

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO SUPERIOR DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

CARLOS FELIPE TEODORO

**Síntese e caracterização de nanofibras a base de poli(álcool  
vinílico)/heparina por meio da técnica de eletrofição**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

APUCARANA

2018

CARLOS FELIPE TEODORO

**Síntese e caracterização de nanofibras a base de poli(álcool  
vinílico)/heparina por meio da técnica de eletrofição**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado ao curso superior de Licenciatura em Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Apucarana, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Francisco Martins

APUCARANA

2018



---

## TERMO DE APROVAÇÃO

### **Síntese e caracterização de nanofibras a base de poli(álcool vinílico)/heparina por meio da técnica de eletrofição**

por

Carlos Felipe Teodoro

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado aos 21 dias do mês de novembro do ano de 2018, as 16:00 horas, como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciado em Química, linha de pesquisa Química de Materiais, do Curso Superior de Licenciatura em Química da UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O candidato foi arguido pela banca examinadora composta pelos professores/servidores abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Alessandro Francisco Martins – ORIENTADOR

---

Elton Guntendorfer Bonafé – EXAMINADOR

---

Johny Paulo Monteiro – EXAMINADOR

## RESUMO

TEODORO, C. F. **Síntese e caracterização de nanofibras a base de poli(álcool vinílico)/heparina por meio da técnica de eletrofiação.** Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso, Licenciatura em Química - Coordenação do Curso de Licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2018.

A eletrofiação é uma técnica usada para produzir nanomateriais a base de fibras a partir de soluções poliméricas. Estes. Nanomateriais apresentam elevada área superficial em relação aos materiais convencionais e, por isso, possuem aplicações tecnológicas. As nanofibras eletrofiadas são amplamente aplicadas na biomedicina como scaffolds para engenharia de tecidos, cura de ferimentos, entrega de fármacos, filtração, como membrana de afinidade, imobilização enzimática, implante para enxertos vasculares e outras aplicações. Neste sentido o presente trabalho retrata pela primeira vez a síntese e caracterização de novos hidrogéis com estrutura à base de nanofibras. Os hidrogéis foram formados por meio de blendas de poli(álcool vinílico) (PVA) e heparina (HP) reticuladas com glutaraldeído para conferir estabilidade aos materiais eletrofiados. As nanofibras foram produzidas por eletrofiação de blendas poliméricas PVA/HP preparadas em diferentes razões massa/massa (100/0, 80/20 e 70/30) onde as nanofibras que apresentaram melhor morfologia e homogeneidade foram provenientes da blenda de proporção 80% PVA e 20% HP. A HP se trata de um polissacarídeo natural, hidrofílico e citocompatível. Por isso, a mesma deve aumentar a citocompatibilidade de membranas eletrofiadas a base de PVA/HP porém por apresentar baixo peso molecular não é um polímero eletrofiável. Por outro lado, o PVA tem propriedades que o torna eletrofiável e também suas blendas poliméricas e, ainda, o mesmo poderá proporcionar reforço mecânico às nanofibras. Estas novas nanofibras poderão apresentar potencial para serem aplicadas na área de engenharia de tecidos e indústria médico-farmacêutica.

Palavras-chave: Eletrospinning, Hidrogéis, Heparina, Nanofibras.

## ABSTRACT

TEODORO, C. F. **Synthesis and characterization of Poly(vinyl alcohol)/heparin based on nanofibers by electrospinning technique.** Completion Work Project, Degree in Chemistry - Coordination of the Degree in Chemistry, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2018.

Electro-spinning is a technique used to produce fiber-based nanomaterials from polymer solutions. These. Nanomaterials have a high surface area compared to conventional materials and, therefore, have technological applications. Electrospun nanofibers are widely applied in biomedicine as scaffolds for tissue engineering, wound healing, drug delivery, filtration, as affinity membrane, enzyme immobilization, implant for vascular grafts and other applications. In this sense, the present work presents for the first time the synthesis and characterization of new hydrogels with structure based on nanofibres. The hydrogels were formed by poly(vinyl alcohol) (PVA) blends and heparin (HP) crosslinked with glutaraldehyde to provide stability to the electrophilic materials. The nanofibers were produced by electrospinning of PVA / HP polymer blends prepared in different mass / mass ratios (100/0, 80/20 and 70/30) where the nanofibers that presented the best morphology and homogeneity came from the blend of 80% PVA and 20% HP. HP is a natural, hydrophilic and cytocompatible polysaccharide. Therefore, it should increase the cytocompatibility of PVA / HP based electrophilic membranes, but because it has low molecular weight, it is not an with electrospinnability polymer. On the other hand, the PVA has properties that make it electrospinnable and also its polymer blends and, the same can provide mechanical reinforcement to the nanofibres. These new nanofibers may have potential to be applied in the field of tissue engineering and the medical-pharmaceutical industry.

Key words: Electrospinning, Hydrogels, Heparin, Nanofibers.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	7
2 OBJETIVOS .....	8
2.1 GERAL.....	8
2.2 ESPECÍFICOS.....	8
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	8
3.1 ELETROFIAÇÃO.....	8
3.2 POLÍMEROS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS.....	9
3.3 PARÂMETROS A SEREM CONTROLADOS NO PROCESSO DE ELETROFIAÇÃO.....	10
3.3.1 CONCENTRAÇÃO.....	10
3.3.2 PESO MOLECULAR DOS POLÍMEROS .....	11
3.3.3 VISCOSIDADE .....	11
3.3.4 TENSÃO SUPERFICIAL .....	12
3.3.5 CONDUTIVIDADE.....	12
3.3.6 PARÂMETROS DE AMBIENTE .....	13
3.4 HEPARINA .....	14
3.5 POLI(ÁLCOOL VINÍLICO) .....	15
4 METODOLOGIA .....	15
4.1 MATERIAIS.....	15
4.2 PRODUÇÃO DAS NANOFIBRAS.....	15
4.3 RETICULAÇÃO E NEUTRALIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS .....	16
4.4 CARACTERIZAÇÃO .....	17
4.4.1 ESPECTROSCOPIA DE FOTOELÉTRONS DE RAIO-X (XPS).....	17
4.4.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	17
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
5.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS NANOFIBRAS NÃO RETICULADAS .....	17
5.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS NANOFIBRAS APÓS RETICULAÇÃO.....	21
5.3 ESPECTROSCOPIA DE FOTOELÉTRONS DE RAIO-X .....	24
6 CONCLUSÃO.....	26
REFERÊNCIAS.....	27

## 1 INTRODUÇÃO

A eletrofiação é uma técnica usada para formar nanomateriais a base de fibras a partir de soluções poliméricas **(AHN et al., 2006)**. Nanomateriais apresentam elevada área superficial em relação à materiais convencionais e, por isso, possuem aplicações tecnológicas. As nanofibras eletrofiadas são amplamente aplicadas na biomedicina como *scaffolds* para engenharia de tecidos, cura de ferimentos, entrega de fármacos, filtração, como membrana de afinidade, imobilização enzimática, implante para enxertos vasculares e outras aplicações **(BHARDWAJ e KUNDU, 2010)**.

O poli(álcool vinílico) (PVA) é preparado a partir do poli(acetato de vinila) por reação de hidrólise, sendo um polímero cristalino solúvel em água e biodegradável. O PVA possui propriedades mecânicas que tornam suas soluções e blendas poliméricas eletrofiáveis **(LIMPAN, et al., 2012)**. Por isso, esse biopolímero foi selecionado para obter nanofibras a partir de blendas PVA/heparina.

O PVA pode ser eletrofiado para formar nanofibras, no entanto, o mesmo precisa ser reticulado para conferir estabilidade ao material formado. **(VAN ETTEN et al., 2014)**. Hidrogéis de PVA são usados na produção de lentes de contato, sistemas de entrega de fármacos e produção de curativos. Como instrumento médico, é utilizado devido à suas propriedades de biocompatibilidade, não toxicidade, não-carcinogênico e bioadesividade **(GAAZ, et al., 2015)**.

A heparina (HP) se trata de um polissacarídeo sulfatado e solúvel em água, membro da família dos glicosaminoglicanos, sendo principalmente utilizada como anticoagulante no campo médico **(LIMA, RUDD e YATES, 2017)**. Este material tem sido utilizado como droga anticoagulante por mais de 60 anos para prevenção e controle de eventos que causam trombose **(BARROWCLIFFE, 2012)**. Além do mais, a HP possui atividade antiadesiva contra vários tipos de micro-organismos, apresenta citocompatibilidade, biodegradabilidade e outras propriedades.

