



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

FERNANDA NARDO COBO

**OBTENÇÃO DE FILMES ESTRUTURADOS DE POLÍMEROS
BIODEGRADÁVEIS E SUAS BLENDA:**
APLICAÇÃO COMO SUPORTE PARA CRESCIMENTO
CELULAR

Londrina
2021

FERNANDA NARDO COBO

**OBTENÇÃO DE FILMES ESTRUTURADOS DE POLÍMEROS
BIODEGRADÁVEIS E SUAS BLENDA:
APLICAÇÃO COMO SUPORTE PARA CRESCIMENTO
CELULAR**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado
Associado em Química
UEL/UEPG/UNICENTRO - Departamento de
Química da Universidade Estadual de Londrina
- UEL, como requisito parcial para a obtenção do
título de Doutora em Química.

Orientador: Profa. Dra. Gizilene Maria de
Carvalho - UEL
Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Radovanovic -
UEM

Londrina
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Cobo, Fernanda Nardo.

OBTENÇÃO DE FILMES ESTRUTURADOS DE POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS E SUAS BLENDA: APLICAÇÃO COMO SUPORTE PARA CRESCIMENTO CELULAR / Fernanda Nardo Cobo. - Londrina, 2021. 103 f. : il.

Orientador: Gizilene Maria Carvalho.

Coorientador: Eduardo Radovanovic.

Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2021.

Inclui bibliografia.

1. Blandas poliméricas - Tese. 2. Filmes porosos - Tese. 3. Nanofibras - Tese. 4. Crescimento Celular - Tese. I. Carvalho, Gizilene Maria . II. Radovanovic, Eduardo. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

CDU 54

FERNANDA NARDO COBO

**OBTENÇÃO DE FILMES ESTRUTURADOS DE POLÍMEROS
BIODEGRADÁVEIS E SUAS BLENDS:
APLICAÇÃO COMO SUPORTE PARA CRESCIMENTO
CELULAR**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Associado em Química UEL/UEPG/UNICENTRO - Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Química.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Gizilene Maria de Carvalho
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dra. Rosana Maria Nascimento de Assunção
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

Prof. Dr. Rafael Silva
Universidade Estadual de Maringá – UEM

Prof. Dr. Dimas Augusto Morozin Zaia
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Roberto de Matos
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 14 de abril de 2021

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial ao meu esposo Victor, minha filha Sofia e aos meus pais João e Solange, por todo amor, dedicação e apoio para que eu pudesse concluir mais uma etapa da minha vida.

À minha orientadora, Profa. Dra. Gizilene Maria de Carvalho, por todo conhecimento compartilhado, pela dedicação, paciência e apoio em todos os momentos deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Eduardo Radovanovic pela coorientação e disponibilidade do equipamento de eletrofiação para a produção das nanofibras.

Ao prof. Dr. Fábio Yamashita pela doação dos polímeros PLA e PBAT utilizados neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Henrique Santana pela colaboração e empenho com as análises de Espectroscopia Raman.

Ao Prof. Dr. Mário Sérgio Mantovani pela colaboração no ensaio de viabilidade celular.

Aos Laboratórios Multiusuários da PROPPG- Laboratório de Espectroscopia (ESPEC) e Laboratório de Microscopia Eletrônica e Microanálise (LMEM) da Universidade Estadual de Londrina.

Ao meu grupo de pesquisa GPOL da Universidade Estadual de Londrina, em especial as alunas Mariana e Lolita.

A todos os integrantes do LMSEN da Universidade Estadual de Maringá pelo acolhimento.

Aos órgãos de fomento às pesquisas científicas.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigada.

COBO, Fernanda Nardo. **Obtenção de filmes estruturados de polímeros biodegradáveis e suas blendas:** aplicação como suporte para crescimento celular. 2021. 103 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021

RESUMO

Filmes poliméricos que apresentam estruturas porosas apresentam potencial para aplicação diversas áreas como a produção de suportes para crescimento de células. Entre os materiais mais utilizados encontra-se o poli (ácido láctico) – PLA, um polímero biodegradável, biocompatível e não tóxico para o organismo humano. No entanto, um único material pode não apresentar as características necessárias para satisfazer as propriedades finais do produto. Desta forma, neste trabalho foi avaliado a utilização de blendas poliméricas de PLA e polibutileno tereftalato - PBAT na produção de filmes porosos e de nanofibras eletrofiadas para a utilização como suportes para crescimento de células. Inicialmente foram produzidos filmes compactos de PLA, PBAT e blendas PLA/PBAT (70/30, 90/10 e 95/5 m/v), para investigar o efeito do PBAT na miscibilidade das blendas PLA/PBAT. A adição de PBAT contribuiu para a redução da rigidez dos filmes e a blenda 95/5 apresentou miscibilidade parcial. Considerando estas informações foram produzidas blendas de PLA/PBAT nas proporções definidas inicialmente na forma de filmes microporosos via *breath figure* (BF) por meio do processo convencional, semidireto e de imersão em uma mistura de solvente/não solvente e nanofibras eletrofiadas (CHCl₃/DMF - 85:15, v/v). Os filmes e as nanofibras produzidas foram avaliados como suporte para crescimento celular de células da linhagem HaCaT por meio do ensaio de viabilidade celular de resazurina. A proporção de PBAT nas blendas poliméricas e o tipo de processo utilizado interferiu no diâmetro dos poros dos filmes. Pelo método convencional observou-se poros com diâmetro de 1,5 – 7,0 µm, dependente da proporção de PBAT; pelo método semidireto observou-se poros apenas nos filmes de PLA, que apresentaram diâmetro de 1,27 ± 0,41 µm; para os filmes obtidos pelo método de imersão em clorofórmio/metanol observou-se poros com diâmetros de 5,0 -7,0 µm nos filmes de PLA puro e blendas 90/10 e 95/5. As nanofibras de PLA puro e PLA/PBAT com composição- 95/5, 90/10 e 70/30 produzidas utilizando a mistura de solventes CHCl₃/DMF (85:15, v/v) apresentaram espessura de aproximadamente 1200 nm e poucos defeitos (*beads*) foram observados. Os resultados de viabilidade de células epiteliais HaCaT indicaram que a morfologia influencia na adesão e no crescimento das células. Os filmes com poros interligados produzidos pelo método BF convencional, semidireto e por eletrofiação apresentaram os melhores resultados de crescimento de celular.

Palavras-chave: poli (ácido láctico); blendas; *breath figure*; nanofibras; crescimento celular.

COBO, Fernanda Nardo. **Obtaining structured films of biodegradable polymers and their blends:** application as a support for cell growth. 103 p Thesis (PhD in Chemistry) - Londrina State University, Londrina, 2021

ABSTRACT

Polymeric films that present porous and ordered structures have the potential to be applied in several areas, such as the production of supports for cell growth. Among the most used materials is poly (lactic acid) - PLA, a biodegradable, biocompatible and non-toxic polymer for the human organism. However, a single material may not have the characteristics necessary to satisfy the final properties of the product. Thus, in this work, the use of polymeric blends of PLA and polybutylene terephthalate - PBAT was evaluated in the production of porous films and electrospun nanofibers for use as supports for cell growth. Initial analysis of compact PLA, PBAT films and PLA / PBAT blends (70/30, 90/10 and 95/5 w / v) were investigate and the results indicated that addition of PBAT contributed to the reduction of the stiffness of the films and the blend 95/5 showed partial miscibility. Considering this information, PLA / PBAT blends were produced in the proportions initially defined in the form of microporous films via breath figure (BF) through the conventional, semidirect process and immersion in a mixture of solvent / non-solvent and electrospun nanofibers (CHCl₃ / DMF - 85:15, v / v). The films and nanofibers produced were evaluated as support for cell growth of cells of the HaCaT lineage through the cell viability assay of resazurin. The proportion of PBAT in the polymer blends and the type of process used interfered with the pore diameter of the films. By the conventional method, pores with a diameter of 1.5 - 7.0 μm were observed, depending on the proportion of PBAT; through the semidirect method, pores were observed only in the PLA films, which presented a diameter of $1.27 \pm 0.41 \mu\text{m}$; for the films obtained by the chloroform / methanol immersion method, pores with diameters of 5.0 -7.0 μm were observed in the pure PLA films and blends 90/10 and 95/5. The nanofibers of pure PLA and PLA / PBAT with composition -95/5, 90/10 and 70/30 produced using the solvent mixture CHCl₃ / DMF (85:15, v / v) had a thickness of approximately 1200 nm and few defects (beads) were observed. The viability of HaCaT epithelial cells results indicated that morphology influences cell adhesion and growth. The films with interconnected pores produced by the conventional BF method, semidirect and by electrospinning showed the best cell growth results.

Key-words: poly (lactic acid); blends; breath figure; nanofibers; cell growth.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estereoisômeros do ácido láctico e do poli (ácido láctico).....	19
Figura 2 – Fórmula estrutural do PBAT e seus componentes	21
Figura 3 – Diagrama de fases para blendas poliméricas com ilustração da temperatura crítica inferior da solução (LCST) e da temperatura crítica superior da solução (UCST)	24
Figura 4 – Região metaestável do diagrama de fase- Nucleação e crescimento. Decomposição espinodal	25
Figura 5 – Efeito da miscibilidade nas temperaturas de transição vítrea de misturas poliméricas	26
Figura 6 – Aparatos da eletrofiliação na posição horizontal e vertical	29
Figura 7 – Representação do mecanismo de formação dos filmes poliméricos porosos pelo método breath figure: (a) evaporação do solvente, (b) nucleação de gotículas de água, (c) crescimento e auto-organização das gotículas de água; C-D- Evaporação do solvente e das gotículas de água)	33
Figura 8 – (a) Curvas de perda de massa em função da temperatura das amostras PLA, PLA ₉₅ /PBAT ₅ , PLA ₇₀ /PBAT ₃₀ , PLA ₃₀ /PBAT ₇₀ , PLA ₅ /PBAT ₉₅ e PBAT, (b) Curvas da primeira derivada da perda de massa (DTG). Taxa de aquecimento de 20 °C.min ⁻¹ e vazão de N ₂ de 20 mL.min ⁻¹	48
Figura 9 – (a) Curvas de DSC do primeiro aquecimento (30-200 °C - taxa de 10°C. min ⁻¹ e vazão de N ₂ de 50 mL.min ⁻¹) para as amostras de PLA, PLA ₉₅ /PBAT ₅ , PLA ₇₀ /PBAT ₃₀ , PLA ₃₀ /PBAT ₇₀ , PLA ₅ /PBAT ₉₅ e PBAT. (b) Curvas de DSC do segundo aquecimento (30-100 °C - taxa de 10°C.min ⁻¹ e vazão de N ₂ de 50 mL.min ⁻¹) para os filmes de PLA, PLA ₉₅ /PBAT ₅ , PLA ₇₀ /PBAT ₃₀ , PLA ₃₀ /PBAT ₇₀ , PLA ₅ /PBAT ₉₅ e PBAT.	49
Figura 10 –Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura da superfície da criofratura das amostras dos filmes (a) PLA- aumento de 2400x, (b) PBAT, (c) PLA ₉₅ /PBAT ₅ , (d) PLA ₇₀ /PBAT ₃₀ , (e) PLA ₃₀ /PBAT ₇₀ e (f) PLA ₅ /PBAT ₉₅ - aumento de 5000 x.	51
Figura 11 –Espectros Raman para as amostras dos filmes PLA, PLA ₉₅ /PBAT ₅ , PLA ₇₀ /PBAT ₃₀ , PLA ₃₀ /PBAT ₇₀ , PLA ₅ /PBAT ₉₅ e PBAT	55

Figura 12 – (a) Espectro Raman da blenda PLA ₉₅ /PBAT ₅ em diferentes profundidades da amostra, (b) Imagem da região favorável ao PLA obtida por microscopia confocal e (c) Imagem da região favorável ao PBAT obtida por microscopia confocal. As letras indicadas nas imagens de microscopia confocal correspondem aos espectros de mesma letra na figura (a)	56
Figura 13 –Imagens de microscopia óptica dos filmes de PLA preparados com concentrações de: (a) 4% em CHCl ₃ (b) 6% em CHCl ₃ , (c) 4% em CH ₂ Cl ₂ e (d) 6% em CH ₂ Cl ₂	66
Figura 14 – Imagens de microscopia óptica das blendas porosas 95/5 (PLA/PBAT) preparadas com concentrações de: (a) 4% em CHCl ₃ (b) 6% em CHCl ₃ , (c) 4% em CH ₂ Cl ₂ e (d) 6% em CH ₂ Cl ₂	66
Figura 15 –Imagens de microscopia óptica das blendas porosas 70/30 (PLA/PBAT) preparadas com concentrações de: (a) 4% em CHCl ₃ (b) 6% em CHCl ₃ , (c) 4% em CH ₂ Cl ₂ e (d) 6% em CH ₂ Cl ₂	67
Figura 16 –Efeito dos solventes clorofórmio e diclorometano no diâmetro médio dos poros dos filmes de PLA puro e das blendas PLA/PBAT com composição 95/5 e 70/30. Fonte: próprio autor	68
Figura 17 –Imagens de microscopia óptica dos filmes de PLA preparados em com concentração de (a) 6%, (b) 4%, (c) 2% e (d) 1% (m/v) em CH ₂ Cl ₂ ; (e) Medidas do diâmetro médio dos poros X concentração	69
Figura 18 –Imagens de microscopia óptica das blendas porosas PLA/PBAT com composição 95/5, preparadas em com concentração de (a) 6%, (b) 4%, (c) 2% e (d) 1% (m/v) em CH ₂ Cl ₂ ; (e) Medidas do diâmetro médio dos poros X concentração.....	71
Figura 19 –Imagens de microscopia óptica das blendas porosas PLA/PBAT com composição 70/30, preparadas em com concentração de (a) 6%, (b) 4%, (c) 2% e (d) 1% (m/v) em CH ₂ Cl ₂ ; (e) Medidas do diâmetro médio dos poros X concentração.....	72
Figura 20 –Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura da superfície da criofratura com aumento de 2400 x dos filmes compactos de: (a) PLA puro, (b) PBAT puro, (c) blenda 95/5 e (d) blenda 70/30	73

Figura 21 – Métodos empregados na produção dos filmes compactos e estruturados de PLA puro e blendas PLA/PBAT (95/5; 90/10 e 70/30).....	83
Figura 22 – Imagens de MEV e histograma de distribuição do diâmetro dos poros nos filmes de PLA puro (a) e blendas PLA/PBAT com composição 95/5 (b), 90/10 (c) e 70/30 (d) preparados pelo método <i>Breath Figure</i> convencional.....	85
Figura 23 -Imagem de MEV da região lateral da blenda PLA/PBAT com composição 90/10, com aumento de 6000 vezes	86
Figura 24 –Imagens de MEV e histograma de distribuição do diâmetro dos poros nos filmes de PLA (a) e blendas PLA/PBAT com composição 95/5 (b), 90/10 (c) e 70/30 (d) preparados pelo método <i>Breath Figure</i> semidireto.....	87
Figura 25 –Imagens de MEV e histograma de distribuição do diâmetro dos poros nos filmes de PLA (a) e blendas PLA/PBAT com composição 95/5 (b), 90/10 (c) e 70/30 (d) preparados pelo método <i>Breath Figure</i> por imersão na mistura de solvente (CHCl ₃ : CH ₃ OH).....	88
Figura 26 –Imagens de MEV das nanofibras PLA/PBAT com composição 95/5, 90/10 e 70/30 preparadas em CHCl ₃ /DMF 85:15 ou 60:40 (v/v).....	90
Figura 27 –Imagens de MEV das nanofibras PLA/PBAT com composição 95/5, 90/10 e 70/30 preparadas em CH ₂ Cl ₂ /DMF 85:15 ou 60:40 (v/v).....	91
Figura 28 –Medida da fluorescência para o controle positivo e negativo para o tempo de incubação de 24, 48 e 72 horas.	92
Figura 29 –Medida de fluorescência dos meios de cultura presentes nos poços de cultura contendo os filmes de PLA e blendas PLA/PBAT com composição 95/5, 90/10 e 70/30, preparados pelo método de evaporação de solvente (compacto), BF convencional (BF), BF semidireto, BF por imersão em mistura de solvente/não solvente e por eletrofiação (nanofibras) após incubação de 24, 48 e 72 horas.....	93
Figura 30 – Imagens de MEV das nanofibras de PLA preparadas por eletrofiação (a) e do filme microporoso de PLA preparado pelo método BF convencional, após a esterilização com óxido de etileno.....	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de T90 e Tmax das amostras PLA, PLA ₉₅ /PBAT ₅ , PLA ₇₀ /PBAT ₃₀ , PLA ₃₀ /PBAT ₇₀ , PLA ₅ /PBAT ₉₅ e PBAT	47
Tabela 2 – Propriedades mecânicas obtidas no ensaio mecânico de tração para os filmes de PLA, PBAT e suas blends.....	53
Tabela 3 – Valores de viscosidade intrínseca [η], coeficientes de interação b ₁₁ , b ₁₂ , b ₂₂ , ΔB e μ.....	54
Tabela 4 – Propriedades físicas dos solventes CHCl ₃ e CH ₂ Cl ₂	66
Tabela 5 – Valores médios de fluorescência obtidos após a adição de resazurina aos meios de cultura utilizando filmes compactos (PLA, PLA ₉₅ /PBAT ₅ , PLA ₉₀ /PBAT ₁₀ , PLA ₇₀ /PBAT ₃₀) como suporte para o crescimento das células HaCaT	93
Tabela 6 - Valores médios de fluorescência obtidos após a adição de resazurina aos meios de cultura utilizando filmes preparados pela técnica <i>breath figure</i> convencional (PLA, PLA ₉₅ /PBAT ₅ , PLA ₉₀ /PBAT ₁₀ , PLA ₇₀ /PBAT ₃₀) como suporte para o crescimento das células HaCaT	94
Tabela 7 - Valores médios de fluorescência obtidos após a adição de resazurina aos meios de cultura utilizando filmes preparados pela técnica <i>breath figure</i> semidireto (PLA, PLA ₉₅ /PBAT ₅ , PLA ₉₀ /PBAT ₁₀ , PLA ₇₀ /PBAT ₃₀) como suporte para o crescimento das células HaCaT	94
Tabela 8 - Valores médios de fluorescência obtidos após a adição de resazurina aos meios de cultura utilizando filmes preparados pela técnica <i>breath figure</i> por imersão (PLA, PLA ₉₅ /PBAT ₅ , PLA ₉₀ /PBAT ₁₀ , PLA ₇₀ /PBAT ₃₀) como suporte para o crescimento das células HaCaT	94
Tabela 9 - Valores médios de fluorescência obtidos após a adição de resazurina aos meios de cultura utilizando nanofibras (PLA, PLA ₉₅ /PBAT ₅ , PLA ₉₀ /PBAT ₁₀ , PLA ₇₀ /PBAT ₃₀) como suporte para o crescimento das células HaCaT	94

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** – Parâmetros que afetam a morfologia e diâmetro das nanofibras29
- Quadro 2** – Alguns fatores experimentais que afetam a formação dos poros em filmes poliméricos preparados pelo método breath figure33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFM	Microscopia de Força Atômica
BA	Butileno adipato
BDO	1,4 Butanodiol
BF	Breath figure
BT	Butileno tereftalato
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
FT-IR	Espectroscopia de Infravermelho
LCST	Lower critical solution temperature
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
PBAT	Poli (butileno adipato-co-tereftalato)
PBS	Polibutileno succinato
PC	Policaprolactonas
PDLA	Poli (ácido D-lático)
PDLLA	Poli (ácido DL-lático)
PE	Polietileno
PET	Politereftalato de etileno
PHA	Poli-hidroxi-álcanoato
PHB	Poli-hidroxi-butirato
PLLA	Poli (ácido L-lático)
PP	Polipropileno
PS	Poliestireno
TEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão
T _g	Temperatura de transição vítrea
TGA	Análise termogravimétrica
T _m	Temperatura de fusão cristalina

UCST Upper critical solution temperature

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1	POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS	17
3.2	POLI (ÁCIDO LÁTICO)	18
3.3	POLI (BUTILENO ADIPATO-CO-TEREFTALATO)	20
3.4	BLENDAS POLIMÉRICAS	22
3.4.1	Determinação da Miscibilidade de Blendas Poliméricas por Critérios Termodinâmicos e por Diferentes Técnicas Experimentais	23
3.4.2	Blendas Poliméricas PLA/PBAT	27
3.5	ELETROFIAÇÃO	28
3.6	TÉCNICA BREATH FIGURE	30
3.7	SUPORTES PARA CRESCIMENTO DE CÉLULAS (SCAFFOLDS)	34
	REFERÊNCIAS	35
4	ESTUDO DA MISCIBILIDADE DE BLENDS DE POLI (ÁCIDO LÁTICO)/ POLI (BUTILENO ADIPATO-CO-TEREFTALATO) PREPARADAS PELO MÉTODO DE EVAPORAÇÃO DE SOLVENTE	43
4.1	INTRODUÇÃO	44
4.2	MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.4	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS	58
5	ESTUDO SOBRE A FORMAÇÃO DE MICROPOROS EM FILMES DE PLA E EM BLENDS PLA/PBAT PELA TÉCNICA <i>BREATH FIGURE</i>	62
5.1	INTRODUÇÃO	63

5.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	64
5.2.1	Materiais.....	64
5.2.2	Preparo dos Filmes Microporosos.....	64
5.2.3	Preparo dos Filmes Compactos	64
5.2.4	Caracterização dos Filmes Microporosos e Compactos	65
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
5.3.1	Efeito do Solvente	65
5.3.2	Efeito da Concentração.....	68
5.3.3	Efeito da Composição das Blendas PLA/PBAT e da Natureza dos Polímeros na Formação das Estruturas Porosas.....	72
5.4	CONCLUSÃO.....	74
	REFERÊNCIAS	75
6.	APLICAÇÃO DOS FILMES COMPACTOS E ESTRUTURADOS COMO SUPORTES PARA CRESCIMENTO DE CÉLULAS	77
6.1	INTRODUÇÃO	78
6.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	79
6.2.1	Materiais.....	79
6.2.2	Preparo de Filmes Compactos.....	79
6.2.3	Preparo de Filmes Microporosos pela Técnica <i>Breath Figure</i>	79
6.2.3.1	<i>Breath Figure</i> convencional.....	79
6.2.3.2	<i>Breath Figure</i> semidireto	80
6.2.3.1	<i>Breath Figure</i> imersão em uma mistura de solvente/não solvente.....	80
6.2.4	Preparo de Nanofibras de PLA e PLA/PBAT	80
6.2.5	Caracterização dos Filmes Microporosos e das Nanofibras	81
6.2.6	Cultivo de Célula da linhagem HaCat.....	81
6.2.7	Ensaio Colorimétrico com Resazurina	81
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
6.3.1	Filmes Microporosos de PLA e de Blendas PLA/PBAT via <i>Breath Figure</i>	84
6.3.2	Caracterização das Nanofibras de PLA/PBAT	89
6.3.3	Ensaio de Viabilidade Celular	91

6.4	CONCLUSÃO	96
	REFERÊNCIAS	97
7	Considerações Finais	99

1 INTRODUÇÃO

Filmes poliméricos porosos possuem diversas aplicações, entre as quais: *templates* para a síntese de outros materiais com estruturas porosas e ordenadas, membranas de separação, superfícies super hidrofóbicas, sensores, dispositivos ópticos, catalisadores e suportes para a cultura de células (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, BORMASHENKO, 2020; YABU 2018).

Na presente tese foram produzidos materiais biodegradáveis estruturados (filmes porosos e nanofibras) de PLA e blendas PLA/PBAT pela técnica de automontagem denominada *breath figure* e por eletrofiação. Os materiais obtidos foram aplicados como suportes na cultura de células da linhagem HaCaT a fim de avaliar o efeito das estruturas porosas na adesão, crescimento e proliferação das células HaCaT. Dessa forma, o trabalho apresenta a seguinte organização:

No capítulo 3 encontra-se a revisão da literatura sobre os polímeros biodegradáveis PLA, PBAT e blendas PLA/PBAT. O capítulo 3 também aborda sobre os princípios da técnica de eletrofiação e *breath figure*.

O capítulo 4 apresenta o estudo sobre a miscibilidade e as propriedades térmicas, mecânicas e morfológicas de blendas compactas de PLA/PBAT, com composição 95/5, 70/30, 30/70 e 5/95, preparadas pelo método de evaporação de solvente.

O capítulo 5 se refere ao estudo prévio sobre a obtenção de filmes porosos de PLA e blendas PLA/PBAT (composição 95/5 e 70/30) pela técnica *breath figure* convencional. Nesse capítulo foram investigados o efeito do solvente, da concentração das soluções poliméricas, da estrutura química dos polímeros e da adição de PBAT na formação dos poros.

O capítulo 6 apresenta a obtenção e a caracterização morfológica por MEV das nanofibras de PLA e blendas PLA/PBAT (composição 95/5 e 70/30) preparadas por eletrofiação, assim como dos filmes porosos preparados pelas técnicas *breath figure* convencional, *breath figure* semidireto e *breath figure* por imersão em uma mistura de solvente/não solvente. No capítulo 6 também são apresentados os resultados obtidos na aplicação dos filmes compactos e estruturados no ensaio de viabilidade celular utilizando as células epiteliais HaCaT.

Por fim, no capítulo 7 são apresentadas as considerações finais do presente trabalho em relação a miscibilidade e propriedades térmicas, mecânicas e

morfológicas das blendas PLA/PBAT compactas, o uso da técnica de eletrofiação e *breath figure* na produção de nanofibras e filmes porosos de PLA puro e blendas PLA/PBAT, respectivamente, e a aplicação dos materiais estruturados produzidos como suportes biodegradáveis na cultura de células HaCaT.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve por objetivo produzir filmes compactos e estruturados (porosos e nanofibras) de PLA e blendas PLA/PBAT para avaliar seus potenciais usos como suportes (*scaffolds*) biodegradáveis para adesão e crescimento de células da linhagem HaCaT.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para alcançar o objetivo descrito acima foram produzidos filmes compactos de PLA, PBAT e de blendas PLA/PBAT pelo método de evaporação de solvente. Pela técnica *breath figure* foram produzidos filmes microporosos de PLA e blendas PLA/PBAT. Por meio da técnica de eletrofiação foram produzidas nanofibras de PLA e blendas PLA/PBAT.

O estudo baseou-se nas seguintes questões científicas:

- Quais os efeitos da adição de PBAT nas propriedades térmicas, morfológicas, mecânicas, reológicas e na matriz compacta de PLA?
- Quais os efeitos do solvente, da concentração polimérica, da adição de PBAT e das diferentes condições de *casting* na produção dos filmes microporosos?
- O desempenho dos filmes compactos e estruturados de PLA e blendas PLA/PBAT na adesão e no crescimento das células é influenciado por sua morfologia?

