológica, térmica (TGA e DSC) e espectrofotometria de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR);
- obter fibras da blenda zeína/ PEO;
- variar os parâmetros de solução e de processo para analisar sua influência sobre as características das fibras obtidas;
- determinar a morfologia das fibras, os diâmetros das fibras (distribuição e valores médios), por meio de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura;
- determinar o rendimento do processo de obtenção das fibras;
- analisar a influência dos parâmetros de solução e de processo sobre o diâmetro e rendimento das fibras obtidas, utilizando planejamento fatorial;
- caracterizar as fibras obtidas estruturalmente, termicamente, mecanicamente e biologicamente.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ELETROFIAÇÃO

Os primeiros estudos sobre fenômenos magnéticos e eletrostáticos foram feitos por William Gilbert, no final do século XVI. Em uma das suas descobertas, ele observou a mudança do formato de uma gota de água quando colocada perto de uma peça de âmbar carregada em que ocorria a formação de um cone. Esse fenômeno recebeu o nome de *electrospraying* (TUCKER et al., 2012). A quantidade de carga necessária para superar a tensão superficial da gota e formar o cone foi investigada em 1882 por Lord Rayleigh. Em 1902 e 1903, Cooley e Morton descreveram um método em que se usava uma fonte de alta tensão para criar um fio, reconhecido como *electrospinning* (GREINER; WENDORFF, 2007).

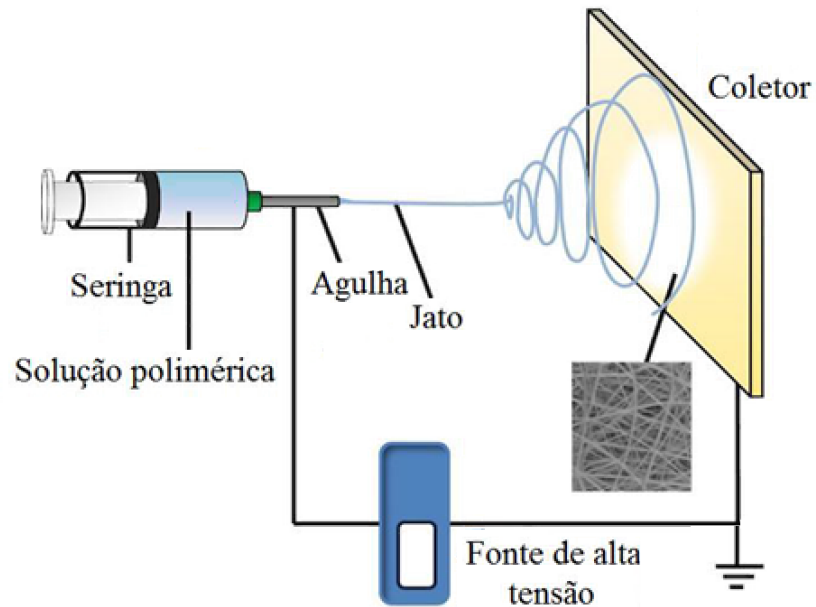
O desenvolvimento de trabalhos para modelar matematicamente o comportamento dos fluidos na extremidade de um capilar, quando submetidos a uma força eletrostática, foi iniciada em 1914, por John Zeleny. Porém, foi em 1934 que Anton Formhals patenteou a técnica experimental de eletrofiação (*electrospinning*). Geoffrey Ingram Taylor deu continuidade aos estudos e criou, entre 1964 e 1969, a base teórica para explicar o estiramento da gota (GREINER; WENDORFF, 2007; TUCKER et al., 2012). Somente em 1995, Doshi e Renecker descreveram detalhadamente o processo de eletrofiação (DOSHI; RENEKER, 1995).

Conforme Greiner e Wendorff (2007, p. 5671), a eletrofiação “é um método altamente versátil para processar soluções ou material fundido, principalmente polímeros, em fibras contínuas com diâmetros que variam de alguns micrômetros para alguns nanômetros”.

O processo de eletrofiação consiste, experimentalmente, em aplicar um campo elétrico, de alta tensão, sobre gotas da solução polimérica, injetada por meio de um orifício (geralmente uma agulha na ponta de uma seringa). Se a tensão elétrica aplicada é aumentada de modo que seu efeito supere a tensão superficial da gota, deformando-a, forma-se o conhecido cone de Taylor. A partir desse momento, o jato experimenta um processo de instabilidade e de alongamento. Concomitantemente, há a evaporação de grande parte do solvente, formando fibras que são atraídas pelo coletor metálico aterrado. Assim, obtém fibras praticamente secas que se depositam na superfície do coletor (GREINER; WENDORFF,

2007; KUMAR et al., 2012; LI; XIA, 2004). Na Figura 1 é mostrado um esquema básico de um sistema de eletrofição a partir de solução polimérica.

Figura 1 - Esquema de eletrofição.



Fonte: Adaptado de Li e Xia, (2004, p. 1153)

2.1.1 Parâmetros do processo de eletrofição

Vários parâmetros influenciam o processo de eletrofição e modificam vários aspectos das fibras, entre eles a morfologia e diâmetro das fibras formadas. Conforme Pham *et al.* (2006), os parâmetros podem ser classificados em três classes: i) de solução, que levam em conta as propriedades do polímero e do solvente e a concentração da solução; ii) de processo, que relacionam-se com as variáveis de controle; e iii) ambientais.

2.1.1.1 Parâmetros de solução

Os parâmetros de solução influenciam principalmente a extensão do alongamento do jato que ocorre desde a ponta da agulha até o coletor, o efeito sobre o diâmetro das fibras resultantes e a formação de *beads*, que são pequenas gotas solidificadas ao longo do comprimento da fibra. Dentre os parâmetros de solução estão a viscosidade (afetada pela concentração e pela massa molar do polímero), condutividade, tensão superficial, momento do dipolo e constante dielétrica do solvente (CORRADINI et al., 2017; COSTA et al., 2012a; LI; XIA, 2004; PHAM; SHARMA; MIKOS, 2006).

A viscosidade é um parâmetro importante na eletrofiação e está relacionada com a concentração da solução e a massa molar do polímero. Quando o material em solução é um polímero, falamos em termos de viscoelasticidade. Em baixos valores de viscosidade não ocorre a formação de fibras, o jato eletrofiado rompe-se e há formação de gotículas de polímero (*electrospraying*), ou mesmo formação de *beads*. Já para valores de viscosidade maiores, a probabilidade de ocorrer formação de fibras é maior, uma vez que as forças viscoelásticas são maiores. Porém, com o aumento da viscoelasticidade aumenta-se o diâmetro das fibras ou até mesmo ocorre solidificação do polímero na ponta da agulha, impedindo a eletrofiação (COSTA et al., 2012a; PHAM; SHARMA; MIKOS, 2006; PILLAY et al., 2013).

A tensão superficial da gota deve ser superada pelas forças eletrostáticas para que ocorra a formação do cone de Taylor. Com isso, a tensão superficial da solução torna-se um parâmetro importante no processo de eletrofiação. Quando a tensão superficial da solução é reduzida, forma-se fibras lisas, sem a presença de *beads*. Outro parâmetro importante da solução é sua condutividade elétrica. Em situações onde se tem alta condutividade elétrica haverá grande mobilidade dos íons em solução. Ao aplicar campo elétrico externo, as cargas tendem a se orientar provocando deformação da gota. Após a formação do cone de Taylor, há o processo de ejeção e alongamento do jato o que contribui para a diminuição do diâmetro final da fibra formada. O aumento da condutividade é obtida, geralmente, pela adição de sal, porém bons resultados foram também encontrados com a adição de álcool à solução (COSTA et al., 2012a; PHAM; SHARMA; MIKOS, 2006; THENMOZHI et al., 2017).

A massa molar do polímero tem relação significativa na morfologia e no diâmetro da fibra, uma vez que tem efeito sobre as propriedades reológicas, como viscosidade e tensão superficial. Estudos mostram que a medida que aumenta-se a massa molar do polímero, diminui-se o potencial de formação de *beads* (GUPTA et al., 2005). Os solventes que apresentam maior eficiência no processo de eletrofiação possuem momento de dipolo

elevados, tais como N,N-dimetilformamida (DMF), etil-metil-cetona (MEK) e acetato de etila (JARUSUWANNAPOOM et al., 2005; PHAM; SHARMA; MIKOS, 2006).

2.1.1.2 Parâmetros de processo

Os parâmetros de processo incluem taxa de injeção, campo elétrico aplicado, distância entre a agulha e o coletor (chamada de distância de trabalho) e tipo de coletor (composição e geometria) (CORRADINI et al., 2017; COSTA et al., 2012b; GREINER; WENDORFF, 2007; PHAM; SHARMA; MIKOS, 2006).

A taxa de injeção é um parâmetro de processo importante. Taxas baixas produzem fibras com diâmetros menores, e reduzem a formação de *beads*, pois há mais tempo de as fibras secarem antes de alcançarem o coletor (PHAM; SHARMA; MIKOS, 2006; PILLAY et al., 2013; THENMOZHI et al., 2017).

Outro parâmetro de processo significativo e muito estudado é a intensidade de campo elétrico ou tensão aplicada. A tensão elétrica aplicada deve ser suficiente para superar a tensão superficial da gota e formar o cone de Taylor. Segundo Pillay *et al.* (2013) existe um valor crítico de tensão aplicada que varia com o tipo de solução polimérica e uma faixa ótima de tensão para um dado sistema polímero-solvente, no qual ocorre a formação de fibra. Para tensão fora da faixa ótima, há formação de *beads* ou mesmo inibição do jato de polímero. Normalmente, o aumento do campo elétrico provoca alongamento do jato, isso leva a uma diminuição no diâmetro final da fibra.

A distância entre a agulha e o coletor, chamada de distância de trabalho, afeta a morfologia e diâmetro da fibra. Durante o percurso entre agulha e coletor, é desejável que todo o solvente se evapore, assim tem-se uma distância mínima para que isso ocorra. Em pequenas distâncias de trabalho observa-se a formação de *beads* ou mesmo fibras achatadas, que são chamadas de fitas. Já para distâncias maiores forma-se fibras mais uniformes e cilíndricas, geralmente com menores diâmetros, que pode ser uma indicação de distância de trabalho ótima. É possível utilizar uma configuração de agulhas coaxiais, como no caso de produção de fibras do tipo casca-caroco ou nanotubos (PHAM; SHARMA; MIKOS, 2006; PILLAY et al., 2013). Várias morfologias, como formação de nanotubos, podem ser obtidas ao se utilizar agulhas coaxiais.

Outro parâmetro que influencia significativamente na morfologia das fibras é o tipo do coletor, assim como sua geometria. O coletor deve ser feito de um material eletricamente condutor, para aplicação do campo elétrico entre a agulha e coletor durante o processo. Ele pode ser simplesmente uma placa metálica ou pode ser um coletor metálico rotativo. Nesse caso, a velocidade de rotação também será considerada uma variável de processo determinante para morfologia e diâmetros das fibras (COSTA et al., 2012a; PHAM; SHARMA; MIKOS, 2006).

2.1.1.2 Parâmetros ambientais

Parâmetros ambientais são as condições locais nas quais é realizada a eletrofição, tal como umidade relativa, temperatura e velocidade do ar. Em altas temperaturas, ocorre a diminuição na viscosidade da solução polimérica e com isso se obtém fibras com diâmetros menores (COSTA et al., 2012b; PHAM; SHARMA; MIKOS, 2006). Thenmozhi *et al.* (2017) apresentaram um estudo da influência da temperatura do coletor na morfologia das fibras. Quando a temperatura alcançava o valor da temperatura de ebulição do solvente utilizado, aumentava-se o número de poros na superfície das fibras, causado pela evaporação do solvente residual. Em temperaturas maiores que a de ebulição, o número e tamanho de poros nas fibras aumentam, pois acelera-se a evaporação do solvente.

Ao avaliar o efeito da umidade relativa, os resultados são distintos. Diferentes relações umidade/diâmetro da fibra são encontrados para diferentes polímeros. Por exemplo, Yan e Gevelber (2017) observaram, para o PEO, o diâmetro médio das fibras diminui com aumento da umidade. Thenmozhi *et al.* (2017) mostraram a relação da umidade com temperatura, uma vez que a medida que a temperatura aumenta a umidade diminui pois a evaporação do solvente é mais rápida. Devido a esse fato, altas umidades levam a formação de fibras mais espessas.

As variáveis de processo, bem como, os parâmetros de solução e ambientais, podem ser analisados por ferramentas estatísticas, com a finalidade de planejar e/ou selecionar condições experimentais ótimas e extrair o máximo de informações na análise de dados (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

No Quadro 1 é apresentada, de forma resumida, a influência dos parâmetros estudados no processo de eletrofiação sobre o diâmetro médio de fibras, conforme apresentado na literatura (PHAM; SHARMA; MIKOS, 2006; ZHANG; MO, 2013)

Quadro 1 – Efeito dos parâmetros de eletrofiação sobre a morfologia das fibras.

Parâmetros	Efeitos sobre o Diâmetro da Fibra
Tensão aplicada ↑	Diâmetro da fibra ↓
Taxa de injeção ↑	Diâmetro da fibra ↑
Distância de trabalho ↑	Diâmetro da fibra ↓
Concentração do polímero (viscosidade) ↑	Diâmetro da fibra ↑

Fonte: Adaptado de Zhang e Mo, (2013, p. 131)

2.1.2 Aplicações

As aplicações das fibras formadas por eletrofiação abrangem diversas áreas da ciência, uma vez que possuem características atraentes para diversos processos. A elevada área superficial específica e o grande número de poros fazem a utilização das fibras em processos de adsorção/separação. Já para área de sensores e/ou biossensores a estrutura em nanoescala, a propriedade eletroquímica, a flexibilidade mecânica e a citocompatibilidade são propriedades interessantes das fibras para esse tipo de aplicação (ZHANG et al., 2014).

Um campo de aplicação no qual tem sido desenvolvido diversos estudos com as fibras formadas pelo processo de eletrofiação é a medicina, uma vez que proteínas, vírus e bactérias apresentam dimensões em nanoescala, compatíveis com a escala dos diâmetros de nanofibras preparadas por eletrofiação. Dentro dessa área de aplicação, destacam-se os estudos com engenharia de tecidos, cicatrização de ferimentos e liberação controlada de fármacos (GREINER; WENDORFF, 2007).

As nanofibras eletrofiadas são muito atraentes para aplicação em liberação controlada de fármacos, devido à alta capacidade de carga de diversos tipos de fármacos, alta eficiência de encapsulamento, entrega simultânea de diferentes fármacos, simplicidade de

fabricação, custo-benefício e estrutura semelhante à matriz extracelular. Além de possuírem elevada área superficial específica, porosidade e flexibilidade. A engenharia de tecidos busca materiais biológicos funcionais que substituem órgãos ou tecidos humanos, ou materiais que possam ser usados em regeneração de tecidos danificados. Isso é feito pela fabricação dos chamados *scaffolds*. As nanofibras produzidas por eletrospinning são estudadas para essa finalidade porque podem apresentar, dependendo dos parâmetros e do polímero utilizados, elevada porosidade, grande área superficial, boa estabilidade mecânica, biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade e uniformidade de dimensão (HAIDAR; EROGLU, 2017).

2.2 BIOMATERIAIS

Um biomaterial pode ser definido como qualquer material, natural ou sintético, usado para produzir dispositivos que substituam uma parte ou uma função do corpo humano de maneira segura, confiável, econômica e fisiologicamente aceitável (PARK; LAKES, 2007).

Um fator importante que deve ser levado em conta na fabricação de biomateriais é a interação entre o material e o corpo. Sendo assim, devem ser consideradas características tais como biocompatibilidade, aceitabilidade farmacológica (não tóxico, não alergênico e não cancerígeno), quimicamente inerte e estável, adequada resistência mecânica, peso e densidade apropriados, além do custo de produção e reprodutividade em larga escala (PARK; LAKES, 2007).

A biocompatibilidade é uma das propriedades de maior importância quando se fala de biomateriais. É definida como a aceitação de um material externo pelos tecidos e órgãos circundantes ao local de implementação e pelo corpo como um todo, ou seja, o material externo não deve provocar reações adversas no organismo hospedeiro e não prejudicar seus órgãos e tecidos (PARK; LAKES, 2007; WONG; BRONZINO, 2007). Dentro do conceito de biocompatibilidade está a citocompatibilidade que é a propriedade de um material não ser nocivo quando em contato com células vivas, geralmente avaliada por testes *in vitro* de não inibição de crescimento de células saudáveis (ROGERO et al., 2003).

Os polímeros são utilizados para produção de biomateriais devido à facilidade de fabricação e processamento, custo e disponibilidade destes materiais e, também, por apresentarem propriedades físicas e mecânicas semelhantes às dos materiais biológicos (WONG; BRONZINO, 2007). Outra característica interessante na utilização de materiais

poliméricos como biomateriais é a biodegradabilidade que alguns polímeros apresentam. Ao serem biodegradáveis, os resíduos de sua degradação podem ser absorvidos pelo próprio organismo, sem causar nenhum tipo de dano (BRITO et al., 2011; HENCH; JONES, 2005; WONG; BRONZINO, 2007).

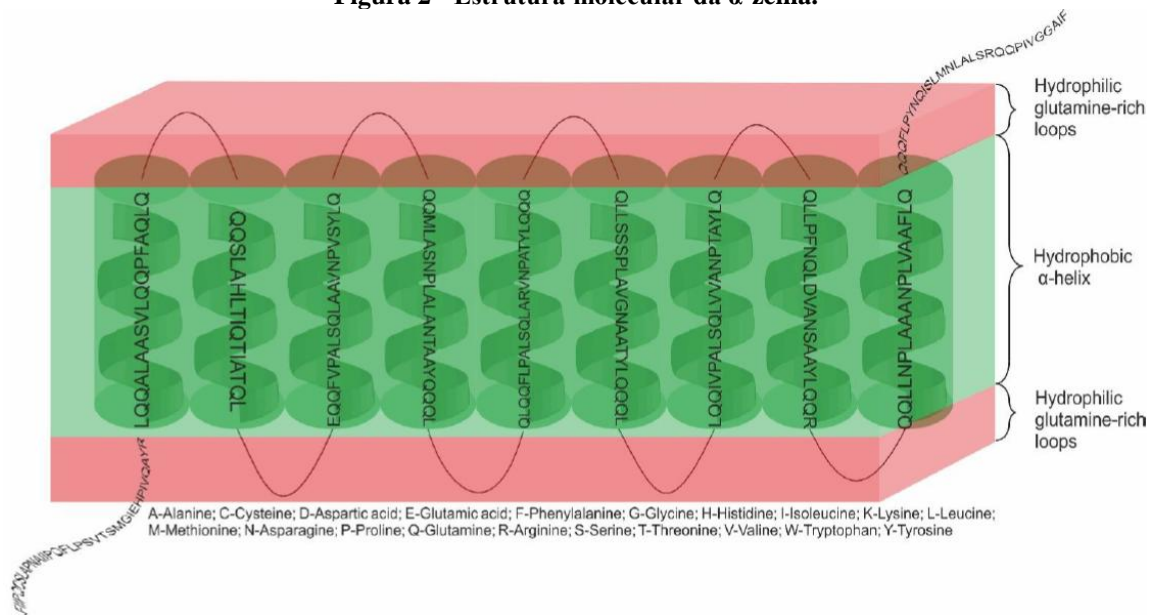
Dois polímeros com potencial de aplicação biomédica, que apresentam características de biocompatibilidade são o poli(óxido de etileno) (PEO) e a zeína, sendo esta também biodegradável (CORRADINI et al., 2014; GREINER; WENDORFF, 2007).

2.3 ZEÍNA

A prolamina, também conhecida como zeína, foi identificada pela primeira vez em 1897, com base na sua solubilidade em solução água/etanol. É a proteína encontrada em maior quantidade, cerca de 80%, nos grãos de milho, juntamente com albuminas, globulinas e glutelinas, que recebem essa classificação com base nas suas solubilidades. A zeína é anfifílica e é composta por 17 aminoácidos, dos quais os principais são ácido glutâmico (21-26%), responsável pela característica hidrofílica, leucina (20%), prolina (10%) e alanina (10%), responsáveis pela característica hidrofóbica (CORRADINI et al., 2014; MIRI et al., 2016; SHUKLA; CHERYAN, 2001).

A sequência de aminoácidos da zeína tem sido estudada por muitos pesquisadores ao longo dos anos. No entanto, não há, até o presente momento, consenso sobre a estrutura terciária da zeína (TURASAN; KOKINI, 2017). A zeína pode ser classificada em quatro diferentes tipos, dependendo da sua solubilidade e massa molar: α -, β -, δ - e γ -zeína, sendo as α -zeínas extraídas em maiores quantidades e mais comercializadas (CORRADINI et al., 2014; NI; DUMONT, 2017). A estrutura molecular da α -zeína consiste em nove unidades repetitivas helicoidais (α -hélice) arranjas de forma antiparalela, conforme estrutura molecular proposta por Matsushima *et al.* (1997) e ilustrado na Figura 2. Esse arranjo estrutural é composto de três camadas: a parte central (em verde), compostas por aminoácidos não polares hidrofóbicos; e as partes superior e inferior (em vermelho), hidrofílica e ricas em Glutamina (Q), representadas pelas linhas pretas que conectam as α -hélices (BARBOSA; CONWAY; MERCHANT, 2017).

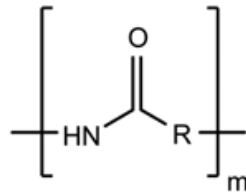
Figura 2 - Estrutura molecular da α -zeína.



Fonte: Barbosa; Conway; Merchant, (2017, p. 22)

Para facilitar a visualização da unidade repetitiva da α -zeína, sua estrutura molecular pode ser representada pela Figura 3, onde R é o grupo característico de cada aminoácido constituinte da zeína.

Figura 3 - Unidade repetitiva da α -zeína.



Fonte: Ali *et al.*, (2014, p. 972)

A zeína é um polímero natural, amorfo, frágil, composto pelos seguintes grupos reativos: amidas, aminas, carboxilas, hidroxilas e fenóis. É insolúvel em água, porém solúvel em soluções aquosas de alcoóis alifáticos e outros solventes orgânicos que contenham hidroxilas, carbonilas, aminas e outros grupos polares. Apresenta uma temperatura de transição vítrea em torno de 165 °C e é termicamente estável até 280 °C, degradando-se em temperaturas acima desse valor (CORRADINI *et al.*, 2014).

Propriedades, tais como, brilho, hidrofobicidade, resistência ao ataque microbiano e atividade antioxidante, fazem dessa proteína objeto de estudos para diversas áreas do

conhecimento, principalmente a biomédica. Apresenta também biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade, resistente à temperatura, ótima barreira ao oxigênio e capacidade de formação de filmes. Estas características são de interesse para aplicações como, por exemplo, liberação controlada de medicamentos, engenharia de tecidos e embalagens (ALTAN; AYTAC; UYAR, 2018; BRAHATHEESWARAN et al., 2012; MIRI et al., 2016).

Devido à insolubilidade em água, além da ausência de aminoácidos básicos, como triptofano e lisina, o valor nutricional da zeína é baixo. Assim, suas aplicações focam em seu potencial biopolimérico, como a produção de hidrogéis, fibras e filmes (NI; DUMONT, 2017).

Paliwal e Palakurthi (2014) apresentaram uma revisão bibliográfica sobre as propriedades da zeína, como biopolímero, para aplicação na liberação controlada de fármacos e engenharia de tecidos. A zeína apresenta capacidade de formar agregados e aprisionar drogas, formando complexos proteína-droga estáveis, características essenciais para sua utilização na liberação controlada de drogas. A porosidade e o tamanho de poros controláveis no processo de formação de filmes, assim como a biocompatibilidade, fazem os filmes produzidos a partir da zeína atraentes para construção de *scaffolds*, em engenharia de tecidos.

Um crescente número de estudos envolvendo a zeína, tanto pura quanto em blendas são citados na literatura (CUI et al., 2015; DIPPOLD et al., 2016; LIAO et al., 2016). Isso mostra o quão promissor é esse material para a eletrofiação e que suas propriedades o fazem atraentes para muitas aplicações.

O efeito do solvente e da concentração da solução na morfologia de fibras de zeína formadas pela técnica de eletrofiação foi investigado por Li *et al.* (2013). Os autores estudaram os seguintes solventes: etanol/água 80/20 (v/v), hexafluoroisopropanol e ácido acético. A distribuição do diâmetro de nanofibras produzidas em solução de etanol/água ou hexafluoroisopropanol foi muito maior que as produzidas em ácido acético. As concentrações de zeína em ácido acético estudadas foram 25%, 28% e 30% em peso. A concentração mais favorável foi de 28%, em peso, devido à formação contínua de fibras nesta condição.

A baixa massa molar da zeína pode dificultar a formação de fibras durante o processo de eletrofiação. Assim, uma alternativa para a solução desse problema é a utilização de outros polímeros na forma de blendas. Blendas de zeína com polímeros, como por exemplo: policaprolactona (PCL) (LIAO et al., 2016), etilcelulose (LU et al., 2017), poli(álcool vinílico) (PVA) (GHALEI; ASADI; GHALEI, 2018), poli(hidroxibutirato-co-valerato) (PHBV) (ZHIJIANG et al., 2017), poli(ácido láctico) (PLA) (ZHANG et al., 2016), poli(sebacato de glicerol) (PGS) (VOGT et al., 2018), acetato de celulose (ALI et al., 2014),

quitosana (WONGSASULAK; PUTTIPAIBOON; YOOVIDHYA, 2013), fibroína (YAO et al., 2009) e poli(óxido de etileno) (PEO) (ACEVEDO et al., 2018), tem sido estudadas para aplicação biomédica.