Neste sentido, o presente estudo tem como objetivo produzir blendas de PVA e HP visando confeccionar nanomateriais via eletrofiação. O objetivo é incorporar a HP na estrutura das nanofibras e caracterizar os materiais formados. A HP e o PVA possuem elevada solubilidade em água, por isso, obter nanofibras de PVA/HP estáveis se trata de um desafio.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Sintetizar nanofibras a base de poli(álcool vinílico)/heparina por meio da técnica de eletrofiação e realizar a caracterização destes nanomateriais.

### 2.2 ESPECÍFICOS

Sintetizar nanofibras a partir de blendas poliméricas PVA/HP nas proporções massa/massa de 100/0, 80/20 e 70/30.

Caracterizar as nanofibras por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de fotoelétrons de raio-X (XPS).

## 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 3.1 ELETROFIAÇÃO

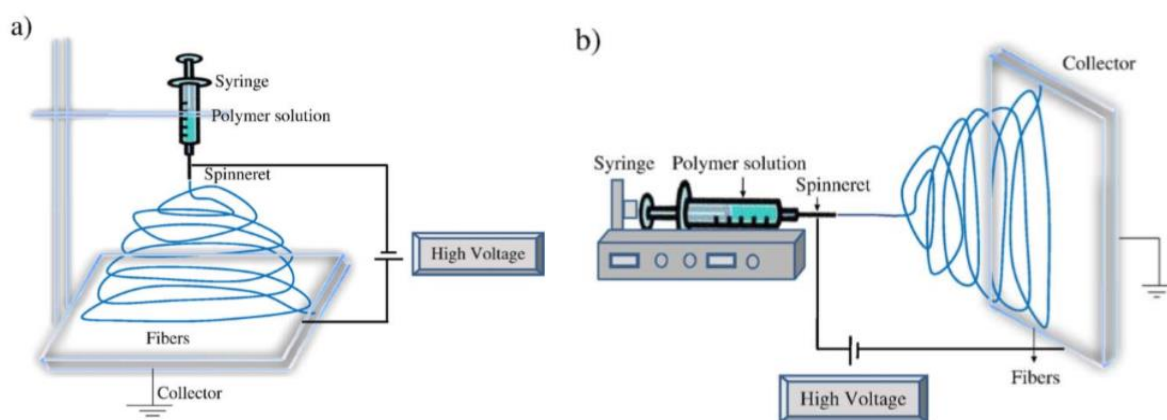
O processo de eletrofiação foi observado inicialmente por Rayleigh em 1897 e, posteriormente estudado por Zenely e finalmente patenteado em 1934 por Formhalsm (**BHARDWAJ e KUNDU, 2010**). A técnica em questão possui uma abordagem muito singular que consiste em utilizar forças eletrostáticas para produzir fibras finas a partir de soluções poliméricas. As fibras produzidas por este método possuem diâmetros em torno de nanômetros a micrômetros e apresentam grande área superficial (**BHARDWAJ e KUNDU, 2010**). No ano de 1969, Taylor se propôs a estudar jatos direcionados eletricamente, gerando assim uma importante base para o processo de eletrofiação (**BHARDWAJ e KUNDU, 2010**). Em 1990 a técnica em estudo passou a ser utilizada por Reneker e seus colaboradores e permanece até os dias atuais como um promissor campo de pesquisa que promove o estudo e preparo de nanomateriais (**LONGO e LA PORTA, 2017**).



O processo consiste em aplicar um campo elétrico entre a ponta de uma agulha e uma placa coletora, induzindo assim a formação de fios devido à repulsão de cargas elétricas na solução que está sendo eletrofiada. Utilizando a solução polimérica, em um fluxo pré-estabelecido, as cargas elétricas são geradas na superfície do polímero que se localiza na ponta da agulha surgindo assim, por consequência destas cargas, forças de repulsão na superfície do líquido. Quando a força de repulsão eletrostática supera a tensão superficial do líquido a gota se deforma, resultando em um formato cônico, chamado cone de Taylor (**YARIN, KOOMBHONGSE e RENEKER, 2001**).

À medida em que a deformação do cone de Taylor aumenta, ocorre a ejeção da solução polimérica carregada eletricamente e desta forma se dá o alongamento do polímero entre a ponta da agulha e a placa coletora induzindo a formação das fibras (**LONGO e LA PORTA, 2017**). O sistema tradicional de eletrofiação consiste em uma fonte de alta voltagem, bomba injetora conectada a uma seringa na ponta plana da agulha capilar e um coletor metálico. O sistema experimental pode ser montado na horizontal ou na vertical como mostrado na Figura 1 (**LONGO e LA PORTA, 2017**).

Figura 1 - a) Aparato vertical típico; b) Aparato horizontal típico



Fonte: BHARDWAJ e KUNDU, 2010.

### 3.2 POLÍMEROS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS

Nanofibras são formadas a partir de polímeros sintéticos e naturais, bem como de blends destes materiais. Os polímeros naturais apresentam melhor biocompatibilidade e baixa imunogenicidade quando comparado aos polímeros

sintéticos utilizados em aplicações biomédicas. A razão disto é a capacidade inerente que os polímeros naturais possuem de unir células desde que carreguem sequências específicas de proteínas (**BHARDWAJ e KUNDU, 2010**). Os polímeros naturais mais utilizados são quitosana, colágeno, gelatina, caseína, acetato de celulose, proteína da seda, quitina (**BHARDWAJ e KUNDU, 2010**) e a heparina (**MEADE, 2013**), enquanto que os polímeros sintéticos mais utilizados são PVA, policaprolactona, poli(vinilpirrolidona) e outros (**MANEA et al., 2016**).

O uso de blendas poliméricas é um artifício viável para gerar novos materiais com propriedades mútuas. Um poliéster biodegradável hidrofóbico tal como a policaprolactona apresenta excelente propriedade mecânica, mas baixa afinidade celular. Blendas deste poliéster com quitosana, taninos e gelatina foram eletrofiadas e apresentaram potencial para promoverem adesão e proliferação celular, propriedades mecânicas adequadas, estrutura nanométrica, porosidade e biodegradabilidade (**LIANG, HSIAO e CHU, 2007**).

### 3.3 PARÂMETROS A SEREM CONTROLADOS NO PROCESSO DE ELETROFIAÇÃO

#### 3.3.1 CONCENTRAÇÃO

Nos processos de eletrofiação para que haja a formação de fibras é preciso que a solução possua uma concentração mínima. Em baixas concentrações, fibras com *beads* são obtidas e a medida em que a concentração aumenta, fibras uniformes com diâmetros maiores são formadas devido à maior viscosidade da solução. (**DEITZEL et al. 2001; McKEE et al., 2004; HAGHI e AKBARI, 2007**). Desta forma, deve haver uma concentração ótima para cada tipo de solução utilizada. Em concentrações baixas são formadas *beads* ao invés de fibras e em concentrações altas ocorre formação de fibras contínuas. No entanto, concentrações muito altas levam ao entupimento da agulha e interrompimento do processo de eletrofiação (**SUKIGARA et al., 2003**). A viscosidade deve ser ajustada para superar a tensão superficial e, então, promover fibras uniformes sem presença de *beads*.

O aumento da viscosidade implica no emanhamento das cadeias poliméricas. Estes emanhamentos estabilizam as gotículas e produzem fibras livres de *beads* com

grande uniformidade. Em concentrações baixas do polímero os emaranhamentos não ocorrem e os jatos apresentam instabilidades levando à formação de *beads*, e rupturas nas fibras **(CHEN et al., 2006)**. O aumento da concentração promove fibras com diâmetros maiores; portanto, a concentração da solução polimérica deve ser ajustada para fornecer fibras uniformes com diâmetros em escala manométrica **(Ki et al., 2005; JUN et al., 2003)**.

### 3.3.2 PESO MOLECULAR DOS POLÍMEROS

O peso molecular do polímero tem efeito significativo nas propriedades elétricas e reológicas, como a viscosidade, tensão superficial, condutividade e força dielétrica. **(HAGHI e AKBARI, 2007)**. Também é um fator que altera a morfologia das fibras eletrofiadas e, geralmente, altos pesos moleculares resultam em viscosidades desejáveis para formação de fibras. Soluções poliméricas de peso molecular alto tendem a formar fibras de diâmetros médios maiores. O peso molecular reflete o grau de emaranhamentos que as cadeias poliméricas terão em solução. **(BHARDWAJ e KUNDU, 2010)**.