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

Com o desenvolvimento da ciência e da tecnologia, o consumo de materiais plásticos aumentou significativamente ao longo dos anos, assim como, a geração de resíduos plásticos. Estima-se que entre 1950 e 2015 foram acumulados cerca de 6300 milhões de toneladas de resíduos plásticos no mundo. Deste total, apenas 9% foi reciclado, 12% incinerado e 60% foi descartado em aterros sanitários ou em ambientes naturais (GEYER, JAMBECK, LAM, 2017).

A busca por materiais mais sustentáveis e que contribuam para a conservação do ambiente tem despertado crescente interesse no uso polímeros biodegradáveis. De acordo com a União Internacional da Química Pura e Aplicada (2008), os polímeros biodegradáveis são definidos como materiais poliméricos susceptíveis a degradação por atividade biológica, acompanhada da perda de sua massa. Outra definição bastante comum estabelece como plásticos biodegradáveis, os materiais completamente degradados em dióxido de carbono, água e biomassa pela ação de microrganismos de ocorrência natural, como bactérias, fungos e algas (GU, 2021).

A degradação química das cadeias poliméricas pela ação de microrganismos é denominada biodegradação. Em geral, o processo de biodegradação se inicia com a colonização do microrganismo no material, seguido da produção de enzimas extracelulares específicas capazes de quebrar algumas das ligações químicas da cadeia principal do polímero, levando a formação de oligômeros, dímeros ou monômeros. As moléculas de baixa massa molecular formadas são transportadas para o interior das células, onde são bioassimiladas pelos microrganismos e então mineralizadas. Os produtos da biodegradação de polímeros, em condições aeróbicas, são: H_2O , CO_2 e biomassa. Sob condições anaeróbicas são produzidos CO_2 , H_2O , CH_4 e biomassa (HAIDER *et al.*, 2020). Para que ocorra a biodegradação é necessário ter condições adequadas para o crescimento e a proliferação dos microrganismos, tais como, temperatura, umidade, pH e presença ou ausência de oxigênio no ambiente onde o material será degradado (SILVA *et al.*, 2020).

Os polímeros biodegradáveis têm se destacado significativamente na

produção de biomateriais para área biomédica, em especial pela boa biocompatibilidade, biodegradabilidade e bioabsorvibilidade no organismo humano apresentada por alguns polímeros biodegradáveis. As principais aplicações na área biomédica envolvem a produção de implantes temporários (placas ósseas, parafusos, grampos, suturas), estruturas porosas tridimensionais usadas como suportes para crescimento de células e em sistemas para liberação de fármacos (MANAVITEHRANI *et al.*, 2017; RATNER, 2019). Outra promissora aplicação inclui a produção de embalagens alimentícias biodegradáveis (KHALIL *et al.*, 2018). Na agricultura, os polímeros biodegradáveis são empregados na produção de embalagens para mudas, em sistemas de liberação controlada de defensivos agrícolas, em filmes para recobrimento de plantações e no encapsulamento de sementes (BILCK *et al.*, 2014, SINTIM *et al.*, 2020).

Atualmente, existe uma grande variedade de polímeros biodegradáveis disponíveis no mercado. Há os polímeros de origem agrícola (exemplos: amido, celulose, quitosana, colágeno), os obtidos pela fermentação microbiana da biomassa (PHA- polihidroxialcanoatos e PHB-polihidroxibutirato) ou pela síntese de monômeros obtidos da biomassa (PLA- poli (ácido láctico)) e os de origem petroquímica (PCL- policaprolactonas, PBAT- poli (butileno adipato-co-tereftalato), PBS- polibutileno succinato) (YIN *et al.*, 2020). Entre os polímeros biodegradáveis, o PLA é considerado um dos polímeros mais promissores da atualidade, principalmente por suas propriedades singulares, como fácil processabilidade, boa disponibilidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, bioabsorvibilidade e propriedades mecânicas superiores a outros polímeros biodegradáveis (FARAH, ANDERSON, LANGER, 2016).

3.2 POLI (ÁCIDO LÁCTICO)

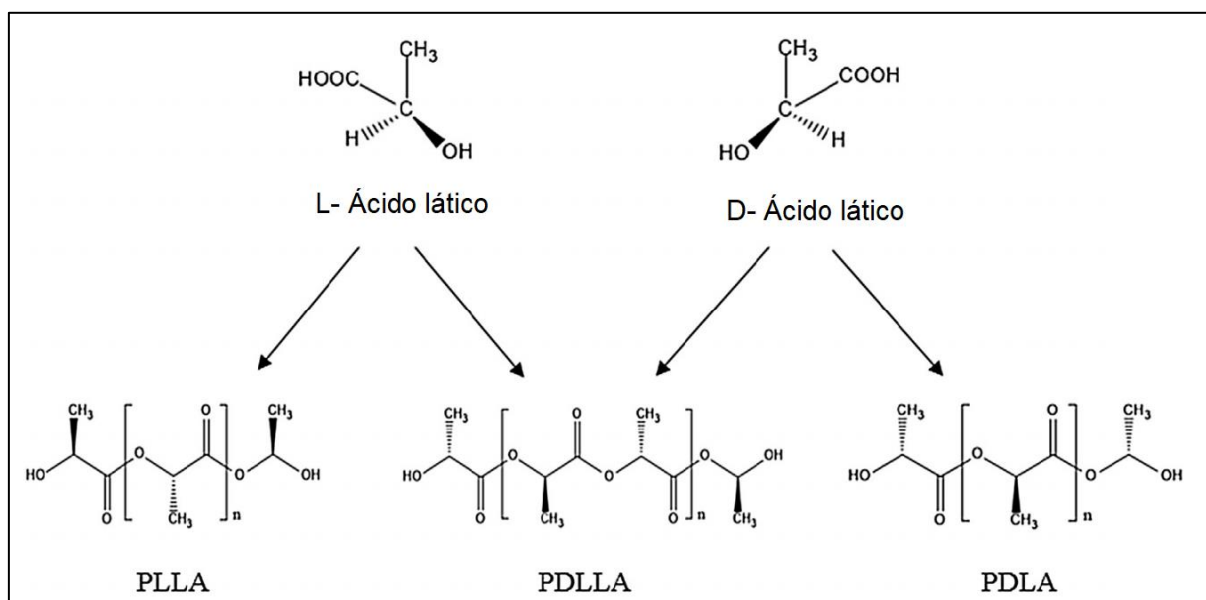
O poli (ácido láctico) - PLA é um poliéster termoplástico alifático, biodegradável e renovável, constituído por unidades de ácido láctico. O ácido láctico (ácido 2-hidroxiopropanóico) é produzido majoritariamente pela fermentação bacteriana de açúcares simples, como a glicose e a maltose do milho, a sacarose da cana-de-açúcar e a lactose do leite. Por ser uma molécula quiral, ele existe como dois enantiômeros, o L e o D-ácido láctico. A síntese química leva a uma mistura racêmica de D e L- ácido láctico. Enquanto, no processo de fermentação bacteriana, a produção

de D ou L- ácido lático depende da cepa selecionada (CASTRO-AGUIRRE *et al.*, 2016).

O PLA de baixa massa molecular foi sintetizado primeiramente em 1932 por Willian Carothers por meio do aquecimento do ácido lático sob vácuo. Somente em 1954, o PLA de alta massa molecular foi produzido e patenteado por DuPont. As principais rotas sintéticas usadas na produção do PLA de alta massa molecular (100.000 Daltons) são a polimerização por condensação direta, a polimerização por desidratação azeotrópica e a polimerização pela abertura do anel do lactídeo, método atual para a obtenção do poli (ácido lático) (PRETULA, SOLMKOWSKI, PENCZEK, 2016).

Como o ácido lático apresenta dois enantiômeros (L e D- ácido lático), o poli (ácido lático) possui três estereoisômeros, o poli (ácido L-lático) - PLLA, o poli (ácido D-lático) - PDLA e o poli (ácido DL-lático) – PDLLA, Figura 1. A estereoquímica do PLA tem influência direta sobre a cristalinidade do PLA. O PDLLA é amorfo, enquanto o PLLA puro e PDLA puro são semicristalinos (SU *et al.*, 2019).

Figura 1: Estereoisômeros do ácido lático e do poli (ácido lático).



Fonte: RIVERO *et al.*, 2017.

O PLA apresenta boas propriedades mecânicas, especialmente módulo de Young, resistência a tração e resistência a flexão, em comparação com os polímeros convencionais PP, PS e PE (HAMAD *et al.*, 2015). Em relação as propriedades de barreiras do PLA, os coeficientes de permeabilidade de CO₂, O₂, N₂

e H₂O são inferiores aos do PS e comparáveis aos do PET. As principais desvantagens do PLA são atribuídas a elevada rigidez e fragilidade, com menos de 10% de deformação na ruptura e a baixa tenacidade (FARAH, ANDERSON, LANGER, 2016)

Devido as propriedades de biocompatibilidade e bioabsorvidade no corpo humano, o PLA vem sendo empregado com sucesso na produção de biomateriais para área médica, tais como, materiais implantáveis e reabsorvíveis (placas, parafusos, suturas), *scaffolds* para crescimento de células e regeneração de tecidos, além da aplicação em sistemas para liberação de fármacos (TYLER, *et al.*, 2016). Outra importante aplicação do PLA refere-se à produção de embalagens biodegradáveis, inclusive embalagens alimentícias com contato direto com os alimentos (VELÁZQUEZ *et al.*, 2019).

Para potencializar ainda mais as aplicações do PLA, diversas blendas poliméricas de PLA com outros polímeros tem sido proposta, como por exemplo as blendas PLA/PBAT. Entre as vantagens destaca-se o custo, a fácil processabilidade e a efetividade no melhoramento das propriedades (ZHAO *et al.*, 2020).

3.3 POLI (BUTILENO ADIPATO-CO-TEREFTALATO)

O poli (butileno adipato-co-tereftalato) - PBAT é um copoliéster alifático aromático, biodegradável e de origem fóssil, sintetizado pela reação de policondensação entre o 1,4 butanodiol (BDO) e os ácidos adípico (AA) e tereftálico (PTA). A síntese química requer longo tempo de reação, alto vácuo e temperatura superior a 190°C (JIAN, XIANGBIN, XIANBO, 2020).

O PBAT apresenta estrutura química linear e aleatória. Os segmentos mais rígidos da cadeia são compostos por unidades de butileno tereftalato- BT (constituídas por 1,4 butanodiol e monômeros do ácido tereftálico), enquanto os segmentos mais flexíveis são constituídos por unidades de butileno adipato- BA (compostos por 1,4 butanodiol e monômeros de ácido adípico) (ARRUDA *et al.*, 2015).

blendas poliméricas de PBAT com outros polímeros de menor custo. Além disso, as blendas poliméricas podem possibilitar o melhoramento das propriedades do PBAT (BAI *et al.*, 2021).

3.4 BLENDA POLIMÉRICAS

Blendas poliméricas são definidas como misturas físicas de dois ou mais polímeros que são combinados com a intenção de criar um material novo e com propriedades físicas diferentes dos polímeros individuais (COUBROUGH *et al.*, 2020). A primeira blenda polimérica foi produzida por Thomas Hancock em meados do século XIX, a blenda era composta por borracha natural e guta-percha. Nas últimas décadas, as blendas poliméricas têm atraído grande atenção por serem uma alternativa econômica para a produção de materiais novos, se comparadas ao desenvolvimento e a comercialização de novos polímeros que geralmente requerem anos de pesquisas e alto custo (PARAMESWARANPILLAI, THOMAS, GROHENS, 2015).

Os principais métodos empregados na produção de blendas poliméricas são:

I. Método de evaporação de solvente (*casting*) - O método envolve basicamente três etapas: a dissolução dos polímeros da mistura em um solvente comum, a mistura mecânica dos componentes da blenda e evaporação do solvente (WANG, RHIM, HONG, 2016).

II. Mistura mecânica de polímeros no estado fundido (*melt blending*)- As blendas são obtidas pela mistura dos polímeros em seu estado fundido ou amolecido. Esse processo é de grande importância, pois permite produção de blendas poliméricas em escala industrial (ZHU *et al.*, 2018).

III. IPN- Reticulado polimérico interpenetrante- Neste método, os componentes poliméricos estão na forma de reticulados que se interpenetram e formam um único reticulado, sem que haja reação química entre os polímeros (GARCÍA, MENDOZA, BARRIOS, 2016).

O desempenho das blendas poliméricas depende fortemente da miscibilidade, da compatibilidade e da morfologia das blendas poliméricas. A miscibilidade das blendas poliméricas está associada aos aspectos termodinâmicos da mistura e descreve as interações entre os componentes poliméricos. Em uma blenda miscível, os componentes da mistura são homogêneos e a blenda apresenta

apenas uma fase ao nível molecular, resultando no melhoramento das propriedades do material. Blendas parcialmente miscíveis mostram algum grau de homogeneidade, de modo que pequenas porções de cada polímero da blenda podem se dissolver no segundo polímero, isso leva a uma morfologia em que o polímero em menor quantidade fica distribuído homogeneamente na matriz polimérica. Essa morfologia leva frequentemente a propriedades satisfatórias. Por outro lado, blendas imiscíveis apresentam separação de fases e morfologia heterogênea e complexa, com pobre adesão entre as fases (PARAMESWARANPILLAI, THOMAS, GROHENS, 2015).

3.4.1 Determinação da Miscibilidade de Blendas Poliméricas por Critérios Termodinâmicos e por Diferentes Técnicas Experimentais

O estudo teórico sobre a miscibilidade de blendas poliméricas pode ser realizado por meio da termodinâmica clássica. Para que determinada blenda seja considerada completamente miscível é necessário atender a dois critérios termodinâmicos (ZHANG, 2016).

O primeiro critério está relacionado com a energia livre de Gibbs de mistura (ΔG_m), descrito na Equação 1.

$$\Delta G_m = \Delta H_m - T\Delta S_m \quad \text{Equação 1}$$

Onde: T é a temperatura absoluta, ΔG_m é a variação de energia livre de mistura, ΔH_m - a variação molar de entalpia de mistura e ΔS_m - a variação molar de entropia de mistura.

Para que os componentes da mistura sejam miscíveis a uma dada temperatura, ΔG_m deve ser negativa ($\Delta G_m < 0$). Embora essa condição seja necessária, ela não é suficiente para que a miscibilidade termodinâmica seja alcançada. Sendo assim, um segundo critério deve ser obedecido (Equação 2).

$$\left(\frac{\partial^2(\Delta G_m)}{\partial \phi_i^2} \right)_{T,P} > 0 \quad \text{Equação 2}$$

Onde: ΔG_m é a variação de energia livre de mistura e ϕ a fração volumétrica do polímero "i" na mistura.

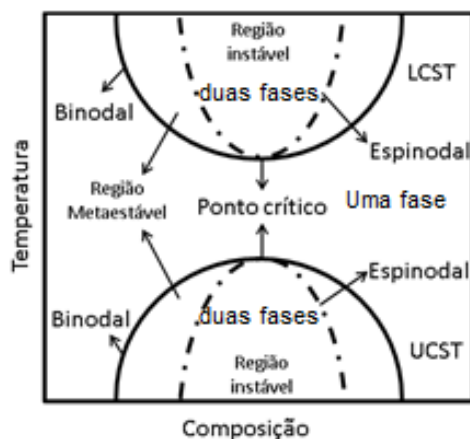
Se o processo de mistura resulta em $\Delta G_m < 0$ e a condição dada pela Equação 2 é satisfeita para toda a faixa de composição, então a blenda é completamente miscível e apresenta uma única fase. Se o segundo critério for satisfeito somente para algumas composições, a blenda é considerada parcialmente

miscível. Por fim, para $\Delta G_m > 0$ para toda a faixa de composição a uma dada temperatura, os dois polímeros da mistura se separaram e o sistema é imiscível e heterogêneo (XAVIER, RAO, BOSE, 2016).

A maioria das blendas poliméricas produzidas são imiscíveis, pois quando dois polímeros de alta massa molecular são misturados a probabilidade de rearranjos é muito pequena, portanto, a ΔS_m é quase nula. Dessa forma, a miscibilidade de blendas poliméricas de alta massa molecular é altamente dependente da variação de entalpia de mistura (ΔH_m). Blendas miscíveis requerem preferencialmente valores negativos de ΔH_m . O termo entálpico é negativo quando há interações atrativas entre os componentes da blenda polimérica, como ligações de hidrogênio, dipolo-dipolo e interações iônicas (MUZATA, JAGADESHVARAN, BOSE, 2020).

A Figura 3 apresenta o diagrama de fases (temperatura X concentração) para uma blenda polimérica binária. O diagrama apresenta três regiões de diferentes graus de miscibilidade: (i) uma região miscível (única fase) entre duas regiões binodal, (ii) quatro regiões fragmentadas entre as regiões binodal e espinodal, (iii) duas fases separadas, na região espinodal. A região binodal separa o estado estável (uma fase) do estado metaestável, enquanto a espinodal indica a transição da região instável para a metaestável. O ponto LCST, temperatura crítica inferior da solução, é comum para blendas de polímeros com alta massa molar, devido à baixa entropia de mistura, enquanto o ponto UCST, temperatura crítica superior da solução é característico de cadeias pequenas (XAVIER, RAO, BOSE, 2016).

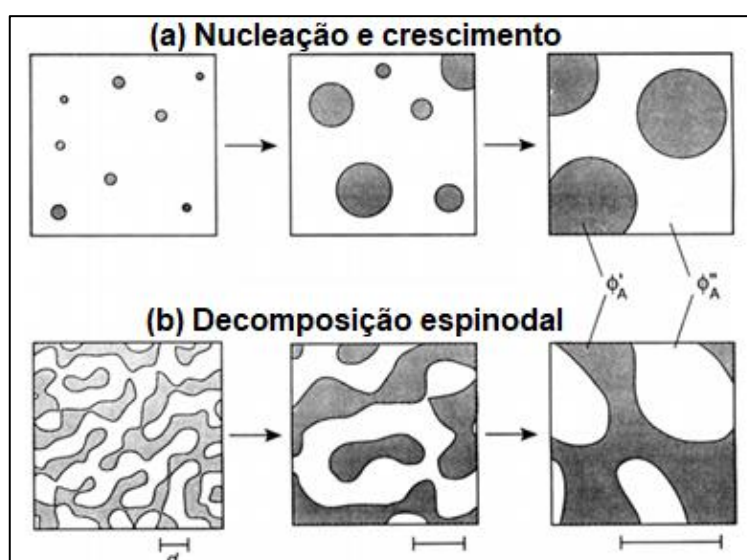
Figura 3- Diagrama de fases para blendas poliméricas com ilustração da temperatura crítica inferior da solução (LCST) e da temperatura crítica superior da solução (UCST).



Fonte: XAVIER, RAO, BOSE, 2016.

A separação de fases ocorre quando uma mudança na temperatura, composição ou pressão, força a entrada na região metaestável ou na região instável. Na região metaestável, o mecanismo de nucleação e crescimento governa o desenvolvimento da separação de fases da mistura. Nessa região, a fase descontínua está dispersa em uma fase contínua, sendo caracterizada pela morfologia de gotículas na matriz (Figura 4-a). Por outro lado, na região espinodal, as fases se separam espontaneamente (decomposição espinodal), resultando na formação de duas fases contínuas simultaneamente (Figura 4-b) (CHEN *et al.*, 2017)

Figura 4: Região metaestável do diagrama de fase- Nucleação e crescimento (a). Decomposição espinodal (b).

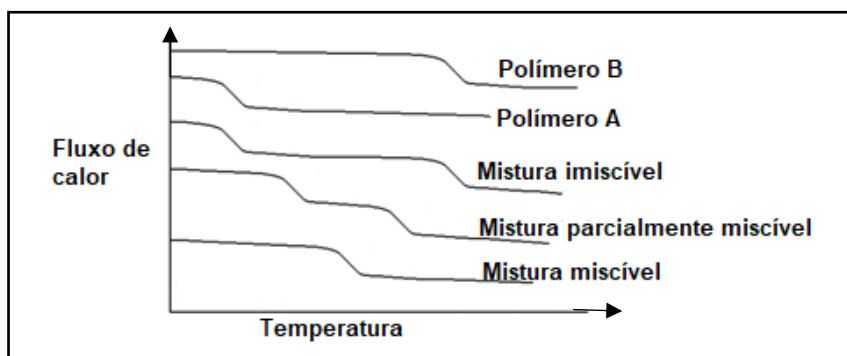


Fonte: XUE, ZHANG, HAN, 2012.

A miscibilidade de blendas poliméricas também pode ser investigada por meio de diferentes técnicas experimentais. A determinação da temperatura de transição vítrea (T_g) é a técnica experimental mais empregada para avaliar a miscibilidade. Quando um polímero A, com determinado valor de T_g , e um polímero B, com outro valor de T_g se misturam, eles podem formar uma mistura imiscível, parcialmente miscível ou totalmente miscível. No primeiro caso, as cadeias dos polímeros A e B não interagem entre si e são formados domínios separados. Portanto, são observados dois valores de T_g que correspondem as T_g 's dos polímeros A e B puros. No segundo caso, as cadeias dos polímeros A e B apresentam alguma afinidade entre si, de tal forma que existe alguma interpenetração de cadeias do polímero A nos domínios do polímero B e vice-versa. Isso resulta na observação de

duas Tg's em temperaturas situadas entre os valores de Tg dos homopolímeros A e B puros. Em uma blenda miscível, as cadeias dos polímeros A e B se interpenetram como se tivessem a mesma estrutura, formando um sistema que vai adquirir mobilidade de uma só vez, e apenas uma temperatura intermediária às Tg's dos homopolímeros puros é observada (SANGRONIZ, *et al.*, 2018). O efeito da miscibilidade nas Tg's de blendas poliméricas está representado na Figura 5. A Tg de um material é facilmente determinada pela técnica de DSC- Calorimetria Diferencial de Varredura (AID *et al.*, 2017).

Figura 5- Efeito da miscibilidade nas temperaturas de transição vítrea de misturas poliméricas.



Fonte: LUCAS, SOARES, MONTEIRO, 2001.

A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier também pode ser utilizada no estudo da miscibilidade de blendas poliméricas. Quando a blenda polimérica é completamente imiscível, os polímeros se encontram em fases distintas, sendo assim, o espectro FT-IR da blenda polimérica refletirá a adição do espectro dos polímeros individuais. No caso de uma blenda miscível ou parcialmente miscível, o espectro de FT-IR da blenda pode mostrar a formação de novas bandas e/ou o desaparecimento de algumas bandas dos componentes (TIKISH *et al.*, 2018). Outras importantes técnicas utilizadas extensivamente na caracterização de blendas poliméricas para investigar as separações de fases são MEV, TEM, AFM e microscopia óptica (UGARTEMENDIA *et al.*, 2018; CHEN *et al.*, 2020; SANCHEZ-REXACH *et al.*, 2018).

3.4.2 Blendas Poliméricas PLA/PBAT

O PBAT é considerado um bom candidato para produzir blendas poliméricas com o PLA. Diversos estudos têm reportado que a adição de PBAT pode melhorar algumas propriedades mecânicas do PLA, como a dureza, a deformação na ruptura e a tenacidade (Lu *et al.*, 2017)

Yeh e colaboradores (2010) estudaram a miscibilidade, a cristalinidade e as propriedades térmicas de blendas PLA/PBAT com diferentes proporções produzidas pela mistura mecânica dos polímeros no estado fundido. O estudo revelou que após a mistura dos polímeros, a porcentagem de cristalinidade, a temperatura de fusão e a temperatura de onset para as blendas PLA/PBAT reduziram gradualmente com o aumento da proporção de PBAT na mistura. Análises morfológicas revelaram a miscibilidade das blendas PLA/PBAT somente para a blenda contendo 2,5% (m/m) de PBAT.

Kumar, Moshenty, Nayak e Parvaiz (2010) investigaram o efeito da adição do compatibilizante glicidil metacrilato (GMA) e de nanoargilas nas propriedades térmicas, mecânicas e morfológicas de blendas PLA/PBAT. A adição de GMA e nanoargila aumentou a resistência ao impacto das blendas PLA/PBAT e melhorou a adesão interfacial e as propriedades térmicas. Outro compatibilizante utilizado com sucesso em blendas PLA/PBAT é o extensor de cadeia Joncryl ADR-4368 (epóxido multifuncional). Al-Itry, Lamnawar e Maazouz (2014) empregaram este extensor por extrusão reativa na produção de blendas PLA/PBAT. De acordo com os autores, houve melhorias nas propriedades mecânicas e na degradação térmica das blendas PLA/PBAT.

Wang, Rhim e Hong (2016) produziram blendas de PLA/PBAT através do método *casting*, utilizando clorofórmio como solvente comum. A blenda com PBAT reduziu a fragilidade e melhorou a flexibilidade do PLA. Resultados de teste de embalagem mostraram que os filmes obtidos pela mistura de PLA e PBAT têm potencial para a aplicação em embalagens alimentícias de frutas e legumes frescos.

Embora as blendas PLA/PBAT sejam extensivamente estudadas, a maioria dos trabalhos publicados na literatura envolvem blendas compactas, com aplicação na área de embalagens biodegradáveis (PIETROSANTO *et al.*, 2020; SRISAA, HARNKARNSUJARIT, 2020). Para outras aplicações, como na produção de *scaffolds* para engenharia de tecidos, outras morfologias são requeridas, como, por

exemplo, estruturas microporosas ou nanofibras (IRANI et al., 2020; DUBEY *et al.*, 2021). No entanto, ainda há poucos estudos na literatura sobre blendas PLA/PBAT estruturadas.

Recentemente, Kang e colaboradores (2018) reportaram a produção de blendas porosas de PLA/PBAT pelo método NIPS (separação de fases induzidas por um não solvente). Segundo os autores, a adição de PBAT diminuiu o diâmetro dos poros e melhora a resistência a tração e a deformação na ruptura dos materiais. Os materiais produzidos apresentaram grande potencial para uso como *scaffolds* para crescimento de células. Pela técnica de eletrofiação, Khatsee e colaboradores (2018) produziram pela primeira vez nanofibras de blendas PLA/PBAT. Foram investigados o efeito de vários parâmetros experimentais na produção das nanofibras, incluindo o solvente, a concentração e a proporção dos polímeros nas blendas.