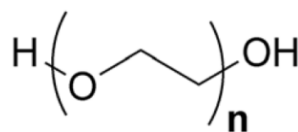
Lu *et al.* (2017) estudaram a eficácia da utilização de fibras de zeína/etil celulose, produzidas via eletrofiação, na liberação controlada de drogas e mostraram, com base no menor diâmetro de fibra, melhor estabilidade à água e resistência mecânica, que as nanofibras com proporção zeína/etil celulose 1:1 apresentaram condições ótimas.

Ali *et al.* (2014) apresentaram um estudo de blendas de zeína/acetato de celulose, obtidas por eletrofiação, afim de unir as características dos polímeros em uma nanofibra inovadora para aplicações biomédicas. Os autores observaram que as nanofibras de zeína/acetato de celulose apresentam temperatura de degradação e uma estabilidade térmica maiores do que as nanofibras de zeína pura, assim como a temperatura de transição vítrea. As análises de microscopia revelaram que a medida que a composição de acetato de celulose na blenda é aumentada o diâmetro médio de nanofibra diminui.

2.4 POLI(ÓXIDO DE ETILENO) (PEO)

O poli(óxido de etileno) (PEO) é um homopolímero sintetizado a partir do monômero óxido de etileno. Antes de 1950, o PEO era apenas uma curiosidade laboratorial, mas em 1957 foi iniciada sua comercialização. A fórmula estrutural do PEO está representada na Figura 4. Quando o grau de polimerização (n) é menor que 150, ou seja, para baixas massas molares, o composto é geralmente chamado de poli(etileno glicol) (PEG). Já para massas molares maiores, valores de n maior que 150, chama-se de PEO (BAILEY; KOLESKE, 1976).

Figura 4 - Estrutura molecular do PEO.



Fonte: Xue; He e Xie, (2015, p. 19220)

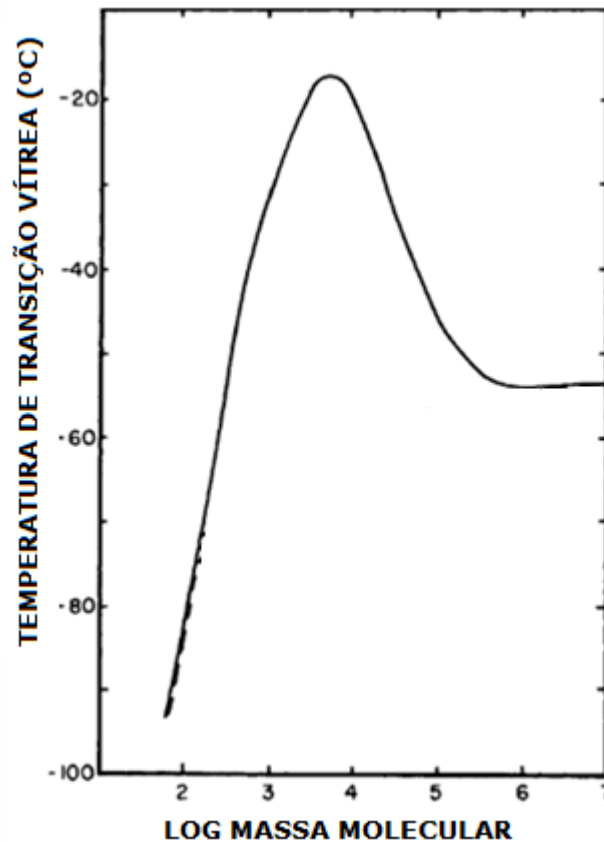
O PEO é um polímero neutro (não iônico), termoplástico e semicristalino, com estrutura linear ou ramificada. Na fase cristalina, apresenta célula unitária monoclinica ($a = 7,96 \text{ \AA}$, $b = 13,11 \text{ \AA}$, $c = 19,39 \text{ \AA}$ e $\beta = 124^\circ 48'$). O PEO é um polímero dúctil, que quando submetido à tração, apresenta alta elongação, moderado módulo de tensão e a capacidade de orientar-se (BAILEY; KOLESKE, 1976).

Quanto à solubilidade, o PEO é solúvel em água à temperatura ambiente, e em solventes orgânicos, como acetonitrila, anisol, clorofórmio, dicloroetano e dimetilformamida. É insolúvel em hidrocarbonetos alifáticos, dietileno glicol, etileno glicol e glicerina (BAILEY; KOLESKE, 1976).

A massa molar e os grupos hidroxilas terminais do PEO provocam diferenças nas propriedades do polímero, como a solubilidade (SAKELLARIOU; ABRAHAM; WHITING, 1994). Uma das propriedades dependentes da massa molar é a viscosidade, polímeros com massa molar mais elevada apresentam uma maior viscosidade quando comparados a um mesmo solvente (BAILEY; KOLESKE, 1976).

Outra propriedade dependente da massa molar do PEO é a estabilidade térmica. O ponto de fusão de um polímero está relacionado com a sua estrutura química e morfológica, como exemplo a cristalinidade. O ponto de fusão do PEO varia linearmente com a cristalinidade e situa-se entre 30 a 70 °C. Considerando 100% de cristalinidade tem-se um valor de 76 °C para a temperatura de fusão (valor obtido por extrapolação). A temperatura de transição vítrea do PEO tem dependência com a massa molar do polímero. Na Figura 5 é apresentada tal dependência. Conforme os estudos de Faucher *et al.* (1966), a temperatura de transição vítrea varia com o logaritmo da massa molar do PEO. Eles verificaram que o aumento da massa molar provoca o aumento da temperatura de transição vítrea até um valor máximo de -20 °C, a partir de então ela decai até -55 °C, onde permanece constante para massas molares mais elevadas (BAILEY; KOLESKE, 1976).

Figura 5 - Temperatura de transição vítrea em função da massa molecular do PEO.



Fonte: Adaptado de Bailey e Koleske, (1976, p. 137)

Além dessas propriedades, outras características atraentes do PEO são: capacidade lubrificante, baixa toxicidade, estabilidade, pequena volatilidade e o fato de ser facilmente quimicamente modificado. A biocompatibilidade o faz aplicável em diversos setores como a indústria farmacêutica e médica, onde é usado como matriz para o controle de liberação de fármacos, como adesivos para próteses dentárias e também em filmes de embalagem (BURGAZ, 2011; VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010; XUE; HE; XIE, 2015).

Diversos estudos utilizam o PEO no desenvolvimento de materiais por meio do processo de eletrofiação, com aplicações em variadas áreas tal como na medicina e farmacologia, e também na purificação de água, limpeza do ar e em embalagens (ALUIGI et al., 2008; AYDOGDU; SUMNU; SAHIN, 2018; VOORNEVELD et al., 2017), como já citado anteriormente.

As diferentes massas molares médias disponíveis comercialmente é um fator importante e atraente para o desenvolvimento de fibras, uma vez que essa característica é um dos parâmetros determinantes do processo de eletrofiação. Além da massa molar, outros

parâmetros da eletrofiação têm sido avaliados por diversos autores usando o PEO como polímero. Também, vários solventes têm sido adotados para a eletrofiação deste polímero, tais como clorofórmio, dimetilformamida, água, etanol (SON et al., 2004), metanol (RICHARD-LACROIX; PELLERIN, 2017), ácido acético (PAKRAVAN; HEUZEY; AJJI, 2011) e acetona (WOO; OBENDORF, 2014).

O efeito do tipo de coletor na orientação molecular das fibras eletrofiadas de PEO foi investigado por Richard-Lacroix e Pellerin (2017). Estes autores estudaram os seguintes tipos de coletor: placa metálica, coletor de duas hastes e disco rotativo. Os resultados não mostraram uma relação de dependência entre o tipo de coletor e a orientação molecular das fibras produzidas considerando os três tipos de coletores utilizados.

Son *et al.* (2004) avaliaram o efeito do solvente e da concentração da solução na morfologia de fibras de PEO formadas pela técnica de eletrofiação. Os solventes utilizados para preparo das soluções foram: clorofórmio, etanol, dimetilformamida e água, respectivamente, nas seguintes concentrações 3, 4, 7 e 7% (m/v). Os autores mostraram que quanto maior a constante dielétrica do solvente, menor é o diâmetro médio da fibra produzida, sendo assim as fibras com menor diâmetro, 0,36 μm , foram encontradas para a solução de PEO em água. Os diâmetros médios das fibras de PEO não foram significativamente afetados pela tensão aplicada, distância de trabalho e fluxo da solução utilizados para todos solventes.

Song *et al.* (2018) também avaliaram o efeito do solvente, porém para este estudo utilizaram misturas etanol/água em diferentes proporções. O aumento da proporção de etanol na mistura, provoca uma alta taxa de evaporação do solvente durante o processo, o que leva a produção de fibras com morfologias não uniformes, com diâmetros médios maiores, menor orientação e grau de cristalinidade, explicado pela fraca interação entre o PEO e os solventes.

Além de estudos envolvendo o PEO puro no processo de eletrofiação, encontra-se na literatura a associação do PEO com outros polímeros na formação de blendas poliméricas, afim de alinhar propriedades dos polímeros como por exemplo: policaprolactona (PCL) (SMITH et al., 2017), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) (AYDOGDU; SUMNU; SAHIN, 2018), acetato de celulose (BROUMAND et al., 2014; WOO; OBENDORF, 2014), queratina (ALUIGI et al., 2008), colágeno (GAO et al., 2017), quitosana (PAKRAVAN; HEUZEY; AJJI, 2011; SHARIFUL et al., 2018), fibroína (HODGKINSON et al., 2014; JIN et al., 2002) e zeína (ACEVEDO et al., 2018; WONGSASULAK; PUTTIPAIBOON; YOOVIDHYA, 2013; ZHANG et al., 2018).

Aydogdu, Sumnu e Sahin (2018) apresentaram um estudo da obtenção e caracterização de blendas de PEO/HPMC, obtidas por eletrofiação. A combinação desses dois

polímeros aumentou a estabilidade térmica e diminuiu a permeabilidade ao vapor de água das nanofibras, tornando-as com potencial para aplicação no campo de embalagens para alimentos.

2.5 BLENDA ZEÍNA/PEO

Conforme Muthuraj, Misra e Mohanty (2018, p. 6) “Uma blenda polimérica é definida como a combinação de dois ou mais polímeros distintos por meio de uma mistura física com/sem interação química entre eles”. A utilização de blendas para formação de um material com propriedades específicas, é um método econômico e com ampla aplicação tecnológica e industrial. Esses novos materiais apresentam melhoria de suas propriedades físico-químicas e de processamento, comparando com as propriedades dos polímeros puros (LUNA et al., 2015; PAUL; BARLOW, 1980).

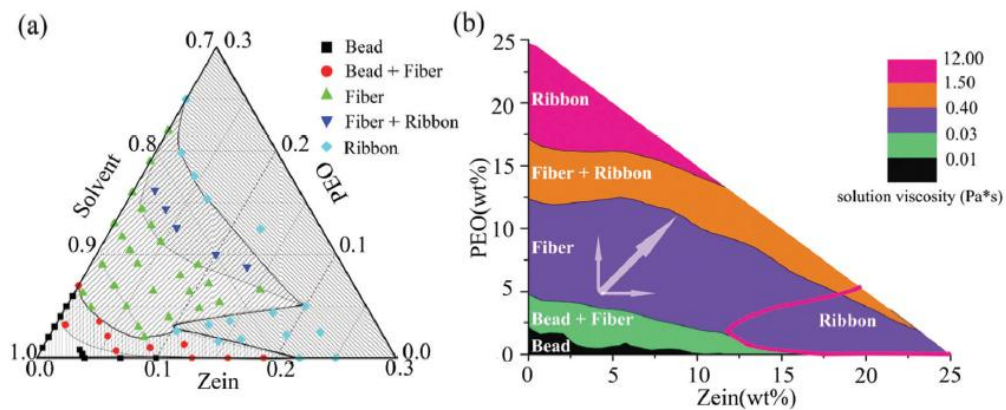
A blenda zeína/PEO é uma alternativa interessante para o desenvolvimento de nanofibras pela técnica de eletrofiação e une as características de dois polímeros biocompatíveis, sendo assim considerada, principalmente, para aplicação na área biomédica. Um exemplo recente de aplicação na medicina é apresentado por Acevedo *et al.* (2018) que desenvolveram, por meio do uso de agulhas coaxiais, nanofibras de zeína/PEO carregadas com ácido gálico com o objetivo de melhorar a ação quimiopreventiva sobre células humanas cancerígenas. O estudo mostrou que a técnica de eletrofiação é promissora, já que os resultados foram satisfatórias para fornecimento controlado de ácido gálico as células cancerígenas.

Wongsasulak *et al.* (2013) adicionaram uma pequena quantidade de PEO à blenda quitosana/zeína afim de facilitar a eletrofiação da solução. Os efeitos da concentração do etanol (85% e 90%) em água e da proporção entre os polímeros zeína/PEO/quitosana (95/2,5/2,5 e 87,5/10/2,5) sobre a morfologia da fibra foram investigadas. Os aumentos da quantidade de zeína na blenda e da proporção de etanol no solvente, aumentaram a viscosidade da solução, mas não produziram fibras com diâmetros maiores como era, por hipótese, esperado. Os autores explicaram que a influência da alta condutividade elétrica foi comprometida pela influência da alta viscosidade, produzindo fibras com diâmetro médio menores devido as maiores viscosidades. O estudo mostrou que fibras zeína/PEO/quitosana

tem potencial de utilização como veículo de entrega gastromucoadesivo que melhoram a biodisponibilidade e absorção de alimentos funcionais.

Zhang *et al.* (2018) estudaram os efeitos dos parâmetros de solução sobre a morfologia das fibras formadas por eletrofiação da blenda zeína/PEO em solução de etanol/água. Os autores relacionaram a morfologia das fibras produzidas com as propriedades da solução por meio de um diagrama de fase ternário e um mapa de contorno da viscosidade, como apresentado na Figura 6.

Figura 6 - Morfologias das nanofibras produzidas relacionadas em (a) diagrama de fases ternário e (b) mapa de contorno da viscosidade.



Fonte: Zhang *et al.*, (2018, p. 3459).

Observando o diagrama ternário, imagem (a) da Figura 6, é possível notar que com o aumento da concentração de PEO e de zeína, individuais ou combinados, a morfologia evolui de *beads* para *ribbons* (fibras achatadas, no formato de fitas), mostrando assim também o efeito do solvente na morfologia. Soluções de zeína/PEO em etanol/água formam fibras em formato de fitas, isso pode ser explicado na etapa de solidificação das fibras. As fibras, ainda úmidas, tocam o coletor e acabam se deformando em fitas. Os autores constataram que, para uma mistura 50% zeína com 50% PEO, a faixa de viscosidade que apresenta fibras com menor diâmetro é entre 0,05 – 0,5 Pa.s. Os autores utilizaram valores fixos de 15 kV de tensão aplicada, 11 cm de distância de trabalho e 2 mL/h de taxa de injeção, porém não fizeram um estudo sobre os efeitos dos parâmetros de processo que influenciam na morfologia das fibras.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

Os polímeros utilizados para o desenvolvimento deste trabalho foram: zeína (proteína do milho) (~40 kDa) e o PEO (200 kDa) fornecidos pela empresa Sigma-Aldrich. O álcool etílico absoluto foi fornecido pela Dinâmica Química Contemporânea Ltda., o ácido acético glacial (99,8%) e a N,N-dimetilformamida (DMF) foram fornecidos pela Neon Comercial Ltda.

3.2 MÉTODOS EXPERIMENTAIS

3.2.1 Caracterização dos Polímeros

Os polímeros zeína e PEO, na forma de pó, foram caracterizados por espectrofotometria de infravermelho (FTIR), análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).

3.2.1.1 Espectrofotometria de Infravermelho (FTIR)

A análise de espectrofotometria de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi feita nas dependências do Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais (DAEMA), utilizando um equipamento Spectrum two – PerkinElmer, modo de aquisição dos espectros ATR (acessório de Reflexão Total Atenuada), no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} e 32 varreduras. As amostras foram previamente secas em estufa por 24 horas.

3.2.1.2 Análise Térmica

Os polímeros foram analisados por calorimetria diferencial exploratória (DSC) para determinar as transições térmicas características (temperatura de transição vítrea e temperatura de fusão) dos dois polímeros, e por análise termogravimétrica (TGA) para determinar a estabilidade térmica, utilizando-se os equipamentos DSC 60 e TGA-51, respectivamente, ambos da marca Shimadzu. Ambos os ensaios foram realizados nos laboratórios do DAEMA da UTFPR.

Para as análises por DSC, as amostras foram previamente secas em estufa a 60 °C por 24 horas e mantidas em dessecador até análise. Aproximadamente 7 mg das amostras na forma de pó foram submetidas a análise, em porta amostra de alumínio. Para a zeína, foi feito um aquecimento a partir de 25 °C até 120 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. A amostra foi mantida a essa temperatura por 5 minutos e depois resfriada até a temperatura de 25 °C e aquecida novamente utilizando taxa de aquecimento de 5 °C/min até 180 °C. Para o PEO foi realizado aquecimento desde a temperatura ambiente até 180 °C com taxa de 5 °C/min. Os experimentos foram realizados sob atmosfera de nitrogênio com taxa de 20 mL/min.

Para a análise em TGA, aproximadamente 7 mg da amostra em pó foi aquecida desde a temperatura de 25 °C até 800 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C/min, para ambos os polímeros. Os experimentos foram realizados em atmosfera de nitrogênio, com fluxo de gás de 20 mL/min. A partir dos dados fornecidos, foi possível gerar a derivada primeira da curva de TGA no *software* OriginPro 8.5, chamada de termogravimetria derivada (DTA).

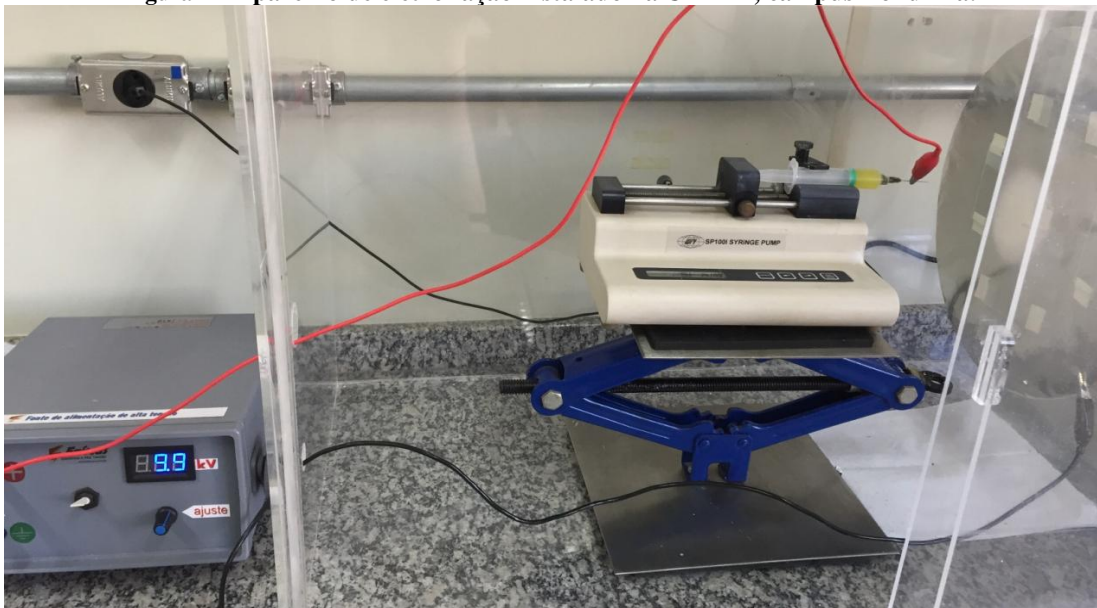
3.2.2 Testes Preliminares para Obtenção das Fibras

Com objetivo de determinar uma concentração mínima para a formação de fibras, foram preparadas inicialmente, separadamente, soluções de zeína (10 e 30%) e de PEO (2 e 10%), utilizando como solvente uma mistura etanol/água na proporção 80:20 (v/v), por meio de agitação magnética, durante 1 hora, à temperatura de 25 °C. Blendas de zeína/PEO foram preparadas, a partir dessas soluções, com proporção de zeína/PEO fixada em 2/1 (v/v), obtendo-se soluções com concentrações de 7,3%, 10%, 20% e 23% (m/v). Os parâmetros de

processos: tensão, fluxo e distância entre agulha e o coletor, foram variados com base na literatura (FABRA; LOPEZ-RUBIO; LAGARON, 2014; VOORNEVELD et al., 2017; WONGSASULAK; PUTTIPAIBOON; YOOVIDHYA, 2013). A partir da observação da formação de fibras, por meio de microscopia óptica (MO), produzidas pela eletrofição das soluções dos polímeros puros e das blends zeína/PEO, fixou-se em 15% (m/v) a concentração polímero:solvente para os demais experimentos realizados.

O processo de obtenção das fibras foi feito em aparelho de eletrofição em posição horizontal, conforme apresentado na Figura 7. O aparelho é basicamente composto por três componentes: fonte de alta tensão (da marca Faíscas), coletor metálico e um tubo capilar (utiliza-se uma agulha de pequeno diâmetro), além de uma bomba de infusão (SP100i Syringe Pump - WPI) para injetar e controlar o fluxo de solução.

Figura 7 - Aparelho de eletrofição instalado na UTFPR, campus Londrina.



Além da determinação da concentração, foram feitos alguns experimentos para selecionar o solvente mais adequado para formação de fibras da blenda zeína/PEO. Foram preparadas soluções em acético/água (80:20) (v/v), N,N-dimetilformamida (DMF) e etanol/água (80:20) (v/v) na concentração 15% (m/v) polímero:solvente com 20% de PEO na blenda. A escolha dos solventes foi baseada na solubilidade dos polímeros e também na solubilidade da mistura zeína/PEO (ALI et al., 2014; LI et al., 2013; SON et al., 2004). Os

parâmetros de processo foram fixados em 14 kV de tensão, 14 cm de distância de trabalho e fluxo de 0,6 mL/h.

3.2.3 Análise Reológica das Soluções Poliméricas

As soluções de zeína pura, PEO puro e blendas zeína/PEO (2, 10, 20, 30, 42 e 82% de PEO) (m/m), na concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), foram caracterizadas por meio de ensaios reológicos. As medidas de viscosidade das soluções foram realizadas em reômetro Brookfield R/S+, no modo de CSS (*Controlled Shear Stress*), localizado nas dependências do DAEMA da UTFPR. A geometria utilizada foi de placas paralelas, ou placa-placa, no modelo RP3-50. Todas as medidas foram realizadas em temperatura de (25 ± 1) °C, com distância de 0,5 mm entre as placas, sendo controlada a tensão de cisalhamento de 0 a 70 Pa.

3.2.4 Estudo das Variáveis de Processo e de Solução

De acordo com os testes preliminares, a concentração das soluções polímero:solvente foi de 15% (m/v). Os seguintes parâmetros intrínsecos à solução ou ao processo de eletrofição foram analisados:

- i) Teor de PEO na blenda zeína/PEO, em porcentagem (mássica);
- ii) Tensão aplicada;
- iii) Distância de trabalho (distância entre a ponta da agulha e o coletor);
- iv) Fluxo ou taxa de injeção.

O estudo do efeito das variáveis foi realizado através da técnica de planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} (4 variáveis e com nível superior, inferior e ponto central), de acordo com a literatura (NETO *et al.*, 2010). Inicialmente, foi feito um planejamento no qual o teor de PEO foi variado de 10 a 30% na blenda, como mostrado no Quadro 2. Posteriormente, afim de complementar os resultados encontrados no primeiro planejamento, foi feito um novo planejamento no qual o teor de PEO variou de 2 a 82% na blenda, como mostrado no Quadro 3.

Quadro 2– Planejamento fatorial 2^{4-1} para o estudo das variáveis de solução e de processo, com teor de PEO entre 10 e 30%.

Variáveis	Níveis		
	Inferior	Ponto médio	Superior
Teor de PEO na blenda (%)	10	20	30
Tensão (kV)	10	14	18
Distância de trabalho (cm)	10	14	18
Fluxo de injeção (mL/h)	0,2	0,6	1,0

Quadro 3 – Planejamento fatorial 2^{4-1} para o estudo das variáveis de solução e de processo, com teor de PEO entre 2 e 82%.

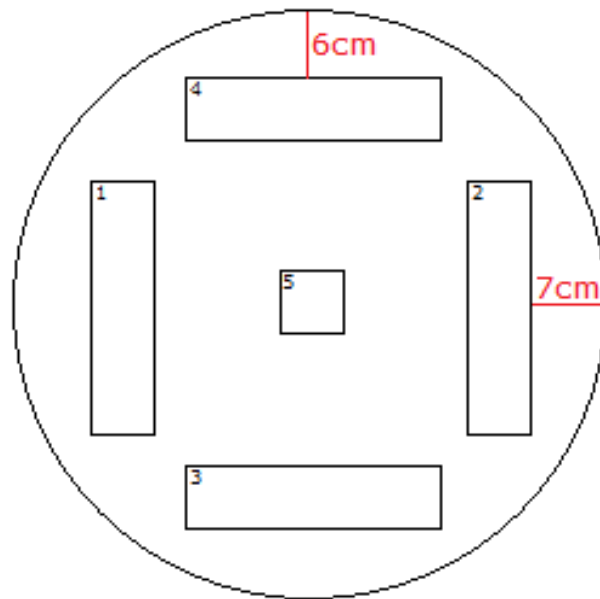
Variáveis	Níveis		
	Inferior	Ponto médio	Superior
Teor de PEO na blenda (%)	2	42	82
Tensão (kV)	10	14	18
Distância de trabalho (cm)	10	14	18
Fluxo de injeção (mL/h)	0,2	0,6	1,0

O diâmetro médio das fibras depositadas sob o coletor e o rendimento do processo foram monitorados como resposta. O diâmetro médio das fibras foi determinado a partir das imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando o *software* Size Meter 1.1.