Portanto, o peso molecular é diretamente relacionado aos emaranhamentos das cadeias poliméricas. Em soluções de baixo peso molecular podem apresentar poucos emaranhamentos o que favorece a formação de *beads* mesmo que o polímero se encontre em altas concentrações. Em pesos moleculares maiores a viscosidade da solução e o grau de emaranhamento na cadeia polimérica aumenta drasticamente favorecendo, portanto, a formação de fibras com diâmetros maiores **(BHARDWAJ e KUNDU, 2010)**.

### 3.3.3 VISCOSIDADE

A viscosidade da solução possui papel importante em determinar o tamanho e morfologia das fibras eletrofiadas. Com viscosidades extremamente baixas não há formação contínua de fibras e em viscosidades muito altas acarreta em dificuldade de ejeção dos jatos provenientes da solução polimérica. Desta forma, existe uma viscosidade ótima, que varia para cada sistema polimérico **(BHARDWAJ e KUNDU, 2010)**.

No processo de eletrofiação a viscosidade é extremamente importante no que tange à variação de concentrações das quais fibras contínuas podem ser obtidas. Para uma solução com baixa viscosidade, a tensão superficial é o fator dominante e apenas *beads* ou fibras contendo *beads* são formadas, enquanto que acima de certa concentração crítica, uma estrutura de fibras contínuas é obtida e a morfologia é afetada pela concentração da solução **(DOSHI e RENEKER, 1995)**. Assim, existe uma viscosidade ótima que depende tanto do solvente quanto do polímero dissolvido.

A viscosidade sem dúvida é o fator mais importante a ser controlado no processo de eletrofiação **(BHARDWAJ e KUNDU, 2010)**.

### 3.3.4 TENSÃO SUPERFICIAL

A tensão superficial depende da concentração do polímero e da natureza do solvente utilizados para formar a solução a ser eletrofiada. A combinação do polímero e solvente apresentam papel fundamental no processo de eletrofiação pois podem reduzir a tensão superficial da solução possibilitando gerar fibras sem a presença de *beads* **(HOHMAN, 2001)**. Em concentrações baixas da solução polimérica a tensão superficial aumenta e pode causar instabilidades no jato durante o processo de eletrofiação, ocorrendo *electrospray* ao invés da eletrofiação, devido à formação de gotas ejetadas e não fibras contínuas, como esperado **(OKUTAN, TERZI e ALTAY, 2014)**.

Para superar a tensão superficial é necessário utilizar altas voltagens no processo de eletrofiação a fim de reduzir ou eliminar a presença de *beads* e gotas da ponta da agulha **(BHARDWAJ e KUNDU, 2010; HAGHI e AKBARI, 2007)**.

### 3.3.5 CONDUTIVIDADE

A condutividade da solução é principalmente determinada pelo tipo do polímero, pelo solvente usado, e disponibilidade de sais ionizáveis no sistema. Com o aumento da condutividade elétrica da solução, há diminuição significativa no diâmetro das nanofibras eletrofiadas **(BHARDWAJ e KUNDU, 2010)**. A condutividade elétrica da solução se refere inversamente à resistência que a solução apresenta em conduzir

eletricidade. Vale ressaltar também que sais e, até mesmo nanopartículas, podem ser utilizadas a fim de aumentar a condutividade da solução **(ZHOU, 2013)**.

O uso de soluções poliméricas com elevadas condutividades favorecem formação de fibras finas. Por outro lado, fibras eletrofiadas obtidas a partir de soluções com baixa condutividade não apresentam uniformidade, por conterem *beads*. A adição de surfactantes e uso de solventes adequados com alta constante dielétrica podem facilitar a obtenção de nanofibras com diâmetros menores, pois a condutividade da solução polimérica aumenta e a viscosidade pode diminuir a um valor adequado, favorecendo um maior estiramento do jato **(SASITHORN e MARTINOVÁ, 2014)**.

Por outro lado, um solvente excessivamente carregado pode aumentar drasticamente a condutividade da solução, deixando assim de ser eletrofiável. Neste sentido existe uma voltagem mínima necessária para a ocorrência de eletrofiação, e a presença de íons com maior mobilidade promove maior alongamento do jato e formação de fibras mais finas **(LIU, 2011)**.

### 3.3.6 PARÂMETROS DE AMBIENTE

Tratando dos parâmetros de ambiente os principais que devem ser observados e controlados são o de temperatura e humidade. Estes parâmetros estão diretamente ligados à condições atmosféricas que podem ser controladas e ajustadas.

A temperatura influi principalmente na velocidade com o que o solvente evapora e assim na viscosidade da solução polimérica **(LONGO, LA PORTA, 2017)**. Também é possível verificar em alguns trabalhos que a diminuição do diâmetro das fibras está relacionada ao aumento da temperatura devido à relação inversa que existe entre a viscosidade da solução e a temperatura. O aumento da temperatura também acelera a taxa de evaporação do solvente empregado **(DE VRIEZE, 2009)**.

A umidade relativa possui grande influência no processo de eletrofiação e na morfologia das fibras **(LONGO, LA PORTA, 2017)**. Em umidades relativas altas as fibras chegam até a placa coletora antes mesmo do solvente evaporar por completo fazendo com que as fibras se unam e que ocorra a formação de *beads* **(DE VRIEZE, 2009)**.

Contudo, dependendo da volatilidade do solvente e se o ambiente está com

baixa umidade relativa, o solvente pode evaporar mais rápido do que o fluxo estabelecido e, assim, o polímero se solidifica na ponta da agulha impedindo que o processo continue da maneira desejada **(DE VRIEZE, 2011)**.

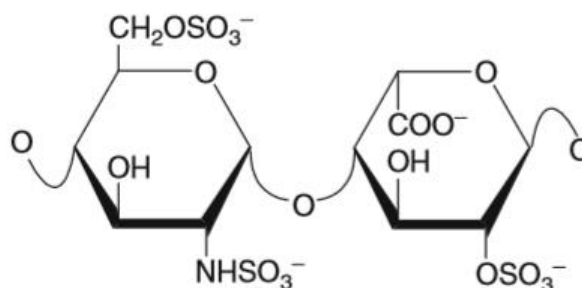
### 3.4 HEPARINA

A HP é o anticoagulante mais antigo utilizado para fins clínicos. Ela foi descoberta em uma tentativa de Mclean em isolar um agente tromboplástico em 1916 **(LEVER, MULLOY e PAGE, 2012)**. Ocorre naturalmente como um polissacarídeo linear altamente sulfatado, sendo o seu uso médico datado em 1935 e, desde então, é estudada para aplicações diversas **(ODUAH, LINHARDT e SHARFSTEIN, 2016)**.

Estabelecida como droga anticoagulante a mais de seis décadas para a prevenção e controle de eventos trombóticos graças a sua interação com um número de proteínas do sangue atuantes no processo de coagulação, tais como antitrombina e trombina **(BARROWCLIFFE, 2012)**.

É proveniente de órgãos animais, principalmente da mucosa intestinal de suínos e passa por um processo extensivo de purificação antes de ser utilizada para fins farmacêuticos. A base molecular para a função anticoagulante foi descoberta no início da década de 80 quando uma sequência distinta de pentassacarídeos nas cadeias da heparina foram identificadas como fundamentais para a ligação e ativação da antitrombina, levando à inibição acelerada da cascata de coagulação **(BARROWCLIFFE, 2012)**. A Figura 2 representa a estrutura química básica da HP.

Figura 2 - Unidade dissacarídica mais comum na heparina.

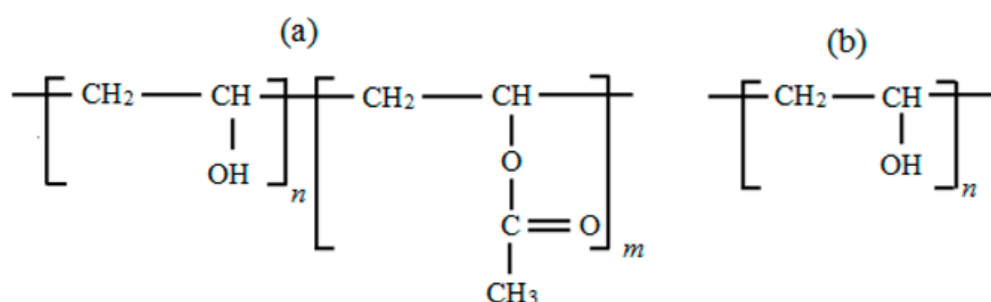


Fonte: adaptado de BARROWCLIFFE, 2012.