3.5 ELETROFIAÇÃO

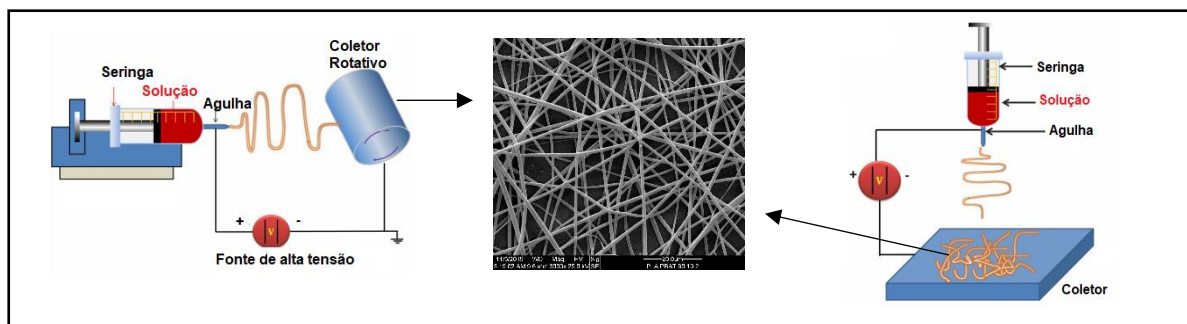
A eletrofiação é uma técnica promissora e versátil empregada na produção de fibras poliméricas contínuas e ultrafinas, com diâmetros no intervalo de 10 nm a 10 μ m. Na eletrofiação, as fibras são produzidas pela aplicação de um campo elétrico forte na solução polimérica (MOON, GIL, LEE, 2017).

Em 1934, Formahals patenteou a técnica de eletrofiação e descreveu as principais etapas experimentais para a produção de fibras poliméricas usando cargas elétricas. Basicamente, os aparatos experimentais necessários para a eletrofiação são: uma fonte de alta tensão, um capilar (normalmente, uma seringa com agulha) e um coletor metálico (placa ou um cilindro de rotação) (MIN *et al.*, 2019).

O processo de eletrofiação consiste na aplicação de um campo elétrico pelo uso de uma fonte de alta tensão, sobre o fluxo de uma solução polimérica ejetado de uma seringa. A seringa pode se encontrar na posição vertical ou horizontal, como mostra a Figura 6. Inicialmente, a solução é mantida pela sua tensão superficial na extremidade do capilar na forma de gota, porém com o aumento da tensão elétrica a superfície da gota adquire um formato cônico, conhecido como cone de Taylor. Quando as forças eletrostáticas de ação repulsiva superam a tensão superficial de ação coesiva, um jato carregado da solução na extremidade do cone é ejetado e atraído ao coletor. Devido à grande área superficial dos jatos, o solvente é rapidamente evaporado, deixando o polímero em forma de uma fibra sólida fina e

alongada, sobre o coletor (PATIL *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2016).

Figura 6: Aparatos da eletrofiação na posição horizontal e vertical.



Fonte: Adaptado de PATIL *et al.*, 2017.

A morfologia e o diâmetro das fibras produzidas por eletrofiação são frequentemente afetados pelos parâmetros de solução (concentração, massa molecular, viscosidade, tensão superficial, condutividade), parâmetros de processamento (tensão aplicada, taxa de fluxo, distância do coletor) e parâmetros ambientais (umidade e temperatura) (PELIPENKO, KOCBEK, KRISTL, 2017; MOTAMED I *et al.*, 2017). O Quadro 1 apresenta o efeito de alguns parâmetros de solução, processamento e ambiente.

Quadro 1- Parâmetros que afetam a morfologia e diâmetro das nanofibras.

Parâmetros	Consequências
Tensão aplicada	No processo de eletrofiação são aplicadas altas tensões (5- 40 kV). Tensões mais elevadas causam o aumento das forças eletrostáticas repulsivas, que levam a um maior alongamento do jato de eletrofiação, resultando em fibras mais finas. Quando a tensão é muito alta, a probabilidade de formação de <i>beads</i> (defeitos) aumenta devido à instabilidade do Cone de Taylor.
Distância entre a ponta do capilar e o coletor	Uma distância mínima é requerida para formar fibras uniformes. Se a distância for muito curta, o jato não se solidifica antes de chegar ao coletor e dá origem a um filme e não fibras.
Taxa de fluxo	A diminuição da taxa de fluxo da solução, diminui o diâmetro das fibras. Em geral, altas taxas de fluxo resultam em fibras com <i>beads</i> devido à indisponibilidade de tempo de secagem adequado, antes de chegar ao coletor.
Concentração da solução polimérica	O aumento da concentração tem resultado no aumento do diâmetro das fibras.

Tensão superficial	Em geral, a baixa tensão superficial resulta na formação de fibras sem <i>beads</i> . A alta tensão superficial resulta na instabilidade dos jatos.
Viscosidade	Para baixas viscosidades há a formação de <i>beads</i> , alta viscosidade aumenta o diâmetro das fibras e as <i>beads</i> desaparecem.
Massa molecular	O aumento da massa molecular, reduz no número de <i>beads</i> e gotículas.
Condutividade	O aumento da condutividade diminui o diâmetro das fibras.
Umidade	Alta umidade resulta em poros circulares sobre as fibras.
Temperatura	Aumento da temperatura resulta na diminuição do diâmetro das fibras.

Fonte: PELIPENKO, KOCBEK, KRISTL, 2017; MOTAMEDI *et al.*, 2017; SUBBIAH *et al.*, 2015.

Existe uma variedade de polímeros capazes de formar fibras com diâmetro em escala nano ou micrométrica pela técnica de eletrospinning. Como por exemplo, os polímeros sintéticos, os polímeros biodegradáveis de origem renovável (quitosana, colágeno, celulose, PHA, PHB, PLA), os polímeros biodegradáveis de origem petroquímica (PCL, PBAT), além de diversas blends poliméricas (KHATSEE *et al.*, 2018; SILVA, *et al.*, 2020; AKANBI, JAYASINGHE, WOJCIK, 2021). A grande diversidade de polímeros empregados na preparação das nanofibras, somada a suas características singulares, como alta porosidade, elevada área superficial e o diâmetro das fibras, tem possibilitado a aplicação das nanofibras em diferentes áreas, tais como, na produção de *scaffolds* na engenharia de tecidos (SINGH *et al.*, 2020) em sistemas de filtração (AL-HUSAINI *et al.*, 2021), liberação de fármacos (GUIDOTTI *et al.*, 2020) e biosensores (ZHANG *et al.*, 2017).

3.6 TÉCNICA BREATH FIGURE

A técnica *breath figure* tem atraído grande atenção na produção de filmes poliméricos com micro ou nanoporos ordenados, principalmente por sua versatilidade, efetividade, simplicidade e custo reduzido quando comparada a outras técnicas de automontagem (WU *et al.*, 2018).

O termo “*breath figure*” foi inicialmente atribuído a matriz de gotículas de água formada quando o vapor de água entra em contato com uma superfície fria. Esse fenômeno foi investigado primeiramente por John Aitken (1895) e Rayleigh (1911). No entanto, foi considerado apenas um fenômeno natural sem aplicações

práticas (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, BORMASHENKO, 2020). Após algumas décadas, Widawski, Rawiso e François (1994) descobriram a formação de um filme polimérico microporoso, quando uma gota de solução de poliestireno (PS) com arquitetura estrelada e do copolímero em bloco poliestireno-poliparafenileno (PS-PPP) preparada em solvente volátil foi exposta a um fluxo de ar úmido. De acordo com Widawski e colaboradores, a rápida evaporação do solvente volátil induziu o resfriamento da superfície da solução e a condensação do vapor de água sobre a solução. As pequenas gotículas de água formadas se auto-organizavam em um arranjo altamente ordenado e ao se evaporarem deixavam uma matriz de poros regulares no filme polimérico. A relação entre os trabalhos de Rayleigh e Widawski foi logo reconhecida, e a técnica foi denominada *breath figure* (BF).

No BF convencional, uma gota da solução polimérica (preparada em solvente volátil) é depositada sobre um substrato, em ambiente úmido (UR > 50%). Após a evaporação completa do solvente e das gotículas de água, um filme polimérico poroso é formado sobre o substrato. Dependendo de como a umidade é estabelecida no ambiente, o processo pode ser classificado como dinâmico ou estático. No método dinâmico, a umidade é fornecida pelo fluxo de gás úmido sobre o substrato (YIN, *et al.*, 2019). Enquanto no estático, o substrato é colocado em um recipiente fechado com vapor de água saturado (WANG *et al.*, 2018). Recentemente, o BF tem sido combinado a outras técnicas, como o dip-coating (DONG *et al.*; 2019), o spin-coating (COBO *et al.*, 2017) e NIPS (BUI, KOB, CHOI, *et al.*, 2014).

Apesar da técnica BF ser bastante simples em relação às etapas experimentais, o mecanismo de formação dos filmes porosos é considerado complexo, uma vez que o processo é controlado por transferências de massa e calor que dependem de vários parâmetros, incluindo temperatura, umidade, velocidade do fluxo de gás (processo dinâmico), propriedades físicas do solvente, concentração da solução e arquitetura dos polímeros (BORMASHENKO, 2017).

O mecanismo mais aceito para a produção dos filmes microporosos pelo método *breath figure* está representado na Figura 7 e pode ser descrito pelas seguintes etapas:

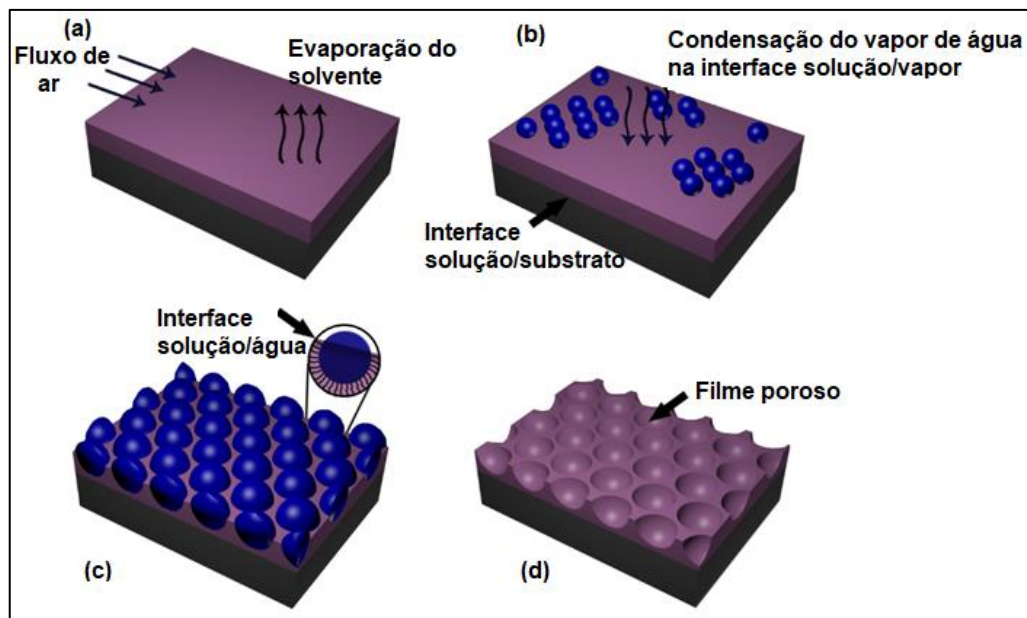
(i) Resfriamento da solução e nucleação de gotículas de água- O resfriamento da solução é a etapa inicial e essencial para a formação das gotículas de água, pois o *breath figure* exige uma superfície fria. Nesse contexto, fria indica uma temperatura significativamente menor que o ponto de orvalho da atmosfera, assim o

vapor de água pode se condensar sobre a superfície da solução espontaneamente. No BF, o resfriamento da superfície da solução é obtido pela rápida evaporação do solvente e por isso, o uso de solventes voláteis é altamente recomendado. O resfriamento da superfície ocasiona a nucleação das gotículas de água na interface solução/vapor. Nessa primeira etapa, as gotículas de água são pequenas e desordenadas (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, BORMASHENKO, 2020; YABU, 2018).

(ii) Crescimento e auto-organização das gotículas de água, formando um padrão ordenado- Estudos têm demonstrado que o raio das gotículas de água cresce com o aumento da umidade relativa, com a diferença de temperatura durante o resfriamento e com o tempo (DOU et al., 2015). Durante o processo de crescimento, as gotículas flutuam na superfície da solução e se auto-organizam formando uma matriz ordenada. Acredita-se que a convecção de Marangoni seja responsável por conduzir a auto-organização das gotículas de água. A convecção de Marangoni (ou convecção termocapilar) está associada a transferência de massa ao longo de uma interface entre dois fluidos devido a um gradiente de tensão superficial. Para uma gota de solução polimérica sobre um substrato, as taxas de evaporação do solvente próximas a linha de contato do substrato e ao centro da gota são diferentes. Assim, haverá um gradiente de temperatura na superfície da solução causado pelo resfriamento por evaporação. Como a tensão superficial depende da temperatura, o gradiente de temperatura levará a um gradiente de tensão superficial e a convecção de Marangoni. A convecção de Marangoni também pode atrair as gotículas de água para interior da solução e produzir filmes microporosos com multicamadas de poros (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, BORMASHENKO, 2020)

(iii) Evaporação do solvente e das gotículas de água levando a uma matriz de poros ordenados sobre a superfície do substrato- Com a evaporação crescente do solvente, a viscosidade da solução aumenta e o movimento das gotículas de água torna-se limitado. Quando a temperatura da solução atinge uma temperatura acima do ponto de orvalho, as gotículas param de crescer e começam a se evaporar com o aumento da temperatura. Após a evaporação completa das gotículas de água o filme poroso é obtido (ZHANG, LI, 2018).

Figura 7- Representação do mecanismo de formação dos filmes poliméricos porosos pelo método *breath figure*: (a) evaporação do solvente, (b) nucleação de gotículas de água, (c) crescimento e auto-organização das gotículas de água; (d)- Evaporação do solvente e das gotículas de água.



Fonte: próprio autor.

O Quadro 2 apresenta os principais fatores experimentais que influenciam a morfologia e o diâmetro dos poros nos filmes produzidos por BF.

Quadro 2- Alguns fatores experimentais que afetam a formação dos poros em filmes poliméricos preparados pelo *breath figure*.

Fator experimental	Consequências
Umidade	O aumento da umidade relativa leva a um aumento no tamanho dos poros.
Concentração da solução	da Menor concentração da solução resulta em poros com diâmetros maiores.
Solvente	Recomenda-se o uso de solventes voláteis e com baixa solubilidade em água. Solventes com alta volatilidade produzem poros menores. Menor volatilidade permite a condensação do vapor de água por mais tempo, então as gotículas crescem por um período maior, logo, poros com tamanhos maiores são obtidos. Uma fina camada de polímeros pode ser formada na superfície das gotículas somente para bons solventes. Essa camada diminui a tensão superficial entre o solvente e gotículas de água, impedindo sua coalescência e contribuindo para a formação de poros ordenados.
Temperatura	A redução na diferença de temperatura da solução,

	diminui a taxa de evaporação do solvente, conseqüentemente o tempo de evaporação aumenta, as gotículas crescem mais e poros maiores são obtidos.
--	--

Fonte: FERRARI *et al.*, 2011; DOU *et al.*, 2015; CHEN *et al.*, 2016.

Nas últimas duas décadas vários tipos de polímeros com diferentes arquiteturas têm sido usados no preparo de filmes porosos pelo BF, incluindo copolímeros em bloco linear, polímeros estrela ou ramificados, homopolímeros lineares, polímeros anfífilicos, polímeros biodegradáveis e misturas de polímeros (YEH *et al.*, 2019; YUAN *et al.*, 2020; YABU, 2018).

3.7 SUPORTES PARA CRESCIMENTO DE CÉLULAS- SCAFFOLDS

Os *scaffolds* são estruturas tridimensionais porosas que desempenham um papel importante na engenharia de tecidos, principalmente no uso como suportes para a regeneração de tecidos, fornecendo um ambiente que permita a proliferação das células e a formação do tecido novo em três dimensões (WUBNEH *et al.*, 2018).

Para que os *scaffolds* desempenhem suas funções na regeneração de tecidos, alguns fatores são importantes, como:

- (i) Possuir estrutura porosa (50-90% de porosidade) e com poros interconectados, facilitando o transporte de gases, nutrientes e fatores regulatórios que possibilitem a sobrevivência, a proliferação e a diferenciação celular;
- (ii) Apresentar propriedades mecânicas correspondentes ao tecido hospedeiro;
- (iii) Ser biocompatível com o organismo, permitindo que as células se adiram à superfície e promover a interação celular, a viabilidade e a deposição extracelular, com o mínimo de inflamação e toxicidade;
- (iv) Biodegradar-se a uma taxa controlável que se aproxima da taxa de regeneração do tecido de interesse (NIKOLAVA, CHAVALI, 2019).

Entre as técnicas convencionais usadas na preparação de *scaffolds* com porosidade controlada, destaca-se o *casting* com lixiviação de partículas, a separação de fase induzida termicamente (TIPS) e a liofilização. Recentemente, as técnicas de eletrofiliação, impressão 3D e métodos de automontagem também têm sido empregados com sucesso na produção de *scaffolds* (ZHAO, *et al.*, 2018).

Os biomateriais empregados na produção dos *scaffolds* podem ser classificados em metais, cerâmicos, polímeros naturais ou sintéticos e compósitos (DONNALOJA *et al.*, 2020). Entre os polímeros sintéticos destacam-se o PLA, o PGA e o copolímero PLGA (YAN *et al.*, 2020; ZHANG, KING, 2020). Apesar do PLA estar entre os principais polímeros biodegradáveis empregados na produção de *scaffolds* destinados ao crescimento de células, o PLA apresenta algumas desvantagens, como: elevada hidrofobicidade, baixo alongamento na ruptura e fraca resistência ao calor. Como resultado, modificações têm sido propostas para a produção de *scaffolds* de PLA, tais como, a copolimerização e a produção de nanocompósitos, além da produção de blendas poliméricas (WANG *et al.*, 2019; APALANGYA *et al.*, 2019).

REFERÊNCIAS

AID, S.; EDDHAHAK, A.; ORTEGA, Z.; FROELICH, D.; TCHARKHTCHI, A. Experimental study of the miscibility of ABS/PC polymer blends and investigation of the processing effect. **J. Appl. Polym. Sci.** 44975 (1-9), 2017.

AKANBI, M. J.; JAYASINGHE, S. N.; WOJCIK, A. Characterisation of electrospun PS/PU polymer blend fibre mat for oil sorption. **Polymer** v. 212, p.123129, 2021.

AL-HUSAINI, Issa Sulaiman *et al.* Synthesis of functional hydrophilic polyethersulfone-based electrospun nanofibrous membranes for water treatment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 1, p. 104728, 2021.

AL-ITRY, R.; LAMNAWAR, K.; MAAZOUZ, A. Understanding of the compatibilization effect of the multifunctionalized epoxy in PLA/PBAT biopolymer blends: linear and non-linear rheology, morphology and interfacial properties, **Rheol. Acta** v. 53, p. 501–517, 2014.

APALANGYA, V. A.; RANGARI, V. K.; TIIMOB, B. J.; JEELANI, S.; SAMUEL, T. Eggshell Based Nano-Engineered Hydroxyapatite and Poly(lactic) Acid Electrospun Fibers as Potential Tissue Scaffold. **International Journal Of Biomaterials** v. 2019, p. 1-11, 2019.

ARRUDA, L. C.; MAGATON, M.; BRETAS, R. E. S.; UEKI, M. M. Influence of chain extender on mechanical, thermal and morphological properties of blown films of PLA/PBAT blends. **Polymer Testing** v. 43, p. 27-37, 2015.

BAI, J.; PEI, H.; ZHOU, X.; XIE, X. Reactive compatibilization and properties of low-cost and high-performance PBAT/thermoplastic starch blends. **European Polymer Journal** v. 143, 110198 (1-10), 2021.

BHEEMANENIA, G.; SARAVANAB, S.; KANDASWAMY, Processing and characterization of Poly (butylene adipate-co-terephthalate)/wollastonite

biocomposites for medical applications. **Materials Today: Proceedings** v. 5, p.1807–1816, 2018.

BILCK, A. P.; OLIVATO, J. B.; YAMASHITA, F.; DE SOUZA, J. R. P. Biodegradables bags for the production of plants seedlings, **Polímeros** v. 24, p. 547-553, 2014.

BORMASHENKO, E. Breath-Figure Self-Assembly, a Versatile Method of Manufacturing Membranes and Porous Structures: Physical, Chemical and Technological Aspects. **Membranes** v. 7, p. 1-20, 2017.

CASTRO-AGUIRRE, E., IÑIGUEZ-FRANCO, F., SAMSUDIN, H. FANG, X., AURAS, R. Poly(lactic acid)- Mass production, processing, industrial applications, and end of life, **Advanced Drug Delivery Reviews** v. 107, p. 333-366, 2016.

CHEN, Q.; ZUO, M.; SONG, Y-H.; ZHENG, Q. Molecular Dynamics and Phase Behavior of Polystyrene/Poly(vinyl methyl ether) Blend in the Presence of Nanosilica. **Chinese Journal of Polymer Science** v. 35, p. 1524–1539, 2017.

CHEN, X.; XIA, T.; ZHANG, A.; NIU, X. Effect of Poly (vinyl methyl ether) on the Miscibility, Crystallization and Rheology of Poly(L-lactide)/ Poly (methyl methacrylate) Blends, **Journal of Macromolecular Science**, Part B, v. 60, p. 1-17, 2020.

COBO, F. N.; FARIA-TISHER, P. C. S.; DUARTE, J. L. CARVALHO, G. M. Preparation and characterization of microporous cellulose acetate films using breath figure method by spin coating technique. **Cellulose** v. 24, p. 4981–4995, 2017.

COUBROUGH, H. M.; REYNOLDS, M.; GOODCHILD, J. A., CONNELL, S. D. A. MATTSSON, J.; WILSON, A. J. Assembly of miscible supramolecular network blends using DDA-AAD hydrogen-bonding interactions of pendent side-chains. **Polym. Chem.**, v. 11, p. 3593-3604, 2020.

DONNALOJA, F.; JACCHETTI, E.; SONCINI, M.; RAIMONDI, M. T. Natural and synthetic polymers for bone scaffolds optimization. **Polymers**, v. 12, p. 905, 2020.

DONG, R.; SUN. R.; WANG, X.; CHEN, Z.; JIN, C. Fabrication of hierarchically structured surfaces with “rose petal” effect by a modified breath figure method. **Thin Solid Films** v. 689, p.137503, 2019.

DOU, Y.; JIN, M.; ZHOU, G.; SHUI, L. Breath Figure Method for Construction of honeycomb Films. **Membranes**, 5, 399 - 424, 2015.

DUBEY, S.; MISHRA, R.; ROY, P.; SINGH, R. P. 3-D macro/microporous-nanofibrous bacterial cellulose scaffolds seeded with BMP-2 preconditioned mesenchymal stem cells exhibit remarkable potential for bone tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules** v.167, p. 934–946, 2021.

FARAH, S.; ANDERSON, D. G.; LANGER, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. **Advanced Drug Delivery Reviews** v. 107, p. 367–392, 2016.

FERRARI, E.; FABBRI, P.; PILATI, F. Solvent and Substrate Contributions to the Formation of Breath Figure Patterns in Polystyrene Films. **Langmuir** v. 27, p. 1874–1881, 2011.

FERREIRA, F.; CIVIDANES, L.; GOUVEIA, R.; LONA, L. M. F. An Overview on Properties and Applications of Poly(butylene adipate-co-terephthalate)–PBAT Based Composites. **Polymer Engineering and Science**, p. 7-15, 2019.

GARCÍA, K. M. M.; MENDOZA, M. A. W.; BARRIOS, V. A. E. Synthesis and evaluation of compatibilizer based on interpenetrating polymer networks (IPN) for PET/LDPE blends. **J Appl Polym Sci** v. 133, p. 43704 (1-13), 2016.

GEYER, R.; JAMBECK, J. R.; LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Sci. Adv.** v.3, p. e17001782 (1-5), 2017.

GU, J-D. Biodegradability of plastics: the issues, recent advances, and future perspectives. **Environmental Science and Pollution Research** v. 28,1278–1282, 2021.

GUIDOTTI, G.; SOCCIO, M.; POSATI, T.; SOTGIU, G.; TIBONI, M.; BARBALINARDO, M.; VALLE, F.; CASETTARI, L.; ZAMBONI, R.; LOTTI, N.; ALUIGI, A. Regenerated wool keratin-polybutylene succinate nanofibrous mats for drug delivery and cells culture. **Polymer Degradation and Stability**, v. 179, p. 109272, 2020.

HAIDER, T. P.; VÖLKER, C.; KRAMM, J.; LANDFESTER, K.; WURM, F. R. Plastics of the Future? The Impact of Biodegradable Polymers on the Environment and on Society. **Angewandte Chemie** v. 58, p. 50-62, 2019.

HAMAD, K.; KASEEM, M.; YANG, H.W.; DERI, F. KO. Y. G. Properties and medical applications of polylactic acid: A review. **Polymer Letters** v. 9, p. 435-455, 2015.

HAMAD, K. KASEEM, M.; AYYOOB, M.; JOO, J.; DERI, F. Polylactic acid blends: The future of green, light and tough. **Progress in Polymer Science** v. 85, p. 83-127, 2018.

HERRERA, R.; FRANCO, L.; RODRÍGUEZ-GALÁN, A.; PUIGGALÍ. Characterization and degradation behavior of poly (butylene adipate-co-terephthalate) **J. Polym. Sci. A. Polym. Chem.** V.40, p. 4141-4157, 2002.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY, IUPAC. **Compendium of Polymer Terminology and Nomenclature**. RSCPublishing, 2008.

IRANI, S.; TAVAKKOLI, S.; PEZESHKI-MODARESS.; TAGHAVIFAR, E.; MOHAMMADALI, M.; DAEMI, H. Electrospun nanofibrous alginate sulfate scaffolds promote mesenchymal stem cells differentiation to chondrocytes. **J Appl Polym Sci**. v. 138, p. e49868 (1-12), 2021.

JIAN, J.; XIANGBIN, Z.; XIANBO, H. An overview on synthesis, properties and applications of poly(butylene-adipate-co-terephthalate) – PBAT. **Advanced Industrial And Engineering Polymer Research** v. 3, p. 19-26, 2020.

KANG, Y.; CHEN, P.; SHI, X.; ZHANG, G.; WANG, C. Preparation of open-porous stereocomplex PLA/ PBAT scaffolds and correlation between their morphology, mechanical behavior, and cell compatibility. **RSC Adv.**, v. 8, p. 12933, 2018.