O rendimento foi calculado por meio da massa de fibras depositadas sobre cinco lamínulas de vidros, colocadas no coletor em posições específicas (7 cm da extremidade na horizontal, 6 cm da extremidade na vertical e na parte central), conforme mostrado na Figura 8.

A diferença entre a massa das lamínulas no início e no fim do processo de eletrofiação forneceu a massa de fibra depositada. Somando a massa de fibra depositada nas cinco lamínulas, após a eletrofiação de um volume fixo de solução, foi calculado o rendimento do processo, dado em miligrama por mililitro (mg/mL). Durante os ensaios realizados foi anotado a temperatura ambiente e a umidade relativa (U.R.) na área de eletrofiação.

Figura 8 – Esquema da posição das lamínulas no coletor de amostra.



As análises estatísticas dos resultados, diâmetro médio da fibra e rendimento, foram feitas utilizando o *software* Design-Expert® 7.0.0.

3.2.5 Caracterização das fibras

3.2.5.1 Análise Morfológica

As análises preliminares da morfologia das amostras foram feitas por microscopia óptica (MO), em microscópio Zeiss Axio Scope.A1 de luz refletida, sob incidência de luz polarizada e ação de filtro, com câmera acoplada AxioCam ERc 5s, localizado no laboratório do DAEMA da UTFPR. Em seguida, a visualização morfológica das fibras e a determinação do diâmetro das fibras foram feitas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), em microscópio FEI modelo Quanta 250, com potência do feixe de elétrons de 20 kV à temperatura constante de 21 °C, localizado nas dependências do Complexo de Centrais de

Apoio à Pesquisa (COMCAP) na Universidade Estadual de Maringá (UEM). Como o material não apresenta características condutivas, o mesmo foi recoberto com uma fina camada de ouro.

3.2.5.2 Espectrofotometria de Infravermelho (FTIR)

As fibras da blenda zeína/PEO com teor de PEO de 2, 10, 42 e 82% (m/m), obtidas nas condições de eletrofiação de 18 kV de tensão, 10 cm de distância e fluxo de 1,0 mL/h, foram caracterizadas por espectrofotometria de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), utilizando o mesmo procedimento abordado no item 3.2.1.1, a fim de determinar estruturalmente a composição das fibras obtidas.

3.2.5.3 Análise Térmica

As fibras da blenda zeína/PEO com teor de PEO de 2, 10, 42 e 82% (m/m), obtidas nas condições de eletrofiação de 18 kV de tensão, 10 cm de distância e fluxo de 1,0 mL/h, foram caracterizadas termicamente por DSC e TGA, utilizando o mesmo procedimento abordado no item 3.2.1.2, a fim de determinar as transições térmicas e a estabilidade térmica das fibras obtidas. A fibra de PEO puro (100% de PEO) também foi avaliada termicamente. Não foi determinada a estabilidade térmica das fibras de zeína pura, devido ao baixo rendimento do processo, ou seja, a quantidade produzida de fibras zeína pura não foi suficiente para fazer essas análises.

3.2.5.4 Análise Mecânica

As fibras da blenda zeína/PEO com teor de PEO de 2, 10, 42 e 82% (m/m), obtidas nas condições de eletrofiação de 18 kV de tensão, 10 cm de distância e fluxo de 1,0 mL/h, foram caracterizadas mecanicamente por meio do teste de tração. Os testes foram realizados

em texturômetro, (marca Stable Micro Systems, modelo TA-TX2) disponível no laboratório do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina (UEL). As propriedades determinadas foram resistência máxima à tração (MPa), alongamento na ruptura (%) e módulo de elasticidade ou de Young (MPa) conforme os métodos e normas da *American Society for Testing and Material* (ASTM D-882-91, 1996). Os corpos de prova (50 mm de comprimento e 20 mm de largura) foram fixados nas garras móveis do equipamento com abertura inicial de 30 mm e a velocidade de tração foi de 0,8 mm/s. Antes dos testes as amostras foram acondicionadas em dessecador com umidade relativa (UR) de 53% pelo período de 48 horas e a espessura das mesmas foi medida em três diferentes pontos do corpo de prova com auxílio de um micrômetro.

3.2.5.5 Análise Biológica

As fibras da blenda zeína/PEO com teor de PEO de 2 e 82% (m/m), obtidas nas condições de eletrofiação de 18 kV de tensão, 10 cm de distância e fluxo de 1,0 mL/h, foram caracterizadas biologicamente por meio do teste de citotoxicidade. Os ensaios foram realizados nas dependências do Laboratório de Inovação Tecnológica no Desenvolvimento de Fármacos e Cosméticos, localizado na UEM. A viabilidade celular foi realizada em células de fibroblastos L929 (ATCC CCL1), afim de avaliar a citotoxicidade das fibras produzidas. As células foram ressuspensas à concentração de $2,5 \times 10^5$ células/mL em meio DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*, Gibco® Invitrogen), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), adicionado 100 µL nos poços da placa de 96 poços, e incubadas por 24 h a 37 °C e 5% de CO₂. Foi adicionado as amostras de fibras com PEO 2 e 82%, cortadas em formato circular (diâmetro de 0,7mm), previamente esterilizadas com óxido de etileno, e novamente incubadas por 48 h. Após, foi adicionado 50 µL de solução de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio), na concentração de 2 mg/mL. A placa foi novamente incubada por 4 h a 37 °C, 5% de CO₂ (protegida da luz) e adicionado 150 µL de dimetilsulfóxido (DMSO), seguido da leitura em leitor de microplaca (BIO-TEK Power Wave XS) a 570 nm. Os experimentos foram realizados em triplicata e feito o cálculo da viabilidade celular. Células cultivadas na ausência das fibras de zeína/PEO foram utilizadas como controle e adotadas como 100% de células viáveis.

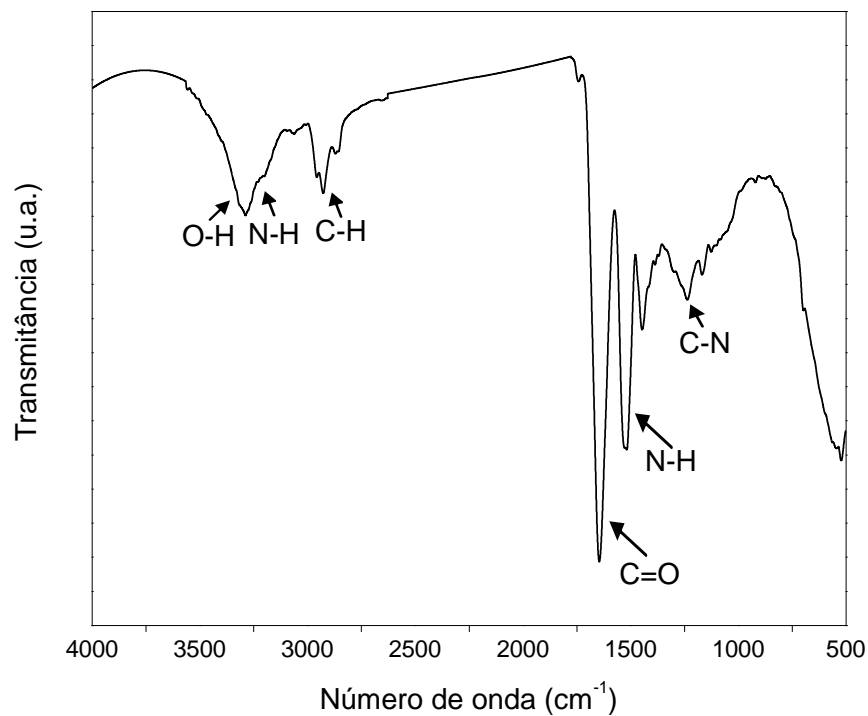
4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS POLÍMEROS

4.1.1 Espectrofotometria de Infravermelho (FTIR)

Na Figura 9 é apresentado o espectro de FTIR, em modo transmitância, para a zeína em pó.

Figura 9 – Espectro de FTIR para zeína em pó.

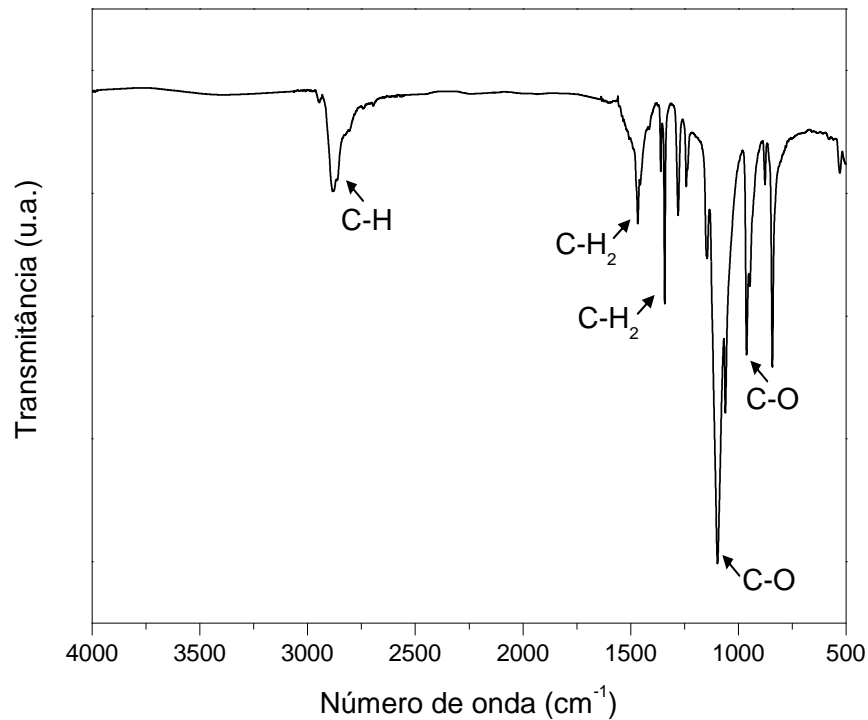


As principais bandas, entre 3500 a 2800 cm⁻¹, são típicas de proteínas, relativas ao estiramento das ligações nitrogênio-hidrogênio (N-H) e oxigênio-hidrogênio (O-H), também denominada de amida A. A banda relativa ao estiramento das ligações carbono-hidrogênio (C-H) da parte hidrofóbica da zeína é localizada em 2930 cm⁻¹. Em 1645 cm⁻¹ é observado o

estiramento da carbonila (C=O) do grupo amida (amida I). A banda de 1520 cm^{-1} é referente a deformação angular da ligação nitrogênio-hidrogênio (N-H) (amida II) e a banda de 1235 cm^{-1} refere-se à vibrações de deformação axial na ligação carbono-nitrogênio (C-N) (amida III) (CORRADINI et al., 2014; LU et al., 2017). A partir do espectro, conclui-se que há predominância do tipo α -zeína, uma vez que não há bandas de absorbância em 1614 e 1662 cm^{-1} referentes a β -zeína (ALI et al., 2014; ZHIJIANG et al., 2017).

Na Figura 10 é apresentado o espectro de FTIR, em modo transmitância, para o PEO em pó.

Figura 10 – Espectro de FTIR para o PEO em pó.



As bandas são características da estrutura do PEO. Em 2880 cm^{-1} é observada uma banda relativa aos estiramentos simétrico e assimétrico das ligações carbono-hidrogênio (C-H). As bandas em 1466 e 1341 cm^{-1} são atribuídas às deformações angulares simétricas do grupo carbono-hidrogênio (C-H₂) no plano e fora do plano, respectivamente. As bandas com menor intensidade em 1279 e 1241 cm^{-1} são atribuídas às deformações angulares assimétricas do grupo carbono-hidrogênio (C-H₂). As bandas em 1096 e 961 cm^{-1} são referentes às

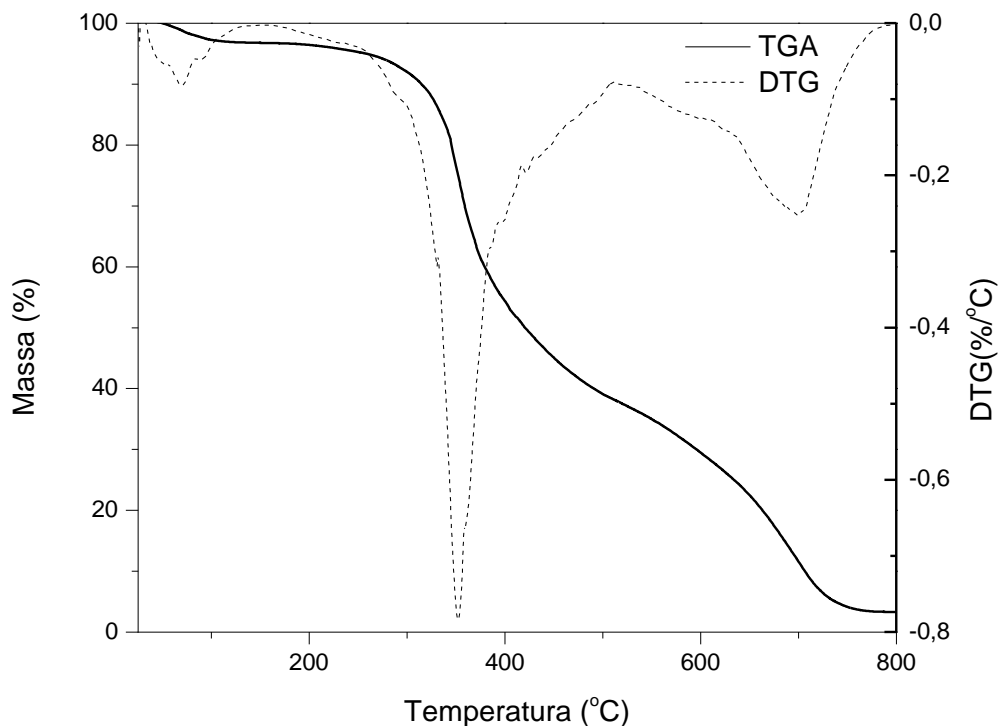
vibrações de estiramento da ligação carbono-oxigênio (C-O) (ABIONA et al., 2010; BAILEY; KOLESKE, 1976; KHENFOUCH et al., 2012).

4.1.2 Análise Térmica

4.1.2.1 Análise Termogravimétrica (TGA)

A Figura 11 apresenta as curvas TG e DTG obtidas para amostra de zeína.

Figura 11 - Curvas TGA e DTG obtidas para zeína em pó, sob atmosfera de N₂.



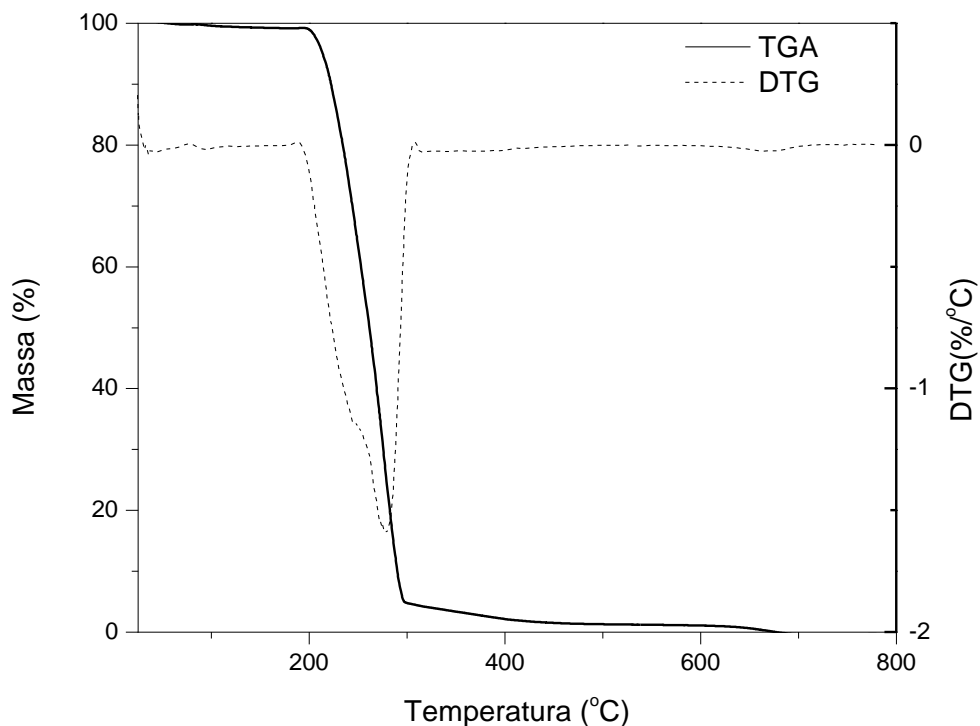
A perda de massa que ocorre entre a temperatura de 25 °C até 120 °C, com pico em torno de 69 °C, refere-se a evaporação de água e componentes voláteis do material. O primeiro estágio de degradação da zeína ocorre entre 260 °C e 510 °C, com pico em 350 °C. Um segundo estágio de degradação é observado entre 510 °C e 730 °C, com pico em 700 °C.

Estes resultados estão de acordo com a literatura (ALMEIDA et al., 2018; GORRASI; VERTUCCIO, 2016; PALIWAL; PALAKURTHI, 2014).

Na primeira etapa de perda de massa (até 120 °C) ocorreu a perda de 4% da massa inicial. Na etapa de degradação, o primeiro estágio de degradação resultou em 58% de perda e o segundo estágio de degradação em 33%.

Na Figura 12 são apresentadas as curvas TG e DTG obtidas para amostra de PEO.

Figura 12 - Curvas TGA e DTG obtidas para PEO em pó, sob atmosfera de N₂.



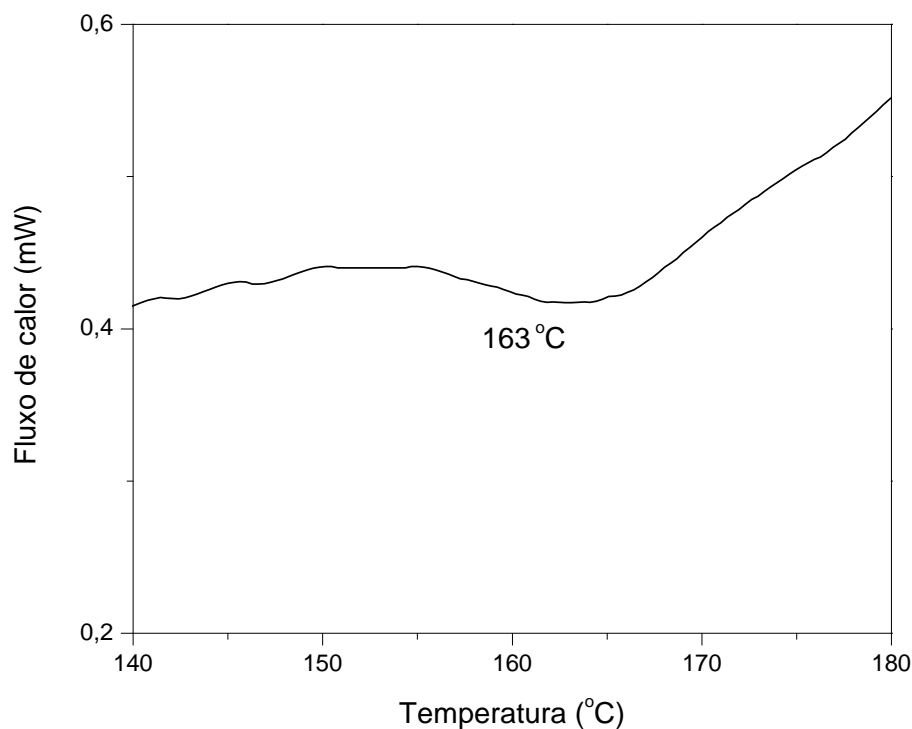
O único estágio de perda de massa observada é correspondente à sua decomposição, que se inicia em 190 °C com o pico máximo em aproximadamente 270 °C. Há um perda de massa de cerca de 98% da amostra nesse intervalo. Os dados encontrados estão de acordo com o relatado na literatura (BAILEY; KOLESKE, 1976; BIZARRIA; D'ÁVILA; MEI, 2014).

Os principais produtos da decomposição do PEO são: álcool etílico, álcool metílico, alcenos, éteres não cíclicos, formaldeído, aldeído acético, óxido de etileno, água, CO e CO₂ (AYDOGDU; SUMNU; SAHIN, 2018).

4.1.2.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

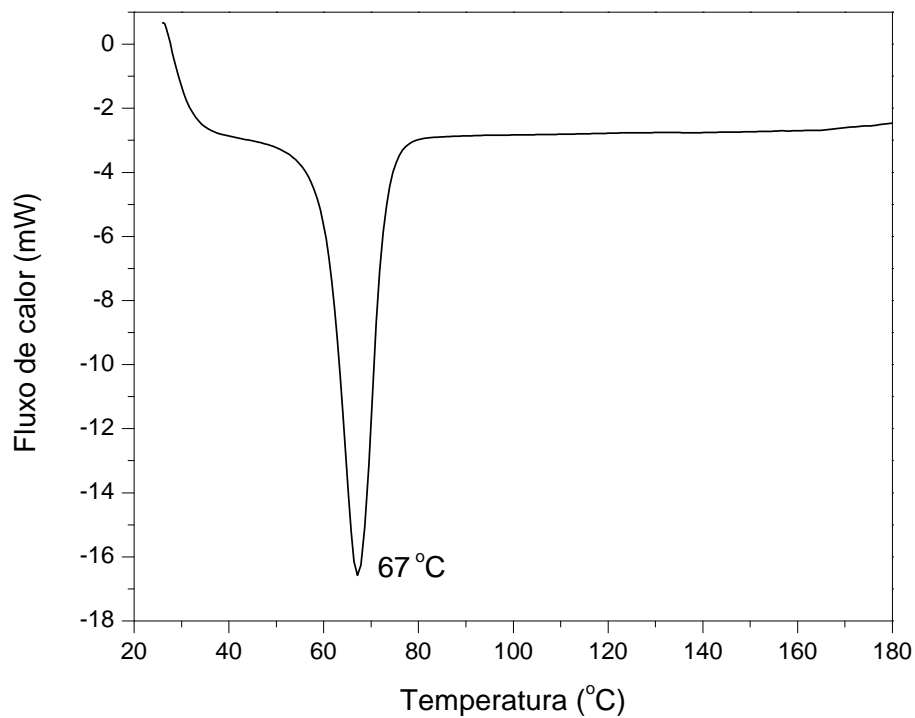
A curva de DSC para zeína é apresentada na Figura 13. A transição em 163 °C é relativa à temperatura de transição vítrea (T_g) da proteína. Isto está em concordância com outros trabalhos e com a característica amorfa da zeína (CORRADINI et al., 2014; DI GIOIA; CUQ; GUILBERT, 1999; PALIWAL; PALAKURTHI, 2014).

Figura 13 – Curva DSC obtida para zeína em pó, sob atmosfera de N_2 .



A curva de DSC do PEO é apresentada na Figura 14. A temperatura de fusão (T_m) é dada pelo pico endotérmico em 67 °C, que é muito próximo do valor dado pelo fornecedor (61,7 - 66,6 °C). Isto está em concordância com outros trabalhos e com a característica cristalina do PEO (BIZARRIA; D'ÁVILA; MEI, 2014; STEFANESCU et al., 2006). A T_g para o PEO não pode ser determinada na análise por DSC, pois o equipamento utilizado não trabalha em temperaturas abaixo da temperatura ambiente. Conforme dados da literatura, PEO com massa molar de 200 kDa apresenta T_g em torno de -50 °C, como mostrado na Figura 5 (BAILEY; KOLESKE, 1976).

Figura 14 – Curva DSC obtida para PEO em pó, sob atmosfera de N₂.