### 3.5 POLI(ÁLCOOL VINÍLICO)

O poli(álcool vinílico) (PVA) é obtido principalmente a partir do acetato de polivinila por meio de sua hidrólise, sendo facilmente degradado por organismos biológicos (RAZZAK, 2001). O PVA é um polímero sintético que tem sido amplamente utilizado desde a primeira metade do século 20. É aplicado nos setores industriais, comerciais, médico e de alimentos e, também, na produção de vernizes, resinas e em embalagens de alimentos (DEMERLI e SCHONEKER, 2003). A Figura 3 apresenta as estruturas químicas do PVA.

Figura 3 – Estrutura química do PVA: (a) parcialmente hidrolisado; (b) completamente hidrolisado.



Fonte: DEMERLIS, 2003.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MATERIAIS

Heparina sódica da mucosa intestinal suína (14,4 kDa, 12,5% de enxofre), poli(álcool vinílico) com grau de hidrólise de 80% e massa molar entre 120 a 150 kDa, ácido fórmico (88%) e solução aquosa de glutaraldeído (50% m/v) foram adquiridos da Sigma.

### 4.2 PRODUÇÃO DAS NANOFIBRAS

As membranas eletrofiadas foram criadas seguindo as condições experimentais propostas por Van der Schueren et al. (2011 e 2012) com algumas adaptações. Foram produzidas blendas de PVA/HP (6 mL) em diferentes proporções de PVA/HP (100/0, 80/20 e 70/30). As blendas foram preparadas em misturas de água/ácido

fórmico (1:1). As blendas de PVA/HP foram eletrofiadas com taxa de fluxo de 0,1 mL/h. As soluções poliméricas foram eletrofiadas a partir de uma fonte de corrente contínua de alta voltagem (Gama High Voltage Research Ormond Beach) a 10 kV (temperatura de 20°C e umidade relativa de 22%). A distância da ponta da agulha até o coletor foi estabelecida em 15 cm (MARTINS, 2018).

#### 4.3 RETICULAÇÃO E NEUTRALIZAÇÃO DAS NANOFIBRAS

As nanofibras obtidas foram imersas em solução de glutaraldeído (1,0%) obtida em acetona (99%, Sigma) contendo 1,0% de ácido acético. Os tempos de imersão foram controlados como mostrado na Tabela 1. Após, as nanofibras reticuladas foram removidas da solução e secas a temperatura ambiente durante 24 h. Então, os materiais foram lavados em água deionizada por imersão. Cada ciclo de lavagem durou 15 minutos. As fibras foram congeladas e liofilizadas. Ambos os materiais, antes e após a reticulação e lavagem, foram caracterizados.

Tabela 1 - Tempos de Reticulação

Amostra	Tempo de Reticulação (min)
A	10
B	10
C	15
D	30
E	30
F	60
G	30
H	30
I	60



## 4.4 CARACTERIZAÇÃO

### 4.4.1 ESPECTROSCOPIA DE FOTOELÉTRONS DE RAIOS-X (XPS)

A espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X é uma técnica utilizada para caracterizar superfícies de sólidos, pois fornece dados sobre a composição atômica da superfície. Os espectros foram obtidos por meio de um espectrômetro PhiElectronics 5800 (modelo Chanhassen MN), com auxílio de um fonte Al  $K\alpha$  monocromática de raios-X ( $h\nu = 1486,6$  eV), um analisador hemisférico e um detector multicanal. O ajuste dos espectros de alta resolução foi realizado por meio do software Origin 8.5, usando função gaussiana. Esta análise foi realizada na Colorado State University (CSU), USA.

### 4.4.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Para obtenção das imagens de MEV, as amostras foram revestidas (10 nm) com liga de paládio-ouro. Então, as imagens foram processadas em um microscópio eletrônico, modelo JSM-6500F(JEOL, Japão) com aceleração de 5 kV. As análises foram realizadas na Colorado State University (USA).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

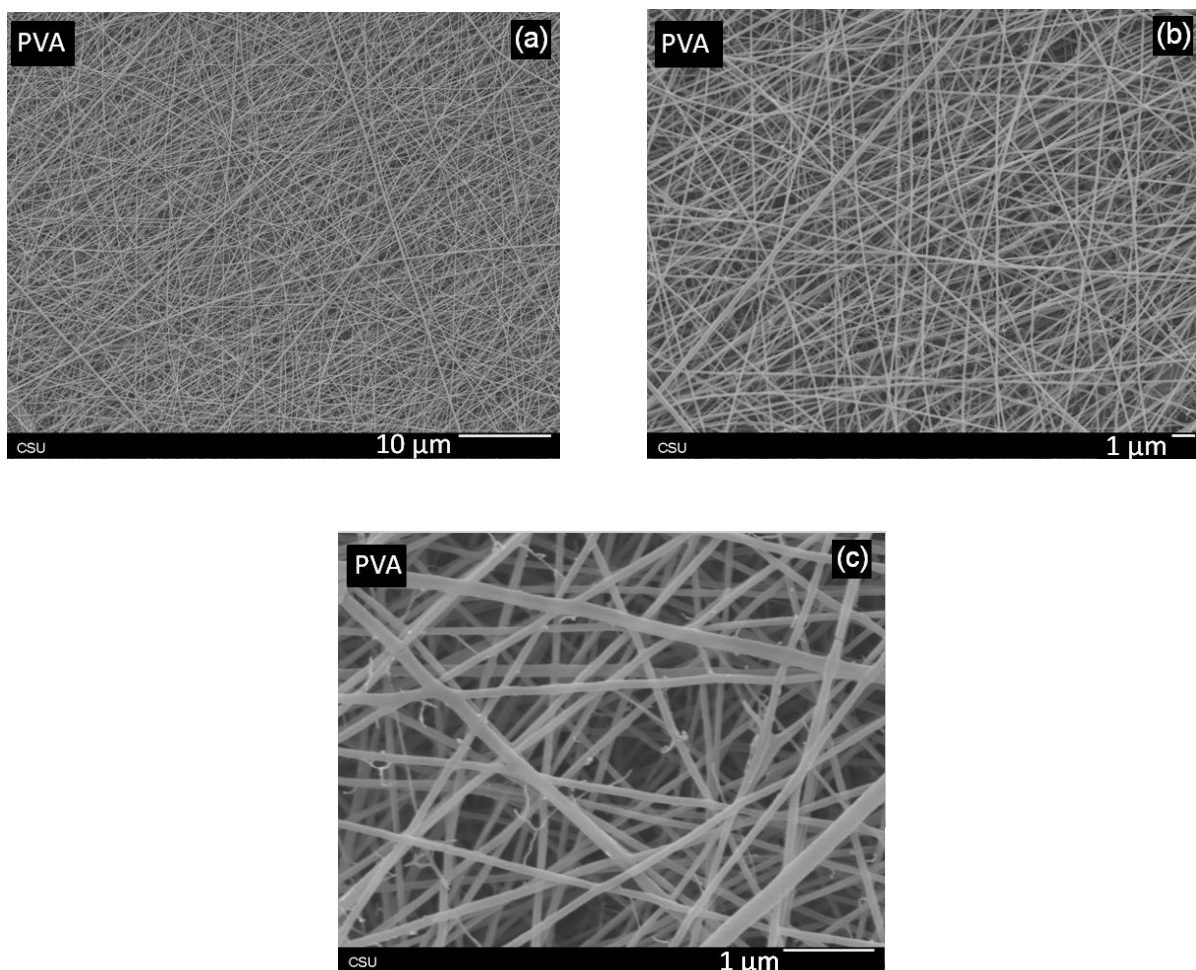
### 5.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS NANOFIBRAS NÃO RETICULADAS

Foram realizados diversos testes com diferentes proporções de PVA e HP onde não foi possível obter nanofibras de PVA/HP partindo-se de blendas com concentrações elevadas de PVA (acima de 90%). Também não se pode obter nanofibras de PVA/HP partindo-se de blendas com concentrações elevadas de HP (acima de 40%).