KHALIL, A. H. P. S.; BANERJEE, A.; SAURABH, C. K.; TYE, Y. Y.; SURIANI, A. B.; MOHAMED, A.; KARIM, A. A.; RIZAL, S.; PARIDAH, M. T. Biodegradable Films for Fruits and Vegetables Packaging Application: Preparation and Properties. **Food Eng Rev** v. 10, p. 139–153, 2018.

KHATSEE, S.; DARANARONG, D.; PUNYODOM, W.; WORAJITTIPHON, P. Electrospinning polymer blend of PLA and PBAT: Electrospinnability–solubility map and effect of polymer solution parameters toward application as antibiotic-carrier mats. **J. Appl. Polym. Sci.**, 46486 (1-19), 2018.

LI, W.; ZENG, L. WU, Y.; YU, Y. Nanostructured electrode materials for lithium-ion and sodium-ion batteries via electrospinning. **Sci China Mater** v. 59, p. 287-321, 2016.

LU, X.; ZHAO, J.; YANG, X.; XIAO, P. Morphology and properties of biodegradable poly (lactic acid)/poly (butylene adipate-co-terephthalate) blends with different viscosity ratio. **Polymer Testing** v.60, p.58-67, 2017.

LUCAS, E.; SOARES, B.; MONTEIRO, E., E., C. Análise térmica diferencial (DTA) e calorimetria diferencial de varredura (DSC). In: **Caracterização dos Polímeros**. Rio de Janeiro: E-papers, 2001. p. 241-279.

MANAVITEHRANI, I.; FATHI, A.; WANG, Y.; MAITZ, P. K.; MIRMOHSENI, F.; CHENG, T. L.; PEACOCK, L.; LITTLE, D. G.; SCHINDELER, A.; DEGHANI, F. Fabrication of a Biodegradable Implant with Tunable Characteristics for Bone Implant Applications. **Biomacromolecules** v.18, p. 1736–1746, 2017.

MOUSTAFA, H.; GUIZANI, C.; DUFRESNE, A. Sustainable biodegradable coffee grounds filler and its effect on the hydrophobicity, mechanical and thermal properties of biodegradable PBAT composites. **J. Appl. Polym. Sci.** 44498 (1- 11), 2017.

MIN, L.; PANA, H.; CHENG, S.; WANG, C.; WANG, N.; ZHANG, J.; CAO, Y. CHENE, X.; HOUA, X. Recent progress in bio-inspired electrospun materials. **Composites Communications** v.11, p.12–20, 2019.

MOON, S.; GIL, M.; LEE, K. J. Syringeless Electrospinning toward Versatile Fabrication of Nanofiber Web. **Scientific Reports** v.7, p. 41424, 2017

MUZATA, T. S., JAGADESHVARAN P. L., BOSE, S. Nanoparticles influence miscibility in LCST polymer blends: from fundamental perspective to current applications. **Phys. Chem. Chem. Phys.**,v. 22, p. 20167, 2020.

NIKOLAVA, M. P.; CHAVALI, M. S. Recent advances in biomaterials for 3D scaffolds: A review. **Bioactive Materials** v. 4, p. 271- 292, 2019.

PARAMESWARANPILLAI, J.; THOMAS, S.; GROHENS, Y. **Polymer Blends: State of the Art, New Challenges, and Opportunities**. In: Thomas, S.; Grohens, Y.;

Jyotishkumar, P., Characterization of Polymer Blends. 1. Ed. Weinheim: Wiley- VCH, p. 1-5, 2015.

PATIL, J. V.; MALI, S. S.; KAMBLE, A. S. HONG, C. K.; KIM, J. H. PATIL, P. S. Electrospinning: A versatile technique for making of 1D growth of nanostructured nanofibers and its applications: An experimental approach. **Applied Surface Science** v. 423, p. 641–674, 2017.

PELIPENKO, J.; KOCBEK, P. KRISTL, J. Critical attributes of nanofibers: Preparation, drug loading, and tissue regeneration. **International Journal of Pharmaceutics** v. 484, p.57–74, 2015.

PIETROSANTO, A.; SCARFATO, P.; DI MAIO, L.; INCARNATO, L. Development of Eco-Sustainable PBAT-Based Blown Films and Performance Analysis for Food Packaging Applications. **Materials** v. 13, p. 1-15, 2020.

PIETROSANTO, A.; SCARFATO, P.; DI MAIO, L.; NOBILE, M.; INCARNATO, L. Evaluation of the Suitability of Poly(Lactide)/Poly(Butylene-Adipate-co-Terephthalate) Blown Films for Chilled and Frozen Food Packaging Applications. **Polymers** v.12, p. 804 (1-18), 2020.

PRETULA, J.; SLOMKOWSKI, S.; PENCZEK, S. Polylactides—Methods of synthesis and characterization. **Advanced Drug Delivery Reviews** v. 107, p. 3-16, 2016.

RATNER, B. D. Biomaterials: Been There, Done That, and Evolving into the Future. **Annual Review of Biomedical Engineering** v. 21, p. 171-191, 2019.

RIVERO, C. P.; HU, Y.; KWAN, T. H.; WEBB, C.; THEODOROPOULOS, C.; DAOUD, W.; LIN, C. S. K. Bioplastics From Solid Waste. **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**, p. 1–26, 2017.

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, J.; BORMASHENKO, E. Breath-Figures Formation: Physical Aspects. In: **Breath Figures mechanisms os multi-scale patterning and strategies for fabrication and applications of microstructured functional porous surfaces**. Springer, 2020.

SANCHEZ-REXACH, E.; MEAURIO, E.; ITURRI, J.; TOCA-HERRERA, J. L.; NIR, S.; RECHES, M.; SARASUA, J-M. Miscibility, interactions and antimicrobial activity of poly(ϵ -caprolactone)/chloramphenicol blends. **European Polymer Journal** v.102, p. 30-37, 2018.

SANGRONIZA, A.; GONZALEZA, A.; MARTIN, L.; IRUSTA, L.; IRIARTE, M.; ETXEBERRIA, A. Miscibility and degradation of polymer blends based on biodegradable poly (butylene adipate-co-terephthalate). **Polymer Degradation and Stability** v. 151, p. 25–35, 2018.

SILVA, T.; CESAR, G. B.; FRANCISCO, C. P. MOSSINI, G. G.; DE CASTRO HOSHINO, L. V.; SATO, F.; RADOVANOVIC, E.; DA SILVA AGOSTINI, D. L.; CAETANO, W.; HERNANDES, L.; MATIOLI, G. Electrospun curcumin/polycaprolactone/copolymer F-108 fibers as a new therapy for wound

healing. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 137, p. 48415, 2020.

SILVA, S. A.; HINKEL, E. W.; LISBOA, T. C.; SELISTRE, V. V.; SILVA, A. J.; SILVA, L. O. F.; FACCIN, D. J. L.; CARDOZO, N. S. M. A biostimulation-based accelerated method for evaluating the biodegradability of polymers. **Polymer Testing** v.91, p. 106732, 2020.

SINGH, R. EITLER, D.; MORELLE, R.; FRIEDRICH, R. P.; DIETEL, B.; ALEXIOU, C.; BOCCACCINI, A. R.; LIVERANI, L.; CICHA, I. Optimization of cell seeding on electrospun PCL-silk fibroin scaffolds. **European Polymer Journal** v. 134, p. 109838, 2020.

SINTIM, H. Y.; BARY, A. I.; HAYES, D.G.; WADSWORTH, L.C.; ANUNCIADO, M. B.; ENGLISH, M, E.; BANDOPADHYAY, S.; SCHAEFFER, S. M.; DEBRUYN, J. M.; MILES, C. A.; REGANOLD, J. P.; FLURY, M. In situ degradation of biodegradable plastic mulch films in compost and agricultural soil. **Science of the Total Environment** v. 727, p. 138668, 2020.

SOUZA, P. M. S.; SOMMAGGIO, L. R. D.; MARIN-MORALES, M. A.; MORALES, A. R. PBAT biodegradable mulch films: Study of ecotoxicological impacts using *Allium cepa*, *Lactuca sativa* and HepG2/C3A cell culture. **Chemosphere** v. 256, p. 126985 (1- 11), 2020.

SRISA, A.; HARNKARNSUJARIT, N. Antifungal films from trans-cinnamaldehyde incorporated poly(lactic acid) and poly(butylene adipate-co-terephthalate) for bread packaging. **Food Chemistry**, v. 333, p. 127537, 2020.

SU, S.; KOPITZKY, R.; TOLGA, S.; KABASCI, S. Polylactide (PLA) and Its Blends with Poly(butylene succinate) (PBS): A Brief Review. **Polymers** v. 11, p. 1193, 2019.

UGARTEMENDIA, J.M.; LARRAÑAFA, A.; AMESTOY, H.; ETXEBERRIA, A.; SARASUA, J.R. Tougher biodegradable polylactide system for bone fracture fixations: Miscibility study, phase morphology and mechanical properties. **European Polymer Journal** v. 98, p. 411-419, 2018.

TIKISH, T. A.; KUMAR, A.; KIM, J. Y. Study on the Miscibility of Polypyrrole and Polyaniline Polymer Blends. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2018, p. 1–5, 2018.

TYLER, B.; GULLOTTI, D.; MANGRAVITI, A.; UTSUKI, T.; BREM, H. Polylactic acid (PLA) controlled delivery carriers for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews** v. 107, p. 163-175, 2016.

VELÁZQUEZ, C. F.; ACEVEDO, P. H.; NUÑO, S. M. NÚÑEZ, D. E.; GABALDÓN, J. A. Development and Characterization of a Biodegradable PLA Food Packaging Hold Monoterpene–Cyclodextrin Complexes Against *Alternaria alternata*. **Polymers** v.11, 1720 (1-15), 2019.

WANG, L.; WANG, D.; ZHOU, Y.; ZHANG, Y.; LI, Q.; SHEN, C. Fabrication of open-porous PCL/PLA tissue engineering scaffolds and the relationship of foaming process,

morphology, and mechanical behavior. **Polymers For Advanced Technologies** v. 30, p. 2539-2548, 2019.

WANG, L.F.; RHIM, J.W.; HONG, S.H. Preparation of poly(lactide)/poly(butylene adipate-co-terephthalate) blend films using a solvent casting method and their food packaging application. **Food Science and Technology** v. 68, p. 454-461, 2016.

WANG, W.; YU, Y.; GUO, J.; AN, Q.; GONG, Y. GUO, Q. Static miscible vapor environment controlled honeycombed morphology in polystyrene–b–poly(methyl methacrylate) films. **Polymer** v. 153, p. 161-166, 2018.

WEI, D.; WANG, H.; ZIAEE, Z.; CHIBANTE, F.; ZHEG, A.; XIAO, H. Non-leaching antimicrobial biodegradable PBAT films through a facile and novel approach. **Materials Science And Engineering: C** v. 58, p. 986-991, 2016.

WIDAWSKI, G.; RAWISO, M.; FRANCOIS, B. Self-organized Honeycomb Morphology of Star-Polymer Polystyrene Films. **Nature**, 369, 387–389, 1994.

WU, B. H.; WU, L. W.; GAO, K.; CHEN, S.; He.; XU, Z.; K.; WAN, L.; S. Self-Assembly of Patterned Porous Films from Cyclic Polystyrenes via the Breath Figure Method. **The Journal Of Physical Chemistry C** v. 122, p. 3926-3933, 2018

WUBNEH, A.; TSEKOURA, E. K.; AYRANCI, C.; ULUDAG, H. Current state of fabrication technologies and materials for bone tissue engineering, **Acta Biomater.** v. 80, p. 1–30, 2018.

XAVIER, P.; RAO, P.; BOSE, S. Nanoparticle induced miscibility in LCST polymer blends: critically assessing the enthalpic and entropic effects. **Phys. Chem. Chem. Phys** v. 18, p. 47–64, 2016.

XUE, L.; ZHANG, J.; HAN, Y. Phase separation induced ordered patterns in thin polymer blend films, **Progress in Polymer Science** v. 37, p. 564-594, 2012.

YABU, H. Fabrication of honeycomb films by the breath figure technique and their applications. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 19, n. 1, p. 802-822, 2018.

YAN, D.; WANG, Z.; GUO, Z.; MA, Y.; WANG, C.; TAN, H.; ZHANG, Y. Study on the properties of PLA/PBAT composite modified by nanohydroxyapatite. **Journal Of Materials Research And Technology** v. 9, p. 11895-11904, 2020.

YEH, S. C.; WU, C. H.; HUANG, Y. C.; LEE, J. Y.; JENG, R. U. In Search of a Green Process: polymeric films with ordered arrays via a water droplet technique. **Polymers** v. 11, p. 1473, 2019.

YIN, G. Z.; YANG, X. M. Biodegradable polymers: a cure for the planet, but a long way to go. **Journal of Polymer Research** v. 27, 38 (1-14), 2020.

YIN, H.; ZHAN, F.; YU, Y.; LI, Z.; FENG.; Y.; BILLON, L. Direct formation of hydrophilic honeycomb film by self-assembly in breath figure templating of hydrophobic

polylacticacid/ionic surfactant complexes. **Soft Matter** v. 15, p. 5052, 2019.

YUAN, H.; LI, G.; DAI, E.; LU, G.; HUANG, X.; HAO, L.; TAN, Y. Ordered Honeycomb-Pattern Membrane. **Chinese Journal Of Chemistry** v. 38, p. 1767-1779, 2020.

ZHANG, B.; ZHU, H.; ZOU, M.; LIU, X.; YANG, H.; ZHANG, M.; WU, W.; YAO, J.; DU, M. Design and fabrication of size-controlled Pt-Au bimetallic alloy nanostructure in carbon nanofibers: a bifunctional material for biosensors and the hydrogen evolution reaction. **Journal of Materials Science** v. 52, p. 8207-8218, 2017.

ZHANG, F.; KING, M. W. Biodegradable polymers as the pivotal player in the design of tissue engineering scaffolds. **Advanced Healthcare Materials** v. 9, p. 1901358, 2020.

ZHANG, L. The study of phase separation in the miscibility gap and ion specific effects on the aggregation of soft matter system. **Soft Condensed Matter**. Université Paris Saclay (COMUE); Northwestern Polytechnical University (China), 2016.

ZHANG, Y.; LI, Z. Formation of Hierarchical Porous Structure via Breath Figure Method. **Advances In Condensed Matter Physics** v. 2018, p. 1-6, 2018.

ZHAO, P. GU, H.; MI, H.; RAO, C.; FU, J.; TURNG, L. Fabrication of scaffolds in tissue engineering: A review. **Front. Mech. Eng.** v. 13, p. 107–119, 2018.

ZHAO, X.; HU, H.; WANG, X.; YU, X.; ZHOU, W.; PENG, S. Super tough poly(lactic acid) blends: a comprehensive review. **RSC Adv.** v. 10, p. 13316–13368, 2020.

ZHU, L.; WANG, H.; LIU, M.; JIN, Z.; ZHAO, K. Effect of Core-Shell Morphology on the Mechanical Properties and Crystallization Behavior of HDPE/HDPE-g-MA/PA6 Ternary Blends. **Polymers** v.10, p. 1040- 1053, 2018.

4. ESTUDO DA MISCIBILIDADE DE BLENIDAS DE POLI (ÁCIDO LÁTICO)/ POLI (BUTILENO ADIPATO-CO-TEREFTALATO) PREPARADAS PELO MÉTODO DE EVAPORAÇÃO DE SOLVENTE

Resumo

A produção de blendas de PLA/ PBAT tem por objetivo superar as desvantagens que cada polímero possui individualmente, como fragilidade, limitações de processabilidade e custo. Neste estudo, investigamos a miscibilidade e as propriedades de filmes biodegradáveis de PLA - Poli (ácido láctico), PBAT- Poli (butileno adipato-co-tereftalato) e de suas blendas com proporções de 95/5, 70/30, 30/70 e 5/95 de PLA/PBAT, respectivamente, produzidos pelo método de evaporação de solvente. As blendas produzidas foram caracterizadas pelas técnicas de espectroscopia Raman, calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TGA), microscopia eletrônica de varredura (MEV), viscosimetria de soluções diluídas e ensaio mecânico de tração. A análise dos espectros Raman, temperatura de transição vítrea (Tg), e TGA indicaram imiscibilidade dos polímeros em todas as composições estudadas. As análises mecânicas apontaram para diminuição da rigidez das blendas com a adição do PBAT. Os valores dos parâmetros de interação obtido pela análise de viscosimetria de soluções diluídas, sugerem miscibilidade parcial da blenda contendo 5% de PBAT. O estudo da miscibilidade e das propriedades das blendas de PLA/PBAT, obtidas por evaporação de solvente, possibilitarão a produção de novos materiais por diferentes técnicas visando novas aplicação para este material.

Palavras-chave: Poli (ácido láctico). Poli (butileno adipato-co-tereftalato). Blendas. Miscibilidade. Viscosidade. Espectroscopia Raman.

Abstract

The production of PLA / PBAT blends aims to overcome the disadvantages that each polymer had individually, such as fragility, process ability and cost limitations. In this study, we investigated the miscibility and properties of biodegradable films of PLA - Poli (lactic acid), PBAT-Poli (butylene adipate-co-terephthalate) and their blends with proportions of 95/5, 70/30, 30/70 and 5/95 PLA / PBAT, respectively, produced by the casting method. The blends produced were characterized by the techniques of Raman spectroscopy, differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetry (TGA), scanning electron microscopy (SEM), diluted solutions viscosimetry and mechanical tensile testing. The Raman spectra of the PLA / PBAT blends indicated that the polymers do not show favorable molecular interactions. The analysis of the glass transition temperature (Tg) of the materials, the SEM images and the interaction parameters, obtained by viscosimetry analysis of diluted solutions, confirmed the immiscibility of the PLA / PBAT blends. Mechanical analyzes point to a decrease in the stiffness of the blend with the addition of PBAT. The study of the miscibility and properties of the PLA / PBAT blends obtained by solvent evaporation will enable the production of new materials by different techniques aiming at new applications for this material.

Keywords: Poly (lactic acid). Poly (butylene adipate-co-terephthalate). Blends. Miscibility. Viscosity. Raman spectroscopy.

4.1 INTRODUÇÃO

Os plásticos sintéticos oriundos do petróleo tornaram-se materiais preciosos para a vida moderna, com ampla gama de aplicações. A produção anual de plásticos aumentou de 1,5 milhões de toneladas em 1950 para aproximadamente 359 milhões de toneladas em 2018 (PLASTICS EUROPEAN, 2019). O sucesso dos plásticos é atribuído principalmente à grande versatilidade, durabilidade, resistência à corrosão e processabilidade. Contudo, o descarte inadequado desses materiais na natureza tem ocasionado sérios problemas ambientais, visto que eles se acumulam no ambiente por décadas (HAIDER, VÖLKER, KRAMM, 2019).

Visando reduzir os impactos ambientais, grandes esforços têm sido realizados para produzir materiais poliméricos biodegradáveis que apresentem propriedades físico-químicas similares às dos plásticos convencionais. O poli (ácido láctico) - PLA é um poliéster termoplástico, biodegradável e renovável que tem se destacado por sua boa processabilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (CASTRO-AGUIRRE, *et al.*, 2016; FARAH, ANDERSON, LANGER, 2016). O PLA é extensivamente utilizado na área biomédica, como na produção de implantes bioabsorvíveis, suturas cirúrgicas, *scaffolds* para engenharia de tecidos e em sistemas de liberação de fármacos (NOFAR *et al.*, 2019). Outra promissora aplicação do PLA é na produção de embalagens biodegradáveis (WANG, RHIM, HONG, 2016). Apesar de suas potencialidades, o PLA possui algumas desvantagens, como a baixa flexibilidade, ductilidade e tenacidade (KUCIEL, MAZUR, HEBDA, 2020).

Um dos caminhos para melhorar as propriedades mecânicas do PLA e expandir suas aplicações é através da produção de blendas poliméricas. Um dos polímeros mais promissores para a produção de blendas poliméricas com o PLA é o poli (butileno adipato-co-tereftalato) – PBAT, principalmente por sua capacidade de melhorar a flexibilidade do PLA, sem prejudicar a biodegradabilidade do mesmo (WANG, *et al.*, 2019).

Neste estudo, as blendas poliméricas PLA/PBAT foram produzidas pelo método de evaporação de solvente, também conhecido por *casting*. A utilização desse método pode promover a obtenção de filmes com diferentes morfologias, quando associada a outras técnicas experimentais, como, por exemplo, a técnica de *spin coating*, a eletrofiação e a lixiviação de partículas, o que amplia as aplicações dos filmes (KANG *et al.*, 2018; ROSENBERGER *et al.*, 2020; TIPDUANGTA *et al.*, 2016).

Neste sentido, o presente trabalho tem por objetivo estudar a miscibilidade e as propriedades térmicas, mecânicas e morfológicas de blendas PLA/PBAT preparadas pelo método de evaporação de solvente, tendo como diferencial a utilização das técnicas viscosimetria de soluções diluídas e a espectroscopia Raman.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Poli (ácido láctico), PLA Ingeo™ 4043D, com massa molecular média de 200 KDa adquirido da NatureWorks LLC (Blair, Nebraska, USA) e Poli (butileno adipato-co-tereftalo), PBAT, sob o nome comercial de Ecoflex® F BLEND C1200 (BASF, 2013), fornecido pela empresa BASF (Germany) foram utilizados para produção das blendas. Clorofórmio (Biotec- Brasil) foi utilizado como solvente.

Os filmes de PLA, PBAT e das blendas PLA/PBAT foram produzidas pelo método de evaporação de solvente (WANG, RHIM, HONG, 2016). As blendas PLA/PBAT foram preparadas nas proporções 95/5, 70/30, 30/70 e 5/95 de PLA/PBAT a partir de soluções de 4% (massa/volume) dos polímeros dissolvidos em clorofórmio. As soluções foram agitadas por 6 horas e posteriormente vertidas em placas de vidro e secas a temperatura ambiente por 24 horas. As amostras dos filmes produzidos foram denominadas PLA, PLA₉₅/PBAT₅, PLA₇₀/PBAT₃₀, PLA₃₀/PBAT₇₀, PLA₅/PBAT₉₅ e PBAT.

Os espectros Raman das amostras foram obtidos através do equipamento Microscópio Raman Confocal, marca Witec, modelo Alpha300 R, com laser de 532 nm e resolução espectral de 4 cm⁻¹. A faixa de número de onda foi de 150 a 4000 cm⁻¹. Imagens Raman foram obtidas com o auxílio de um microscópio confocal em diferentes espessuras da amostra e associadas com o espectro Raman.

Análises termogravimétricas (TGA) foram realizadas no equipamento Perkin Elmer TGA 4000, sob fluxo de nitrogênio com vazão de 20 cm³.min⁻¹. As amostras foram aquecidas no intervalo de temperatura de 30 - 800 °C, com taxa de aquecimento de 20 °C.min⁻¹.

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) foi realizada em um equipamento da Shimadzu, modelo DSC-60. As amostras dos filmes foram colocadas em placas de alumínio e aquecidas de 30 a 200 °C. A velocidade de aquecimento foi de 10 °C. min⁻¹, sob uma atmosfera de nitrogênio com vazão de 50 mL.min⁻¹. Para

uma melhor visualização da temperatura de transição vítrea (T_g) das amostras realizou-se uma segunda varredura no intervalo de 30 a 100 °C.

Os testes de resistência à tração foram realizados em uma máquina universal de ensaio (marca Emic, modelo DL2000 e célula de carga de 50 N), segundo as especificações da norma ASTM D-638. Foi analisada a tensão na força máxima, a deformação na ruptura e o módulo elástico.

A análise morfológica foi realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) utilizando um equipamento da marca Philips, modelo FEI Quanta 200 com voltagem de aceleração de 8.6 kV. As amostras foram fraturadas em nitrogênio líquido para a observação da superfície de fratura. As superfícies de fratura foram previamente cobertas com uma fina camada de ouro e a magnitude de observação foi de 2400 e 5000 vezes.

Um viscosímetro do tipo Cannon Fenske (marca Paragon Scientific Ltd-CFR 150) foi empregado para determinar a viscosidade relativa dos polímeros puros e das blendas PLA/PBAT. O intervalo de concentração investigado foi de 0,1 a 2,0 g.dL⁻¹, utilizando clorofórmio como solvente comum. Todos os experimentos foram conduzidos à temperatura constante de 23,0 ± 0,5 °C. Para quantificar a miscibilidade de blendas poliméricas, Chee (1990) propôs uma expressão do parâmetro de interação, ΔB , quando os polímeros são misturados nas frações de peso w_1 e w_2 , (Equação 3).

$$\Delta B = \frac{(b-c)}{(2w_1w_2)} \quad \text{Equação 3}$$

Onde: $c = w_1b_{11} + w_2b_{22}$, no qual b_{11} e b_{22} são os parâmetros de interações individuais obtidos pela inclinação da reta das curvas de viscosidade reduzida versus concentração das soluções do polímero 1 e 2.

O coeficiente b está relacionado com o coeficiente de Huggins, K_h , Equação 4.

$$b = K_h \cdot [\eta]^2 \quad \text{Equação 4}$$

Onde $[\eta]$ corresponde a viscosidade intrínseca da solução polimérica.

Em sistemas ternários, o coeficiente b é dado pela Equação 5. O parâmetro de interação b_{12} é obtido pela inclinação da reta das curvas de viscosidade das soluções das blendas poliméricas.

$$b = w_{12}b_{11} + w_{22}b_{22} + 2w_1w_2b_{12} \quad \text{Equação 5}$$

Usando os valores de ΔB , Chee (1990) definiu outro parâmetro de interação, μ , dado pela Equação 6:

$$\mu = \Delta B / \{[n]_2 - [n]_1\}^2 \quad \text{Equação 6}$$

Onde: $[n]_1$ e $[n]_2$ correspondem a viscosidade para soluções dos polímeros puros.

Para $\mu \geq 0$, a blenda polimérica é classificada como miscível. Porém, se $\mu < 0$ a blenda polimérica é classificada como imiscível (WOLF, 2018).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A estabilidade e a decomposição térmica dos filmes PLA, PLA₉₅/PBAT₅, PLA₇₀/PBAT₃₀, PLA₃₀/PBAT₇₀, PLA₅/PBAT₉₅ e PBAT foram investigadas por TGA. Os dados correspondentes a T₉₀ (temperatura observada em 10% de perda de massa) e a T_{max} (temperatura máxima de degradação, observados nas curvas de DTG) estão registrados na Tabela 1. Pelos valores de T₉₀, observa-se que a estabilidade térmica da amostra de PLA é inferior a amostra de PBAT. A diferença na estabilidade térmica dos materiais está relacionada provavelmente às diferenças estruturais das cadeias poliméricas, em especial a presença dos anéis aromáticos (LI *et al.*, 2018).