O grau de cristalinidade (χ_c) do PEO foi calculada por meio da Equação:

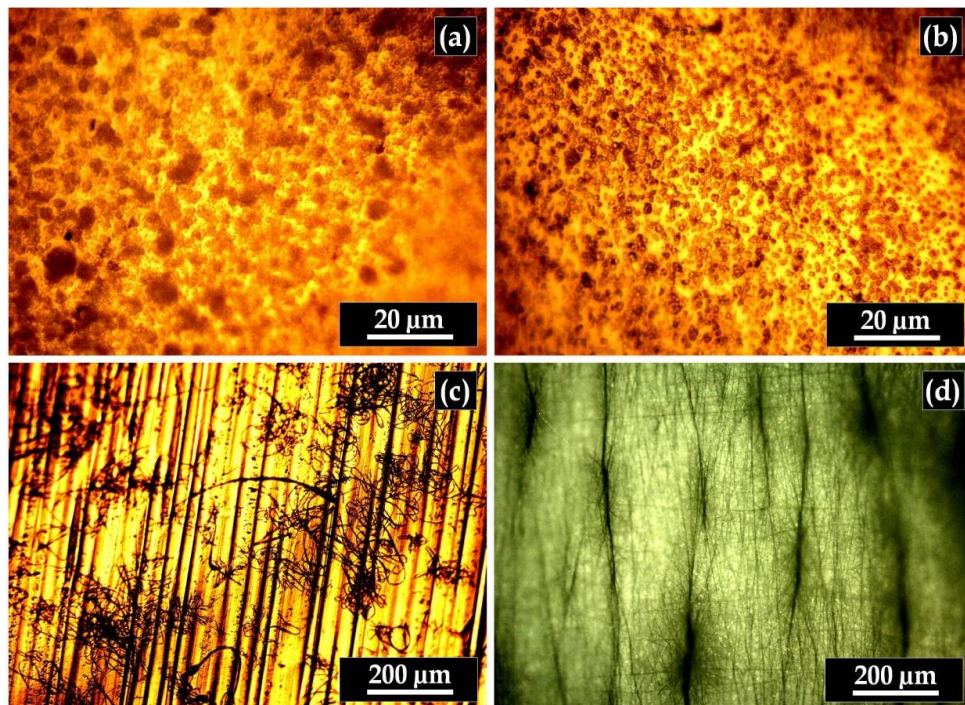
$$\chi_c(\%) = \frac{\Delta H}{\Delta H_c} \times 100\% \quad (1)$$

onde ΔH é a variação da entalpia de fusão da amostra, calculada a partir da área sob o pico de fusão da curva de DSC; ΔH_c é a variação da entalpia de fusão do polímero 100% cristalino (LIN; FREEMAN, 2004). Conforme Burgaz (2011) ΔH_c para o PEO com massa molar de 200 kDa é 196,4 J/g. A área sob o pico de fusão da amostra, apresentada na Figura 14, é de 128,1 J/g, calculada através da função integral. Assim, o grau de cristalinidade do PEO utilizado no presente trabalho é de 65,2%.

4.2 TESTES PRELIMINARES PARA OBTENÇÃO DAS FIBRAS

Na Figura 15 são apresentadas as imagens obtidas por microscopia óptica (MO) das fibras formadas a partir das soluções com concentração de 10 e 30% (m/v) de zeína pura e de 2 e 10% (m/v) de PEO puro dissolvidos em etanol/água na proporção 80:20 (v/v).

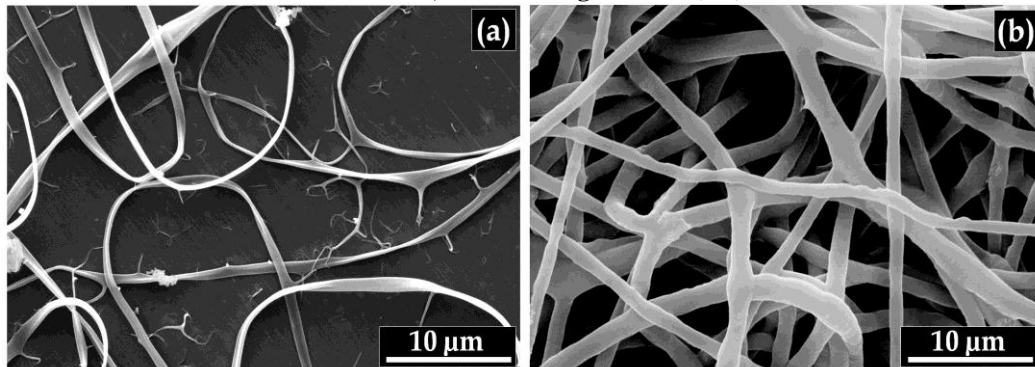
Figura 15 - Imagens de MO das fibras formadas a partir da eletrofição das soluções com concentrações de: (a) 10% de zeína (b) 2% de PEO (c) 30% de zeína (d) 10% de PEO em etanol/água na proporção 80:20 (v/v).



Como pode-se verificar nas imagens (a) e (b) da Figura 15, respectivamente, não ocorreu a formação de fibras na eletrofição da solução de zeína pura na concentração de 10% e da solução de PEO puro a 2%,. Como já mostrado na literatura, em baixos valores de viscosidade não ocorre a formação de fibras. Nesta condição, o jato eletrofiado rompe-se e há formação de gotículas da solução de polímero ou mesmo a formação de *beads*, como demonstrado por Zhang *et al.* (2018) através do diagrama apresentado na Figura 6 (b). Com o aumento da concentração de zeína para 30% e de PEO para 10% foi possível observar a formação de fibras, imagens (c) e (d) da Figura 15, respectivamente.

Na Figura 16 são apresentadas as imagens, obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), do material coletado na eletrofição da solução de zeína a 30% e de PEO a 10%, comprovando a formação de fibras. As fibras de PEO são mais uniformes e espessas (diâmetro médio de $1,3343 \pm 0,2435 \mu\text{m}$), enquanto as de zeína são achatadas (*ribbons* ou fitas) e finas (diâmetro médio de $0,7245 \pm 0,1555 \mu\text{m}$). Em soluções com concentração mais elevada a evaporação do solvente se torna mais difícil, assim as fibras se chocam com coletor ainda úmidas e achatam-se, como observado para as fibras de zeína. Estes resultados estão de acordo com os relatados por Zhang *et al.* (2018) por meio do diagrama apresentado na Figura 6 (b). Outra observação pertinente se refere ao rendimento do processo, ou seja, a quantidade de fibra formada em um determinado intervalo de tempo. A eletrofição da solução de zeína a 30% apresentou um baixo rendimento na produção de fibras quando comparada com a solução de PEO puro a 10%.

Figura 16 - Imagens obtidas por MEV das fibras eletrofiadas a partir das soluções de (a) zeína a 30% e (b) PEO a 10%, em etanol/água 80/20 (v/v).

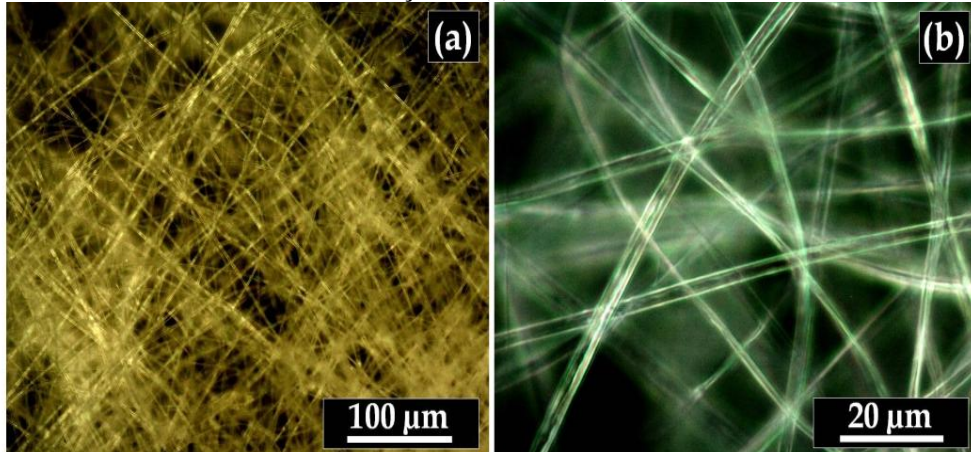


Na Figura 17 são apresentadas as imagens de MO das fibras eletrofiadas a partir da mistura das soluções de (a) zeína 10% e PEO 10%, obtendo-se uma concentração polímero:solvente de 10% (m/v) e (b) zeína 30% e PEO 2%, obtendo-se uma concentração polímero:solvente de 20% (m/v) da blenda zeína/PEO 2/1 (v/v). Para a concentração de 10% (m/v) não ocorreu a formação de fibras quando eletrofiadas a 10 kV de tensão elétrica aplicada, 10 cm de distância agulha-coletor e fluxo de 0,2 mL/h.

Foi verificado que na concentração de 23% (m/v), obtida pela mistura de zeína 30% e PEO 10%, na proporção de 2/1 (v/v), o processo de eletrofição se mostrou de difícil controle, pois soluções muito viscosas provocam o entupimento da agulha. Na concentração

de 7,3% (m/v), obtida pela mistura de zeína 10% e PEO 2%, na proporção de 2/1 (v/v), não ocorre a formação de fibras, devido a viscosidade ser muito baixa.

Figura 17 - Imagens de MO das fibras eletrofiadas a partir das soluções da blenda zeína/PEO na concentração de (a) 10% e (b) 20%.



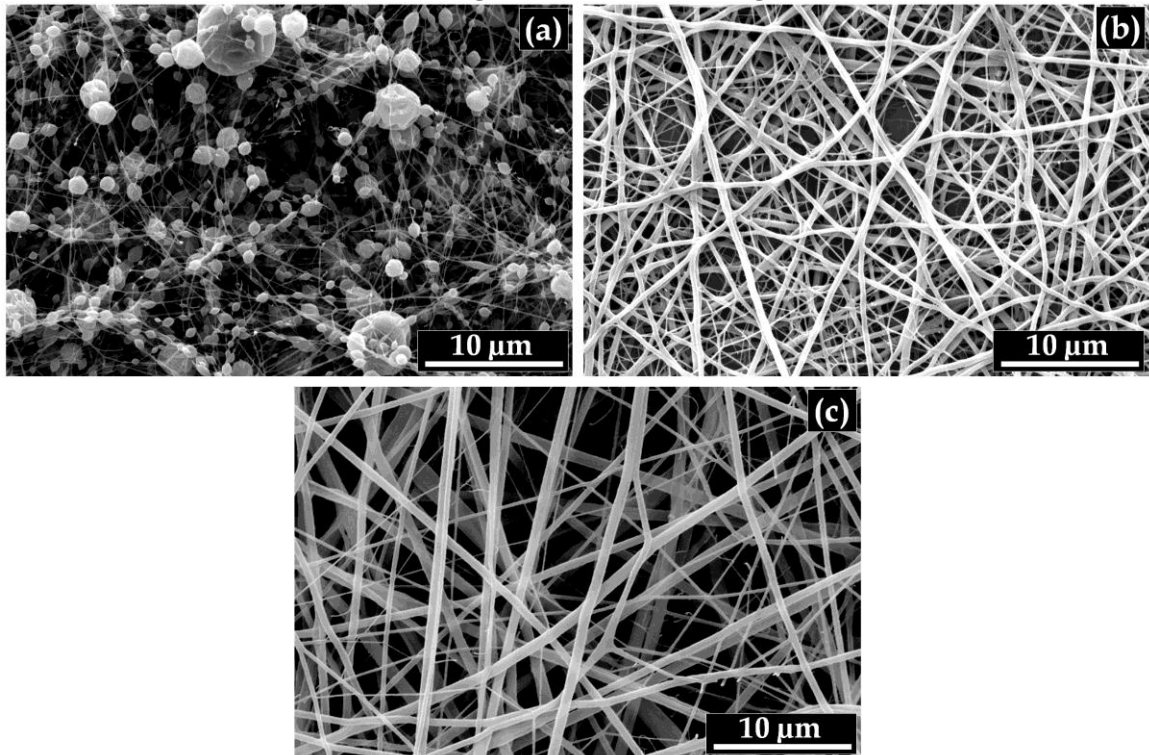
A partir desses resultados, foi definida como condição de trabalho a concentração mínima da solução zeína/PEO em 15% (m/v) massa de polímero/volume de solvente, sendo esta a média das concentrações das soluções precursoras que formaram fibras.

O efeito do solvente DMF e das misturas de solventes ácido acético/água (80:20) (v/v) e etanol/água (80:20) (v/v) na formação das fibras, foi investigado a partir de soluções de zeína e PEO na concentração de 15% (m/v) polímero:solvente. A proporção de zeína/PEO foi mantida em 80/20 (m/m). As soluções foram eletrofiadas a 14 kV de tensão, 14 cm de distância de trabalho e fluxo de 0,6 mL/h. As imagens obtidas por MEV para os três tipos de solventes estão mostradas na Figura 18.

Como pode ser observado na Figura 18 (a), não houve formação de fibras contínuas e houve ocorrência de muitos *beads* com a utilização de DMF como solvente. O ponto de ebulição do DMF é o mais alto entre os três solventes estudados, assim, provavelmente, em tensões mais elevadas e maiores distâncias de trabalho do que as utilizadas nesse trabalho, ocorreria a formação de fibras mais uniformes (SON et al., 2004). Observa-se a formação de fibras bem definidas ao se eletrofiar a solução de zeína/PEO em ácido acético/água (80:20) (v/v) e etanol/água (80:20) (v/v), Figura 18 (b) e (c) respectivamente. Porém, utilizando etanol/água como solvente há formação de fibras mais achatadas (*ribbons*) em comparação com as formadas com ácido acético/água. No caso do solvente etanol/água, além

das fibras se chocam com o coletor ainda úmidas, provocando sua deformação, o achatamento das fibras se deve também ao efeito do solvente na agregação da zeína. Esse resultado também foi relatado por Li *et al.* (2013) e Zhang *et al.* (2018).

Figura 18 - Imagens obtidas por MEV das fibras eletrofiadas a partir de soluções zeína/PEO em (a) DMF (b) ácido acético/água (80:20) e (c) etanol/água (80:20).



Levando em conta a toxicidade do solvente, por segurança de processo e também por futuras aplicações biomédicas das fibras zeína/PEO, optou-se pela utilização de etanol/água como solvente para o estudo das variáveis de processo e de solução.

4.3 ANÁLISE REOLÓGICA DAS SOLUÇÕES POLIMÉRICAS

Uma das propriedades importantes da solução no processo de eletrofiação é a viscosidade. Afim de conhecer o comportamento reológico e, com isso, determinar a viscosidade das soluções obteve-se curvas de tensão de cisalhamento *versus* taxa de

cisalhamento para oito soluções, na concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), com 0, 2, 10, 20, 30, 42, 82 e 100% de PEO na blenda zeína/PEO, como apresentado na Figura 19.

Analisando o comportamento reológico das soluções da Figura 19, nota-se que todas as curvas se iniciam em zero, ou seja, não necessitam de uma tensão inicial para escoar. Assim, matematicamente, é possível ajustar a relação tensão de cisalhamento (τ) *versus* taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) através da equação de Lei das Potências, dada na Equação (2):

$$\tau = k * \dot{\gamma}^n \quad (2)$$

onde k é o índice de consistência ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$) e n é o índice de comportamento do fluxo. A partir do ajuste das curvas com a equação, utilizando *software* OriginPro 8.5, encontrou-se os valores de k e n para cada solução, os valores encontrados estão apresentados na Tabela 1 (AYDOGDU; SUMNU; SAHIN, 2018; SCHRAMM, 1994).

Figura 19 - Curvas de tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento para soluções com: (a) 0 e 2% de PEO; (b) 10, 20, 30 e 42% de PEO; (c) 82 e 100% de PEO na blenda zeína/PEO em etanol/água (80/20) (v/v).

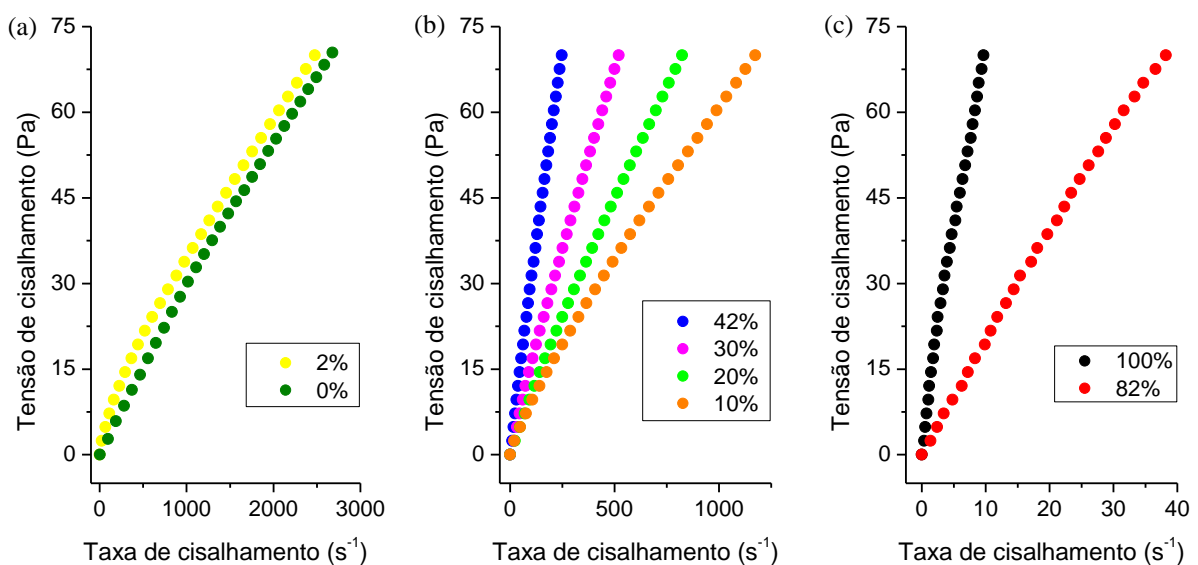


Tabela 1 - Valores de k, n e R² para as soluções com diferentes teores de PEO ajustadas a Lei das Potências.

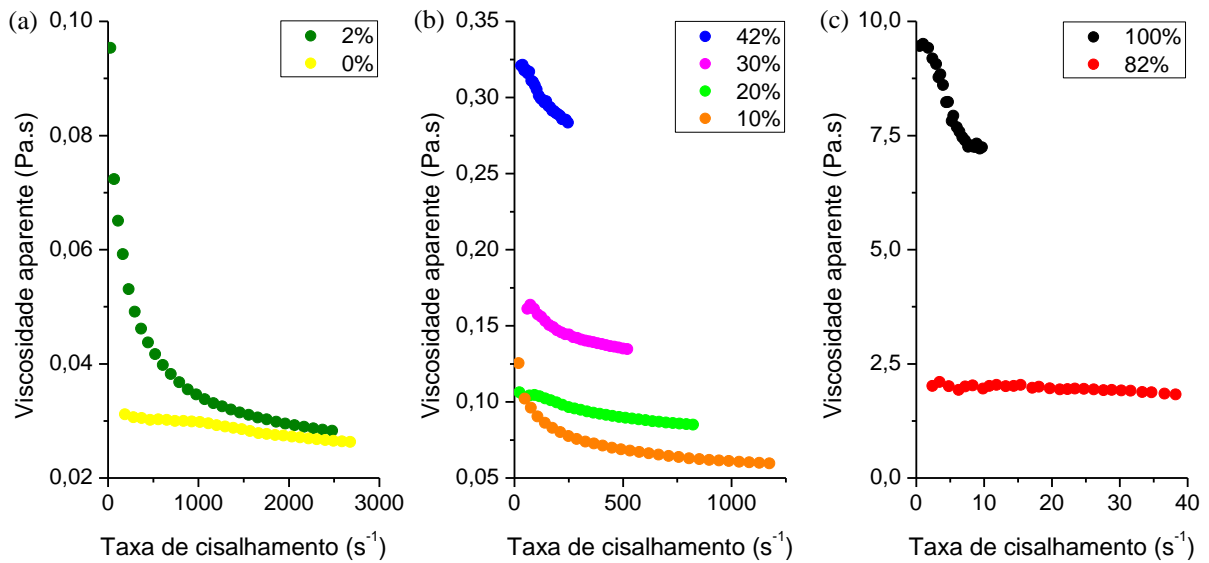
% PEO	k (Pa.sⁿ)	n	R²
0	0,0609 ± 0,0026	0,8944 ± 0,0056	0,9995
2	0,1909 ± 0,0069	0,7539 ± 0,0049	0,9995
10	0,1997 ± 0,0021	0,8282 ± 0,0015	0,9999
20	0,1722 ± 0,0024	0,8949 ± 0,0022	0,9999
30	0,2371 ± 0,0047	0,9096 ± 0,0033	0,9998
42	0,4216 ± 0,0089	0,9286 ± 0,0041	0,9997
82	2,3833 ± 0,0610	0,9334 ± 0,0078	0,9991
100	10,6854 ± 0,2081	0,8211 ± 0,0100	0,9980

Todas as curvas ajustadas a Equação (2) apresentaram coeficiente de determinação (R²) maior que 0,99, mostrando que os dados podem ser explicados pelo modelo dado na Equação 2. Os valores de k se relacionam diretamente com a viscosidade do meio (SCHRAMM, 1994). Assim, valores de k aumentam com o aumento do teor de PEO na blenda zeína/PEO. Os valores de n encontrados para as oito soluções foram menores que 1, caracterizando um comportamento não newtoniano pseudoplástico, como é observado para a maioria das soluções poliméricas, nas quais ocorre a diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento (BILLMEYER JR, 1984; CUI et al., 2015; PITTARATE et al., 2011). Não houve uma relação entre o teor de PEO e o valor de n.

A partir dos dados fornecidos pelo ensaios reológicos, também foram geradas curvas de viscosidade aparente (η) por taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) para cada solução, apresentadas na Figura 20.

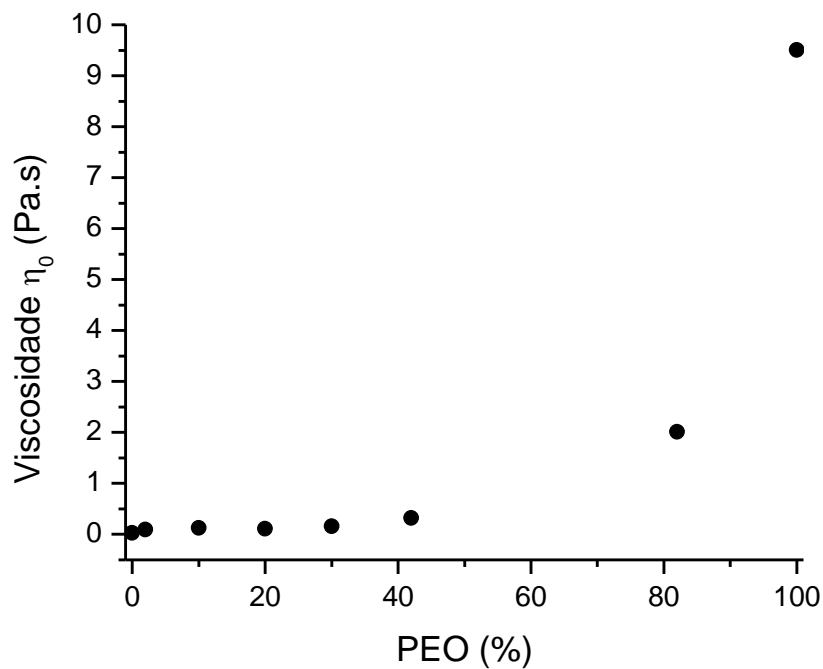
Os fluidos com comportamento não newtoniano pseudoplástico apresentam uma diminuição da viscosidade aparente com aumento da taxa de cisalhamento, como pode ser observado na Figura 20. No entanto, para a solução com 82% de PEO a viscosidade aparente é praticamente constante, esse comportamento é característico para fluidos newtonianos. Essa observação pode ser associada com o valor de n (Tabela 1), ou seja, valores de n iguais a 1 caracterizam fluidos newtonianos, assim a solução com teor de PEO de 82% apresentou valor de n próximo à 1, então é a solução que apresenta comportamento mais próximo do newtoniano.

Figura 20 - Curvas de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento para soluções com: (a) 0 e 2% de PEO; (b) 10, 20, 30 e 42% de PEO; (c) 82 e 100% de PEO na blenda zeína/PEO em etanol/água (80/20) (v/v).



A viscosidade aparente η_0 foi determinada pelo primeiro valor não nulo apontado pelo equipamento na medida realizada. A Figura 21 apresenta a viscosidade η_0 em função do teor de PEO na blenda das soluções de zeína/PEO.

Figura 21 - Gráfico da viscosidade η_0 em função do teor de PEO na blenda zeína/PEO.



Como esperado, o aumento do teor de PEO na blenda zeína/PEO promove a elevação na viscosidade da solução. Este fato pode ser explicado pela massa molar relativa a cada polímero que constitui a solução, uma vez que o solvente era o mesmo para todas as soluções. A zeína tem massa molar de 40 kDa enquanto o PEO de 200 kDa. O PEO apresenta massa molar significativamente maior que zeína, assim apresenta maior contribuição para a viscosidade da solução. Esse fato é importante para o processo de eletrofição, uma vez que soluções com baixa viscosidade não formam fibras e soluções com viscosidade elevadas dificultam a eletrofição (ACEVEDO et al., 2018).

Conforme Zhang *et al.* (2018), apresentado no diagrama da Figura 6 (b), a viscosidade para formação de fibras por meio do processo de eletrofição da blenda zeína/PEO em etanol/água (80/20) (v/v) ocorre entre 0,03 a 1,5 Pa.s. As soluções da blenda zeína/PEO utilizadas no presente trabalho estão próximas à essa faixa, como pode ser verificado na Figura 21.

4.4 ESTUDO DAS VARIÁVEIS DE PROCESSO E DE SOLUÇÃO

Com o intuito de avaliar a influência dos parâmetros teor de PEO, tensão elétrica aplicada, distância de trabalho e fluxo sobre o diâmetro médio das fibras e o rendimento do processo de eletrofição foi realizado o planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} , no qual se avaliou simultaneamente 4 variáveis (cada uma em dois níveis) resultando em 8 experimentos. Na verdade, foram realizados dois planejamentos fatoriais fracionários 2^{4-1} . O primeiro com teor de PEO na blenda variando entre 10 e 30% e o segundo com teor de PEO na blenda variando entre 2 e 82%. Assim, o segundo planejamento foi realizado afim de complementar os resultados obtidos no primeiro planejamento. As soluções eletrofiadas apresentavam concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v).