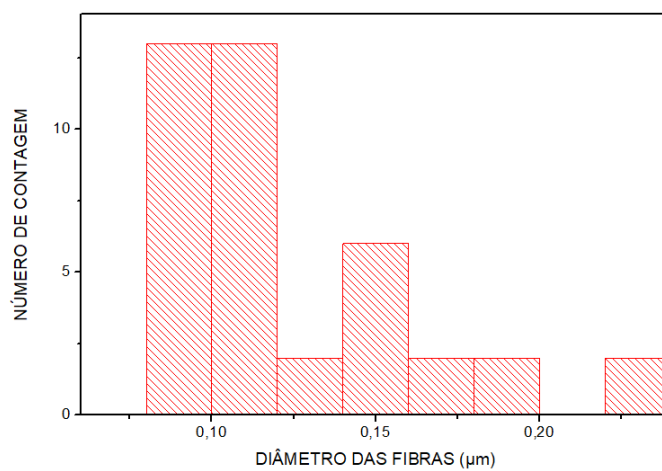
O PVA possui forte interação com o solvente utilizado (acetona) e estando em elevada concentração faz com que as fibras coalesçam. De forma análoga elevado teor de HP na blenda polimérica compromete o processo de reticulação (apenas o PVA reticula com glutaraldeído) fazendo com que as nanofibras não sejam estáveis durante o processo de lavagem, visto que a HP é um polímero hidrofílico, o que consequentemente prejudica a morfologia das fibras.

As Figuras 4, 5 e 6 apresentam as imagens de MEV dos nanofibras produzidas a partir de blends PVA/HP nas razões 100/0, 80/20 e 70/30, respectivamente. Logo abaixo das imagens de MEV estão as figuras que retratam o cálculo do diâmetro médio das nanofibras.

Figura 4 – Nanofibras de PVA.

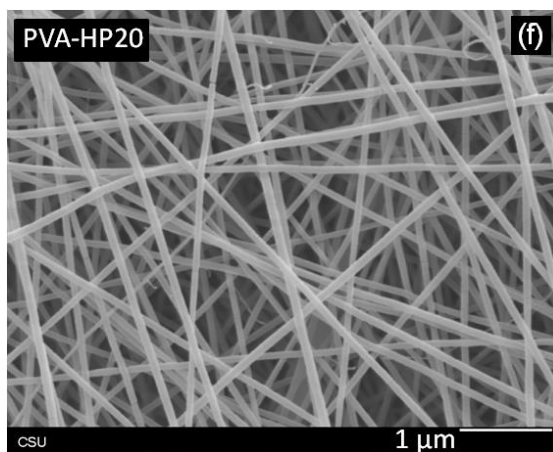
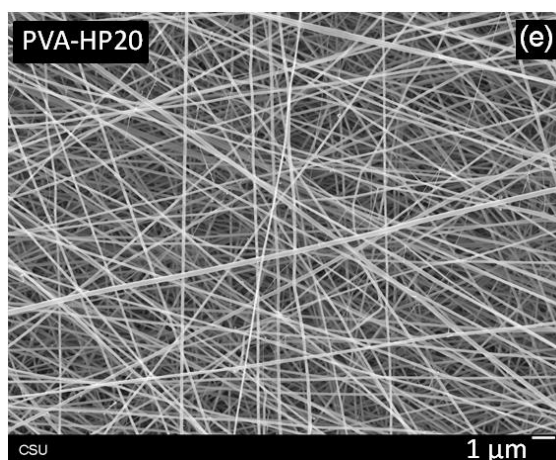
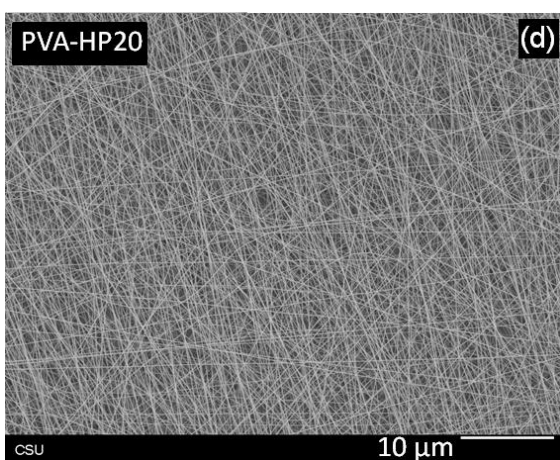


Fonte: Autoria própria.



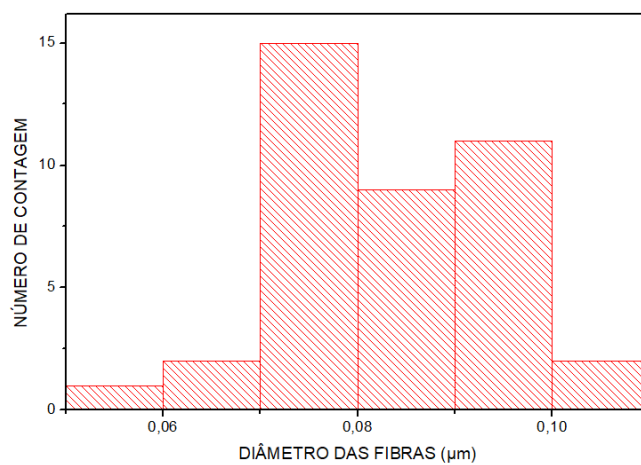
Fonte: Autoria própria.

Figura 5 – Nnaofibras de PVA-HP preparada na razão 80/20 (PVA/HP).



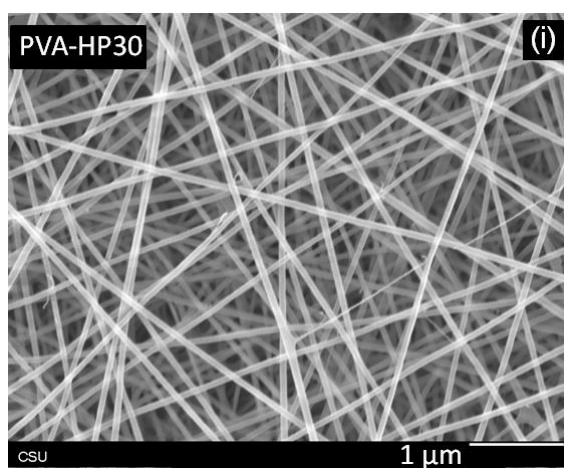
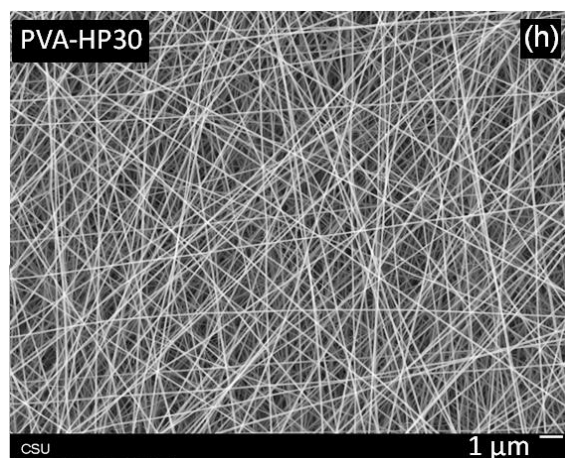
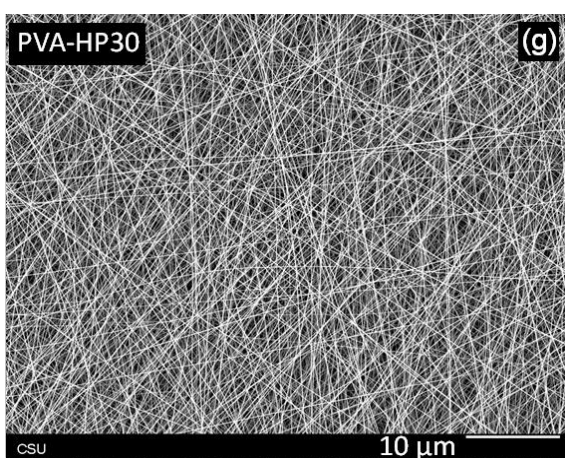
Fonte: Autoria própria.



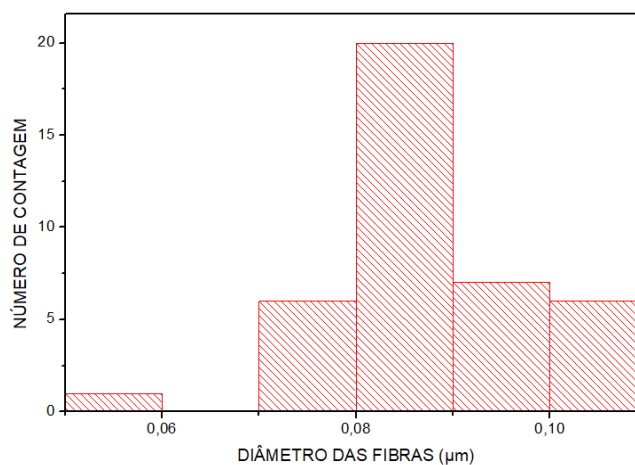


Fonte: Autoria própria.

Figura 6 – Nnaofibras de PVA-HP preparadas na razão 70/30 (PVA/HP).