Tabela 1- Valores de T₉₀ e T_{max} das amostras PLA, PLA₉₅/PBAT₅, PLA₇₀/PBAT₃₀, PLA₃₀/PBAT₇₀, PLA₅/PBAT₉₅ e PBAT.

Composição dos filmes	T ₉₀ (°C)	T _{max} (°C)
PLA	377	404
PLA ₉₅ /PBAT ₅	373	405
PLA ₇₀ /PBAT ₃₀	380	403/ 444
PLA ₃₀ /PBAT ₇₀	391	397/ 445
PLA ₅ /PBAT ₉₅	406	443
PBAT	419	446

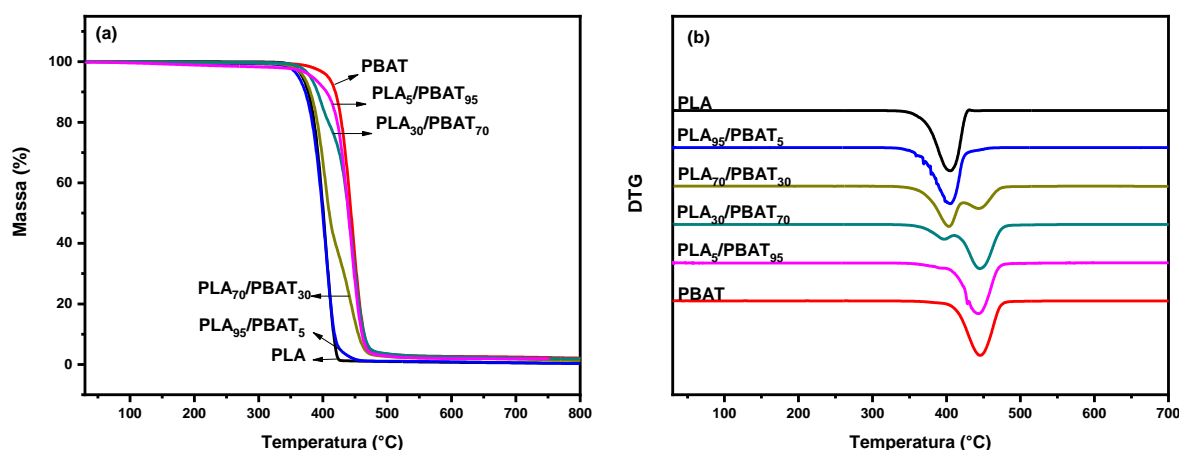
T₉₀- Temperatura na qual há 10% de perda de massa do material; T_{max}-Temperatura máxima de degradação.

Fonte: próprio autor.

O PLA e PBAT apresentaram um único evento de degradação, observados nas curvas de TG e DTG (Figura 8). O mesmo comportamento térmico foi

observado na curva de DTG para as blendas $\text{PLA}_{95}/\text{PBAT}_5$ e $\text{PLA}_5/\text{PBAT}_{95}$, o que pode ser explicado pela pequena quantidade da fase dispersa, considerando que na curva de TG é possível visualizar a decomposição dos dois materiais em temperaturas diferentes. Para as blendas $\text{PLA}_{70}/\text{PBAT}_{30}$ e $\text{PLA}_{30}/\text{PBAT}_{70}$ observou-se, tanto na curva de TGA como na curva de DTG, dois eventos de degradação: o primeiro em aproximadamente $400\text{ }^\circ\text{C}$ corresponde à degradação térmica do PLA e o segundo em torno de $443\text{ }^\circ\text{C}$ refere-se à degradação térmica do PBAT. O fato dos valores de T_{max} não apresentarem deslocamentos expressivos com relação aos valores de T_{max} observados para os polímeros puros sugere a imiscibilidade das blendas com composição 70/30 e 30/70.

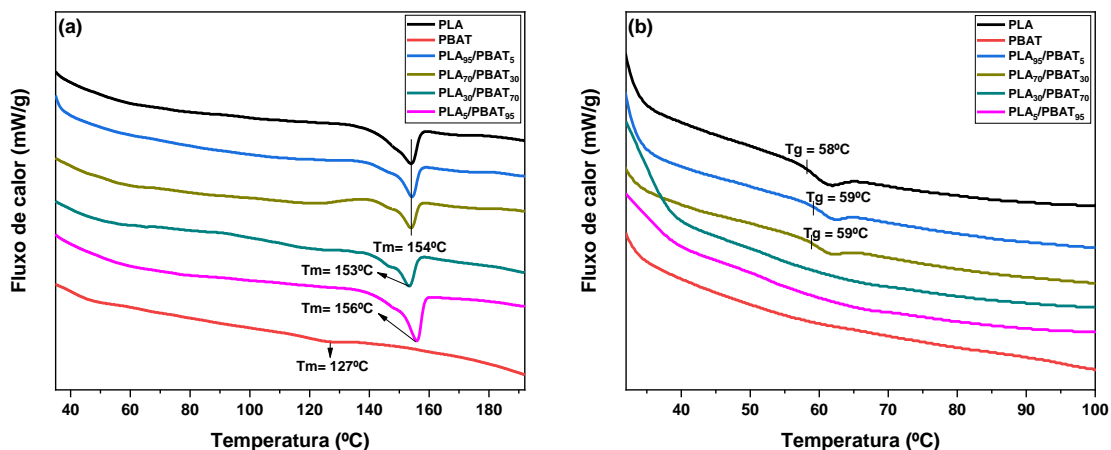
Figura 8- (a) Curvas de perda de massa em função da temperatura das amostras PLA, $\text{PLA}_{95}/\text{PBAT}_5$, $\text{PLA}_{70}/\text{PBAT}_{30}$, $\text{PLA}_{30}/\text{PBAT}_{70}$, $\text{PLA}_5/\text{PBAT}_{95}$ e PBAT, (b) Curvas da primeira derivada da perda de massa (DTG). Taxa de aquecimento de $20\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e vazão de N_2 de $20\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.



Fonte: próprio autor.

O comportamento térmico dos filmes PLA, $\text{PLA}_{95}/\text{PBAT}_5$, $\text{PLA}_{70}/\text{PBAT}_{30}$, $\text{PLA}_{30}/\text{PBAT}_{70}$, $\text{PLA}_5/\text{PBAT}_{95}$ e PBAT também foi investigado pela técnica de DSC. As Figuras 9(a) e 2(b) apresentam as curvas de DSC do primeiro (30-200 °C - taxa de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) e do segundo aquecimento (30-100 °C - taxa de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$), respectivamente.

Figura 9- (a) Curvas de DSC do primeiro aquecimento (30-200 °C - taxa de 10°C. min⁻¹ e vazão de N₂ de 50 mL.min⁻¹) para as amostras de PLA, PLA₉₅/PBAT₅, PLA₇₀/PBAT₃₀, PLA₃₀/PBAT₇₀, PLA₅/PBAT₉₅ e PBAT. (b) Curvas de DSC do segundo aquecimento (30-100 °C - taxa de 10°C.min⁻¹ e vazão de N₂ de 50 mL.min⁻¹) para os filmes de PLA, PLA₉₅/PBAT₅, PLA₇₀/PBAT₃₀, PLA₃₀/PBAT₇₀, PLA₅/PBAT₉₅ e PBAT.



Fonte: próprio autor.

A Figura 9(a) revela que a amostra PLA apresenta um pico endotérmico bem definido em aproximadamente 154 °C correspondente à temperatura de fusão cristalina (T_m) e a amostra PBAT apresenta um pico muito discreto de fusão cristalina em torno de 127 °C. De acordo com a literatura, o PBAT apresenta uma estrutura química aleatória composta por unidades rígidas de butileno tereftalato e unidades flexíveis de butileno adipato, a substituição de unidades aromáticas rígidas por unidades alifáticas flexíveis ocasiona uma perturbação, resultando em uma cristalinidade relativamente baixa (JIAN, XIANGBIN, XIANBO, 2020). A Figura 9(a) também mostra que independente da proporção de PBAT nas blendas poliméricas, todas apresentaram um comportamento térmico semelhante ao PLA. Sendo assim, o pico endotérmico de fusão cristalina das blendas PLA/ PBAT está associado à cristalização de PLA e a adição de PBAT não teve efeito sobre a cristalinidade do PLA.

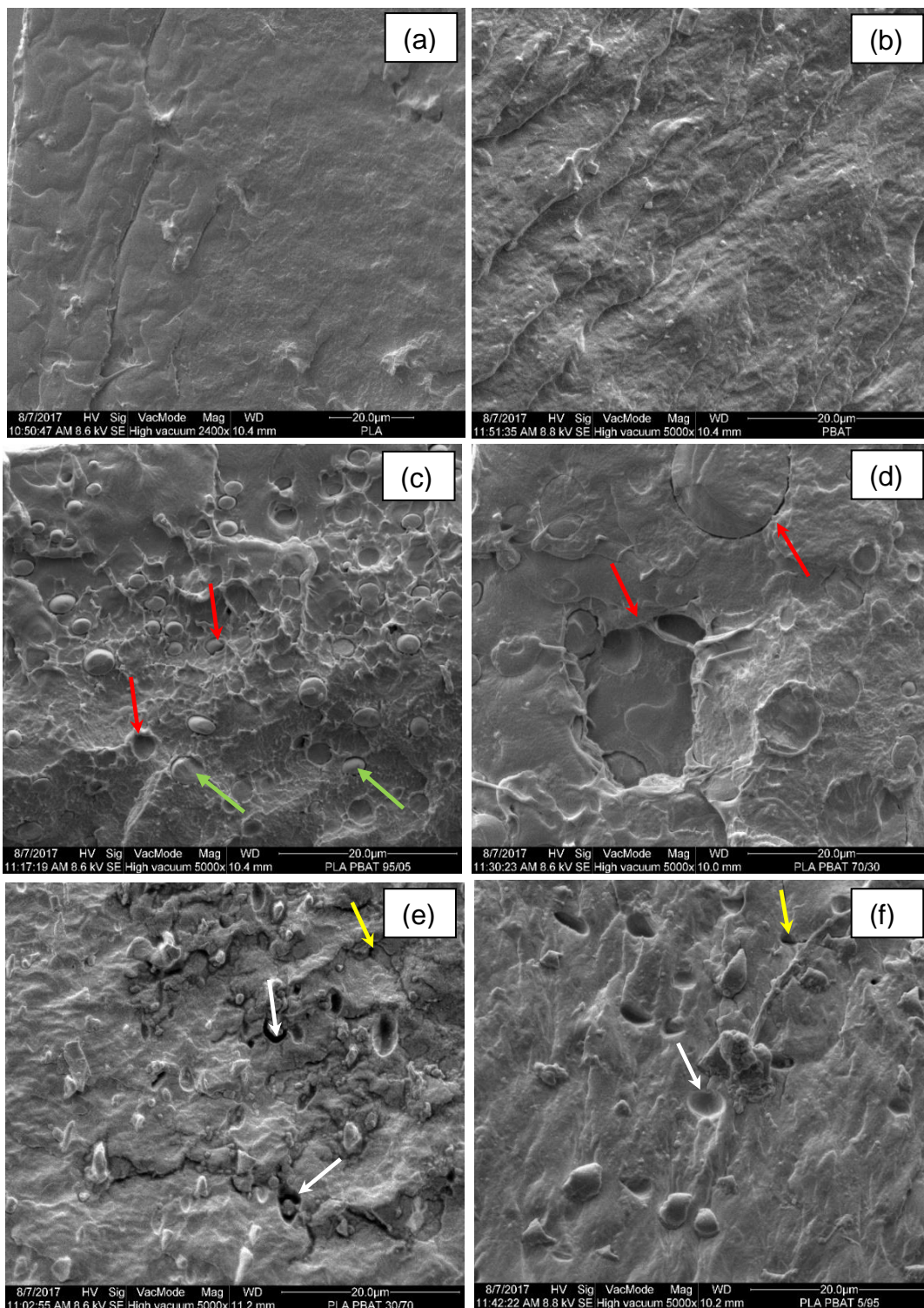
Com o objetivo de remover a história térmica anterior e tornar a temperatura de transição vítrea (T_g) evidente, uma segunda curva de aquecimento de 30 a 100 °C foi realizada para cada amostra. A T_g é um dos parâmetros mais eficientes no estudo da miscibilidade de blendas poliméricas. Pela análise da T_g dos materiais poliméricos, as blendas podem ser classificadas em miscíveis, imiscíveis ou parcialmente miscíveis. Blendas miscíveis apresentam uma única T_g, intermediária

aos valores dos polímeros puros. Em contrapartida, as blendas imiscíveis apresentam dois valores de Tg, nas mesmas temperaturas que os polímeros puros. Por fim, as blendas parcialmente miscíveis apresentam mais de uma transição vítrea, em temperaturas intermediárias às Tgs dos polímeros puros (ZHAO et al., 2020).

A Figura 9(b) apresenta as curvas de DSC para o segundo aquecimento. Nesta análise não foi possível observar a Tg do PBAT, pois a temperatura de aquecimento foi acima da Tg do material que é aproximadamente $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (WANG, RHIM, HONG, 2016). Por outro lado, é possível observar a Tg do PLA em aproximadamente $58\text{ }^{\circ}\text{C}$. Analisando as curvas de aquecimento das blendas PLA/PBAT para as diferentes composições estudadas verifica-se que os valores da Tg das amostras PLA₉₅/PBAT₅ e PLA₇₀/PBAT₃₀ se apresentaram próximos dos valores da Tg do PLA, o que indica que as blendas produzidas são termodinamicamente imiscíveis. Para as blendas PLA₅/PBAT₉₅ e PLA₃₀/PBAT₇₀ não foi possível observar a Tg, comportamento semelhante ao observado na literatura (CHIU et al., 2013; YEH et al., 2010).

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície de fratura em nitrogênio líquido dos filmes PLA, PBAT e das quatro composições de blendas investigadas estão apresentadas na Figura 10.

Figura 10- Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura da superfície da criofratura das amostras dos filmes (a) PLA- aumento de 2400x, (b) PBAT, (c) PLA₉₅/PBAT₅, (d) PLA₇₀/PBAT₃₀, (e) PLA₃₀/PBAT₇₀ e (f) PLA₅/PBAT₉₅- aumento de 5000 x.



Fonte: próprio autor.

As imagens de MEV dos filmes PLA e PBAT podem ser observadas nas Figuras 10 (a) e (b), respectivamente. As imagens da superfície das fraturas das amostras mostram a relação entre a morfologia e o comportamento mecânico dos materiais. Para o PLA observa-se uma superfície de fratura lisa, característica de fratura frágil. Para o PBAT a superfície de fratura se apresenta rugosa e com aspecto mais arredondado, indicando que, apesar da fratura ser frágil (ocorrer abaixo da T_g do material), a elasticidade do material é responsável por maior deformação (CHIU *et al.*, 2013). Estas características se refletem nos maiores valores de Módulo de Young, tensão na força máxima e menor valor de deformação na ruptura do PLA comparados aos valores apresentados pelo PBAT (Tabela 2).

Nas imagens (c), (d), (e) e (f) da Figura 10 pode-se observar que as blendas PLA₉₅/PBAT₅, PLA₇₀/PBAT₃₀, PLA₃₀/PBAT₇₀ e PLA₅/PBAT₉₅ exibem morfologia típica de sistemas imiscíveis, apresentando separações de fases nítidas. Para as blendas PLA₉₅/PBAT₅ e PLA₇₀/PBAT₃₀ observa-se o PBAT disperso na fase de PLA. Na imagem da Figura 10 (c), PLA₉₅/PBAT₅, é possível observar cavidades ovais nas regiões onde o PBAT apresenta descolamento da matriz (pull out) (setas vermelhas), com ausência de adesão interfacial e regiões onde o PBAT permaneceu aderido na matriz de PLA (setas verdes). O tamanho médio das partículas de PBAT disperso no PLA na blenda PLA₉₅/PBAT₅ foi de aproximadamente $2,4 \pm 0,5 \mu\text{m}$. A dispersão e a adesão de parte do PBAT na matriz de PLA contribui para a transferência de tensão entre as fases, resultando em um material que apresentou valores de módulo de Young e de tensão na força máxima superiores aos valores do PLA (Tabela 2). Para blenda PLA₇₀/PBAT₃₀ (Figura 10d) o tamanho médio das partículas de PBAT dispersas na matriz de PLA foi de aproximadamente $5,8 \pm 1,6$ micrometros, indicando que o PBAT se encontra mais aglomerado que na blenda PLA₉₅/PBAT₅. A aglomeração do PBAT contribui para a redução da área interfacial e se reflete na redução do Módulo de Young e da tensão na força máxima (WANG *et al.*, 2020; OGUZ *et al.*, 2019).

As blendas PLA₃₀/PBAT₇₀ e PLA₅/PBAT₉₅ apresentam inversão das fases, sendo que o PLA se encontra disperso na matriz de PBAT (Figuras 10e e 10f). A dispersão do PLA ocorre de maneira não homogênea e nota-se que a adesão interfacial entre os dois polímeros não é boa, observando-se cavidades ovais e vazios nas interfaces devido ao descolamento do PLA da matriz de PBAT (setas brancas). Também é possível observar que as superfícies da fratura destas amostras se

apresentam mais irregulares e com trincas (setas amarelas). Não se observam regiões de interação entre as fases, diferente do verificado para amostras onde o PBAT é a fase dispersa (Figuras 10c e 10d). A falta de adesão entre as fases nestas amostras é responsável pela maior redução do Módulo de Young e da tensão na força máxima com o aumento da fração de PBAT.

Tabela 2- Propriedades mecânicas obtidas no ensaio mecânico de tração para os filmes de PLA, PBAT e suas blendas.

Composição	Módulo Elástico	Tensão Força Máxima	Deformação na Ruptura
PLA	771,73 ^a ± 69,26	29,98 ^a ± 3,72	5,61 ^b ± 1,78
95/5	606,79 ^b ± 86,68	25,08 ^a ± 7,52	4,97 ^b ± 2,57
70/30	459,85 ^c ± 68,96	16,77 ^b ± 2,87	3,28 ^b ± 0,46
30/70	331,82 ^d ± 33,41	7,35 ^c ± 0,93	6,97 ^b ± 1,56
5/95	132,58 ^e ± 13,58	6,82 ^c ± 1,14	79,54 ^a ± 51,91
PBAT	121,30 ^e ± 10,42	6,52 ^c ± 1,14	58,54 ^a ± 29,47

As médias ± desvios-padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: próprio autor.

O PLA é um material frágil a temperatura ambiente, com baixa alongação na ruptura e alto módulo elástico. O filme de PLA puro apresentou tensão máxima de 29,98 ($\pm 6,53$) Mpa, deformação na ruptura de 5,61 $\pm 1,78$ % e módulo elástico de 657,04 $\pm 65,12$ MPa. Ao adicionar o PBAT ao PLA observa-se uma tendência de redução da tensão na força máxima e no módulo elástico e um aumento da % de deformação na ruptura, indicando que o material se tornou menos frágil e mais flexível (AL-ITRY, LAMNAWAR, MAAZOUZ, 2014). O aumento na alongação com o aumento da fração de PBAT é reflexo do aumento de ductilidade das blendas devido as propriedades elásticas do PBAT (OGUZ *et al.*, 2019; GIGANTEA *et al.*, 2019).

A miscibilidade das blendas PLA₉₅/PBAT₅, PLA₇₀/PBAT₃₀, PLA₃₀/PBAT₇₀ e PLA₅/PBAT₉₅ foi avaliada por viscosimetria de soluções diluídas. Os valores de $[\eta]$ e de b (b_{11} , b_{22} e b_{12}) que correspondem a valores de interações encontram-se registrados na Tabela 3. Pelas equações 3 e 6 determinou-se o parâmetro ΔB e μ , respectivamente, para os sistemas compostos pela mistura de PLA/PBAT nas proporções 95/5, 70/30, 30/70 e 5/95.

Tabela 3- Valores de viscosidade intrínseca $[\eta]$, coeficientes de interação b_{11} , b_{12} , b_{22} , ΔB e μ .

Composição do filme	$[\eta]$ L/g	b_{11}	b_{12}	b_{22}	ΔB	μ
PLA	0,72454	0,43656	-	-	-	-
PLA ₉₅ /PBAT ₅	0,66372	-	0,42068	-	0,1394	1,4450
PLA ₇₀ /PBAT ₃₀	0,54704	-	0,31861	-	- 0,1365	-0,6367
PLA ₃₀ /PBAT ₇₀	0,43745	-	0,13365	-	- 0,0620	-0,2893
PLA ₅ /PBAT ₉₅	0,35087	-	0,10985	-	-0,1715	-0,8002
PBAT	0,26160	-	-	0,12596	-	-

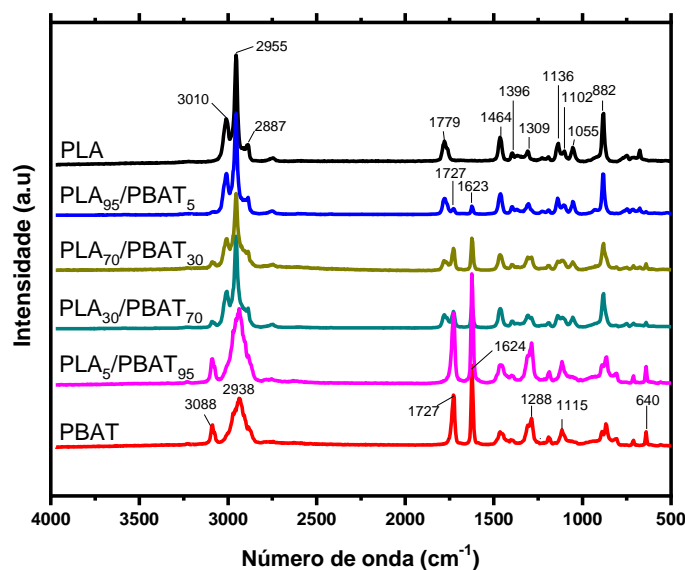
Fonte: próprio autor.

Como observado na Tabela 3 as blendas PLA₇₀/PBAT₃₀, PLA₃₀/PBAT₇₀ e PLA₅/PBAT₉₅ apresentaram valores de $\mu < 0$, indicando a imiscibilidade das blendas para estas três composições. No entanto, a blenda PLA₉₅/PBAT₅ apresentou $\mu > 0$, sugerindo interação entre os componentes da mistura.

A diferença de viscosidade dos dois polímeros pode contribuir para a ausência de interação entre as fases, como visto nas imagens de MEV. Entretanto, a blenda PLA₉₅/PBAT₅ apresentou os coeficientes ΔB e μ positivos, indicando que nesta composição podem estar ocorrendo interações entre os grupos carbonilas do PLA e do PBAT, favorecendo a miscibilidade parcial dos polímeros quando o PBAT se encontra em pequenas quantidades (PIVSA-ART *et al.*, 2011). Esta observação é um indício de que a técnica de viscosidade pode ser útil quando outras técnicas não são adequadas para avaliar a miscibilidade de sistemas poliméricos.

A espectroscopia Raman foi utilizada para verificar as características químicas dos materiais e as possíveis interações entre o PLA e o PBAT nas blendas poliméricas. Os espectros Raman dos filmes PLA, PLA₉₅/PBAT₅, PLA₇₀/PBAT₃₀, PLA₃₀/PBAT₇₀, PLA₅/PBAT₉₅ e PBAT estão representados na Figura 11.

Figura 11- Espectros Raman para as amostras dos filmes PLA, PLA₉₅/PBAT₅, PLA₇₀/PBAT₃₀, PLA₃₀/PBAT₇₀, PLA₅/PBAT₉₅ e PBAT.



Fonte: próprio autor.

Analisando o espectro Raman do filme PLA foi possível observar as principais bandas características do poli (ácido láctico). As bandas associadas ao estiramento das ligações C-H dos grupos CH₃ apareceram entre 3100 e 2800 cm⁻¹, em 1779 cm⁻¹ observa-se a banda correspondente ao estiramento da carbonila (C=O) (VANO-HERRERA, MISIUNB, VOGTA, 2015). As deformações C-H assimétricas e simétricas de grupos CH₃ apareceram em 1464 e 1396 cm⁻¹, respectivamente. Em 1309 cm⁻¹ tem-se a deformação da ligação C-H, em 1136 cm⁻¹ a deformação angular assimétrica no plano de grupos CH₃, 1102 cm⁻¹ o estiramento da ligação C-O-C, 1055 cm⁻¹ o estiramento da ligação C-C, por fim a intensa banda em 882 cm⁻¹ corresponde ao estiramento C-COO (JARMELO *et al.*, 2012).

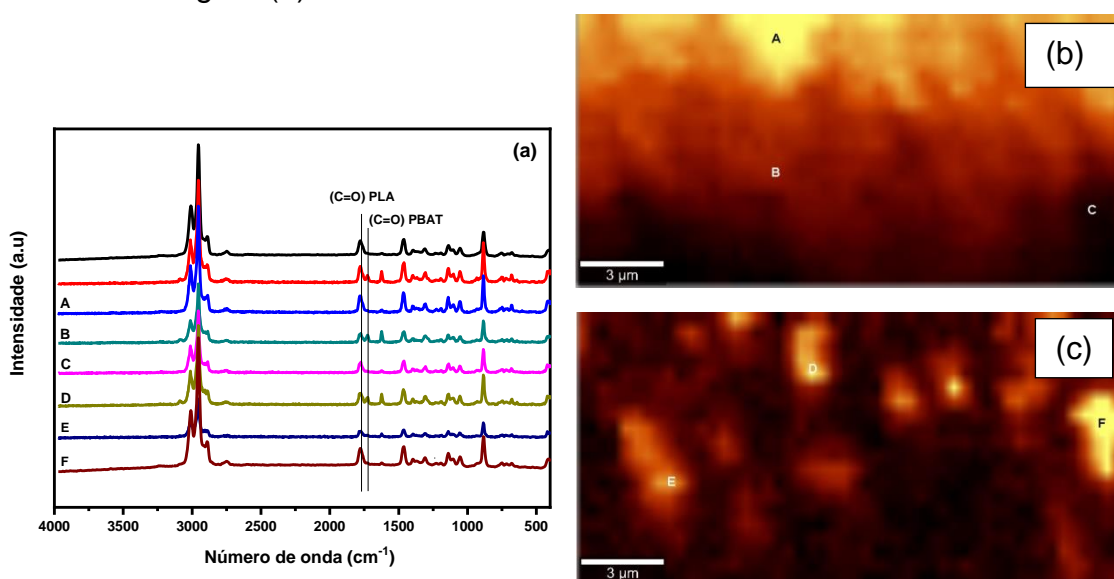
Para o filme PBAT as principais bandas do espectro Raman podem ser observadas em: 3088 cm⁻¹ correspondente ao estiramento da ligação C-H de anéis aromáticos, 2938 cm⁻¹ estiramento da ligação C-H de grupos CH₂, 1727 cm⁻¹ estiramento da carbonila (C=O), uma intensa banda em 1624 cm⁻¹ atribuída a ligação C=C de anéis aromáticos, 1288 cm⁻¹ estiramento C-C, 1115 cm⁻¹ estiramento C-O e 640 cm⁻¹ vibração do anel aromático (CAI, LV, FENG, 2013; CAI *et al.*, 2012).