4.4.1 Teor de PEO na blenda zeína/PEO fixado em 10, 20 ou 30%

Nesse primeiro planejamento o teor de PEO na blenda zeína/PEO foi fixado em 10, 20 ou 30%. Os experimentos gerados por esse planejamento, com base nos dados

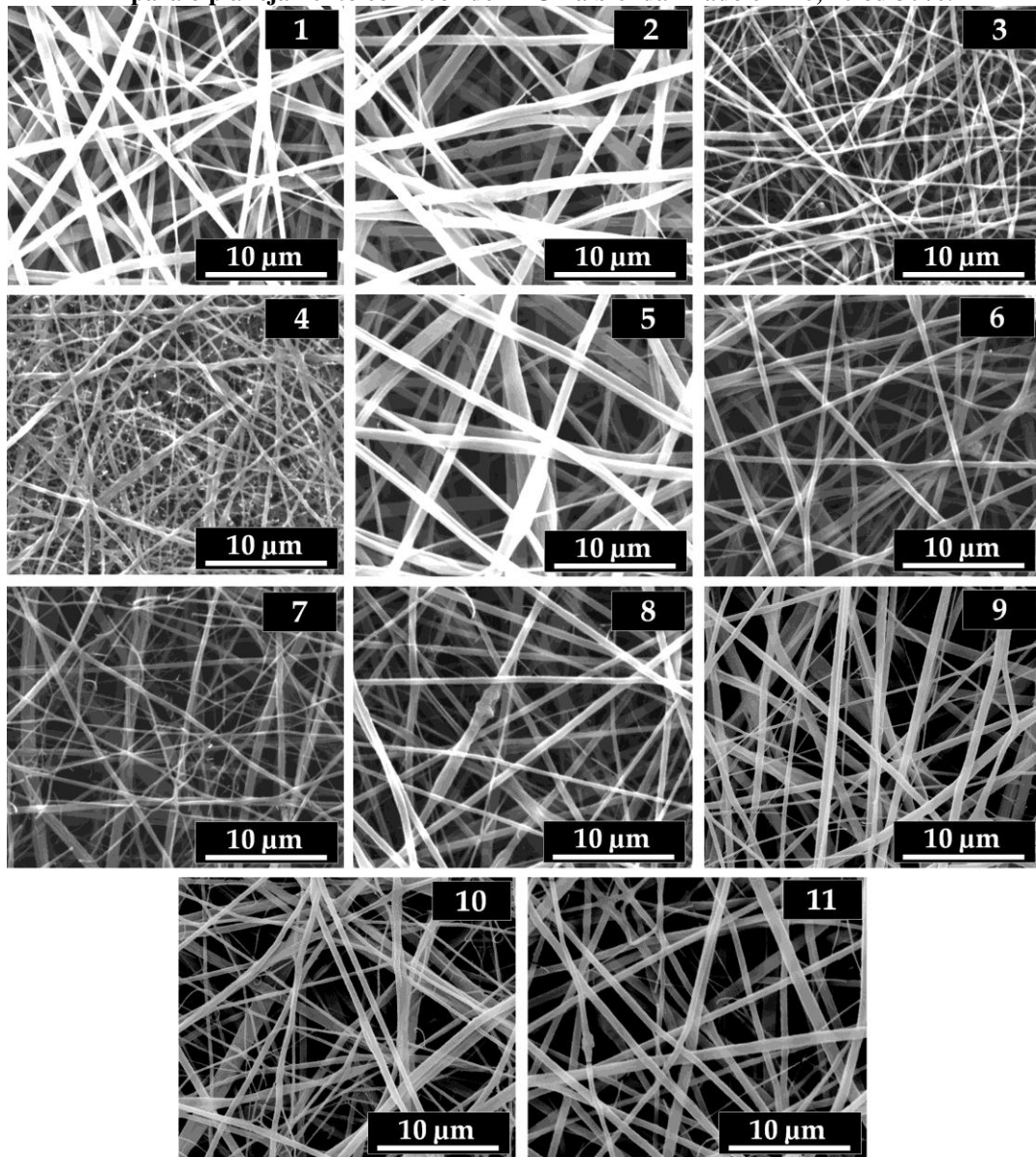
apresentados no Quadro 2 para preparo das soluções seguida da eletrofiação, são mostrados na Tabela 2. O ponto central foi feito em triplicata e corresponde aos experimentos 9, 10 e 11.

Tabela 2 - Valores dos parâmetros utilizados nos experimentos gerados por planejamento fracionário 2^{4-1} , com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.

EXPERIMENTO	Teor de PEO (%)	Tensão (kV)	Distância de trabalho (cm)	Fluxo (mL/h)
1	10	10	10	0,20
2	30	10	10	1,00
3	10	18	10	1,00
4	30	18	10	0,20
5	10	10	18	1,00
6	30	10	18	0,20
7	10	18	18	0,20
8	30	18	18	1,00
9	20	14	14	0,60
10	20	14	14	0,60
11	20	14	14	0,60

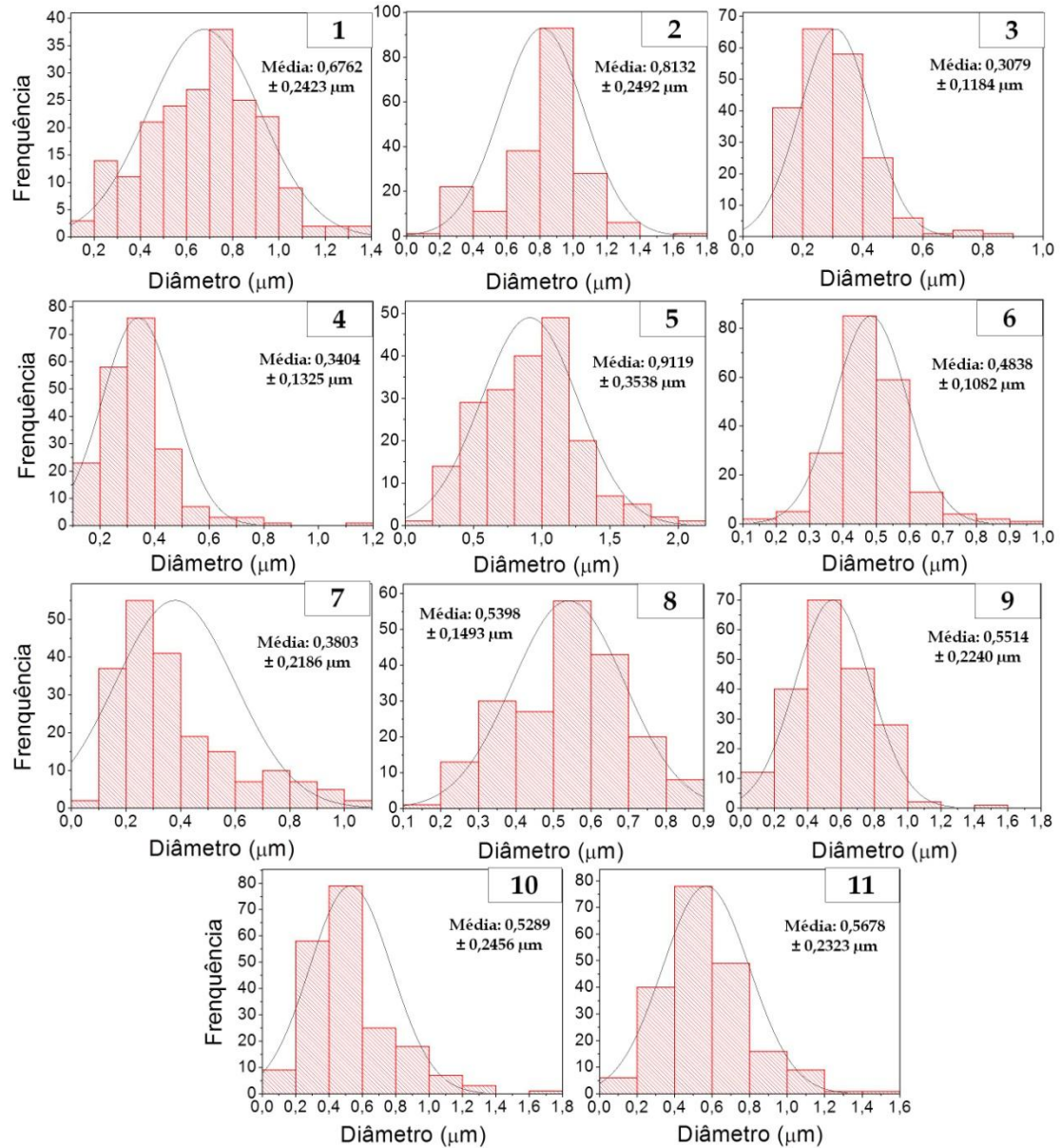
As imagens de MEV das fibras obtidas nos experimentos mostrados na Tabela 2 são apresentadas na Figura 22.

Figura 22 - Imagens obtidas por MEV das fibras coletadas na eletrofição a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20), nas condições dos experimentos de 1 a 11 (Tabela 2), para o planejamento com teor de PEO na blenda fixado em 10, 20 ou 30%.



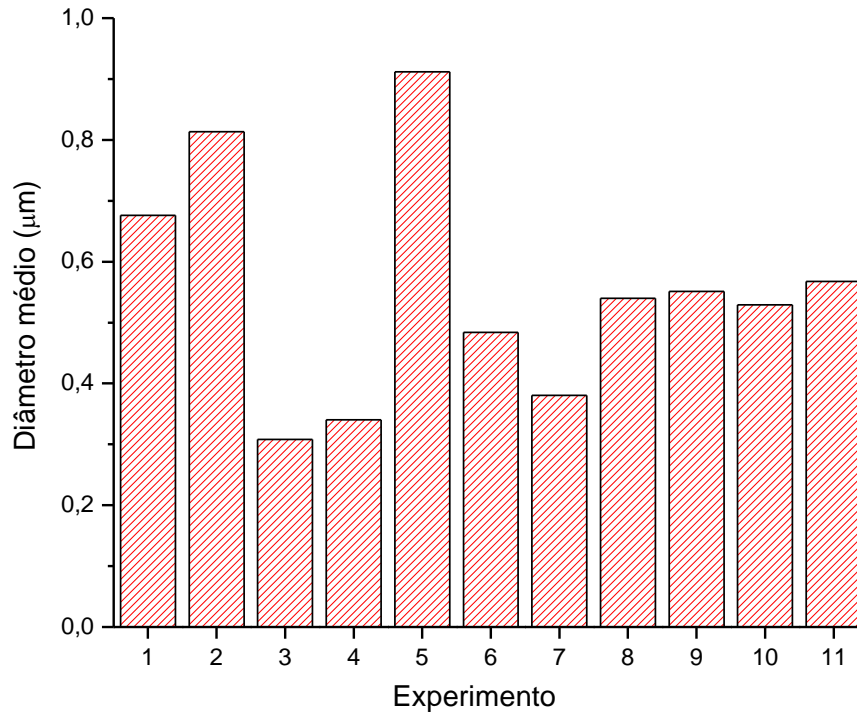
A distribuição de diâmetros das fibras, apresentada em forma de histograma, e sua respectiva média e desvio padrão para cada um dos experimentos mostrados na Tabela 2 são apresentados na Figura 23. Foram feitas 100 medidas de diâmetro em duas regiões diferentes de cada fibra, totalizando 200 medidas.

Figura 23 - Histogramas de distribuição de diâmetros das fibras obtidas na eletrofição dos experimentos de 1 a 11 (Tabela 2), conforme respectiva numeração (1) a (11), para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.



Na Figura 24 são apresentados os valores de diâmetro médio das fibras obtidas nos experimentos de 1 a 11, com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.

Figura 24 - Diâmetro médio das fibras obtidas nos experimentos de 1 a 11 (Tabela 2), para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.



Como pode ser observado na Figura 24, todas as fibras obtidas apresentam diâmetro médio menor que 1 µm. As fibras que apresentaram menor diâmetro médio foram as obtidas no experimento 3 com diâmetro médio de $0,3079 \pm 0,1184$ µm, com teor de PEO na blenda de 10% e eletrofiada a 18 kV, taxa de injeção (ou fluxo) de 1,0 mL/h e distância de trabalho de 10 cm. As que apresentaram maior valor de diâmetro médio foi as obtidas no experimento 5 com diâmetro médio de $0,9119 \pm 0,3538$ µm, com teor de PEO na blenda de 10% e eletrofiada a distancia de trabalho de 18 cm, tensão aplicada de 10 kV e fluxo de 1,0 mL/h. Comparando os valores de diâmetro médio desses dois experimentos e relacionando com o efeito dos parâmetros utilizados, observa-se que o aumento da tensão provoca diminuição no diâmetro médio de maneira significativa, conforme previsto na literatura e apresentado no Quadro 1.

Apesar das Figuras 22, 23 e 24 mostrarem os resultados obtidos em cada experimento do planejamento fracionado, a análise dos efeitos de cada parâmetro no diâmetro médio das fibras foi realizada de forma qualitativa. Uma análise quantitativa dos efeitos dos parâmetros pode ser feita baseando-se em fundamentos estatísticos e utilizando cálculos

adequados. Para isso, utilizamos neste trabalho o *software* Design-Expert® 7.0.0. Foi verificado que os parâmetros teor de PEO na blenda, tensão aplicada, distância de trabalho e fluxo contribuem, respectivamente, para a variação do diâmetro médio das fibras com 0,35%, 61,47%, 1,12% e 16,98%. Dessa forma, nota-se que o teor de PEO e a distância de trabalho são fatores que apresentam pouca significância no controle do diâmetro de fibras, porém não podem ser desconsiderados, uma vez que a interação entre esses fatores com os demais é significativa para o modelo, conclusão esta que pode ser comprovada por meio da análise de variância (ANOVA). Na Tabela 3 são apresentados os dados de ANOVA para a resposta diâmetro médio.

Tabela 3 - ANOVA obtida para a resposta diâmetro médio, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	Valor-p
Modelo	0,35	7	0,050	131,71	0,0076
A - Teor de PEO	$1,228 \times 10^{-3}$	1	$1,228 \times 10^{-3}$	3,22	0,2147
B - Tensão	0,22	1	0,22	568,20	0,0018
C - Distância de trabalho	$3,965 \times 10^{-3}$	1	$3,965 \times 10^{-3}$	10,40	0,0842
D - Fluxo	0,060	1	0,060	156,99	0,0063
AB	0,029	1	0,029	76,49	0,0128
AC	0,024	1	0,024	62,90	0,0155
AD	0,017	1	0,017	43,78	0,0221
Curvatura	$1,169 \times 10^{-4}$	1	$1,169 \times 10^{-4}$	0,31	0,6354
Erro Puro	$7,628 \times 10^{-4}$	2	$3,814 \times 10^{-4}$		
Total	0,35	10			

Ao analisar os resultados da Tabela 3 foi possível observar que o modelo proposto, apresentado na Equação (3), é significativo visto que o valor-p é 0,0076, portanto menor que 0,05, e o coeficiente de determinação (R^2) 0,9978.

$$\begin{aligned} \text{Diâmetro médio } (\mu\text{m}) = & 0,56 - 0,012 A - 0,16 B + 0,022 C + 0,087 D + \\ & 0,060 AB - 0,055 AC + 0,046 AD \end{aligned} \quad (3)$$

Como discutido anteriormente, os parâmetros significativos são a tensão aplicada e o fluxo, visto que os valores-p para estes fatores são menores que 0,05. As interações entre teor de PEO e tensão, teor de PEO e distância de trabalho e teor de PEO e fluxo são significativas pois cujos valores-p são menores que 0,05, assim os quatro parâmetros estudados devem ser considerados no modelo (Equação 3).

O modelamento matemático proposto pela Equação (3) considera os parâmetros preponderantes para prever matematicamente o diâmetro de fibra, os sinais positivos e negativos estão relacionados com o tipo de efeito sobre o diâmetro médio, o que pode ser observado também pelas superfícies de resposta, apresentadas nas Figuras 25, 26 e 27.

Figura 25 - Gráfico de superfície de resposta indicando o diâmetro de fibra em função do teor de PEO e da tensão, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.

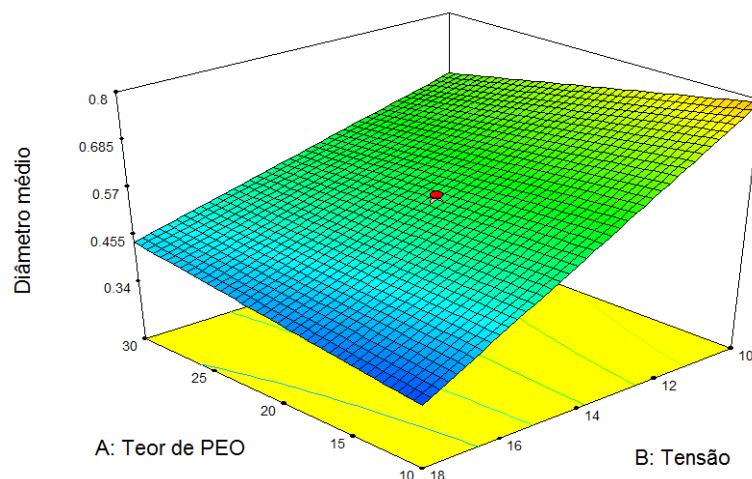


Figura 26 - Gráfico de superfície de resposta indicando o diâmetro de fibra em função do teor de PEO e da distância de trabalho, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.

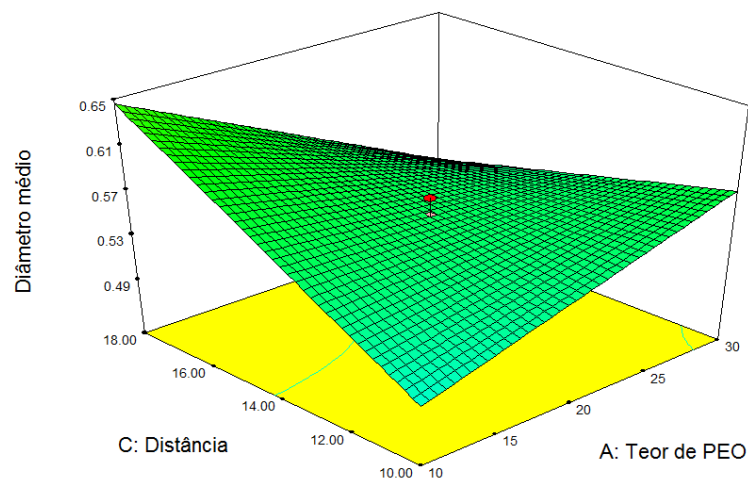
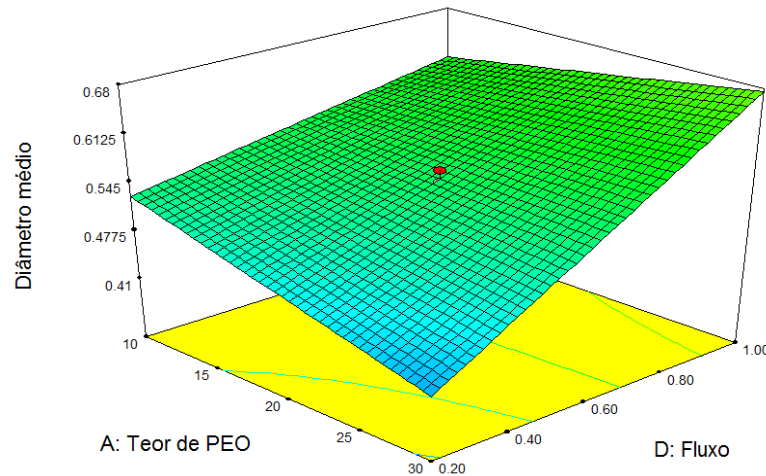


Figura 27 - Gráfico de superfície de resposta indicando o diâmetro de fibra em função do teor de PEO e do fluxo, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.



O efeito da variação do teor de PEO de 10 para 30% não mostrou ser significativo para alterar a resposta diâmetro médio das fibras. Para analisar melhor a influência desse parâmetro, foi feito um novo planejamento com níveis de teor de PEO de 2 e 82% na blenda zeína/PEO, na concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), apresentado no item 4.4.2.

Como o rendimento é um dos parâmetros mais importantes de produção de fibras em escala industrial, assim o estudo dos fatores que o influenciam se torna relevante. A resposta rendimento do processo, apresentada na Tabela 4, variou entre 11,4 mg/mL e 34,20 mg/mL, nas condições de teor de PEO de 30%, 18 kV, 10 cm e 0,20 mL/h, e teor de PEO de 30%, 10 kV, 10 cm e 1,0 mL/h, respectivamente.

A contribuição do teor de PEO, tensão aplicada, distância de trabalho e fluxo no rendimento do processo foi de 10,03%, 28,65%, 2,35% e 2,89%, respectivamente. Dessa forma, nota-se que a distância de trabalho e o fluxo são parâmetros que apresentam pouca contribuição, enquanto a tensão é a mais significativa. O fluxo não pode ser desconsiderado do modelo, uma vez que sua interação com teor de PEO apresenta um efeito de 35,51% no rendimento. A interação teor de PEO e distância de trabalho também foi desconsiderada do modelo, pois seu efeito sobre o rendimento foi de 1,92%. Os dados da ANOVA para rendimento efetuadas a partir do planejamento fatorial 2^{4-1} são apresentados na Tabela 5.

Tabela 4 - Rendimento da técnica de eletrofição para os experimentos de 1 a 11 (Tabela 2), para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 e 30%.

EXPERIMENTO	Rendimento (mg/mL)
1	33,00
2	34,20
3	25,00
4	11,40
5	27,40
6	27,75
7	31,00
8	25,80
9	27,00
10	31,30
11	28,00

Tabela 5 - ANOVA obtida para a resposta rendimento, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	Valor-p
Modelo	337,50	5	67,50	10,40	0,0208
A - Teor de PEO	37,20	1	37,20	5,73	0,0749
B - Tensão	106,22	1	106,22	16,36	0,0155
D - Fluxo	10,70	1	10,70	1,65	0,2686
AB	51,77	1	51,77	7,97	0,0476
AD	131,63	1	131,63	20,28	0,0108
Curvatura	7,25	1	7,25	1,12	0,3502
Falta de ajuste	15,84	2	7,92	1,56	0,3900
Erro Puro	10,13	2	5,06		
Total	370,71	10			

Ao analisar os resultados da Tabela 5 foi possível observar que o modelo proposto, apresentado na Equação (4), é significativo visto que o valor-p é menor que 0,05 e o coeficiente de determinação (R^2) 0,9286.

$$\begin{aligned} \text{Rendimento (mg/mL)} = & 26,94 - 2,16 A - 3,64 B + 1,16 D - 2,54 AB \\ & + 4,06 AD \end{aligned} \quad (4)$$

Analisando a ANOVA, o parâmetro significativo é a tensão aplicada, a interação entre o teor de PEO e a tensão aplicada e a interação entre o teor de PEO e o fluxo, visto que o valor-p para este fator é menor que 0,05. O teor de PEO e o fluxo não se mostraram significantes para o modelo. A falta de ajuste não foi significativa, visto que o valor-p é maior que 0,05, isso indica que o modelo se ajusta aos dados.

Nas Figuras 28 e 29 são apresentadas as superfícies de resposta geradas para o planejamento fatorial 2^{4-1} do rendimento em função das variáveis.

Figura 28 - Gráfico de superfície de resposta indicando o rendimento em função da tensão e do teor de PEO, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.

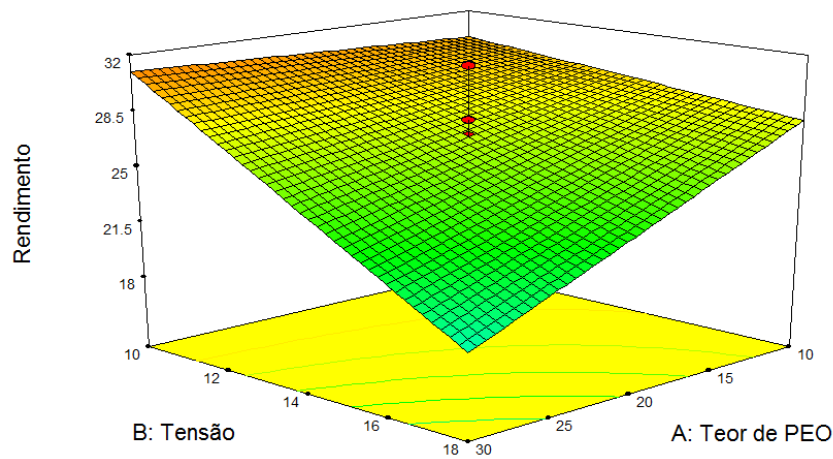
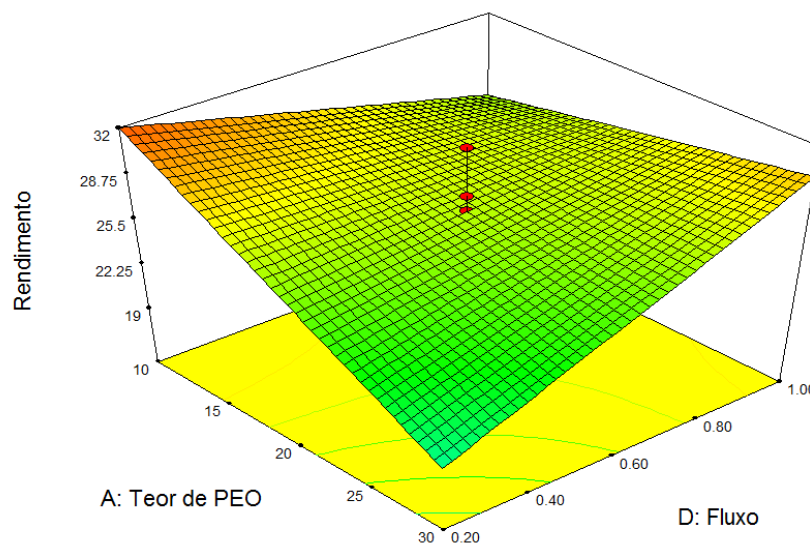


Figura 29 - Gráfico de superfície de resposta indicando o rendimento em função do teor de PEO e do fluxo, para o planejamento com teor de PEO fixado em 10, 20 ou 30%.