Fonte: Autoria própria.



Fonte: Autoria própria.

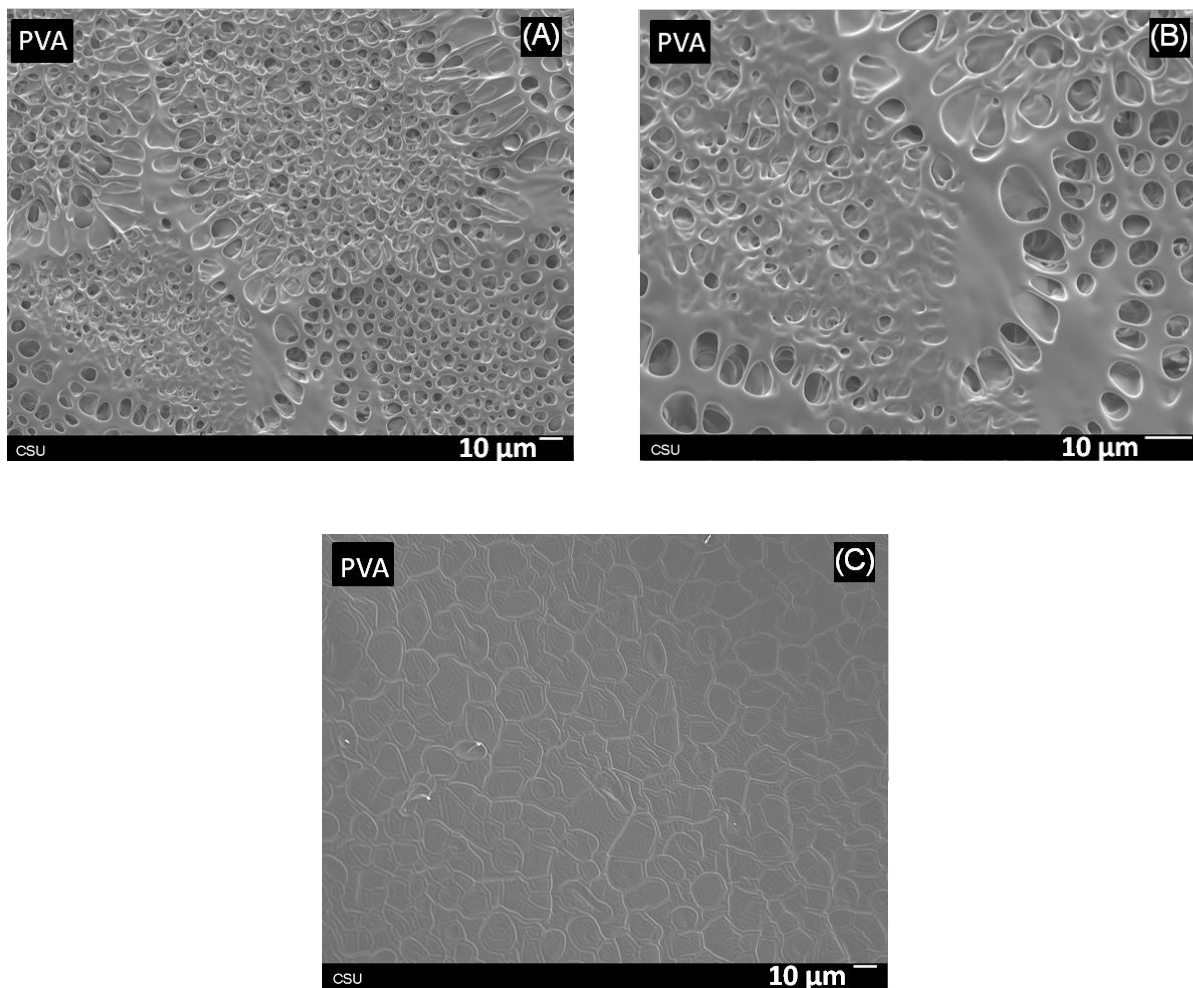
Nas nanofibras compostas unicamente de PVA, verificou-se que o diâmetro médio das mesmas foi em torno de 124 nm (0,124 micrômetros). Nas fibras compostas por PVA-HP (razão 80/20) houve uma redução no diâmetro médio das fibras quando comparado às fibras de PVA. Essas fibras apresentaram diâmetro médio de aproximadamente 83 nm. Nas fibras compostas por PVA-HP (razão 70/30), também houve uma redução no diâmetro médio das fibras quando comparado às fibras de PVA. Essas fibras apresentaram diâmetro médio em torno de 86 nm (0,086 micrômetros).

A redução no diâmetro das fibras é atribuída à quantidade de PVA presente na blenda visto que ao se diminuir a quantidade de PVA este diâmetro médio também diminui. Isto pode ser atribuído às fortes interações do PVA com acetona o que prejudica a morfologia das fibras e ao se aumentar a concentração de HP na blenda em detrimento da concentração de PVA, esse fator é minimizado. Outro ponto importante a se observar é que a HP é um eletrólito aniônico o que contribuiu para aumentar a condutividade da solução. O baixo peso molecular da heparina aumenta a fluidez da solução polimérica a ser eletrofiada, assim estes fatores também podem favorecer à formação de fibras com diâmetros menores.

## 5.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS NANOFIBRAS APÓS RETICULAÇÃO

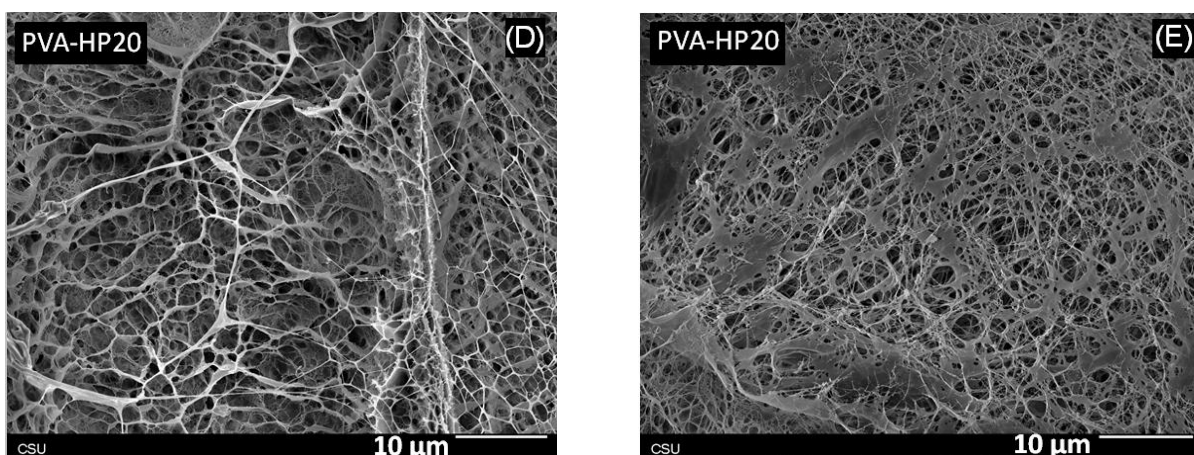
As Figuras 7, 8 e 9 apresentam imagens de MEV das nanofibras após processo de reticulação e lavagem.

Figura 7 – Nanofibras de PVA reticuladas com glutaraldeído: A) e B) após 10 min de reticulação, C) após 15 min de reticulação.

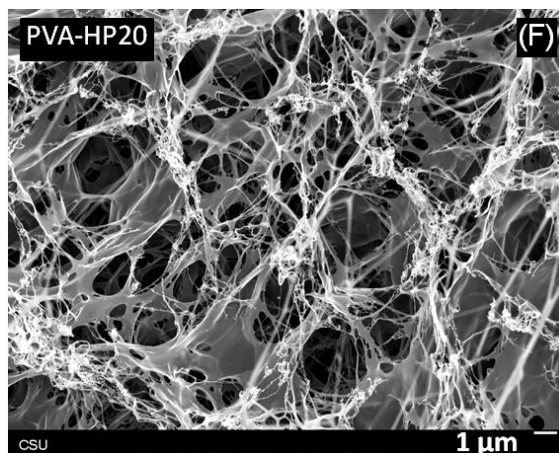


Fonte: Autoria própria.

Figura 8 – Nanofibras de PVA-HP (80/20) reticuladas com glutaraldeído: D) e E) após 30 min de reticulação, F) após 1h de reticulação.