Na Figura 11 observa-se que as blends PLA/PBAT apresentaram a banda de vibração da carbonila de ambos os polímeros, sendo que, a intensidade

dessas bandas variou de acordo com a proporção de cada polímero na blenda polimérica. Esse mesmo comportamento foi observado para as outras bandas de vibração que aparecem nos espectros Raman das blendas PLA/PBAT, tais como, a banda em 1624 e 640 cm^{-1} , ambas características do PBAT.

Uma análise mais detalhada das interações entre os componentes da mistura foi realizada utilizando a obtenção de espectros em diferentes pontos e profundidades da amostra. A Figura 12 (a) apresenta os espectros Raman obtidos para a blenda PLA₉₅/PBAT₅. Cada espectro corresponde a uma região indicada pelas letras A-E nas imagens apresentadas na Figura 12 (b) e (c), obtidas simultaneamente com os espectros Raman. Para as outras blendas os espectros e as imagens obtidas são semelhantes.

Figura 12- (a) Espectro Raman da blenda PLA₉₅/PBAT₅ em diferentes profundidades da amostra, (b) Imagem da região favorável ao PLA obtida por microscopia confocal e (c) Imagem da região favorável ao PBAT obtida por microscopia confocal. As letras indicadas nas imagens de microscopia confocal correspondem aos espectros de mesma letra na figura (a).



Fonte: próprio autor.

Os pontos A, B e C observados na Figura 12 (b) correspondem a regiões em que o PLA existe predominantemente (região favorável ao PLA). Para estas regiões observa-se no espectro Raman a presença da banda característica da carbonila do PLA (1778 cm^{-1}) e a banda da carbonila do PBAT não é observada. Entretanto é possível observar a presença discreta da banda em 1622 cm^{-1} atribuída à ligação C=C de anéis aromáticos presente no PBAT. Nos espectros referentes as

regiões assinaladas como D, E e F, Figura 12 (c), é possível visualizar a banda C=O do PLA e do PBAT, localizadas em 1779 cm^{-1} e 1727 cm^{-1} , respectivamente. A razão da intensidade das bandas em 1779 e 1727 cm^{-1} é função da composição das blendas. Não foram detectadas alterações nas posições das bandas da carbonila para as misturas. Não é surpresa, uma vez que os valores do parâmetro de interação μ (Tabela 3), assim como os resultados de DSC, MEV e TGA encontrados para essas misturas indicaram imiscibilidade e/ou interações fracas entre o PLA e o PBAT (WARD, MI, 1999; REISE *et al.*, 2018; DONG, OZAKI, 1997).

4.4 CONCLUSÃO

Misturas de PLA e PBAT em diferentes composições foram analisadas com relação a miscibilidade utilizando as técnicas de DSC, TGA, viscosidade de soluções diluídas, MEV e espectroscopia Raman. As análises de TGA/DTG revelaram que as blendas possuem estabilidade térmica intermediárias aos valores observados para os polímeros puros. Entre as técnicas utilizadas apenas a viscosimetria de soluções diluídas foi capaz de detectar as interações na blenda PLA₉₅/PBAT₅ que exibiram valores dos coeficientes de interação ΔB e μ positivos. Estas interações foram confirmadas pelo elevado valor de Módulo de Young e de tensão na força máxima e pela melhor dispersão da fase PBAT na fase PLA observadas nas imagens de MEV, indicando miscibilidade parcial nesta composição. Estas observações demonstram a utilidade da viscosimetria de soluções diluídas para avaliar a miscibilidade de polímeros e auxiliar na investigação de misturas poliméricas obtidas a partir de soluções. Para as demais blendas PLA/PBAT analisadas (PLA₇₀/PBAT₃₀, PLA₃₀/PBAT₇₀, PLA₅/PBAT₉₅) não foram detectadas interações moleculares que contribuíssem para a miscibilidade por nenhuma das técnicas utilizadas. Pela análise de DSC observou-se que não houve deslocamento da Tg do PLA nas blendas poliméricas PLA/PBAT. As curvas de TGA/DTG revelaram que as blendas possuem estabilidade térmica intermediárias aos valores observados para os polímeros puros. As imagens de MEV apresentaram morfologia típica de sistemas imiscíveis, com separações de fases entre a matriz e a fase dispersa. Os valores negativos de ΔB e de μ obtidos pela análise de viscosimetria de soluções diluídas, os espectros Raman e as imagens de microscopia confocal confirmaram ausência de interações entre os polímeros. Consequentemente esta ausência de interação se

reflete no comportamento mecânico destas blendas, que exibem menores valores de Módulo de Young e de tensão na força máxima.

REFERÊNCIAS

AL-ITRY, R., LAMNAWAR, K., MAAZOUZ, A. Rheological, morphological, and interfacial properties of compatibilized PLA/PBAT blends. **Rheologica Acta** v. 53, p. 501-507, 2014.

BASF, Product Information: Ecoflex® F-Blend C1200. Biodegradable polyester for compostable film, 2013.

CAI, Y.; LV, J.; FENG, J. Spectral Characterization of Four Kinds of Biodegradable Plastics: Poly (Lactic Acid), Poly (Butylenes Adipate-Co-Terephthalate), Poly (Hydroxybutyrate-Co-Hydroxyvalerate) and Poly (Butylenes Succinate) with FTIR and Raman Spectroscopy, **J. Polym. Environ.** v. 21, p. 108–114, 2013.

CAI, Y.; LV, J.; FENG, J. LIU, Y.; WANG, Z.; ZHAO, M.; SHIL, R. Discrimination of Poly(butylenes adipate-co-terephthalate) and Poly(ethylene terephthalate) with Fourier Transform Infrared Microscope and Raman Spectroscopy”, **Spectroscopy Letters: An International Journal for Rapid Communication**, v. 45, p. 280-284, 2012.

CASTRO-AGUIRRE, E.; IÑIGUEZ-FRANCO, F.; SAMSUDIN, H.; FANG, X.; AURAS, R. Poly (lactic acid)- Mass production, processing, industrial applications, and end of life. **Advanced Drug Delivery Reviews** v. 107, p. 333–366, 2016.

CHEE, K. K. Determination of polymer–polymer miscibility by viscometry. **European Polymer Journal** v. 26, p. 423-426, 1990.

CHIU, H.T.; HUANG, S. Y.; CHEN, Y. F.; KUO, M. T.; CHIANG, T. Y.; CHANG, C. Y.; WANG, Y. H. Heat Treatment Effects on the Mechanical Properties and Morphologies of Poly (Lactic Acid)/Poly (Butylene Adipate-co-terephthalate) Blends. **International Journal of Polymer Science** v. 2013, p. 1-11, 2013.

DONG, J., OZAKI, Y. FTIR and FT-Raman Studies of Partially Miscible Poly (methyl methacrylate)/Poly(4-vinylphenol) Blends in Solid States, **Macromolecules** v. 30, p. 286-292, 1997.

FARAH, S.; ANDERSON, D. G.; LANGER, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. **Advanced Drug Delivery Reviews** v.107, p. 367–392, 2016.

GIGANTEA, V.; CANESIB, I.; CINELLIA, P.; CORTELLI, M. P.; LAZZERI, A Rubber Toughening of Polylactic Acid (PLA) with Poly(butylene adipate-coterephthalate) (PBAT): Mechanical Properties, Fracture Mechanics and Analysis of Ductile-to-Brittle Behavior while Varying Temperature and Test Speed. **European Polymer Journal** v. 115, p. 125-137, 2019.

HAIDER, T. P.; VÖLKER, C.; KRAMM, J.; LANDFESTER, K.; WURM, F. R. Plastics of the Future? The Impact of Biodegradable Polymers on the Environment and on Society. **Angewandte Chemie** v. 58, p. 50-62, 2019.

JARMELO, S.; MARQUES, D. A. S.; SIMÕES, P. N.; CARVALHO, R. A.; BATISTA, C. M. S. G.; ARAUJO-ANDRADE, C.; GIL, M. H.; FAUSTO, R. Experimental (IR/Raman and ¹H/¹³C NMR) and theoretical (DFT) studies of the preferential conformations adopted by l lactic acid oligomers and poly(L-lactic acid) homopolymer. **J. Phys. Chem. B.** v. 116, p. 9–21, 2012.

JIAN, J.; XIANGBIN, Z.; XIANBO, H. An overview on synthesis, properties and applications of poly(butylene-adipate-co-terephthalate)-PBAT. **Advanced Industrial and Engineering Polymer** v. 3, 19-26, 2020.

KANG, Y.; CHEN, P.; SHI, X.; ZHANG, G.; WANG, C. Preparation of open-porous stereocomplex PLA/ PBAT scaffolds and correlation between their morphology, mechanical behavior, and cell compatibility. **RSC Adv.**, v. 8, p. 12933, 2018.

KUCIEL, S.; MAZUR, K.; HEBDA, M. The Influence of Wood and Basalt Fibres on Mechanical, Thermal and Hydrothermal Properties of PLA Composites. **Journal of Polymers and the Environment** v. 28, p. 1204–1215, 2020.

LI, X.; AI, X.; PAN, H.; YANG, J.; GAO, G.; ZHANG, H.; YANG, H.; DONG, L. The morphological, mechanical, rheological, and thermal properties of PLA/PBAT blown films with chain extender. **Polym Adv Technol.**, v. 29, p.1706–1717, 2018.

NOFAR, M.; SACLIGIL, D.; CARREAU, P. J.; KAMAL, M. R.; HEUZEY, M. C. Poly (lactic acid) blends: Processing, properties and applications. **International journal of biological macromolecules** v. 125, p. 307-360, 2019.

OGUZ, H.; DOGAN, C.; KARA, D.; OZEN, Z. T.; OVALI, D.; NOFAR, M. Development of PLA-PBAT and PLA-PBSA bio-blends: Effects of processing type and PLA crystallinity on morphology and mechanical properties. **AIP Conference Proceedings** v. 2055, p. 030003 1-5, 2019.

PARASHAR, P., RAMAKRISHNA, K., RAMAPRASAD, A.T. A Study on Compatibility of Polymer Blends of Polystyrene/Poly(4-vinylpyridine). **Journal of Applied Polymer Science** v. 120, p. 1729–1735, 2011.

PIVSA-ART, W.; PAVASUPREE, S.; CHAROEN, N. O.; INSUAN, U.; JAILAK, P.; PIVSA-ART, S. Preparation of Polymer Blends between Poly (L-lactic acid), Poly (butylene succinate-co-adipate) and Poly (butylene adipate-co-terephthalate) for Blow Film Industrial Application. **Energy Procedia** v.9, p. 581-588, 2011.

PLASTIC SEUROPE, 2019. Plastics - the Facts 2019: An Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data. 2019 (Retrieved from), https://www.plasticseurope.org/application/files/9715/7129/9584/FINAL_web_version_Plastics_the_facts2019_14102019.

QUENTAL, A. C.; CARVALHO, F. P.; TADA, E. S.; FELISBERTI, M. A. Blendas de PHB e seus copolímeros: miscibilidade e compatibilidade. **Química Nova** v. 33, p. 438-446, 2010.

REISE, M. O.; SANTANA, H.; BILCK, A. P.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA. Characterization of coated biodegradable trays by spectroscopic techniques, **Industrial Crops & Products** v. 112, p. 511–514, 2018.

ROSENBERGER, A. G.; DRAGUNSKI, D. C.; MUNIZ, E. C.; MÓDENES A. N.; ALVES, H. J.; TARLEY, C. R. T.; MACHADO, S. A. S.; CAETANO, J. Electrospinning in the preparation of an electrochemical sensor based on carbon nanotubes. **Journal of Molecular Liquids** v. 298, p. 112068, 2020.

Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics. ASTM International. D638.

TIPDUANGTA, P.; BELTON, P.; FÁBIÁN, L.; WANG, L. Y.; TANG, H.; EDDLESTON, M.; QI, S. Electrospun Polymer Blend Nanofibers for Tunable Drug Delivery: The Role of Transformative Phase Separation on Controlling the Release Rate. **Mol. Pharmaceutics** v.13, p. 25–39, 2016.

VANO-HERRERA, K.; MISIUNB, A.; VOGTA, C. Preparation and characterization of poly (lacticacid)/poly(methyl methacrylate) blend tablets for application in quantitative analysis by micro Raman spectroscopy. **J. Raman Spectrosc.** v. 46, p. 273–279, 2015.

WANG, B.; JIN, Y.; KANG, K.; YANG, N.; WENG, Y.; HUANG, Z.; MEN, S. Investigation on compatibility of PLA/PBAT blends modified by epoxy-terminated branched polymers through chemical micro-crosslinking. **e-Polymers** v. 20, p. 20-39, 2020.

WANG, H.; WEI, D.; ZHENG, A. XIAN, H. Soil burial biodegradation of antimicrobial biodegradable PBAT films. **Polymer Degradation and Stability**, v. 116, p.14-22, 2015.

WANG, L. F.; RHIM, J. W.; HONG, S. Preparation of poly(lactide)/poly(butylene adipate-co-terephthalate) blend films using a solvent casting method and their food packaging application. **Food Science and Technology** v. 68, p. 454-461, 2016.

WANG, X.; PENG, S.; CHEN, H.; YU, X.; ZHAO, X. Mechanical properties, rheological behaviors, and phase morphologies of high-toughness PLA/PBAT blends by in-situ reactive compatibilization. **Composites Part B: Engineering** v.173, p. 107028, 2019.

WARD, Y.; MI, Y. The study of miscibility and phase behavior of phenoxy blends using Raman spectroscopy, **Polymer** v. 40, p. 2465- 2468, 1999.

WOLF, B. A. Intrinsic Viscosities of polymer blends and polymer compatibility: self-organization and Flory-Huggins interaction parameters. *Macromol. Chem. Phys.* V. 219, 1800249, 2018.

YEH, J.T.; TSOU, C.H.; HUANG, C.Y.; CHEN, K-N.; WU, C-S.; CHAI, W-L. Compatible

and Crystallization Properties of Poly (lactic acid)/Poly(butylene adipate-co-terephthalate) Blends. **Journal of Applied Polymer Science** v. 116, p. 680–687, 2010.

ZHAO, X.; HU, H.; WANG, X.; YU, X.; ZHOU, W.; PENG, S. Super tough poly(lactic acid) blends: a comprehensive review. *RSC Adv.*, v. 10, 13316, 2020.

5 ESTUDO SOBRE A FORMAÇÃO DE MICROPOROS EM FILMES DE PLA E EM BLENDA PLA/PBAT PELA TÉCNICA *BREATH FIGURE*

Resumo

Filmes microporosos de PLA puro e de blendas PLA/PBAT com composição 95/5 e 70/30 foram preparados pela técnica de automontagem denominada *breath figure*. Nesta técnica, a solução polimérica é preparada em um solvente altamente volátil. A rápida evaporação do solvente, em ambiente úmido (> 50% UR), ocasiona o resfriamento da superfície da solução polimérica e a condensação do vapor de água, formando pequenas gotículas de água que agem como *template* para a formação dos poros. Diferentes fatores influenciam a formação dos poros na técnica *breath figure*, entre eles foram investigados o efeito do solvente (CH_2Cl_2 e CHCl_3), da concentração (1, 2, 4 e 5% m/v) e da proporção de PBAT (5 e 30%) nas blendas PLA/PBAT. Os filmes microporosos produzidos foram caracterizados pela técnica de microscopia óptica (MO). As imagens de MO mostraram que o diclorometano é o melhor solvente para obter poros com tamanhos mais regulares nos filmes de PLA puro e nas blendas com composição 95/5. O aumento da concentração da solução resultou na diminuição do diâmetro médio dos poros para os filmes de PLA pura. Blendas contendo 5 e 30% de PBAT apresentaram poros com tamanhos mais regulares para as soluções poliméricas preparadas com concentrações de 1 e 2% (m/v). Para todas as composições estudadas, constatou-se que a estrutura química linear dos polímeros PLA e PBAT não contribuiu para a estabilizar as gotículas de água e evitar a coalescência entre elas, o que resulta em poros com tamanhos e distribuição aleatórios.

Palavras-chave: Superfícies porosas, *breath figures*, blendas.

Abstract

Microporous films of PLA and PLA/PBAT blends with composition 95/5 and 70/30 were prepared by the self-assembly technique called *breath figure*. In this technique, the polymer solution is prepared in a highly volatile solvent. The rapid evaporation of the solvent, in a humid environment (> 50% RH), causes the cooling of the polymer solution surface and the condensation of water vapor, forming small water droplets that act as a template for the formation of pores. Different influence the formation of pores in the *breath figure* technique, among them the effect of the solvent (CH_2Cl_2 and CHCl_3), the concentration (1, 2, 4 and 5% m/v) and the proportion of PBAT (5 and 30%) were investigated in PLA/PBAT blends. The microporous films obtained were characterized by optical microscopy technique (OM). The OM images induced that dichloromethane is the best solvent to obtain pores with more regular sizes in pure PLA films and in blends with composition 95/5. Increasing the concentration of the solution resulted in a decrease in the mean pore diameter for PLA films. Blends containing 5 and 30% PBAT showed pores more regular for polymeric solutions prepared with concentration of 1 and 2% (m/v). For all studied compositions, it was found that the linear chemical structure of PLA and PBAT polymers did not contribute to stabilize the water droplets and prevent them from coalescing, resulting in pores with random sizes and distribution.

Keywords: Porous surfaces, *breath figures*, blends.

5.1 INTRODUÇÃO

Filmes poliméricos com estruturas microporosas têm atraído considerável atenção em diversas áreas devido as suas promissoras aplicações, como na produção de superfícies super hidrofóbicas, substratos para cultura celular, membranas de separação, sensores e *templates* (LIU *et al.*, 2019; HUANG *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2014; YABU, 2018; COLOMBO *et al.*, 2015).

A técnica de automontagem denominada *Breath Figure* (BF) permite a produção de centenas de poros com tamanhos controlados em poucos minutos. No BF, uma pequena quantidade da solução polimérica (preparada em solvente altamente volátil, como CHCl_3 , CH_2Cl_2 e CS_2) é depositada sobre um substrato, sob condições úmidas. A rápida evaporação do solvente volátil ocasiona o resfriamento da superfície da solução e a condensação de gotículas de água na interface vapor/solução. As gotículas de água condensadas crescem e se auto organizam em uma matriz ordenada. Após a evaporação completa do solvente e das gotículas de água, um filme poroso é obtido (WU *et al.*, 2017).

O PLA é um polímero biodegradável de grande relevância para a área de biomateriais, especialmente por sua biodegradabilidade, biocompatibilidade e bioabsorvidade no organismo humano. Uma de suas aplicações em potencial consiste na produção de *scaffolds* porosos empregados na medicina regenerativa, visando a restauração de tecidos danificados, sendo assim, a produção de estruturas porosas de PLA tem atraído interesse na comunidade científica (Sanz-Horta *et al.*, 2020; TYLER *et al.*, 2016).

Pela técnica *breath figure*, Abe, Hirai e Yabu (2016) produziram filmes porosos de PLLA, PDLA e da blenda PLLA/PDLA (1:1). De acordo com os autores, os filmes de PDLA apresentaram poros mais uniformes e arranjo hexagonal de poros ordenados. Preuksarattanawut e colaboradores (2019) estudaram o efeito da concentração, da umidade relativa e do solvente na produção de filmes porosos de PLA por BF. Embora os filmes de PLA obtidos não tenham apresentados poros altamente organizados, em nenhuma das condições experimentais testadas, uma grande quantidade de poros foi produzida na superfície.

Mais recentemente, Akoumeh e colaboradores (2020) produziram blendas porosas de PLA/PCL pela técnica BF. De acordo com os autores, os filmes produzidos apresentaram bom desempenho na adesão e proliferação de células.

No presente estudo foram produzidas blendas porosas de PLA/PBAT pela técnica BF, com o objetivo de investigar o efeito do solvente, da concentração das soluções poliméricas e da natureza dos polímeros PLA e PBAT na formação de poros em blendas PLA/PBAT, para uma futura aplicação desses materiais na cultura de células.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Materiais

Poli (ácido láctico), PLA Ingeo™ 4043D, com massa molecular média de 200 KDa adquirido da NatureWorks LLC (Blair, Nebraska, USA). Poli (butileno adipato-co-tereftalo), PBAT, sob o nome comercial de Ecoflex® fornecido pela empresa BASF (Germany). Os solventes, clorofórmio (CHCl_3) e diclorometano (CH_2Cl_2) foram adquiridos da empresa Biotec- Brasil.

5.2.2 Preparo dos Filmes Microporosos

Para a produção dos filmes porosos preparou-se soluções poliméricas com concentrações de 1, 2, 4 e 6% (m/v), dissolvendo-se PLA puro e a mistura dos polímeros PLA/PBAT nas proporções 95/5 e 70/30 respectivamente, em CHCl_3 ou CH_2Cl_2 , sob agitação magnética por 6 horas. Posteriormente, depositou-se 100 μL de cada solução polimérica, individualmente, sobre lamínulas de vidro (20 x 20 mm) acondicionadas em um sistema fechado, à temperatura ambiente e com umidade relativa de 80%, até a secagem completa dos filmes. A umidade do sistema foi obtida previamente através do borbulhamento de ar em um tubo com água destilada, originando desta maneira o ar úmido no interior do sistema.

5.2.3 Preparo dos Filmes Compactos

Pelo método de evaporação de solvente foram preparados filmes compactos dos polímeros puros PLA e PBAT, e de blendas PLA/PBAT com proporções 95/5 e 70/30, respectivamente. As soluções foram preparadas com concentração de 4% (m/v) através da dissolução dos polímeros em CHCl_3 , em agitação magnética por 6 horas. Posteriormente, as soluções foram vertidas em placas de vidro e secas a temperatura ambiente por 24 horas.

5.2.4 Caracterização dos Filmes Microporosos e Compactos

A análise morfológica dos filmes porosos de PLA e das blendas PLA/PBAT foi realizada por Microscopia Óptica (MO), utilizando o Microscópio Fotônico Axio Zeiss.

Os filmes compactos foram caracterizados por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) utilizando um equipamento da marca Philips, modelo FEI Quanta 200 com voltagem de aceleração de 8.6 kV. As amostras foram fraturadas em nitrogênio líquido para a observação da superfície de fratura. As superfícies de fratura foram previamente cobertas com uma fina camada de ouro e a magnitude de observação foi de 2400 vezes.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No *breath figure*, a morfologia, a dimensão, a quantidade e a regularidade dos poros são afetadas por alguns fatores experimentais. Neste estudo foram investigados o efeito do solvente, da concentração das soluções poliméricas e da natureza dos polímeros PLA e PBAT na obtenção dos poros.

5.3.1 Efeito do Solvente

Algumas propriedades do solvente são pré-requisitos para a formação das estruturas porosas pelo método BF. De acordo com a literatura, a escolha do solvente deve ser conduzida pela combinação das seguintes características: alta pressão de vapor, baixa temperatura de ebulição e pouca solubilidade em água (ESCALÉ *et al.*, 2012). Além disso, a alta afinidade termodinâmica entre o polímero e o solvente tem sido recomendada (FERRARI, FABBRI, PILATI, 2011). Com base nessas características, o clorofórmio e o diclorometano foram selecionados para investigar o efeito do solvente na formação das estruturas microporosas. A Tabela 4 apresenta as propriedades físicas do CHCl_3 e CH_2Cl_2 .

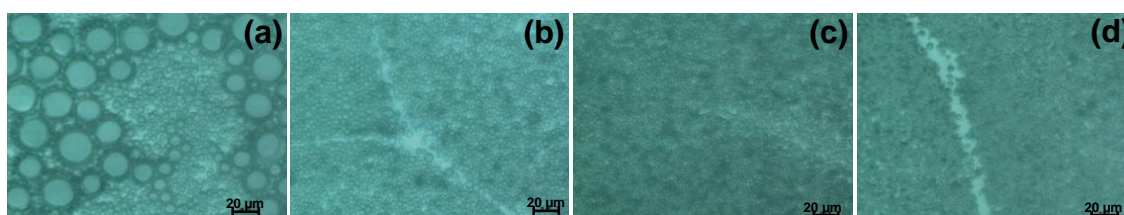
Tabela 4- Propriedades físicas dos solventes CHCl_3 e CH_2Cl_2 .

Propriedades	CHCl_3	CH_2Cl_2
Pressão de Vapor (KPa)	21,3	46,5
Solubilidade em água (g/L)	8,2	20
Temperatura de ebulição ($^{\circ}\text{C}$)	61	39
Densidade- 20°C (g/cm^3)	1,48	1,32

Fonte: LIDE, 1999.

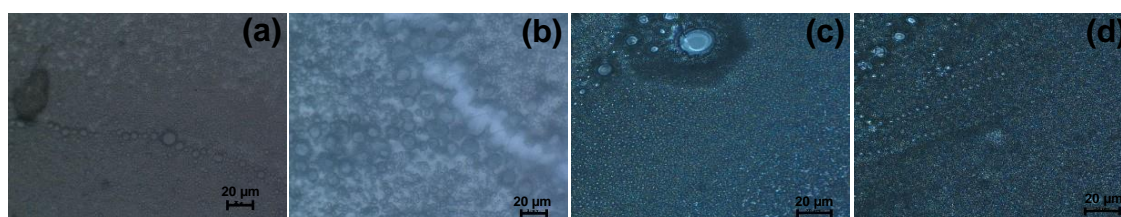
As Figuras 13, 14 e 15 apresentam as imagens de microscopia óptica (MO) da superfície dos filmes porosos de PLA puro e das blendas porosas PLA/PBAT com composição 95/5 e 70/30, preparadas com concentrações de 4 e 6% (m/v) em CHCl_3 ou CH_2Cl_2 .

Figura 13: Imagens de microscopia óptica dos filmes de PLA preparados com concentrações de: (a) 4% em CHCl_3 (b) 6% em CHCl_3 , (c) 4% em CH_2Cl_2 e (d) 6% em CH_2Cl_2 .