Como pode ser observado a partir da Figura 28, a tensão é inversamente proporcional ao rendimento do processo, ou seja, ao aumentar-se a tensão aplicada há diminuição na quantidade de fibra depositada no coletor para um determinado volume de solução injetada.

4.4.2 Teor de PEO na blenda PEO/zeína fixado em 2, 42 ou 82%

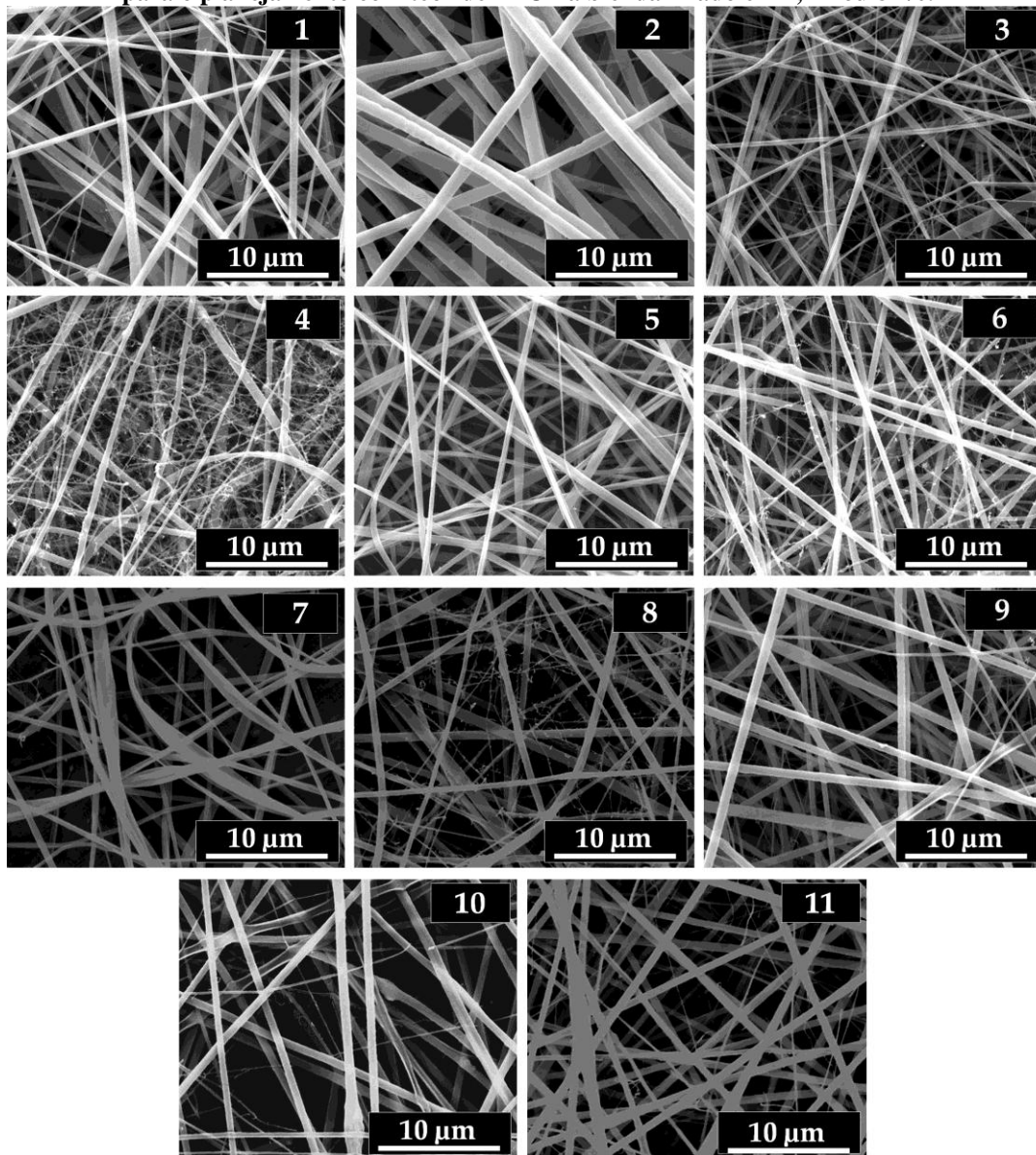
No segundo planejamento realizado o teor de PEO na blenda zeína/ foi fixado em 2, 42 ou 82%. Os valores dos níveis fixados para experimentos gerados por esse planejamento tiveram como base os dados apresentados no Quadro 3. As condições da solução e de processo utilizadas dos experimentos deste planejamento são mostradas na Tabela 6. O ponto central foi feito em triplicata e corresponde aos experimentos 9, 10 e 11.

Tabela 6 - Valores dos parâmetros utilizados nos experimentos gerados por planejamento fracionário 2^{4-1} , com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%

EXPERIMENTO	Teor de PEO (%)	Tensão (kV)	Distância de trabalho (cm)	Fluxo (mL/h)
1	2	10	10	0,20
2	82	10	10	1,00
3	2	18	10	1,00
4	82	18	10	0,20
5	2	10	18	1,00
6	82	10	18	0,20
7	2	18	18	0,20
8	82	18	18	1,00
9	42	14	14	0,60
10	42	14	14	0,60
11	42	14	14	0,60

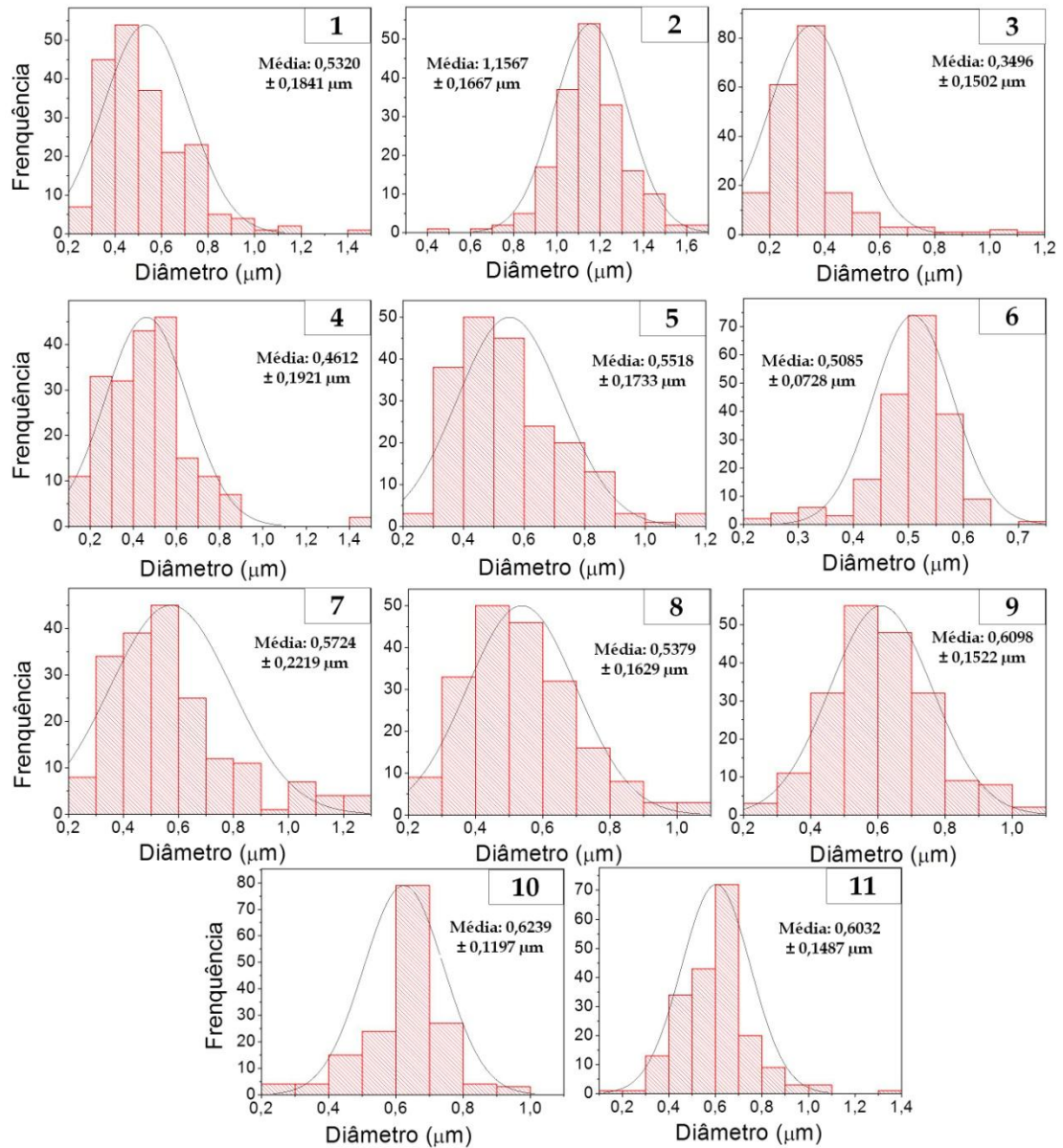
As imagens de MEV das fibras obtidas nos experimentos mostrados na Tabela 6 são apresentadas na Figura 30.

Figura 30 - Imagens obtidas por MEV das fibras coletadas na eletrofição a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20), nas condições dos experimentos de 1 a 11, (Tabela 6), para o planejamento com teor de PEO na blenda fixado em 2, 42 ou 82%.



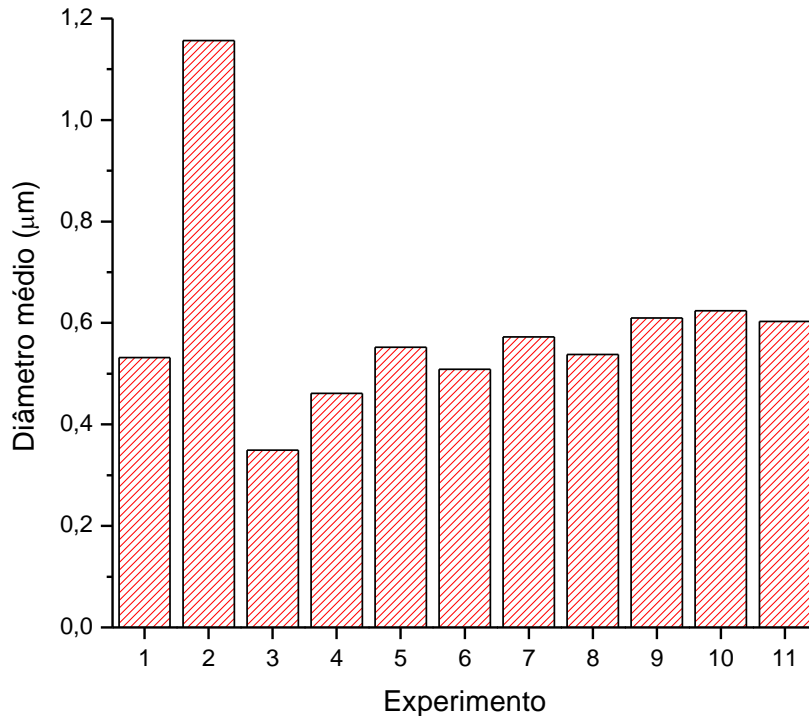
Os histogramas de distribuição de diâmetros das fibras, obtidas nos experimentos (Tabela 6), com suas respectivas médias e desvios padrões são apresentadas na Figura 31.

Figura 31 - Histogramas de distribuição de diâmetros das fibras obtidas na eletrofição dos experimentos de 1 a 11, conforme respectiva numeração (1) a (11) (Tabela 6), para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.



Na Figura 32 são apresentados os valores de diâmetros médios das fibras obtidas nos experimentos de 1 a 11, com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.

Figura 32 - Diâmetro médio das fibras obtidas nos experimentos de 1 a 11 (Tabela 6), para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.



Como pode ser observado na Figura 32, as fibras que apresentaram menores diâmetros foram as obtidas no experimento 3 com média de $0,3496 \pm 0,1502 \mu\text{m}$, com teor de PEO de 2% e eletrofiadas a 18 kV, com distância de trabalho de 10 cm e fluxo de 1,0 mL/h. As fibras de maiores diâmetros foram as obtidas no experimento 2 com média de $1,1567 \pm 0,1667 \mu\text{m}$, com teor de PEO de 82% e eletrofiadas a 10 kV, com distância de trabalho de 10 cm e fluxo de 1,0 mL/h.

Como realizado no planejamento anteriormente apresentado, em que o teor de PEO foi variado na faixa de 10 a 30%, neste novo planejamento as respostas diâmetro médio das fibras e rendimento foram analisadas utilizando o *software* Design-Expert® 7.0.0.

Neste planejamento, a contribuição do teor de PEO, tensão aplicada, distância de trabalho e fluxo na variação do diâmetro de fibra foi de 13,17%, 20,81%, 3,28% e 8,27%, respectivamente. O fator de menor contribuição foi a distância de trabalho, porém não pode ser desconsiderada, uma vez que a interação entre teor de PEO e distância de trabalho apresentou contribuição elevada (20,12%). A interação entre teor de PEO e tensão aplicada apresentou contribuição de 7,72% e a interação teor de PEO com fluxo apresentou

contribuição mais elevada (26,14%). Na Tabela 7 são apresentados os dados de ANOVA para a resposta diâmetro médio.

Tabela 7 - ANOVA obtida para a resposta diâmetro médio, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	Valor-p
Modelo	0,41	7	0,059	523,48	0,0019
A - Teor de PEO	0,054	1	0,054	484,78	0,0021
B - Tensão	0,086	1	0,086	766,28	0,0013
C - Distância de trabalho	0,014	1	0,014	120,94	0,0082
D - Fluxo	0,034	1	0,034	304,51	0,0033
AB	0,032	1	0,032	284,32	0,0035
AC	0,083	1	0,083	740,94	0,0013
AD	0,11	1	0,11	962,57	0,0010
Curvatura	$1,777 \times 10^{-3}$	1	$1,777 \times 10^{-3}$	15,89	0,0575
Erro Puro	$2,236 \times 10^{-4}$	2	$2,236 \times 10^{-4}$		
Total	0,41	10			

É possível observar na Tabela 7 que o modelo proposto, Equação (5), é significativo visto que o valor-p é menor que 0,05 e o coeficiente de determinação (R^2) 0,9995. Além disso, todos os parâmetros estudados são significativos, visto que os valores-p obtidos para estes parâmetros são menores que 0,05, assim como as interações entre os parâmetros. Os sinais de positivo e negativo apresentados na Equação (5) estão relacionados com o tipo de efeito de cada parâmetro na resposta.

$$\begin{aligned} \text{Diâmetro médio } (\mu\text{m}) = & 0,58 + 0,082 A - 0,10 B - 0,041 C + 0,065 D - \\ & 0,063 AB - 0,10 AC + 0,12 AD \end{aligned} \quad (5)$$

Os efeitos dos parâmetros na resposta diâmetro médio estão de acordo com a literatura, conforme apresentado no Quadro 1. O aumento do diâmetro médio da fibra é

acompanhada pelo aumento do teor de PEO e do fluxo, efeito positivo (+), e pela diminuição da tensão e da distância de trabalho, efeito negativo (-).

As superfícies para o diâmetro médio em função do teor de PEO e da tensão, do teor de PEO e da distância de trabalho, e do teor de PEO e do fluxo são apresentados nas Figuras 33, 34 e 35, respectivamente.

Figura 33 - Gráfico de superfície de resposta indicando o diâmetro de fibra em função do teor de PEO e da tensão, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.

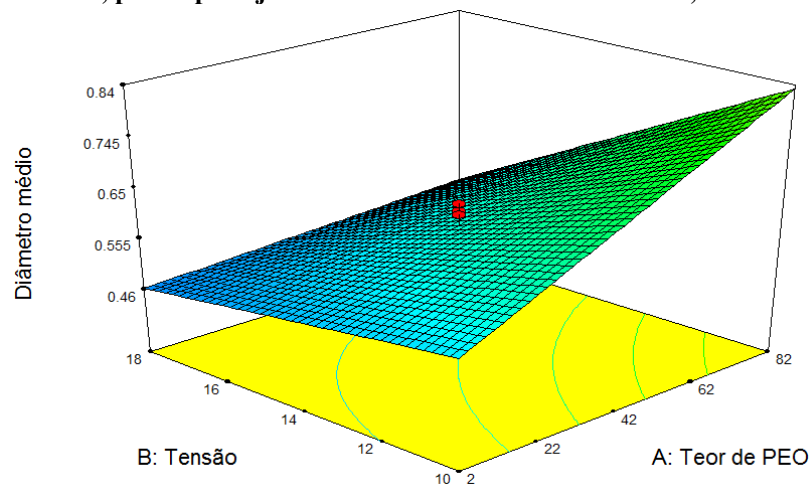


Figura 34 - Gráfico de superfície de resposta indicando o diâmetro de fibra em função do teor de PEO e da distância de trabalho, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.

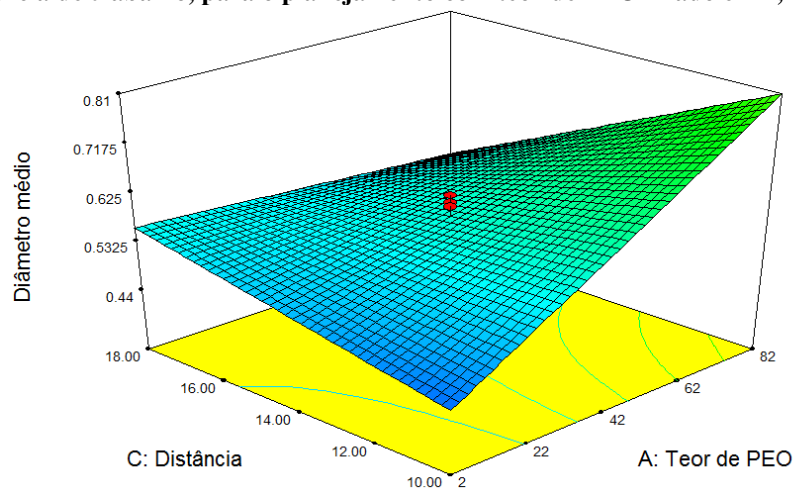
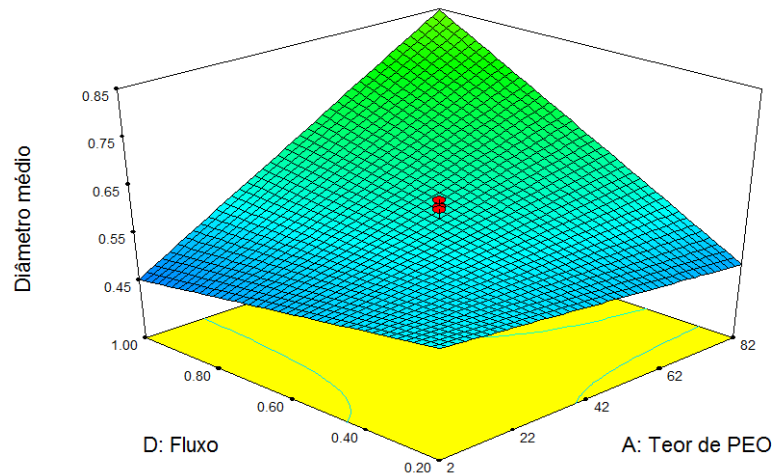


Figura 35 - Gráfico de superfície de resposta indicando o diâmetro de fibra em função do teor de PEO e do fluxo, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.



Com o segundo planejamento foi possível concluir que o teor de PEO é significativo no diâmetro das fibras, mas em proporções mais elevadas. Uma variação pequena como feita no primeiro planejamento, até 30% de PEO na blenda, não mostrou o efeito desse parâmetro sobre a resposta diâmetro médio. Esse resultado pode ser explicado com base na viscosidade das soluções, apresentada na Figura 21. As viscosidades das soluções de 10 e 30% de PEO foram de 0,1254 e 0,1612 Pa.s, respectivamente. Ou seja, uma variação muito pequena no teor de PEO na blenda (de 10 para 30%) não mostrou possuir significância estatística no diâmetro médio das fibras. No entanto, as viscosidades das soluções de 2 e 82% de PEO foram de 0,0954 e 2,0135 Pa.s, respectivamente, portanto uma variação de viscosidade bem maior. Tal variação se mostrou ser estatisticamente significativa na resposta diâmetro médio das fibras obtidas.

A resposta rendimento do processo, apresentada na Tabela 8, variou entre 6,60 mg/mL e 26,00 mg/mL, experimentos 5 e 6, respectivamente, Tabela 8.

Segundo ANOVA (Tabela 9), a contribuição do teor de PEO, tensão aplicada, distância de trabalho e fluxo na resposta rendimento do processo foi de 21,88%, 3,70%, 10,34% e 30,90%, respectivamente. Dessa forma, nota-se a tensão aplicada é o fator que apresenta uma menor porcentagem de contribuição, enquanto o fluxo é o que mais influencia no rendimento, diferentemente do que ocorreu no planejamento com teor de PEO entre 10 e 30%. Assim, a variação do teor de PEO para uma faixa mais ampla de 2 a 82%, provoca variação nas contribuições dos demais fatores.

Tabela 8 - Rendimento da técnica de eletrofição para os experimentos de 1 a 11 (Tabela 6), para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.

EXPERIMENTO	Rendimento (mg/mL)
1	11,25
2	13,00
3	12,60
4	17,00
5	6,60
6	26,00
7	20,00
8	16,20
9	11,30
10	12,30
11	12,30

Os dados da ANOVA para rendimento estão apresentados na Tabela 9. A interação teor de PEO e fluxo para esse segundo planejamento apresenta uma contribuição muito pequena (0,14%), sendo assim desconsiderada do modelo.

Tabela 9 - ANOVA obtida para a resposta rendimento, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	Valor-p
Modelo	244,56	6	40,76	116,52	0,0012
A - Teor de PEO	59,13	1	59,13	169,03	0,0010
B - Tensão	10,01	1	10,01	28,62	0,0128
C - Distância de trabalho	27,94	1	27,94	79,86	0,0030
D - Fluxo	83,53	1	83,53	238,77	0,0006
AB	52,79	1	52,79	150,90	0,0012
AC	11,16	1	11,16	31,91	0,0110
Curvatura	24,70	1	24,70	70,60	0,0035
Falta de ajuste	0,38	1	0,38	1,15	0,3960
Erro Puro	0,67	2	0,33		
Total	270,31	10			

Ao analisar os resultados foi possível observar que o modelo proposto, Equação (6), é significativo visto que o valor-p é menor que 0,05 e o coeficiente de determinação (R^2) 0,9957.

$$\begin{aligned} \text{Rendimento (mg/mL)} = & 15,33 + 2,72 A + 1,12 B + 1,87 C - 3,23 D \\ & - 2,57 AB + 1,18 AC \end{aligned} \quad (6)$$

Observa-se, pela Equação (6), que todos os parâmetros teor de PEO, tensão e distância de trabalho apresentam efeito positivo na resposta rendimento, apenas o fluxo tem efeito negativo. Analisando a ANOVA, verificamos que o valor-p é menor que 0,05 para todos os fatores e para as interações estudadas. A falta de ajuste não mostra-se significativa.

Porém, mesmo o modelo sendo significativo, a curvatura é também significativa, e isto mostra que um modelo de maior ordem (possivelmente modelo quadrático) poderia explicar de forma mais robusta a dependência do rendimento em função do teor de PEO, da tensão aplicada e da distância de trabalho. Isto pode ser observado nas Figuras 36 e 37, nas quais são apresentadas as superfícies de resposta geradas para o rendimento.

Figura 36 - Gráfico de superfície de resposta indicando o rendimento em função do teor de PEO e da tensão, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.