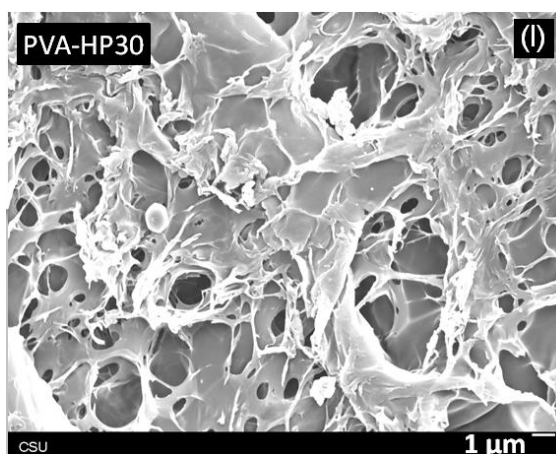
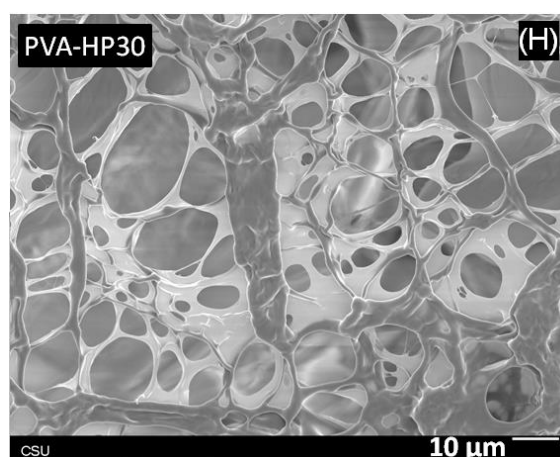
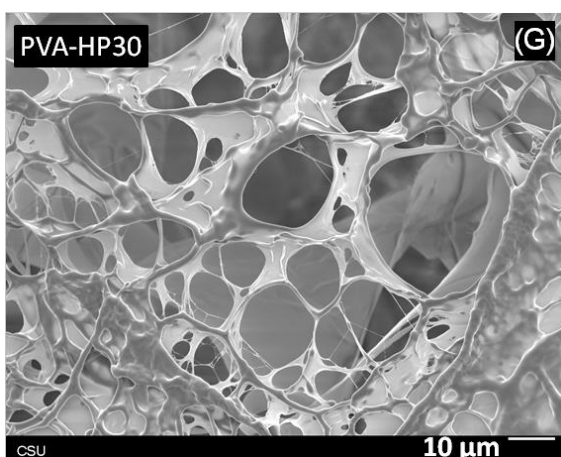






Fonte: Autoria própria.

Figura 9 – Nanofibras de PVA-HP (70/30) reticuladas com glutaraldeído: G) e H) após 30 min de reticulação, I) após 1h de reticulação.



Fonte: Autoria própria.

A Figura 7 mostra que as fibras formadas exclusivamente por PVA coalescem rapidamente em contato com a acetona durante o processo de

reticulação, mesmo usando apenas 10 min. Após 15 min as nanofibras de PVA não podem ser identificadas. Este fato pode ser atribuído às interações efetivas entre acetona e PVA.

Desta forma, a acetona não é um bom solvente para viabilizar a reticulação com o glutaraldeído. Não há relatos de nanofibras de PVA reticuladas com glutaraldeído em meio de acetona. Por outro lado, as Figuras 8 e 9 apresentam nanofibras de PVA/HP (razão 80/20 e 70/30) reticuladas com glutaraldeído em meio de acetona após 30 min (Fig. 8D, 8E, 9G e 9H) e 1 h (Fig. 8F e 9I). Neste caso, a presença da HP promove estabilidade às nanofibras durante o processo de reticulação, pois a HP não apresenta solubilidade na acetona. Como dito anteriormente ao se utilizar blendas com elevado teor de HP as nanofibras produzidas não são estáveis durante o processo de lavagem, uma vez que a HP apresenta alta solubilidade em água e apenas o PVA reticula com o glutaraldeído. Portanto, o teor de HP na blenda deve ser fixado entre 20 a 30% para que se possa obter nanofibras, pois esta trata-se de um polímero hidrofílico; assim, após subsequentes lavagens a morfologia das nanofibras é prejudicada.

Após o processo de reticulação as nanofibras apresentaram morfologia significativamente diferente das nanofibras não reticuladas. Isto ocorreu, pois a reticulação foi realizada em solução, ou seja, em meio líquido. A presença de acetona perturba as cadeias de PVA, enquanto a presença de água interfere na organização das cadeias de HP. Mesmo com todas estas dificuldades, nanofibras de PVA/HP estáveis foram processadas após reticulação. Não há relatos na literatura à respeito de fibras de PVA/HP reticuladas em solução ou em qualquer outro meio (vapor de glutaraldeído). Estudos da literatura não mostram a morfologia das nanofibras reticuladas. Aqui mostramos que o processo de reticulação influencia significativamente no resultado final de morfologia dos materiais.

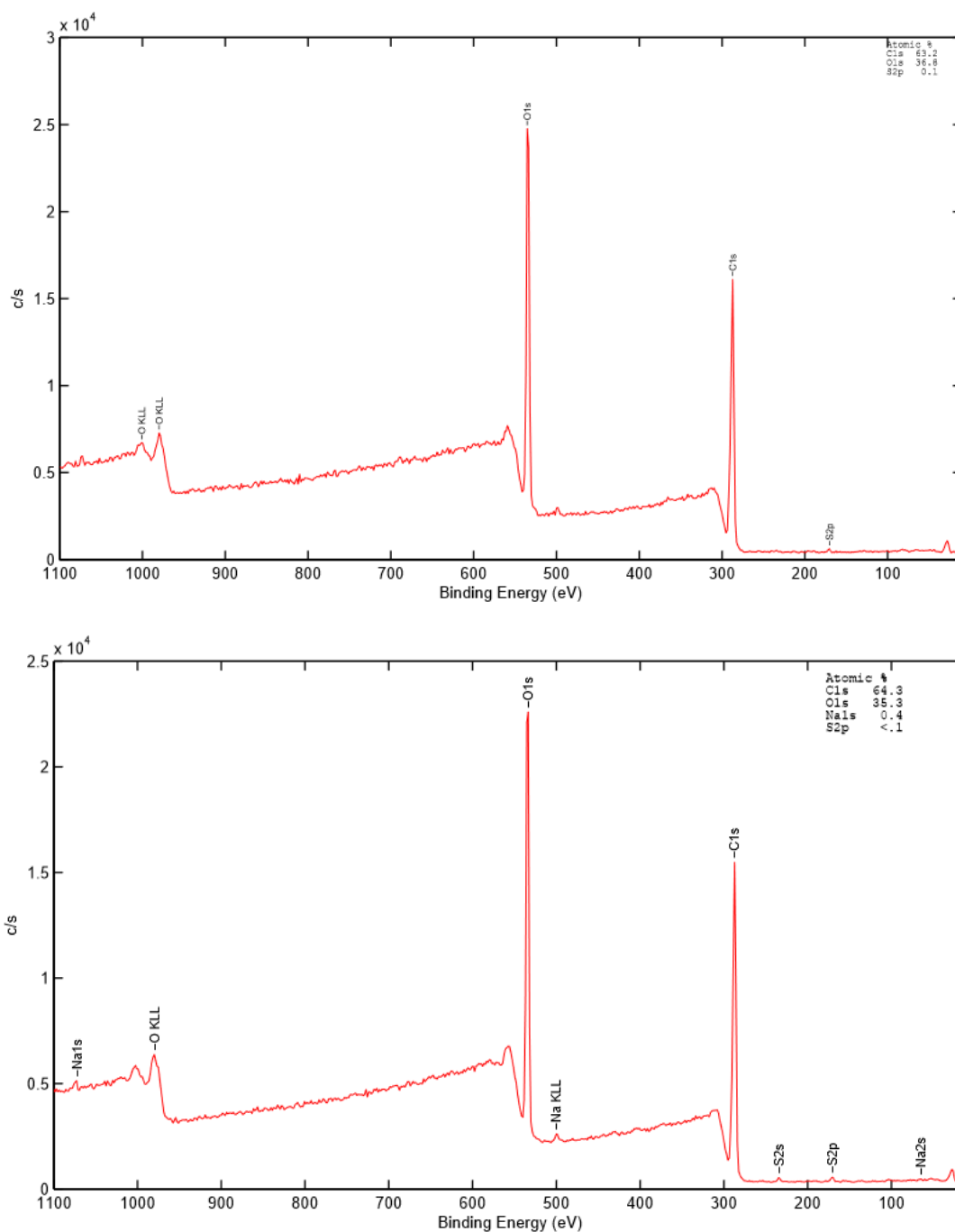
### 5.3 ESPECTROSCOPIA DE FOTOELÉTRONS DE RAIOS-X

A análise via XPS foi realizada a fim de investigar a presença da HP no material reticulado e lavado. Tem-se que antes da reticulação (espectro XPS na imagem superior) a porcentagem atômica de S2p não se alterou significativamente



em relação aos teores de S2p na amostra reticulada e lavada (espectro XPS na imagem inferior), concluindo que a HP permanece na estrutura do material mesmo após reticulação e lavagem. Este tipo de material foi obtido pela primeira vez.