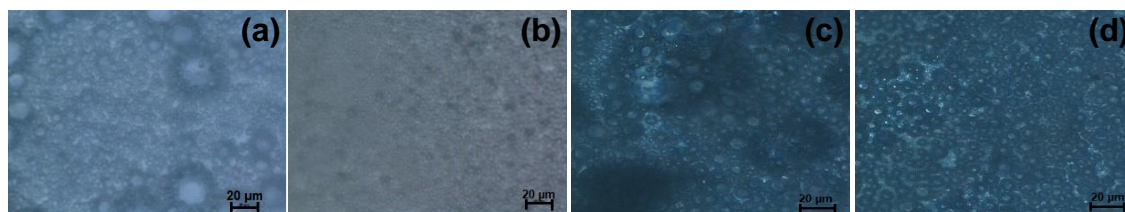
Fonte: próprio autor.

Figura 14: Imagens de microscopia óptica das blendas porosas 95/5 (PLA/PBAT) preparadas com concentrações de: (a) 4% em CHCl_3 (b) 6% em CHCl_3 , (c) 4% em CH_2Cl_2 e (d) 6% em CH_2Cl_2 .



Fonte: próprio autor.

Figura 15: Imagens de microscopia óptica das blendas porosas 70/30 (PLA/PBAT) preparadas com concentrações de: (a) 4% em CHCl_3 (b) 6% em CHCl_3 , (c) 4% em CH_2Cl_2 e (d) 6% em CH_2Cl_2 .

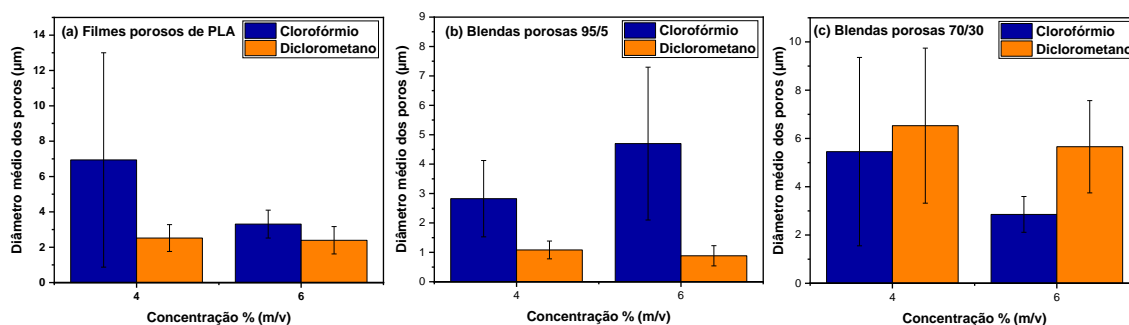


Fonte: próprio autor.

As imagens de MO mostram uma grande quantidade de poros nos filmes de PLA puro e nas blendas PLA/PBAT (95/5 e 70/30) preparadas com concentrações de 4 e 6% (m/v) em clorofórmio ou diclorometano. Desse modo, pode-se afirmar que ambos solventes empregados contribuíram para a produção de superfícies porosas.

Os filmes de PLA puro e das blendas PLA/PBAT com composição 95/5 preparadas em CH_2Cl_2 , apresentaram poros com tamanhos mais regulares e ligeiramente inferiores aos respectivos filmes preparados em CHCl_3 , como mostra a Figura 16. Resultado semelhante foi obtido por Preuksarattanawut, Nisaratanaporn e Siralertmukul (2019) para filmes porosos de PLA puro. Analisando as propriedades físicas dos solventes descritas na Tabela 4, verifica-se que o CHCl_3 apresenta menor volatilidade do que o CH_2Cl_2 , logo, o CHCl_3 se evapora mais lentamente. Segundo o mecanismo de formação de *breath figures*, a rápida evaporação do solvente ocasiona o resfriamento da superfície da solução e a nucleação de gotículas de água na superfície da solução. Nesse estágio inicial de crescimento, o diâmetro das gotículas aumenta com o tempo de evaporação do solvente (SRINIVASARAO et al., 2001). Sendo assim, como a evaporação do CHCl_3 é mais lenta, as gotículas de água têm mais tempo para crescer e formar poros maiores. Por outro lado, nas soluções preparadas em CH_2Cl_2 , o solvente se evapora mais rapidamente e as gotículas de água têm menos tempo para crescer, consequentemente poros menores são obtidos.

Figura 16: Efeito dos solventes clorofórmio e diclorometano no diâmetro médio dos poros dos filmes de PLA puro e das blendas PLA/PBAT com composição 95/5 e 70/30.



Fonte: próprio autor.

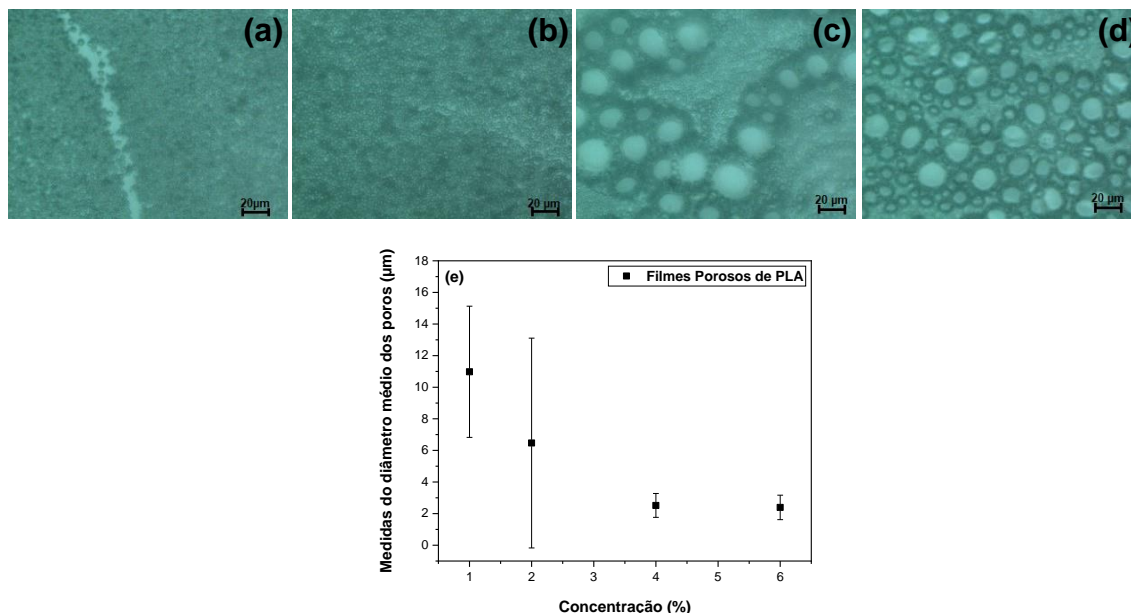
As blendas 70/30 preparadas com concentrações de 4% (m/v) apresentaram poros com tamanhos bastante heterogêneos para ambos solventes investigados. Quando a concentração das soluções foi aumentada para 6% (m/v), os filmes apresentaram poros com tamanhos mais regulares e com menos espaços vazios entre os poros. Portanto, para a blenda 70/30 o fator concentração pode ter afetado mais a formação dos poros do que o solvente.

5.3.2 Efeito da Concentração

O efeito da concentração na formação dos poros nos filmes de PLA puro e nas blendas 95/5 e 70/30 foi investigado utilizando-se soluções poliméricas com concentrações de 1, 2, 4 e 6 % (m/v) preparadas em CH_2Cl_2 . As Figuras 17, 18 e 19 apresentam as imagens de MO da superfície dos filmes porosos produzidos e os respectivos gráficos das medidas do diâmetro médio dos poros versus as concentrações das soluções poliméricas.

As imagens revelam (Figura 17) que os filmes de PLA puro apresentam poros com morfologia arredondada, distribuídos heterogeneamente sobre a superfície dos filmes para todas as concentrações investigadas. Os filmes preparados com concentração de 6 e 4% (m/v) apresentaram poros com diâmetros médio similares ($2,39 \pm 0,8 \mu\text{m}$ e $2,52 \pm 0,8 \mu\text{m}$, respectivamente). Quando a concentração foi reduzida para 2 ou 1% (m/v) os poros aumentaram de tamanho e apresentaram maior dispersão nas medidas de diâmetro ($6,47 \pm 6,6 \mu\text{m}$ e $10,98 \pm 4,2 \mu\text{m}$, respectivamente).

Figura 17 – Imagens de microscopia óptica dos filmes de PLA preparados com concentração de (a) 6%, (b) 4%, (c) 2% e (d) 1% (m/v) em CH₂Cl₂; (e) Medidas do diâmetro médio dos poros X concentração.



Fonte: próprio autor.

Analisando a Figura 17 (e) é possível ver com clareza o efeito da concentração no diâmetro médio dos poros dos filmes de PLA preparados com concentrações de 1, 2, 4 e 6% (m/v). Os poros obtidos mostram a tendência de ficarem menores e mais regulares quando a concentração da solução polimérica é aumentada para 4 ou 6% (m/v). Para explicar essa tendência, DOU e colaboradores (2015) recorreram a Lei de Henry, Equação 7.

$$P = P_0 (1 - X_B) \quad \text{Equação 7}$$

Onde: P é pressão de vapor do solvente na solução, P₀ pressão de vapor do solvente puro e X_B é a fração molar do soluto.

De acordo com a Lei de Henry, quando a solução é mais concentrada, a pressão de vapor do solvente é menor e, portanto, a evaporação do solvente é mais lenta. No método BF, o aumento do raio das gotículas de água é proporcional a variação de temperatura, ΔT, da superfície da solução (Equação 8). Na solução mais concentrada há menor variação de temperatura, pois a redução na temperatura da sua superfície é menor devido a evaporação mais lenta do solvente. Considerando que o tempo de nucleação é muito rápido, a nucleação e o crescimento das gotículas serão menores para as soluções mais concentradas, dessa maneira os poros são menores (DOU et al., 2015).

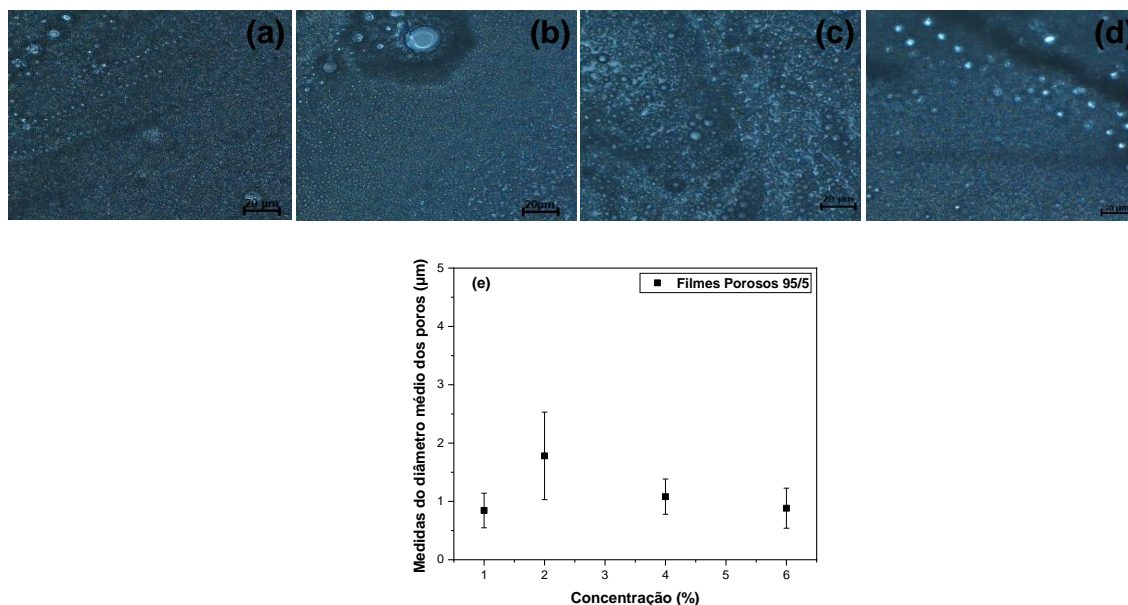
$$\Delta T = T_a - T_s \quad \text{Equação 8}$$

Onde: ΔT - variação de temperatura, T_a - temperatura atmosférica, T_s - temperatura da superfície da solução.

A Figura 17 (e) também mostra que para as concentrações de 1 e 2% (m/v) há uma ampla dispersão nas medidas dos diâmetros dos poros. STENZEL, KOWOLLEK e DAVIS (2006) propuseram uma explicação para essa irregularidade no tamanho dos poros. De acordo com os autores, no estágio inicial de crescimento as gotículas de água crescem como objetos isolados, sem interação entre elas, porém no estágio final de crescimento pode ocorrer a coalescência das gotículas levando a uma grande dispersão de tamanho. A não coalescência das gotículas de água depende da capacidade do polímero em estabilizar a grande área superficial das gotículas de água, por meio da precipitação ao redor das gotículas, encapsulando-as. Se a quantidade ou o tipo do polímero não são suficientes para estabilizar as gotículas de água, elas têm a oportunidade de coalescer e resultar em uma ampla distribuição de tamanho. Provavelmente, para as concentrações de 1 e 2% (m/v), a quantidade de polímero não foi suficiente para estabilizar as gotículas de água e impedir a coalescência entre elas.

O efeito da concentração da solução polimérica também foi investigado para as blendas porosas com composição 95/5. Analisando as imagens de MO apresentadas na Figura 18 (a), (b), (c) e (d) observou-se a presença de poros para as quatro concentrações investigadas. Pelas medidas do diâmetro médio registradas na Figura 18 (e), verifica-se que a concentração não teve um efeito significativo no tamanho dos poros, pois os filmes preparados com concentração de 6, 4 e 1% apresentaram diâmetros relativamente próximos ($0,88 \pm 0,3 \mu\text{m}$; $1,08 \pm 0,3 \mu\text{m}$; e $0,84 \pm 0,3 \mu\text{m}$, respectivamente). O filme com concentração de 2% apresentou diâmetro médio ligeiramente maior ($1,70 \pm 0,8 \mu\text{m}$), porém também apresentou a maior dispersão no tamanho dos poros.

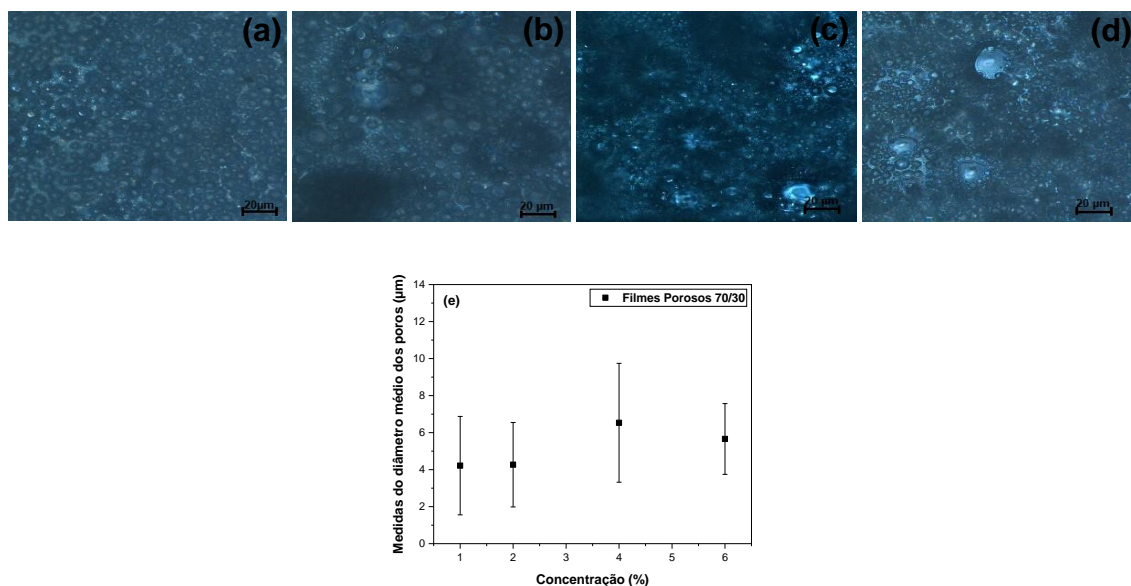
Figura 18 – Imagens de microscopia óptica das blendas porosas PLA/PBAT com composição 95/5, preparadas em com concentração de (a) 6%, (b) 4%, (c) 2% e (d) 1% (m/v) em CH₂Cl₂; (e) Medidas do diâmetro médio dos poros X concentração.



Fonte: próprio autor.

A Figura 19 (a), (b), (c) e (d) apresenta as imagens de MO para as blendas porosas com composição 70/30 preparadas com concentração de 6, 4, 2 e 1% (m/v), respectivamente. Os filmes preparados com concentração de 1 e 2% (m/v) apresentaram diâmetro médio semelhantes ($4,22 \pm 2,7 \mu\text{m}$ e $4,27 \pm 2,3 \mu\text{m}$, respectivamente), assim como os filmes preparados com concentração de 4 e 6% (m/v) ($6,53 \pm 3,2 \mu\text{m}$ e $5,66 \pm 1,9 \mu\text{m}$). A solução mais concentrada apresentou a menor dispersão no tamanho dos poros.

Figura 19 – Imagens de microscopia óptica das blendas porosas PLA/PBAT com composição 70/30, preparadas em com concentração de (a) 6%, (b) 4%, (c) 2% e (d) 1% (m/v) em CH₂Cl₂; (e) Medidas do diâmetro médio dos poros X concentração.



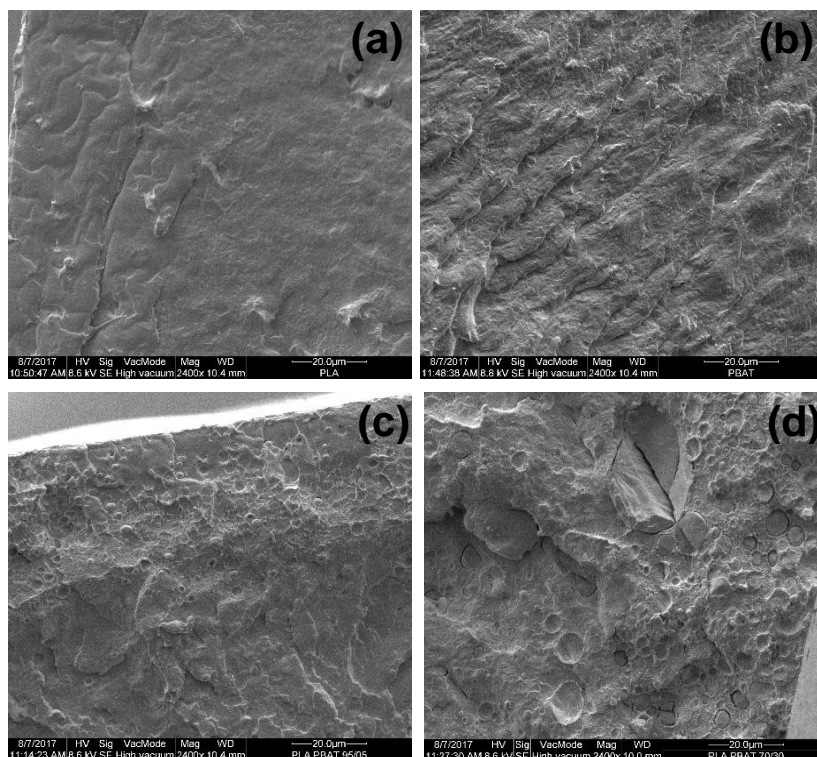
Fonte: próprio autor.

5.3.3 Efeito da Composição das Blendas PLA/PBAT e da Natureza dos Polímeros na Formação das Estruturas Microporosas

Para o estudo do efeito da composição das blendas PLA/PBAT na formação dos poros, investigou-se inicialmente a miscibilidade de blendas compactas PLA/PBAT preparadas por casting, por meio da análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície de fratura dos filmes.

As imagens de MEV apresentadas na Figura 20 revelam que as blendas 95/5 e 70/30 apresentam pequenas esferas e cavidade ovais distribuídas aleatoriamente na matriz de PLA. Aumentando-se a porcentagem de PBAT nas blendas poliméricas de 5 para 30%, verificou-se que o diâmetro médio das esferas e das cavidades aumentou de $2,08 \pm 0,64 \mu\text{m}$ para $3,02 \pm 1,42 \mu\text{m}$ e observou-se o aparecimento de grandes buracos que reforçam os indícios de separação de fases de PLA e PBAT na blenda polimérica (SU, DUHME, KOPITZKY, 2020).

Figura 20: Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura da superfície da criofratura com aumento de 2400 x dos filmes compactos de: (a) PLA puro, (b) PBAT puro, (c) blenda 95/5 e (d) blenda 70/30.



Fonte: próprio autor.

A existência de separação de fases entre os polímeros PLA e PBAT nas blendas poliméricas leva a formação de fases ricas em PLA e outras ricas em PBAT, principalmente na blenda 70/30 onde a separação de fases foi mais evidente pela análise de MEV. Portanto, as gotículas de água formadas podem ser estabilizadas mais por um polímero do que pelo outro, mesmo que o PLA esteja em maior quantidade na composição química das blendas 95/5 e 70/30.

O PLA e o PBAT, são poliésteres alifáticos, lineares e hidrofóbicos (JIAN, XIANGBIN, XIANBO, 2020; FARAH, ANDERSON, LANGER, 2016). Segundo a literatura, embora a arquitetura do polímero não seja um pré-requisito para a formação de estruturas porosas, estruturas mais complexas têm apresentado melhor habilidade na formação de poros altamente ordenados, em comparação aos polímeros hidrofóbicos lineares, sob condições similares de *casting* (ESCALÉ *et al.*, 2012). No presente estudo, observou-se que a presença de PBAT nas blendas

poliméricas 95/5 e 70/30 não contribuíram para a formação de poros altamente organizados. Aliás, tanto no filme de PLA puro, quanto nas blendas 95/5 e 70/30 os poros encontram-se distribuídos aleatoriamente sobre a superfície dos filmes. Provavelmente, isso se deve a estrutura química linear dos polímeros e a cadeia hidrofóbica podem não ter contribuído para estabilizar as grandes gotículas de água e impedir sua coalescência.

Embora a adição do PBAT não tenha contribuído para a formação de um padrão altamente organizado de poros, observou-se que para as menores concentrações investigadas (1 e 2% (m/v)), a adição de 5 e 30% PBAT contribuiu para a formação de poros com menor dispersão nas medidas de diâmetro, quando comparados aos filmes de PLA puro preparados nas mesmas condições experimentais.

5.4 CONCLUSÃO

No presente trabalho foi demonstrado que é possível obter poros com escala micrométrica, em filmes de PLA puro e em blendas PLA/PBAT com composição 95/5 e 70/30 empregando o método de automontagem *breath figure*. Através das imagens de MO da superfície dos filmes, constatou-se que ambos solventes investigados, CHCl_3 e CH_2Cl_2 , favoreceram a nucleação de gotículas de água e conseqüentemente, a formação de micro poros na superfície dos filmes. No entanto, o solvente CH_2Cl_2 foi mais efetivo na obtenção de poros com tamanhos mais regulares para os filmes de PLA puro e blendas 95/5. Neste estudo não foram obtidos poros altamente ordenados, mas poros distribuídos aleatoriamente, fato atribuído provavelmente as cadeias lineares e hidrofóbicas do PLA e do PBAT que não foram capazes de estabilizar as gotículas de água. Para o filme de PLA puro, observou-se que o aumento da concentração da solução tende a produzir poros menores, resultado do aumento da eficiência da precipitação do PLA ao redor das gotículas de água. Com a adição de 5% e 30% de PBAT na composição das blendas PLA/PBAT, verificou-se que para as concentrações de 1 e 2% (m/v) houve uma melhora em relação a regularidade do tamanho dos poros em comparação aos filmes de PLA puro. Devido as características dos filmes produzidos, como a alta porosidade e elevada área superficial, os filmes porosos de PLA puro e de PLA/PBAT serão aplicados como *scaffolds* para crescimento de células.

REFERÊNCIAS

ABE, H.; HIRAI, Y.; YABU, H. Thermally Stable Honeycomb-Patterned Porous Films of a Poly(L-lactic acid) and Poly(D-lactic acid) Stereo Complex Prepared Using the Breath Figure Technique. **Macromolecular Materials And Engineering** v. 301, p. 523-529, 2016

AKOUMEH, R.; ELZEIN, T.; MARTÍNEZ-CAMPOS, E.; REVIRIEGO, F.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, J. Fabrication of porous films from immiscible polymer blends: Role of the surface structure on the cell adhesion. **Polymer Testing** v. 91, 106797 (1-12), 2020.

COLOMBO, R. N. P.; PETRI, D. F.S.; CÓRDOBA DE TORRESI, S.I.; GONÇALES. V. R. Porous polymeric templates on ITO prepared by breath figure method for gold electrodeposition. **Eletrochimica Acta**, v. 158, p. 187-195, 2015.

DOU, Y.; JIN, M.; ZHOU, G.; SHUI, L. Breath figure method for construction of honeycomb films. **Membranes**, v. 5, p. 399-424, 2015.

ESCALÉ, P.; RUBATAT, L.; BILLON, L.; SAVE, M. Recent advances in honeycomb-structured porous polymer films prepared via breath figures. **European Polymer Journal**, v. 48, p. 1001-1025, 2012.

FARAH, S.; ANDERSON, G.; LANGER, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review, **Advanced Drug Delivery Reviews** 107, p. 367–392, 2016.

FERRARI, E.; FABBRI, P.; PILATI, F. Solvent and Substrate Contributions to the Formation of Breath Figure Patterns in Polystyrene. **Langmuir** 27, p. 1874–1881, 2011.

HUANG, C.; SHEN, X.; LIU, X.; CHEN, Z.; SHU, B.; WAN, L.; LIU, H.; HE, J. Hybrid breath figure method: a new insight in petri dishes for cell culture. **Journal Of Colloid And Interface Science** v. 541, p. 114-122, 2019.

JIAN J.; XIANGBIN, Z.; XIANBO, H. An overview on synthesis, properties and applications of poly(butylene-adipate-co-terephthalate) e PBAT. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research** 3, p. 19-26, 2020.

LIDE D. R. **Handbook of chemistry and physics**. 80th ed. Boca Raton: CRC Press; 1999.

LIU, M.; ZHANG, X.; WANG, D.; CHENG, J.; PANG, X.; QU, W.; LI, C.; LI, S. Facile Fabrication of Superhydrophobic Surface from Fluorinated POSS Acrylate Copolymer via One-Step Breath Figure Method and Its Anti-Corrosion Property. **Polymers**, v. 11, p. 1953 (1 de 19), 2019.

PREUKSARATTANAWUT, C.; NISARATANAPORN, E.; SIRALERTMUKUL, K. Highly ordered porous PLA films prepared by breath figure method. **Journal of Metals, Materials and Minerals** v. 29, p. 106-112, 2019.