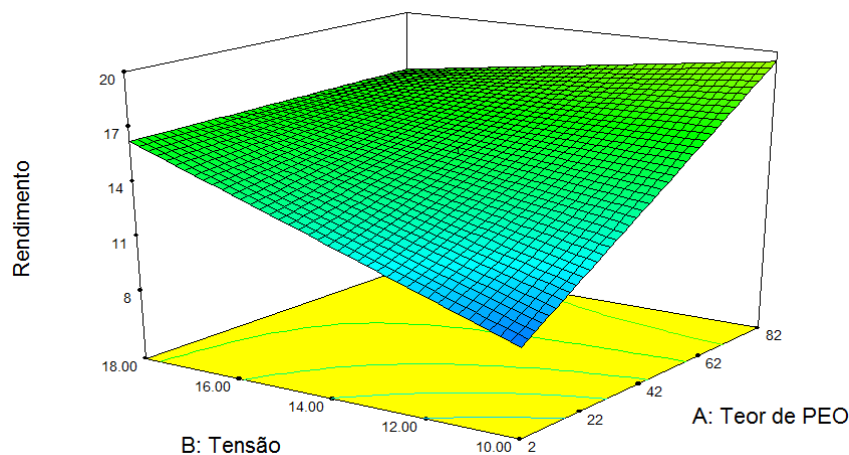
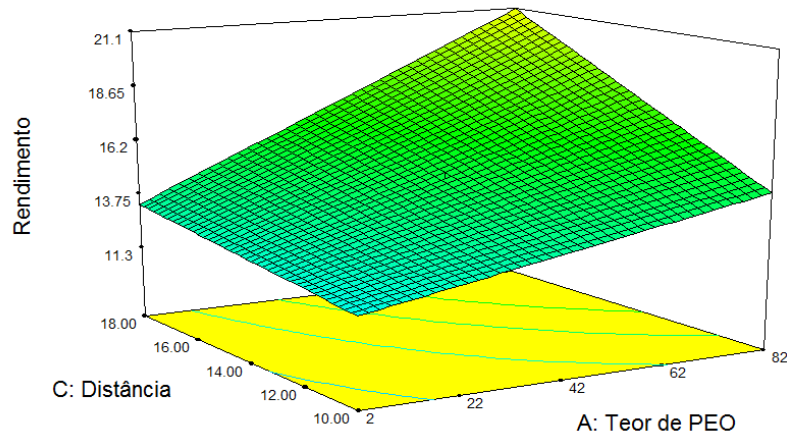


Figura 37 - Gráfico de superfície de resposta indicando o rendimento em função do teor de PEO e da distância de trabalho, para o planejamento com teor de PEO fixado em 2, 42 ou 82%.



Da mesma maneira que para a resposta diâmetro médio, em valores maiores de teor de PEO o efeito deste parâmetro na resposta rendimento se torna mais importante, como observado no segundo planejamento (entre 2 e 82% de PEO) e mostrado nas Figuras 36 e 37.

Entre os parâmetros estudados nos dois planejamentos, a distância de trabalho foi o que apresentou menor efeito sobre o diâmetro médio. No entanto, a faixa utilizada (entre 10 e 18 cm) foi eficiente para evitar a formação de *beads*, como observado nas imagens de MEV das fibras obtidas. O parâmetro tensão aplicada se mostrou significativa na resposta diâmetro médio das fibras sendo, assim, fundamental controle e otimização da mesma para produção de fibras com diâmetros na escala nanométrica.

Comparando os dois planejamentos, a distância de trabalho foi não significativa para o planejamento com teor de PEO entre 10 e 30% e significativa para o planejamento com teor de PEO entre 2 e 82% sobre a resposta rendimento. Já a interação teor de PEO e fluxo exibe comportamento contrário, significativa para o planejamento com teor de PEO entre 10 e 30% e não significativa para o planejamento com teor de PEO entre 2 e 82%

Afim de comprovar a validade dos resultados, os experimentos 2 e 3, onde foram observados maior e menor diâmetros médios, foram repetidos. Os resultados apresentaram pouca variação tanto para a resposta diâmetro médio quanto para a resposta rendimento. Com isto, foram validados os modelos propostos assim como os efeitos de cada parâmetro, como discutido anteriormente.

Em todos os experimentos, a obtenção das fibras foi feita em temperatura ambiente e sem controle da umidade relativa. Cabe salientar que a temperatura variou de 24,2 a 26,7 °C e

a umidade de 30 a 44%, variações pequenas que não influenciam significativamente nos resultados.

4.4 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL, TÉRMICA, MECÂNICA E BIOLÓGICA DAS FIBRAS

O efeito do teor de PEO nas propriedades das fibras das blendas zeína/PEO foi avaliado com relação à estrutura química, às propriedades mecânicas, térmicas e citotóxicas.

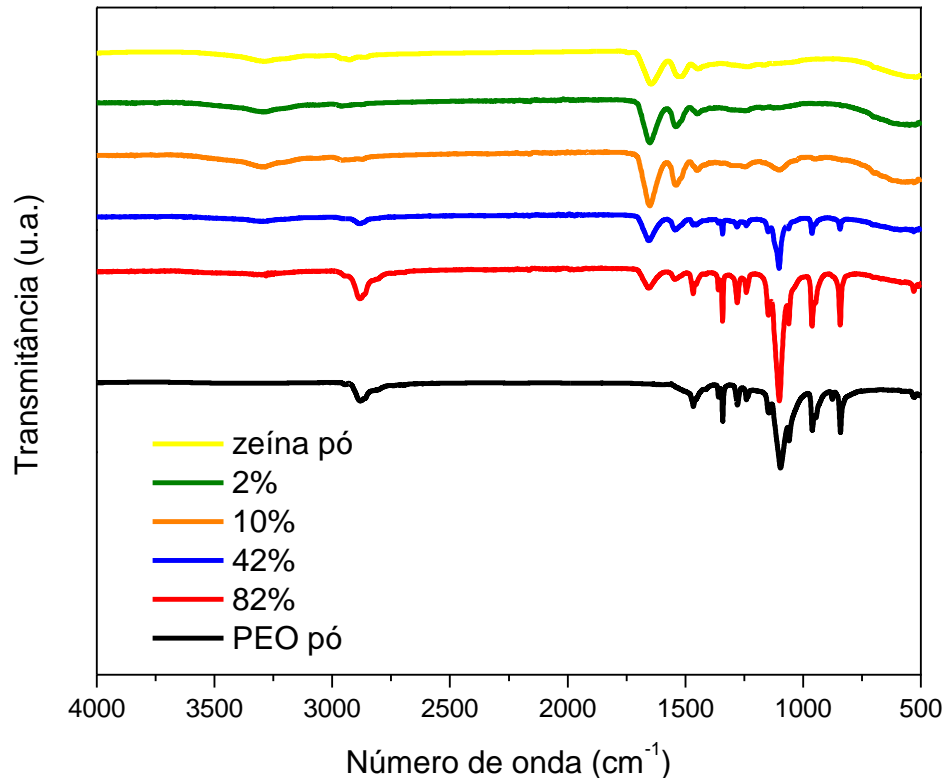
4.4.1 Espectrofotometria de Infravermelho (FTIR)

Na Figura 38 é apresentado o espectro de infravermelho (FTIR) das fibras obtidas a partir da blenda zeína/PEO com teor de PEO de 2, 10, 42 e 82%.

É possível observar nos espectros da Figura 38 a presença das principais bandas características da zeína (3290 cm^{-1} , 2960 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} , 1540 cm^{-1} e 1245 cm^{-1}) e do PEO (2882 cm^{-1} , 1467 cm^{-1} , 1342 cm^{-1} , 1280 cm^{-1} , 1241 cm^{-1} , 1101 cm^{-1} e 962 cm^{-1}). Essas observações indicam que não há mudanças estruturais químicas nas fibras obtidas em relação aos polímeros zeína e PEO. As alterações nas intensidades das bandas se deve, além da variação do teor de PEO e zeína nas fibras, à variação de profundidade e região aos quais foram feitas as medidas de FTIR por ATR.

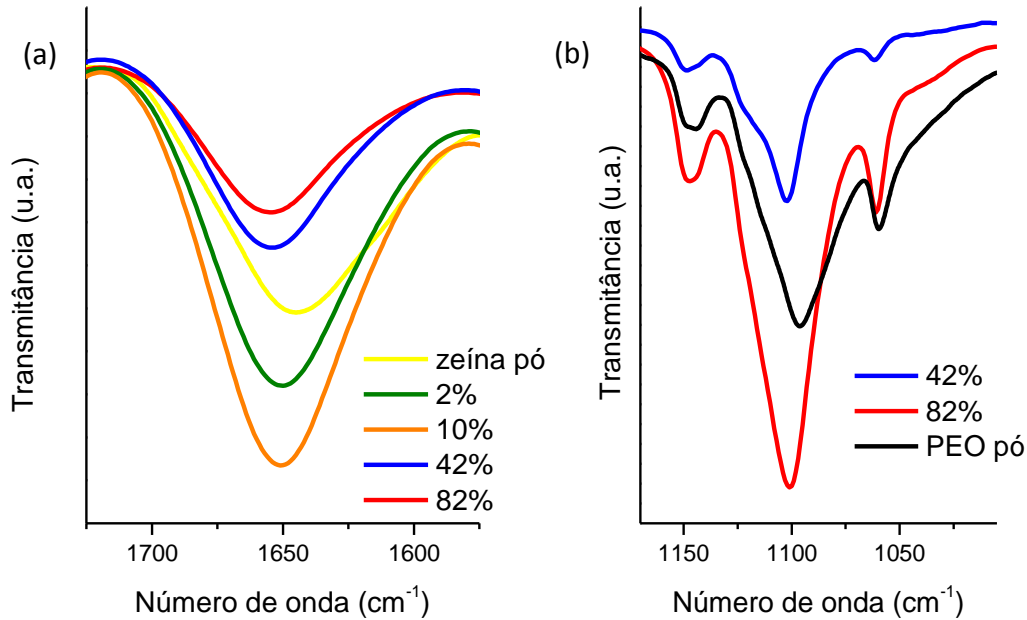
Assim como no espectro da zeína pura, nos espectros das fibras não foram observadas bandas de absorvância em 1614 e 1662 cm^{-1} referentes a β -zeína, confirmando a predominância da α -zeína.

Figura 38 - Espectro de FTIR das fibras obtidas na eletrofiação a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), com teores de PEO na blenda zeína/PEO: 2% (verde); 10% (laranja); 42% (azul); 82% (vermelha); e dos polímeros na forma de pó: zeína (amarelo); PEO (preto).



É possível observar também pequenos deslocamentos nas bandas dos espectros apresentados das fibras. Para facilitar a visualização foi feita uma ampliação na região das bandas referentes ao estiramento da carbonila (C=O) do grupo amida característica da zeína (Figura 39 (a)) e às vibrações de estiramento da ligação carbono-oxigênio (C-O) característica do PEO (Figura 39 (b)). Na Figura 39 (a) observa-se o deslocamento desta banda, de 1645 cm^{-1} para 1650 e 1655 cm^{-1} , referente à zeína na forma de pó e às fibras, respectivamente. Na Figura 39 (b) é mostrado um deslocamento que ocorreu quando se altera a forma do PEO de pó para fibras, de 1096 cm^{-1} para 1101 cm^{-1} , respectivamente. Embora pequenos, esses deslocamentos nas bandas observadas nos espectros das fibras em relação aos espectros dos polímeros puros indicam presença de interações físicas entre a zeína e PEO nas fibras obtidas e, possivelmente, compatibilidade entre esses polímeros.

Figura 39 - Bandas do espectro de FTIR para as fibras com teores de PEO na blenda de 2% (verde); 10% (laranja); 42% (azul); 82% (vermelha), zeína (amarelo) e PEO (preto) puros na forma de pó referentes ao: (a) estiramento da carbonila da zeína; (b) estiramento da ligação carbono-oxigênio do PEO



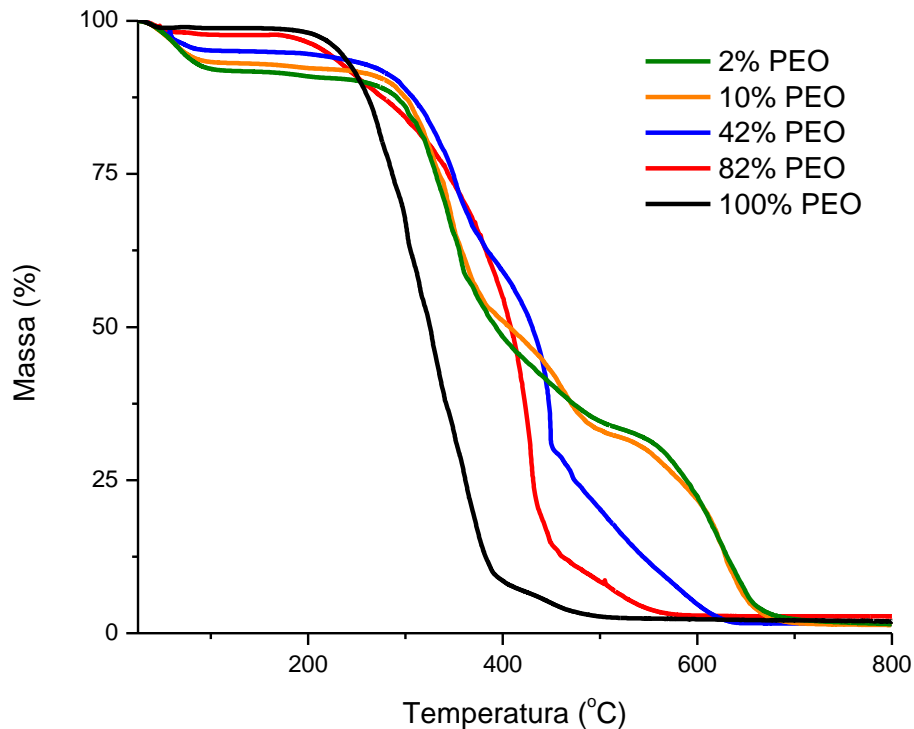
4.4.2 Análise Térmica

4.4.2.1 Análise Termogravimétrica (TGA)

As curvas TG das fibras de zeína/PEO com diferentes teores de PEO são apresentadas na Figura 40. A análise termogravimétrica foi utilizada para verificar possíveis modificações na estabilidade térmica das fibras ao variar o teor de PEO.

O primeiro evento de perda de massa observada ocorreu desde o início da curva até 120 °C, que é relativo à evaporação de água, em que foram perdidos 1%, 2%, 5%, 7% e 8% da massa para as amostras com 100%, 82%, 42%, 10% e 2% de PEO na blenda, respectivamente. Sendo assim, as amostras com maior quantidade de zeína apresentam maior quantidade de água.

Figura 40 - Curvas TGA das fibras de blenda zeína/PEO obtidas na eletrofição a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), em diferentes teores de PEO: 2% (verde); 10% (laranja); 42% (azul); 82% (vermelha); e 100% (preta), sob atmosfera de nitrogênio.



Assim como ocorre na curva de TGA da zeína pura, Figura 11, a decomposição térmica das fibras de zeína/PEO com maior teor de zeína apresenta duas etapas distintas de degradação. A primeira etapa com início em torno de 240 °C e a segunda em torno de 500 °C, evidenciadas nas amostras com menor teor de PEO, 2 e 10%. Para a fibra de PEO puro (100%), a degradação ocorre em uma única etapa, assim como observado para o PEO na forma de pó, Figura 12.

A temperatura de início da decomposição térmica (T_{onset}) das fibras e a porcentagem de perda de massa referente à degradação (entre T_{onset} até 700 °C) são apresentadas na Tabela 10.

A estabilidade térmica das fibras de zeína/PEO apresentou variação em função do teor de PEO na blenda. O aumento do teor de PEO provoca a diminuição da T_{onset} . Assim, a incorporação de 98% de PEO resultou em decréscimo de 71 °C na estabilidade térmica da fibra. Nota-se que as perdas de massa referentes à degradação das fibras zeína/PEO apresentam valores elevados, com menor valor para a fibra com 2% de PEO (88,4%).

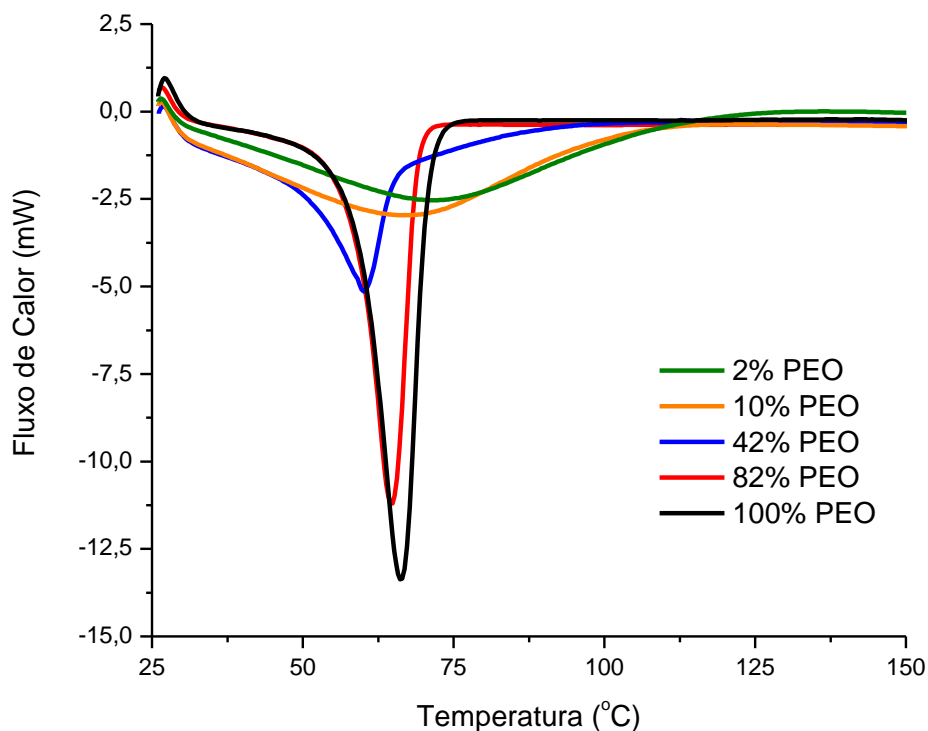
Tabela 10 - Temperatura de início de decomposição térmica (T_{onset}) das fibras e porcentagem de perda de massa referente à degradação observadas nas curvas de TGA de fibras zeína/PEO com diferentes teores de PEO.

Teor de PEO (%)	T_{onset} (°C)	Perda de massa (%)
100	165	96,6
82	175	94,8
42	192	91,5
10	233	90,3
2	236	88,2

4.4.2.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

As curvas de DSC das fibras zeína/PEO com diferentes teores de PEO são apresentadas na Figura 41.

Figura 41 - Curvas DSC das fibras obtidas na eletrofiação a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), para diferentes teores de PEO na blenda zeína/PEO: 2% (verde); 10% (laranja); 42% (azul); 82% (vermelha); e 100% (preta), sob atmosfera de nitrogênio.



A temperatura de fusão (T_m) é dada pelo pico endotérmico em 71 °C, 65 °C, 60 °C, 64 °C e 66 °C para as amostras com teor de PEO de 2%, 10%, 42%, 82% e 100%, respectivamente. Esses valores são próximos ao medido para o PEO puro na forma de pó (67 °C), conforme apresentado na Figura 14.

As curvas de DSC das amostras com 2 e 10% de PEO não apresentam picos de fusão bem delimitados e com grande intensidade, resultado este devido à maior quantidade de zeína na blenda, predominando assim a fase amorfa. Picos de fusão estreitos e com grande intensidade indicam um material com maior cristalinidade, como pode ser observado nas fibras com maiores teores de PEO na blenda, 42 e 82%.

Na Tabela 11 são apresentados os valores da variação da entalpia de fusão (ΔH) e grau de cristalinidade (χ_c), calculados a partir da Equação (1), para as amostras de fibras zeína/PEO eletrofiadas com diferentes teores de PEO na blenda.

Tabela 11 - Variação da entalpia de fusão e grau de cristalinidade para diferentes teores de PEO na blenda zeína/PEO.

Teor de PEO (%)	ΔH (J/g)	χ_c (%)
100	119,41	60,8
82	88,18	44,8
42	83,83	42,7
10	73,54	37,4
2	32,42	16,5

O valor de χ_c aumentou com o aumento do teor de PEO, como esperado. A adição de 18% de zeína (82% de PEO) provoca uma diminuição de 16% no valor de χ_c e a adição de 98% de zeína (2% de PEO) de 44,3% no valor de χ_c , em relação à fibra de PEO puro (100% de PEO).

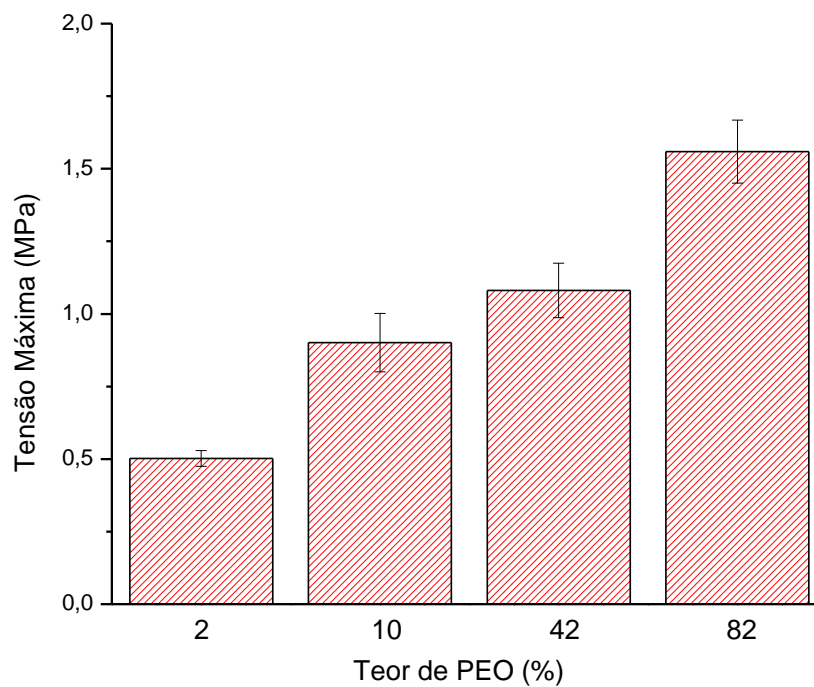
As fibras de PEO puro obtidas por eletrofiação puro apresentaram diminuição em 4,4% no valor de χ_c em relação ao PEO na forma de pó (χ_c igual a 65,2%), obtido a partir da Figura 14. Este fato pode estar relacionado à organização estrutural das cadeias que diminui devido ao processo de eletrofiação, como resultado das interações e do curto intervalo de tempo que as cadeias têm para se organizarem e se orientarem no trajeto agulha-coletor (AYDOGDU; SUMNU; SAHIN, 2018; ZHIJIANG et al., 2017).

Aydogdu, Sumnu e Sahin (2018) observaram que a adição de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) na blenda PEO/HPMC provocou uma redução na entalpia de fusão das fibras em relação à entalpia de fusão do PEO puro, resultado semelhante ao encontrado neste trabalho. Aqueles autores explicaram que a adição de HPMC provoca rompimento da estrutura cristalina do PEO, devido às interações entre o HPMC e o PEO, e com isso diminuição na entalpia de fusão.

4.4.3 Análise Mecânica

Os resultados obtidos por meio dos testes de tração realizados nas fibras zeína/PEO com diferentes teores de PEO estão apresentados nas Figuras 42, 43 e 44.

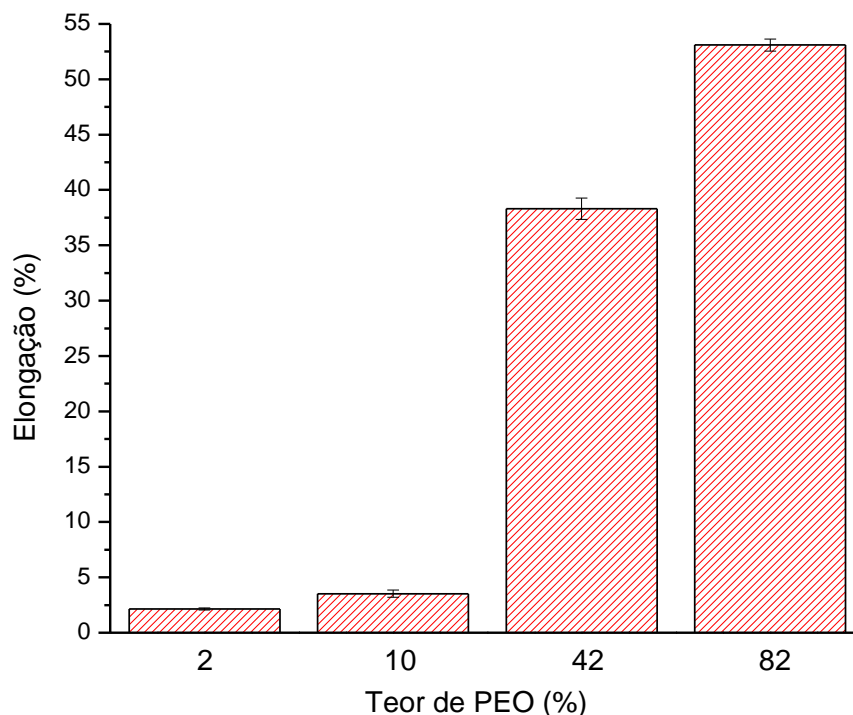
Figura 42 - Tensão máxima para fibras zeína/PEO obtidas na eletrofição a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), em relação ao teor de PEO na blenda.



A tensão máxima aumenta com o acréscimo do teor de PEO, como pode ser observado na Figura 42. Sendo assim, a fibra com 82% de PEO apresentou maior resistência à tração em relação as fibras com menores teores de PEO. As fibras com maiores quantidades de zeína, 2 e 10% de PEO, mostraram baixo valor de tensão máxima ($< 1,0$ MPa), resultado análogo foi relatado por Cui *et al.* (2015) para nanofibras de zeína pura ($\sim 0,5$ MPa). Na literatura, geralmente, as fibras produzidas no processo de eletrofição de zeína e PEO, ou suas blendas, apresentam valores de tensão máxima relativamente baixos (LIN *et al.*, 2012; PARK *et al.*, 2007). A diferença entre as tensões máximas das quatro amostras estudadas foi estatisticamente significativa, uma vez que o valor-p calculado foi menor que 0,0001.