Figura 10 – Espectro de XPS das nanofibras PVA/HP (razão 70:30): imagem superior antes do processo de reticulação e imagem inferior após reticulação e lavagem do material.



Fonte: Autoria própria.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que foi possível produzir fibras em escala nanométrica a partir de uma blenda PVA/HP onde os melhores resultados foram provenientes da blenda com proporção de 80% de PVA e 20% de HP.

Também foi verificado que valores superiores de concentração de PVA (acima de 90%) levam à coalescência das nanofibras durante a reticulação devido ao contato com acetona e valores elevados de concentração de HP resultam na dissolução das fibras durante a lavagem, pois a HP é muito solúvel em água e, apenas o PVA reticula com o glutaraldeído.

A presença da HP no material final foi confirmada via XPS. Portanto, as nanofibras produzidas podem possuir aplicação no campo biomédico devido principalmente à presença de HP em sua estrutura.

## REFERÊNCIAS

AHN, Y. C. et al. Development of high efficiency nanofilters made of nanofibers. **Current Applied Physics**, v. 6, n. 6, p. 1030-1035, 2006.

BARROWCLIFFE, T. W. History of heparin. In: **Heparin-A Century of progress**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2012.

BHARDWAJ, Nandana; KUNDU, Subhas C. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology advances**, v. 28, n. 3, p. 325-347, 2010.

CHANG, Ji Young et al. **Biopolymers- PVA Hydrogels Anionic Polymerisation Nanocomposites**. Springer Science & Business Media, 2000.

CHEN, Y. J. et al. Linear ethanol sensing of Sn O<sub>2</sub> nanorods with extremely high sensitivity. **Applied physics letters**, v. 88, n. 8, p. 083105, 2006.

DEITZEL, Joseph M. et al. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. **Polymer**, v. 42, n. 1, p. 261-272, 2001.

DEMERLIS, C. C.; SCHONEKER, D. R. Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA). **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, n. 3, p. 319-326, 2003.

DE VRIEZE, Sander et al. The effect of temperature and humidity on electrospinning. **Journal of materials science**, v. 44, n. 5, p. 1357, 2009.

DE VRIEZE, Sander et al. Morphologic study of steady state electrospun polyamide 6 nanofibres. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 119, n. 5, p. 2984-2990, 2011.

DOSHI, Jayesh; RENEKER, Darrell H. Electrospinning process and applications of electrospun fibers. **Journal of electrostatics**, v. 35, n. 2-3, p. 151-160, 1995.

GAAZ, Tayser Sumer et al. Properties and applications of polyvinyl alcohol, halloysite nanotubes and their nanocomposites. **Molecules**, v. 20, n. 12, p. 22833-22847, 2015.

HAGHI, A. K.; AKBARI, M. Trends in electrospinning of natural nanofibers. **physica status solidi (a)**, v. 204, n. 6, p. 1830-1834, 2007.

HOHMAN, Moses M. et al. Electrospinning and electrically forced jets. I. Stability theory. **Physics of fluids**, v. 13, n. 8, p. 2201-2220, 2001.

LEVER, Rebecca; MULLOY, Barbara; PAGE, Clive P. (Ed.). **Heparin-a century of progress**. Springer Science & Business Media, 2012.

LIANG, Dehai; HSIAO, Benjamin S.; CHU, Benjamin. Functional electrospun nanofibrous scaffolds for biomedical applications. **Advanced drug delivery reviews**, v. 59, n. 14, p. 1392-1412, 2007.

LIMA, Marcelo; RUDD, Timothy; YATES, Edwin. New applications of heparin and other glycosaminoglycans. **Molecules**, v. 22, n. 5, p. 749, 2017.

LIMPAN, Natthaporn et al. Influences of degree of hydrolysis and molecular weight of poly (vinyl alcohol)(PVA) on properties of fish myofibrillar protein/PVA blend films. **Food hydrocolloids**, v. 29, n. 1, p. 226-233, 2012.

LIU, Yang et al. Effects of solution properties and electric field on the electrospinning of hyaluronic acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 1011-1015, 2011.

LONGO, Elson; LA PORTA, Felipe de Almeida. Recent Advances in Complex Functional Materials. Recent Advances in Complex Functional Materials, ISBN 978-3-319-53897-6. **Springer International Publishing AG**, 2017, 2017.

MAITRA, Jaya; SHUKLA, Vivek Kumar. Cross-linking in hydrogels-a review. **American Journal of Polymer Science**, v. 4, n. 2, p. 25-31, 2014.

MANEA, L. R. et al. Recent advances of basic materials to obtain electrospun polymeric nanofibers for medical applications. In: **IOP Conference Series: Materials**

**Science and Engineering**. IOP Publishing, 2016. p. 032006.

MARTUCCI, Josefa Fabiana; ACCAREDDU, A. E. M.; RUSECKAITE, Roxana Alejandra. Preparation and characterization of plasticized gelatin films cross-linked with low concentrations of glutaraldehyde. **Journal of Materials Science**, v. 47, n. 7, p. 3282-3292, 2012.

MEADE, Kate A. et al. Immobilization of heparan sulfate on electrospun meshes to support embryonic stem cell culture and differentiation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 8, p. 5530-5538, 2013.

MEDEIROS, Eliton S. et al. Effect of relative humidity on the morphology of electrospun polymer fibers. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 86, n. 6, p. 590-599, 2008.

MCKEE, Matthew G. et al. Correlations of solution rheology with electrospun fiber formation of linear and branched polyesters. **Macromolecules**, v. 37, n. 5, p. 1760-1767, 2004.

ODUAH, Eziaba I.; LINHARDT, Robert J.; SHARFSTEIN, Susan T. Heparin: past, present, and future. **Pharmaceuticals**, v. 9, n. 3, p. 38, 2016.

OKUTAN, Nagihan; TERZI, Pınar; ALTAY, Filiz. Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 19-26, 2014.

RAZZAK, Mirzan T. et al. Irradiation of polyvinyl alcohol and polyvinyl pyrrolidone blended hydrogel for wound dressing. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 62, n. 1, p. 107-113, 2001.

SASITHORN, Nongnut; MARTINOVÁ, Lenka. Fabrication of silk nanofibres with needle and roller electrospinning methods. **Journal of Nanomaterials**, v. 2014, p. 140, 2014.

SUKIGARA, Sachiko et al. Regeneration of Bombyx mori silk by electrospinning—part 1: processing parameters and geometric properties. **Polymer**, v. 44, n. 19, p. 5721-5727, 2003.

VAN ETTEN, Eliana A. et al. Insulating characteristics of polyvinyl alcohol for integrated electronics. **Thin Solid Films**, v. 568, p. 111-116, 2014.

VAN DER SCHUEREN, Lien et al. Polycaprolactone/chitosan blend nanofibres electrospun from an acetic acid/formic acid solvent system. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 4, p. 1221-1226, 2012.

VAN DER SCHUEREN, Lien et al. An alternative solvent system for the steady state electrospinning of polycaprolactone. **European Polymer Journal**, v. 47, n. 6, p. 1256-1263, 2011.

VARAPRASAD, Kokkarachedu et al. A mini review on hydrogels classification and recent developments in miscellaneous applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 79, p. 958-971, 2017.

YANG, W. et al. Polyvinyl alcohol/chitosan hydrogels with enhanced antioxidant and antibacterial properties induced by lignin nanoparticles. **Carbohydrate polymers**, v. 181, p. 275-284, 2018.

YARIN, Alexander L.; KOOMBHONGSE, Sureeporn; RENEKER, Darrell Hyson. Taylor cone and jetting from liquid droplets in electrospinning of nanofibers. **Journal of applied physics**, v. 90, n. 9, p. 4836-4846, 2001.

ZHOU, Yingshan et al. Electrospinning of carboxyethyl chitosan/poly (vinyl alcohol)/silk fibroin nanoparticles for wound dressings. **International journal of biological macromolecules**, v. 53, p. 88-92, 2013.