Na Figura 43 são apresentados resultados de alongação das fibras da blenda zeína/PEO eletrofiadas com diferentes teores de PEO. Nota-se que o aumento do teor de PEO aumenta significativamente a alongação da amostra, de 2,1% (2% de PEO) para 53,1% (82% de PEO). A baixa alongação da fibra com 2% de PEO, se deve à característica frágil da zeína, como relatado também por Zhijiang *et al.* (2017). A diferença entre as alongações das quatro amostras estudadas foi estatisticamente significativa, uma vez que o valor-p foi menor que 0,0001.

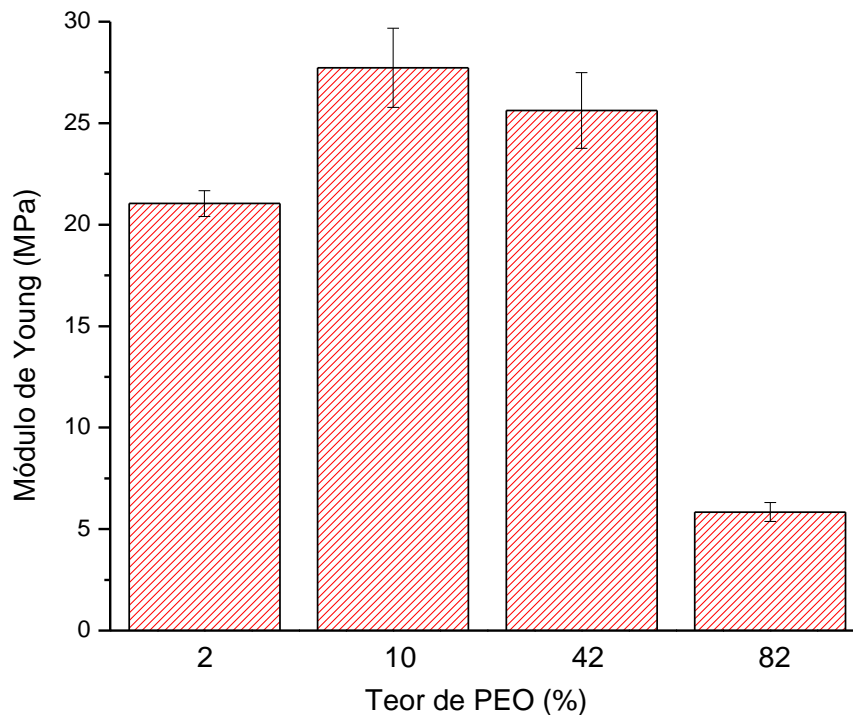
Figura 43 - Alongação para fibras zeína/PEO obtidas na eletrofição a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), em relação ao teor de PEO na blenda.



Moon *et al.* (2009) obtiveram para nanofibras de PEO (600 kDa) um valor de alongação de 97%. Assim, isto é mais uma evidência que a baixa alongação observada nas fibras da blenda zeína/PEO eletrofiadas com diferentes teores de PEO se deve à adição de zeína, tornando o material mais frágil.

Os valores de módulo de Young calculados para as amostras são apresentados na Figura 44. O módulo de Young está diretamente relacionado com a rigidez do polímero, ou seja, quanto maior o módulo de Young mais rígido é o polímero. As fibras predominantemente compostas com zeína (2, 10 e 42% de PEO) apresentaram módulo de Young em torno de 25 MPa, já a com maior teor de PEO (82%) apresentou módulo de Young de 6 MPa. Portanto, a fibra com 10% de PEO se mostrou mais rígida com relação as demais. A diferença entre os módulos de Young das quatro amostras estudadas foi estatisticamente significativa, uma vez que o valor-p foi menor que 0,0001.

Figura 44 - Módulo de Young para fibras zeína/PEO obtidas na eletrofição a partir das soluções com concentração de 15% (m/v) em etanol/água (80/20) (v/v), em relação ao teor de PEO na blenda.



A escolha de uma fibra para determinada aplicação depende, na maioria das vezes, das suas propriedades mecânicas. Corradini et al. (CORRADINI et al., 2014) cita que o elevado módulo de Young e rigidez da zeína são favoráveis para aplicações em tecidos rígidos, como o tecido ósseo e o cartilaginoso.

4.4.4 Análise Biológica

Vários métodos são utilizados para avaliar a toxicidade de biomaterias, utilizando culturas celulares. Os testes de citotoxicidade *in vitro* avaliam a alteração celular quando o material é colocado diretamente em contato com as células animais (ROGERO et al., 2003).

As fibras eletrofiadas com teor de PEO variando entre 2 e 82% foram avaliadas por meio de testes de citotoxicidade. A viabilidade celular, ou seja, a porcentagem de células viáveis ao fim do cultivo celular, foi calculada e como controle foram utilizadas as células cultivadas na ausência das fibras de zeína/PEO (100% de células viáveis). A Tabela 12 apresenta os resultados encontrados para viabilidade celular das células em contato com as fibras.

Tabela 12 - Viabilidade celular das células em contato com as fibras com teor de PEO de 2 e 82%.

Teor de PEO (%)	Viabilidade celular (%)
2%	97,66 ± 3,24
82%	86,52 ± 4,26

A amostra com 2% de PEO e 98% de zeína, apresentou uma viabilidade celular maior em comparação com a amostra com 82% de PEO e 18% zeína, com valor-p igual à 0,0226. Sendo assim, ocorreu uma diferença estatística significativa entre a viabilidade celular das amostras analisadas e a maior quantidade de zeína está associada a uma maior viabilidade celular. Nenhuma das amostras apresentou redução significativa de células viáveis em relação ao controle. Sendo assim, ambas as fibras apresentam características citocompatíveis e com isso podem ser utilizadas na área de biomateriais (ACEVEDO et al., 2018).

As fibras com teores de PEO intermediário a 2 e 82% não foram avaliadas, no entanto, espera-se que os valores de viabilidade celular não tenham variações significativas, uma vez somente o teor de PEO foi alterado e a concentração permanece constante.

Kamenova *et al.* (2018) avaliaram a viabilidade celular para micelas poliméricas de PEO por meio de testes de citotoxicidade. Os valores encontrados foram de 95% a 85% dependendo da concentração das amostras. Cui *et al.* (2015) avaliaram a viabilidade celular para nanofibras de poli(álcool vinílico)/stilbazol/zeína por meio de testes de citotoxicidade em células L929. Os valores encontrados foram de 110,7% e 93,3% para 24 e 72 horas de incubação, respectivamente. Diante desses dados, conclui-se que as fibras de zeína e PEO apresentam boa viabilidade celular.

5 CONCLUSÃO

Foi possível obter, no presente trabalho, fibras por meio da técnica de eletrofiação a partir da solução da blenda de zeína/PEO em etanol/água (80:20) (v/v) na concentração de 15% polímero:solvente (m/v). A adição de PEO à solução de zeína provocou aumento da viscosidade da solução, o que possibilitou a obtenção de uma maior quantidade de fibras em relação à eletrofiação da solução de zeína pura.

Os parâmetros analisados na obtenção de fibras foram teor de PEO na blenda, tensão, distância de trabalho e fluxo. A partir de um planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} foi possível verificar que o teor de PEO na blenda em baixas proporções (10 a 30%) não influencia significativamente no diâmetro médio das fibras. No entanto, quando aumenta-se a distância entre os níveis de teor de PEO para 2 e 82%, a influência sobre diâmetro médio das fibras tornou-se significativa. Para as condições experimentais adotadas em ambos os planejamentos, o parâmetro de maior influência na resposta diâmetro médio das fibras foi a tensão elétrica aplicada.

A fibra que apresentou menor diâmetro médio ($0,3079 \pm 0,1184 \mu\text{m}$) foi a obtida com teor de PEO de 10% e eletrofiada a 18 kV, 10 cm e 1,0 mL/h. Já a de maior diâmetro médio ($1,1567 \pm 0,1667 \mu\text{m}$) foi a obtida com teor de PEO de 82% e eletrofiada a 10 kV, 10 cm e 1,0 mL/h. O experimento que apresentou maior rendimento (34,2 mg/mL) foi realizado nas condições de teor de PEO de 30%, 10 kV, 10 cm e 1,0 mL/h.

As fibras obtidas não mostraram mudanças estruturais químicas com relação aos polímeros puros. Ainda, foi possível observar por meio de espectros de FTIR a presença de interações físicas entre a zeína e o PEO na fibra formada. Em relação aos diferentes teores de PEO na blenda zeína/PEO, aumentando-se o teor de PEO na fibra há diminuição da temperatura inicial de degradação (T_{onset}) e o aumento do índice de cristalinidade (χ_c), e também o aumento da resistência à tração da fibra. O aumento do teor de zeína na fibra provocou o aumento no valor do módulo de Young e assim a formação de fibras mais rígidas.

A análise biológica mostrou que a viabilidade celular das células em contato com as fibras foram próximas do controle, com isso as fibras apresentam características citocompatibilidade e assim tem potencial para aplicação como um biomaterial.

O controle dos parâmetros de processo e de solução é fundamental para prever e controlar a estrutura da fibra eletrofiada, principalmente o diâmetro das fibras obtidas. Desta forma, este trabalho contribui como fundamento para pesquisas focadas na obtenção fibras em

escalas submicro e nanométrica e também para a produção de biomateriais com aplicações na área biomédica, baseados em fibras eletrofiadas de zeína/PEO.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIONA, A. A. et al. Synthesis and substrate-aided alignment of porphyrinated poly(ethylene oxide) (PEO) electrospun nanofibers. **International Journal of Polymeric Materials**, v. 59, n. 10, p. 818–827, 2010.

ACEVEDO, F. et al. Gallic acid loaded PEO-core/zein-shell nanofibers for chemopreventive action on gallbladder cancer cells. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 119, p. 49–61, 2018.

ALI, S. et al. Zein/cellulose acetate hybrid nanofibers: Electrospinning and characterization. **Macromolecular Research**, v. 22, n. 9, p. 971–977, 2014.

ALMEIDA, C. B. DE et al. Microstructure and thermal and functional properties of biodegradable films produced using zein. **Polímeros**, v. 28, n. 1, p. 30–37, 2018.

ALTAN, A.; AYTAC, Z.; UYAR, T. Carvacrol loaded electrospun fibrous films from zein and poly(lactic acid) for active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 48–59, 2018.

ALUIGI, A. et al. Structure and properties of keratin/PEO blend nanofibres. **European Polymer Journal**, v. 44, n. 8, p. 2465–2475, 2008.

AYDOGDU, A.; SUMNU, G.; SAHIN, S. A novel electrospun hydroxypropyl methylcellulose/polyethylene oxide blend nanofibers: morphology and physicochemical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, p. 234–246, 2018.

BAILEY, F. E. J.; KOLESKE, J. V. **Poly (Ethylene Oxide)**. 1. ed. London: Academic Press, 1976.

BARBOSA, J. A. C.; CONWAY, B. R.; MERCHANT, H. A. Going natural: using polymers from nature for gastroresistant applications. **British Journal of Pharmacy**, v. 2, n. 1, p. 14–30, 2017.

BILLMEYER JR, F. W. **Textbook of Polymer Science**. 3. ed. New York: John Wiley & Sons, 1984.

BIZARRIA, M. T. M.; D'ÁVILA, M. A.; MEI, L. H. I. Non-woven nanofiber chitosan/peo membranes obtained by electrospinning. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 31, n. 1, p. 57–68, 2014.

BRAHATHEESWARAN, D. et al. Hybrid fluorescent curcumin loaded zein electrospun nanofibrous scaffold for biomedical applications. **Biomedical Materials**, v. 7, n. 4, p. 1–16, 2012.

BRITO, G. F. et al. Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6, n. 2, p. 127–139, 2011.

BROUMAND, A. et al. Optimal fabrication of nanofiber membranes from ionized-bicomponent cellulose/polyethyleneoxide solutions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 66, p. 221–228, 2014.

BURGAZ, E. Poly(ethylene-oxide)/clay/silica nanocomposites: morphology and thermomechanical properties. **Polymer**, v. 52, n. 22, p. 5118–5126, 2011.

CORRADINI, E. et al. Recent advances in food-packing, pharmaceutical and biomedical applications of zein and zein-based materials. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 12, p. 22438–22470, 2014.

CORRADINI, E. et al. Preparation of polymeric mats through electrospinning for technological uses. In: LONGO, E.; LA PORTA, F. DE A. (Eds.). . **Recent Advances in Complex Functional Materials**. 1. ed. Suíça: Springer, 2017. p. 83–128.

COSTA, R. G. F. et al. Eletrofiação de polímeros em solução: parte I: fundamentação teórica. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 170–177, 2012a.

COSTA, R. G. F. et al. Eletrofiação de polímeros em solução: parte II: aplicações e perspectivas. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 178–185, 2012b.

CUI, J. et al. Co-electrospun nanofibers of PVA-SbQ and zein for wound healing. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 39, p. 1–9, 2015.

DI GIOIA, L.; CUQ, B.; GUILBERT, S. Thermal properties of corn gluten meal and its proteic components. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 24, n. 4, p. 341–350, 1999.

DIPPOLD, D. et al. Novel electrospun poly(glycerol sebacate)-zein fiber mats as candidate materials for cardiac tissue engineering. **European Polymer Journal**, v. 75, p. 504–513, 2016.

DOSHI, J.; RENEKER, D. H. Electrospinning process and applications of electrospun fibers. **Journal of Electrostatics**, v. 35, n. 2–3, p. 151–160, 1995.

FABRA, M. J.; LOPEZ-RUBIO, A.; LAGARON, J. M. Nanostructured interlayers of zein to improve the barrier properties of high barrier polyhydroxyalkanoates and other polyesters. **Journal of Food Engineering**, v. 127, p. 1–9, 2014.

FAUCHER, J. A. et al. Glass transitions of ethylene oxide polymers. **Journal of Applied Physics**, v. 37, n. 11, p. 3962–3964, 1966.

GAO, J. et al. Water-stability and biological behavior of electrospun collagen/PEO fibers by environmental friendly crosslinking. **Fibers and Polymers**, v. 18, n. 8, p. 1496–1503, 2017.

GHALEI, S.; ASADI, H.; GHALEI, B. Zein nanoparticle-embedded electrospun PVA nanofibers as wound dressing for topical delivery of anti-inflammatory diclofenac. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 33, p. 1–11, 2018.

GORRASI, G.; VERTUCCIO, L. Evaluation of zein/halloysite nano-containers as reservoirs of active molecules for packaging applications: preparation and analysis of physical properties. **Journal of Cereal Science**, v. 70, p. 66–71, 2016.

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.

GUPTA, P. et al. Electrospinning of linear homopolymers of poly(methyl methacrylate): exploring relationships between fiber formation, viscosity, molecular weight and concentration in a good solvent. **Polymer**, v. 46, n. 13, p. 4799–4810, 2005.

H Aidar, M.; Eroglu, H. Nanofibers: new insights for drug delivery and tissue engineering. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 13, p. 1564–1579, 2017.

HENCH, L. L.; JONES, J. R. **Biomaterials, Artificial Organs and Tissue Engineering**. 1. ed. [s.l.] Woodhead Publishing in Materials e CRC Press LLC, 2005.

HODGKINSON, T. et al. Rheology and electrospinning of regenerated Bombyx mori silk fibroin aqueous solutions. **Biomacromolecules**, v. 15, n. 4, p. 1288–1298, 2014.

HUANG, Z. M. et al. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their

applications in nanocomposites. **Composites Science and Technology**, v. 63, n. 15, p. 2223–2253, 2003.

JARUSUWANNAPOOM, T. et al. Effect of solvents on electro-spinnability of polystyrene solutions and morphological appearance of resulting electrospun polystyrene fibers. **European Polymer Journal**, v. 41, n. 3, p. 409–421, 2005.

JIN, H.-J. et al. Electrospinning Bombyx mori silk with poly(ethylene oxide). **Biomacromolecules**, v. 3, n. 6, p. 1233–1239, 2002.

KAMENOVA, K. et al. Co-assembly of block copolymers as a tool for developing novel micellar carriers of insulin for controlled drug delivery. **European Polymer Journal**, v. 104, p. 1–9, 2018.

KHENFOUCH, M. et al. Morphological, vibrational and thermal properties of confined graphene nanosheets in an individual polymeric nanochannel by electrospinning. **Graphene**, v. 1, n. 2, p. 15–20, 2012.

KUMAR, P. R. et al. Nanofibers: effective generation by electrospinning and their applications. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 12, n. 1, p. 1–25, 2012.

LI, D.; XIA, Y. Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel? **Advanced Materials**, v. 16, n. 14, p. 1151–1170, 2004.

LI, J. et al. Coaxial electrospun zein nanofibrous membrane for sustained release. **Journal of Biomaterials Science**, v. 24, n. 17, p. 1923–1934, 2013.

LIAO, N. et al. Fabrication, characterization and biomedical application of two-nozzle electrospun polycaprolactone/zein-calcium lactate composite nonwoven mat. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 60, p. 312–323, 2016.

LIN, H.; FREEMAN, B. D. Gas solubility, diffusivity and permeability in poly(ethylene oxide). **Journal of Membrane Science**, v. 239, n. 1, p. 105–117, 2004.

LIN, L. et al. Alimentary ‘green’ proteins as electrospun scaffolds for skin regenerative engineering. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 7, n. 12, p. 994–1008, 2012.

LIN, L.; DAI, Y.; CUI, H. Antibacterial poly(ethylene oxide) electrospun nanofibers

containing cinnamon essential oil/beta-cyclodextrin proteoliposomes. **Carbohydrate Polymers**, v. 178, p. 131–140, 2017.

LU, H. et al. Electrospun water-stable zein/ethyl cellulose composite nanofiber and its drug release properties. **Materials Science and Engineering C**, v. 74, p. 86–93, 2017.

LUNA, C. B. B. et al. Desenvolvimento de blendas poliméricas visando a tenacificação dos polímeros: uma revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 36, n. 1, p. 67–80, 2015.

MATSUSHIMA, N. et al. Three-dimensional structure of maize α -zein proteins studied by small-angle X-ray scattering. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1339, n. 1, p. 14–22, 1997.

MENDES, A. C.; STEPHANSEN, K.; CHRONAKIS, I. S. Electrospinning of food proteins and polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 53–68, 2017.

MIRI, M. A. et al. Optimization of electrospinning process of zein using central composite design. **Fibers and Polymers**, v. 17, n. 5, p. 769–777, 2016.

MOON, S. et al. The morphology and mechanical properties of sodium alginate based electrospun poly(ethylene oxide) nanofiber. **Polymer Engineering and Science**, v. 49, n. 8, p. 52–59, 2009.

MUTHURAJ, R.; MISRA, M.; MOHANTY, A. K. Biodegradable compatibilized polymer blends for packaging applications: a literature review. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 24, p. 1–35, 2018.

NETO, B. DE B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2010.

NI, N.; DUMONT, M.-J. Protein-based hydrogels derived from industrial byproducts containing collagen, keratin, zein and soy. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, n. 2, p. 285–300, 2017.

OLIVEIRA, L. M. B. **Automatização e Controlo de Um Sistema de Electrospinning**. [s.l.] Universidade do Minho, 2011.

PAKRAVAN, M.; HEUZEY, M. C.; AJJI, A. A fundamental study of chitosan/PEO electrospinning. **Polymer**, v. 52, n. 21, p. 4813–4824, 2011.

PALIWAL, R.; PALAKURTHI, S. Zein in controlled drug delivery and tissue engineering. **Journal of Controlled Release**, v. 189, p. 108–122, 2014.

PARK, W. IL et al. Electrospinning of poly(ethylene oxide) with bacterial cellulose whiskers. **Macromolecular Symposia**, v. 249, p. 289–294, 2007.

PARK, J.; LAKES, R. S. **Biomaterials: An Introduction**. 3. ed. New York: Springer, 2007.

PAUL, D. R.; BARLOW, J. W. Polymer blends (or alloys). **Journal of Macromolecular Science**, v. 18, n. 1, p. 109–168, 1980.

PHAM, Q. P.; SHARMA, U.; MIKOS, A. G. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: a review. **Tissue Engineering**, v. 12, n. 5, p. 1197–1211, 2006.

PILLAY, V. et al. A review of the effect of processing variables on the fabrication of electrospun nanofibers for drug delivery applications. **Journal of Nanomaterials**, p. 1–22, 2013.

PITTARATE, C. et al. Effects of poly(ethylene oxide) and ZnO nanoparticles on the morphology, tensile and thermal properties of cellulose acetate nanocomposite fibrous film. **Polymer Journal**, v. 43, n. 12, p. 978–986, 2011.

RICHARD-LACROIX, M.; PELLERIN, C. Raman spectroscopy of individual poly(ethylene oxide) electrospun fibers: effect of the collector on molecular orientation. **Vibrational Spectroscopy**, v. 91, p. 92–98, 2017.

ROGERO, S. O. et al. Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p. 317–320, 2003.

SAINI, P.; ARORA, M.; KUMAR, M. N. V. R. Poly(lactic acid) blends in biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 107, p. 47–59, 2016.

SAKELLARIOU, P.; ABRAHAM, M. H.; WHITING, G. S. Solubility characteristics of poly(ethylene oxide): Effect of molecular weight, end groups and temperature. **Colloid & Polymer Science**, v. 272, n. 7, p. 872–875, 1994.

SCHRAMM, G. **A Practical Approach to Rheology and Rheometry**. 2. ed. Germany: Haake, 1994.

SHARIFUL, M. I. et al. Adsorption capability of heavy metals by chitosan/poly(ethylene oxide)/activated carbon electrospun nanofibrous membrane. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 7, p. 1–14, 2018.

SHUKLA, R.; CHERYAN, M. Zein: the industrial protein from corn. **Industrial Crops and Products**, v. 13, n. 3, p. 171–192, 2001.

SMITH, G. P. S. et al. Raman microscopic imaging of electrospun fibers made from a polycaprolactone and polyethylene oxide blend. **Vibrational Spectroscopy**, v. 92, p. 27–34, 2017.

SON, W. K. et al. The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly(ethylene oxide) fibers. **Polymer**, v. 45, n. 9, p. 2959–2966, 2004.

SONG, Z. et al. Effects of solvent on structures and properties of electrospun poly(ethylene oxide) nanofibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 5, p. 1–10, 2018.

STEFANESCU, E. A. et al. Supramolecular structures in nanocomposite multilayered films. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 8, n. 14, p. 1739–1746, 2006.

THENMOZHI, S. et al. Electrospun nanofibers: new generation materials for advanced applications. **Materials Science and Engineering B**, v. 217, p. 36–48, 2017.

TUCKER, N. et al. The history of the science and technology of electrospinning from 1600 to 1995. **Journal of Engineered Fibers and Fabrics**, v. 7, p. 63–73, 2012.

TURASAN, H.; KOKINI, J. L. Advances in understanding the molecular structures and functionalities of biodegradable zein-based materials using spectroscopic techniques: a review. **Biomacromolecules**, v. 18, n. 2, p. 331–354, 2017.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações farmacêuticas de polímeros. **Polímeros**, v. 20, n. 1, p. 51–64, 2010.

VOGT, L. et al. Electrospun zein fibers incorporating poly(glycerol sebacate) for soft tissue engineering. **Nanomaterials**, v. 8, n. 3, p. 1–16, 2018.

VOORNEVELD, J. et al. Dual electrospinning with sacrificial fibers for engineered porosity and enhancement of tissue ingrowth. **Journal of Biomedical Materials Research B**, v. 105, n. 6, p. 1559–1572, 2017.

WONG, J. Y.; BRONZINO, J. D. **Biomaterials**. 1. ed. Nova York: CRC Press LLC, 2007.

WONGSASULAK, S.; PUTTIPAIBOON, N.; YOOVIDHYA, T. Fabrication, gastromucoadhesivity, swelling, and degradation of zein-chitosan composite ultrafine fibers. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 6, p. 926–935, 2013.

WOO, D. J.; OBENDORF, S. K. MgO-embedded fibre-based substrate as an effective sorbent for toxic organophosphates. **RSC Advances**, v. 4, n. 30, p. 15727–15735, 2014.

XUE, Z.; HE, D.; XIE, X. Poly(ethylene oxide)-based electrolytes for lithium-ion batteries. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 3, n. 38, p. 19218–19253, 2015.

YAN, X.; GEVELBER, M. Electrospinning of nanofibers: Characterization of jet dynamics and humidity effects. **Particulate Science and Technology**, v. 35, n. 2, p. 139–149, 2017.

YAO, C. et al. Biodegradable nanofibrous membrane of zein/silk fibroin by electrospinning. **Polymer International**, v. 58, n. 4, p. 396–402, 2009.

ZHANG, H. et al. Determining electrospun morphology from the properties of protein-polymer solutions. **Soft Matter**, v. 14, n. 18, p. 3455–3462, 2018.

ZHANG, J. G.; MO, X. M. Current research on electrospinning of silk fibroin and its blends with natural and synthetic biodegradable polymers. **Frontiers of Materials Science**, v. 7, n. 2, p. 129–142, 2013.

ZHANG, L. et al. A review: carbon nanofibers from electrospun polyacrylonitrile and their applications. **Journal of Materials Science**, v. 49, n. 2, p. 463–480, 2014.

ZHANG, M. et al. Electrospun poly(l-lactide)/zein nanofiber mats loaded with *Rana chensinensis* skin peptides for wound dressing. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 27, n. 9, p. 1–12, 2016.

ZHIJIANG, C. et al. Zein/Poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) electrospun blend fiber scaffolds: preparation, characterization and cytocompatibility. **Materials Science and Engineering C**, v. 71, p. 797–806, 2017.