SANZ-HORTA, R.; ELVIRA, C.; GALLARDO, A.; REINECKE, H.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, J. Fabrication of 3D-Printed Biodegradable Porous Scaffolds Combining Multi-Material Fused Deposition Modeling and Supercritical CO₂ Techniques. **Nanomaterials** v.10, p. 1080, 2020.

SRINIVASARAO, M.; COLLINGS, D.; PHILIPS, A.; PATEL, S. Three-Dimensionally Ordered Array of Air Bubbles in a Polymer Film. **Science**, v. 292, p. 79-83, 2001.

STENZEL, M. H.; BARNER-KOWOLLIK, C.; DAVIS, T. P. Formation of Honeycomb-Structured, Porous Films via Breath Figures with Different Polymer Architectures. **J. Polym. Sci. Parte A: Polymer. Chem**, v. 44, p. 2363- 2375, 2006.

SU, S.; DUHME, M.; KOPITZKY, R. Uncompatibilized PBAT/PLA Blends: Manufacturability, Miscibility and Properties. **Materials**, 13, p. 4897, 2020.

TYLER, B.; GULLOTTI, D.; MANGRAVITI, A.; UTSUKI, T.; BREM, H. Polylactic acid (PLA) controlled delivery carries for biomedical applications. **Advanced drug delivery reviews** v.107, p.163-175, 2016.

WU, B.; ZHANG, W.; GAO, N.; ZHOU, M.; LIANG, Y.; WANG, Y.; LI, F.; LI, G. Poly (ionic liquid)-Based Breath Figure Films: A New Kind of Honeycomb Porous Films with Great Extendable Capability. **Scientific Reports** v. 7, p. 13973 (1-15), 2017.

ZHANG, C.; WANG, X.; MIN, K.; LEE, D.; WEI, C.; SCHULHAUSER, H.; GAO, H. Developing porous honeycomb films using miktoarm star copolymers and exploring their application in particle separation. **Macromol. Rapid Commun.**, v. 35, p. 221–227, 2014.

YABU, H. Fabrication of honeycomb films by the breath figure technique and their applications. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 19, n. 1, p. 802-822, 2018.

6. APLICAÇÃO DOS FILMES ESTRUTURADOS E COMPACTOS COMO SUPORTES PARA CRESCIMENTO DE CÉLULAS DA LINHAGEM HaCaT

Resumo

Filmes compactos, microporosos e nanofibras de PLA e blendas PLA/PBAT com composição 95/5, 90/10 e 70/30 foram produzidos pelo método de evaporação de solvente e pelas técnicas do breath figure e de eletrospinação, respectivamente. A morfologia dos filmes produzidos foi caracterizada MEV. As nanofibras apresentaram espessura de aproximadamente 1200 nm e poucos defeitos (*beads*) foram observados. Os filmes microporosos foram produzidos via *breath figure* por meio do processo convencional, semidireto e de imersão em uma mistura de solvente/não solvente. No processo convencional, o diâmetro dos poros variou de 1,5 – 7,0 μm , dependendo da proporção de PBAT nas blendas poliméricas. Para o filme preparado pelo método semidireto só foi possível observar a formação de poros na amostra de PLA puro, o diâmetro médio foi inferior ($1,27 \pm 0,41 \mu\text{m}$) ao método convencional ($7,05 \pm 1,41 \mu\text{m}$). Os filmes microporosos preparados por imersão em uma mistura de solvente/não solvente apresentaram poros na faixa de 5,0 -7,0 μm . A viabilidade de células epiteliais HaCaT nos filmes compactos e estruturais foi investigada pelo ensaio de resazurina. Os resultados indicaram que a morfologia dos filmes influencia na adesão e no crescimento das células. Os filmes compactos apresentaram o pior desempenho no crescimento das células.

Palavras-chave: Breath figure. Crescimento celular. Nanofibras. Microporos.

Abstract

Compact, microporous films and nanofibers PLA and PLA / PBAT blends with 95/5, 90/10 and 70/30 composition were obtained by the solvent evaporation method and by the breath figure and electrospinning techniques, respectively. The morphology of the films obtained was characterized by SEM. As nanofibers of thickness of approximately 1200 nm and few defects were observed. Microporous films were obtained via breath figure using the conventional, semi-direct and immersion process in a solvent / non-solvent mixture. In the conventional process, the pore diameter varies from 1.5 - 7.0 μm , depending on the proportion of PBAT in the polymer blends. For the film prepared by the semidirect method it was only possible to observe the formation of pores in the sample of pure PLA, the average diameter was lower ($1.27 \pm 0.41 \mu\text{m}$) to the conventional method ($7.05 \pm 1.41 \mu\text{m}$). Microporous films prepared by immersion in a solvent / non-solvent dissipated pore in the range of 5.0 -7.0 μm . The viability of HaCaT epithelial cells in compact and resource films was investigated by the resazurin assay. The results indicated that the morphology of the films influences cell adhesion and growth. The compact films dissipate the worst performance in cell growth.

Keywords: Breath figure. Cell growth. Nanofibers. Micropores.

6.1 INTRODUÇÃO

Nas duas últimas décadas, a engenharia de tecidos tem se dedicado a regeneração e a reconstrução de tecidos danificados, como cartilagens, ossos, peles, nervos e muitos outros. Uma das estratégias empregadas no reparo dos tecidos envolve o uso de suportes artificiais para a cultura de células, denominados *scaffolds*. Os *scaffolds* atuam como microambientes tridimensionais porosos que promovem a interação entre os biomateriais e as células, levando a adesão celular, a proliferação, a diferenciação celular (GREGOR *et al.*, 2017). Para que os *scaffolds* desempenhem suas funções, algumas características são desejáveis para esses biomateriais, tais como, alta porosidade, biocompatibilidade, não ser tóxico ou carcinogênico, apresentar estabilidade química e superfície química adequada, além de propriedades mecânicas adequadas (PINA *et al.*, 2019).

Atualmente, o PLA é um dos polímeros sintéticos mais utilizados na produção de *scaffolds* destinados a cultura de células (BHASKAR *et al.*, 2018; POLONIO-ALCALÁ *et al.*, 2018). O PLA é um polímero biodegradável, biocompatível e que se degrada no organismo humano para formar o ácido lático que está presente no corpo humano (ALIPPILAKKOTTE, SREEJITH, 2018). Porém, a elevada hidrofobicidade, o baixo alongamento na ruptura e a fraca resistência ao calor são algumas das desvantagens do PLA em *scaffolds*. Como resultado, a produção de *scaffolds* de PLA tem sido realizada a partir de modificações químicas no PLA ou na produção de blendas poliméricas (WANG *et al.*, 2019; APALANGYA *et al.*, 2019).

YAO e colaboradores (2017) produziram pela técnica de eletrofiação, *scaffolds* de blendas PCL/PLA de alta porosidade (95,8%). A adição de PCL contribui para melhores propriedades mecânicas dos *scaffolds*, aumentando substancialmente a viabilidade celular de hMSCs (células tronco mesenquimais) *in vitro*.

Scafforo, Lopresti, Botta, Rigogliuso e Gheresi (2016) prepararam *scaffolds* microporosos de blendas PLA/PEG. Segundo os autores, houve melhoras em relação as propriedades hidrofílicas do biomaterial, devido a presença dos grupos hidrofílicos da molécula de PEG.

KANG e colaboradores (2018) preparam *scaffolds* porosos de sc-PLA/PBAT pelo método de separação de fases induzida por um não solvente. A adição de PBAT teve efeito sobre as propriedades mecânicas dos *scaffolds*, especialmente sobre o alongamento na ruptura.

No presente estudo também foram produzidas blendas de PLA/PBAT, porém empregando outras técnicas e/ou métodos para a obtenção dos *scaffolds*. Pelo método de evaporação de solvente foram produzidos filmes compactos, pela técnica *breath figure* foram obtidos filmes microporosos e por eletrofiação obteve-se as nanofibras de PLA e blendas PLA/PBAT. As proporções de PLA/PBAT foram 95/5 e 90/10 e 70/30. Os biomateriais produzidos com diferentes morfologias foram submetidos ao ensaio de viabilidade celular empregando-se células epiteliais da linhagem HaCaT.

6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

6.2.1 Materiais

Poli (ácido lático), PLA Ingeo™ 4043D, com massa molecular média de aproximadamente 200 KDa adquirido da NatureWorks LLC (Blair, Nebraska, USA). Poli (butileno adipato-co-tereftalo), PBAT, sob o nome comercial de Ecoflex® fornecido pela empresa BASF (Germany). Os reagentes, clorofórmio (CHCl_3) e diclorometano (CH_2Cl_2) foram adquiridos da empresa Biotec- Brasil. A N, N dimetilformamida (DMF) (99,8%) e metanol (CH_3OH) foram adquiridos da Synth.

6.2.2 Preparo de Filmes Compactos

Filmes compactos de PLA puro e de blendas PLA/PBAT com composição 95/5, 90/10 e 70/30 foram produzidas pelo método de evaporação de solvente. As soluções poliméricas foram preparadas com concentração de 4% (m/v), dissolvendo-se os polímeros em CHCl_3 , sob agitação magnética por 6 horas. Após a agitação, as soluções foram vertidas em placas de vidro (15 cm de diâmetro) e aguardou-se a secagem dos filmes por 24 horas, à temperatura ambiente (WANG, RHIM, HONG, 2016).

6.2.3 Preparo de Filmes Microporosos pelo Método *Breath Figure*

O preparo de filmes microporosos de PLA puro e de PLA/PBAT com composição 95/5, 90/10 e 70/30 foi realizado empregando:

6.2.3.1 *Breath Figure* convencional (*drop-casting*) - Preparou-se soluções poliméricas com concentração de 5% (m/v) em CH_2Cl_2 , sob agitação magnética por 6 horas. Com o auxílio de uma micro pipeta depositou-se 100 μL de cada solução polimérica,

individualmente, sobre substratos de vidro, sob atmosfera úmida (UR: $75 \pm 5\%$) e aguardou-se a secagem completa da solução (HUANG et al., 2014).

6.2.3.2 *Breath Figure* semidireto- Inicialmente foram produzidos filmes compactos de PLA e de blendas PLA/PBAT pelo método de evaporação de solvente, com concentração de 5% (m/v) em CH_2Cl_2 . Após a formação dos filmes compactos, depositou-se sobre a superfície dos filmes uma gota de CHCl_3 , em ambiente com umidade relativa de $75 \pm 5\%$, e aguardou-se a secagem completa do solvente (HUANG et al., 2014).

6.2.3.3 *Breath Figure por imersão em uma mistura de solvente/não solvente*- Preparou-se filmes compactos de PLA puro e de blendas PLA/PBAT, como descrito no tópico 6.2.2. Os filmes compactos foram cortados em pedaços menores e imersos por 5 segundos na mistura $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (85:15). Posteriormente, os filmes foram deixados sob condições ambientes (T: 20°C e UR: $65 \pm 5\%$) até a evaporação completa dos solventes (Adaptado de BUI, KOB, CHOI, 2014).

6.2.4 Preparo de Nanofibras de PLA e PLA/PBAT

Para a definição das condições experimentais foram realizados inicialmente, alguns ensaios de eletrofiação com as blendas PLA/PBAT. As proporções de PLA/PBAT nas nanofibras foram 95/5, 90/10 e 70/30, respectivamente. As soluções poliméricas foram preparadas com concentração de 16% (m/v) dissolvendo-se os polímeros PLA e PBAT na mistura de solvente CHCl_3/DMF ou $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$, sob agitação magnética por 24 horas. As proporções de CHCl_3/DMF ou $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ (solvente/ não solvente) foram de 85:15 e 60:40 (v/v).

A eletrofiação das soluções foi realizada em um equipamento *homemade* (Figura 21). Cada solução foi adicionada a uma seringa de 10 mL conectada a uma agulha de metal com diâmetro interno de 0,45 mm, a qual foi posteriormente acoplada ao equipamento. Os ensaios de eletrofiação foram conduzidos pela aplicação de um potencial elétrico de 11,5 kV entre a agulha e o coletor. A vazão das soluções foi de $0,5 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$. As nanofibras produzidas foram depositadas em um coletor cilíndrico, coberto por folhas de alumínio e posicionado a 15 cm da ponta da agulha. A rotação do coletor foi mantida constante em 180 rpm.

Após a realização do ensaio descrito acima, definiu-se que a mistura $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (85:15) seria utilizada no preparo das nanofibras de PLA e PLA/PBAT (95/5, 90/10 e 70/30), posteriormente usadas para o crescimento células. Os demais

parâmetros de eletrofiação foram mantidos.

6.2.5 Caracterização dos Filmes Microporosos e das Nanofibras

A caracterização morfológica dos filmes microporosos e das nanofibras foi realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) utilizando um equipamento da marca Philips, modelo FEI Quanta 200. A superfície dos materiais foi previamente coberta com uma fina camada de ouro. Para todas as amostras, a voltagem de aceleração utilizada foi de 25 kV. A magnitude de observação foi de 800, 1500 e 6000 vezes para os filmes microporosos e de 800, 3000 e 20 000 vezes para as nanofibras.

Através das imagens de MEV, foram realizadas medidas do diâmetro dos poros e espessura das nanofibras utilizando o software SizeMeter, desenvolvido pelo laboratório de controle de processos LCP, do departamento de engenharia Química da UFSC.

6.2.6 Cultivo de Célula da linhagem HaCat

Células da linhagem HaCaT foram selecionadas para avaliar a viabilidade celular dos filmes compactos, microporosos e das nanofibras de PLA e de blendas PLA/PBAT produzidas no presente estudo. As células HaCaT foram cultivadas em frascos de cultura de 25 cm² contendo meio DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) modificado para conter 4 mM.L⁻¹ de glutamina, 4500 mg.L⁻¹ de glicose, 1 mM piruvato de sódio e 1500 mg.L⁻¹ de bicarbonato de sódio e suplementação com 10% de soro bovino fetal (SBF) (Gibco, Life Technologies), à temperatura de 37°C, em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂.

Para o ensaio de viabilidade celular, amostras dos filmes compactos, microporosos e das nanofibras foram antecipadamente esterilizadas com óxido de etileno (180 min à 55°C e aeração de 80 min). As amostras esterilizadas foram distribuídas em três placas de 24 poços, com adição de 800 µL da suspensão de células em cada poço. Em seguida, as placas foram encaminhadas para incubação em estufa úmida a 37 °C e 5% de CO₂. Sob essas condições experimentais, o tempo de crescimento foi de 24, 48 e 72 horas.

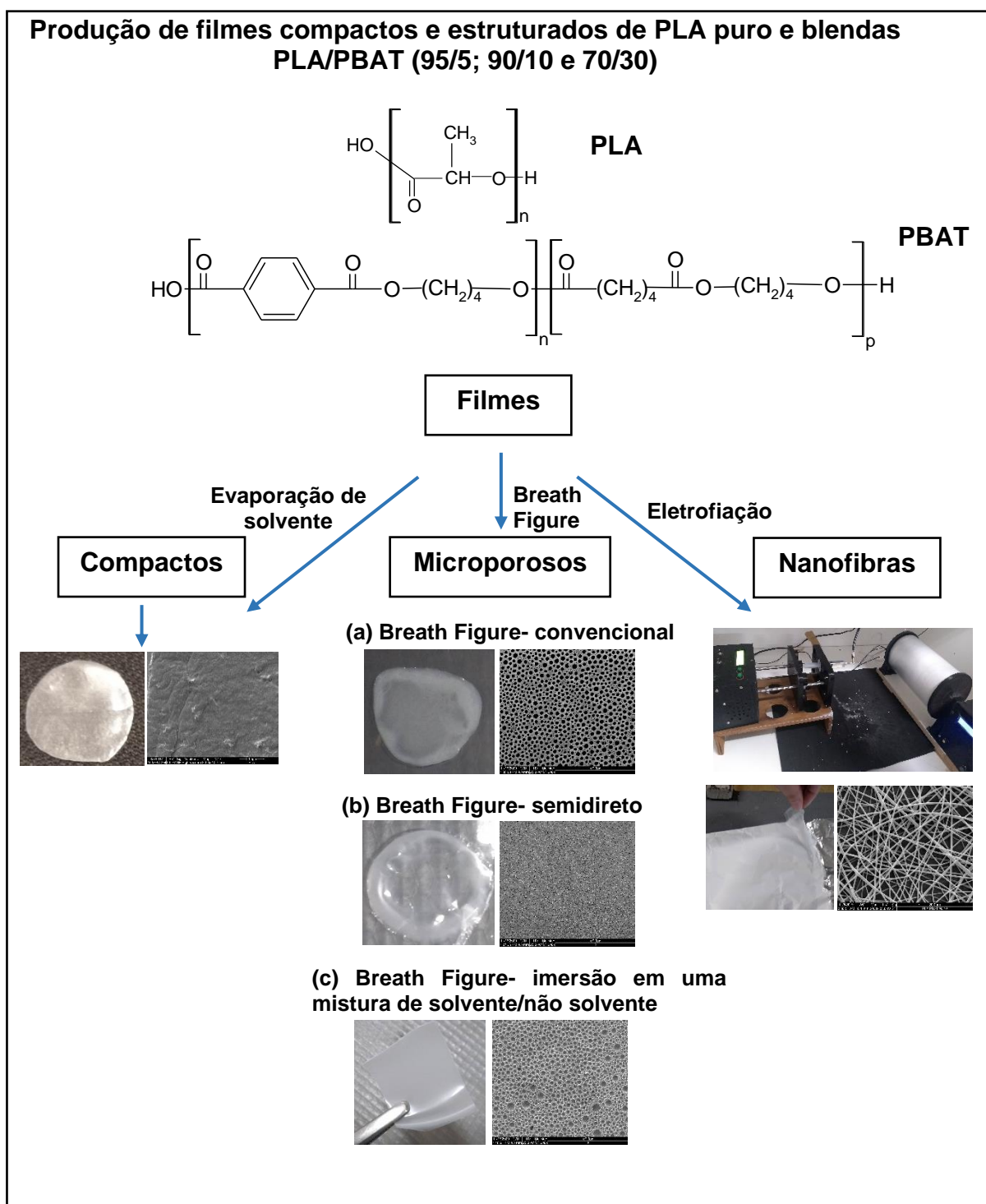
6.2.7 Ensaio Colorimétrico com Resazurina

Após 24 horas de incubação em estufa (37°C e 5% de CO₂) adicionou-

se em cada um dos poços 200 μ L de solução de Resazurina (concentração de 60 μ M), e novamente as amostras foram conduzidas para incubação em estufa (37°C e 5% de CO₂) por mais 3 horas. Posteriormente, realizou-se a leitura da fluorescência das amostras em um espectrofotômetro (GloMax Explorer, 520 nm). Após a leitura, o sobrenadante de cada poço foi descartado e adicionou-se 800 μ L do meio de cultura. Seguidamente, as amostras foram levadas para incubação por mais 24 horas. O procedimento descrito acima foi repetido para o tempo de 48 e 72 horas de incubação.

O ensaio colorimétrico com Resazurina também incluiu um controle negativo (DMEM) e um positivo (MMS- metil metano sulfonato, 2mM).

Figura 21: Métodos empregados na produção dos filmes compactos e estruturados de PLA puro e blendas PLA/PBAT (95/5; 90/10 e 70/30).



Fonte: próprio autor.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.3.1 Filmes Microporosos de PLA e de blendas PLA/PBAT via *breath figure*

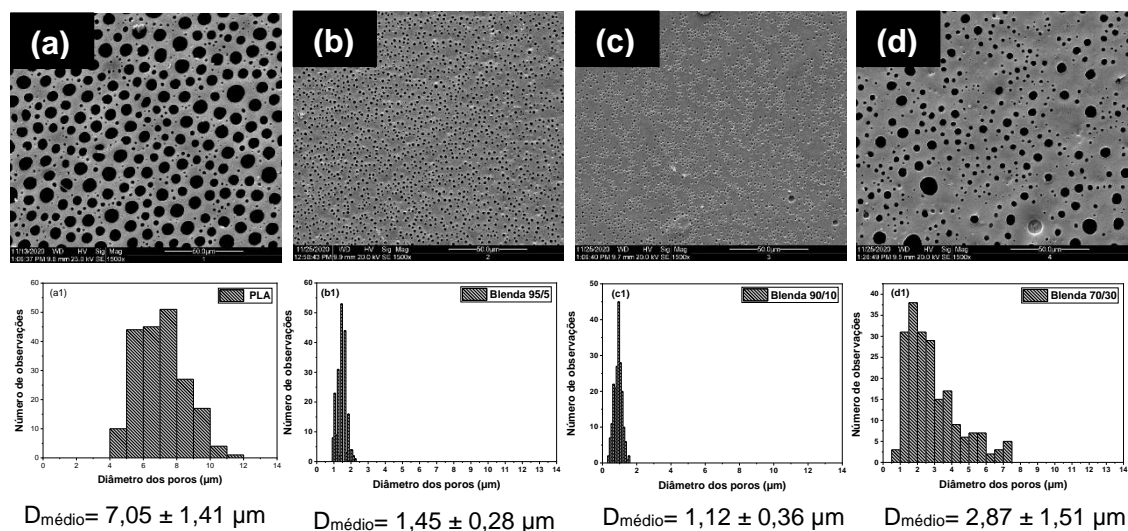
Filmes microporosos de PLA e PLA/PBAT com composição 95/5, 90/10 e 70/30 foram preparados pelos processos: *breath figure* convencional, *breath figure* semidireto e *breath figure* por imersão em uma mistura de solvente/não solvente.

A partir dos resultados apresentados no capítulo 5 -Estudo sobre a formação de microporos em filmes de PLA e em blendas PLA/PBAT foi definido o solvente (CH_2Cl_2) e a concentração das soluções (5% m/v) usadas na preparação dos filmes microporosos pelo método BF convencional do presente capítulo.

No método BF convencional, uma pequena gota da solução polimérica é depositada sobre um substrato sólido, sob condições úmidas. A rápida evaporação do solvente volátil induz o resfriamento da superfície da solução e a condensação do vapor de água sobre a superfície da solução. As gotículas de água condensadas de auto-organizam em um arranjo ordenado e após a evaporação completa deixam seu formato impresso no filme polimérico (LIU *et al.*, 2020).

As imagens de MEV da superfície dos filmes microporosos de PLA e PLA/PBAT (95/5, 90/10 e 70/30) preparados pelo método BF convencional são apresentadas na Figura 22. As imagens mostram a presença de estruturas microporosas de formato arredondado para as quatro composições investigadas. Diferenças significativas foram observadas em relação aos tamanhos dos poros. O filme de PLA puro apresentou poros com os maiores diâmetros ($7,05 \pm 1,41 \mu\text{m}$). Com a adição de 5% e 10% de PBAT à solução de PLA, os poros diminuíram drasticamente de tamanho ($1,45 \pm 0,28 \mu\text{m}$, $1,12 \pm 0,36 \mu\text{m}$, respectivamente) em comparação com o filme de PLA puro. Para o filme produzido com 30% de PBAT, o diâmetro médio dos poros foi de $2,87 \pm 1,51 \mu\text{m}$.

Figura 22- Imagens de MEV e histograma de distribuição do diâmetro dos poros nos filmes de PLA puro (a) e blends PLA/PBAT com composição 95/5 (b), 90/10 (c) e 70/30 (d) preparados pelo método *breath figure* convencional.



Fonte: próprio autor.

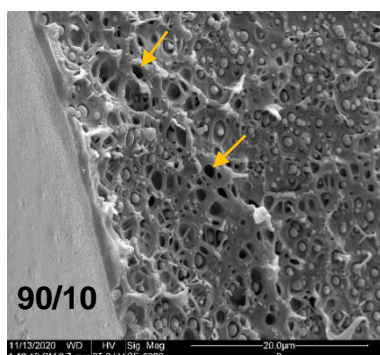
No *breath figure*, o tamanho dos poros é determinado pelo diâmetro das gotículas de água. O crescimento das gotículas no BF é descrito frequentemente, por três estágios. No primeiro estágio, as gotículas de água nucleadas na superfície da solução polimérica são pequenas, não têm fortes interações entre si e crescem como objetos isolados e aleatórios. No segundo estágio, as gotículas crescem simultaneamente ao admitirem novas gotículas e apresentam baixa dispersão de tamanho. Devido aos movimentos de convecção as gotículas penetram na solução e se auto-organizam em um arranjo hexagonal ordenado denominado *honeycomb*. Nesse estágio, as gotículas são separadas por um filme fino formado pela precipitação do polímero ao redor das gotículas de água, e toda sua superfície possui uma cobertura máxima. O terceiro estágio de crescimento é dominado pela coalescência das gotículas de água e resultam na formação de poros desordenados e com tamanhos irregulares. A coalescência predomina quando a precipitação do polímero ao redor das gotículas é tardia ou a camada polimérica formada é muito fraca, dessa forma as gotículas vão se fundindo ao se tocarem (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, BORMASHENKO, 2020)

Analisando as imagens e os histogramas apresentados na Figura 22, sugere-se que no filme de PLA puro, as gotículas de água cresceram por coalescência, pois o filme apresenta morfologia característica desse tipo de

crescimento, isto é, poros com tamanhos variados e com distribuição aleatória (DABAN *et al.*, 2019). Porém, nas blendas PLA/PBAT com composição 95/5 e 90/10, o pequeno tamanho dos poros e a baixa dispersão da medida de diâmetro indicam que a evaporação completa do solvente e das gotículas de água ocorreu antes da etapa de coalescência. Para essas proporções, o PBAT pode ter contribuído para a estabilização das gotículas de água. O mesmo não foi observado para a blenda 70/30, a qual apresentou poros maiores e mais irregulares em comparação as blendas 95/5 e 90/10. A dispersão no tamanho e na distribuição dos poros indicam que as gotículas coalesceram. A viscosidade é um dos fatores que pode ter contribuído para a coalescência das gotículas na blenda 70/30. No estudo apresentado no Tópico 4 verificou-se que a adição de PBAT resulta na diminuição da viscosidade das soluções de PLA/PBAT. É bem conhecido que a menor a viscosidade da solução polimérica, aumenta a habilidade de fluxo das gotículas e água e, portanto, maior a probabilidade de ocorrer a coalescência entre as gotículas (XIONG *et al.*, 2011).

A Figura 23 mostra a imagem de MEV da região lateral da blenda porosa 90/10. É possível observar a presença de estruturas porosas (setas amarelas) e interconectadas distribuídas aleatoriamente no interior do filme. Os poros vão diminuindo em quantidade com o aprofundamento no filme. A formação de poros no interior do filme tem sido atribuída a convecção de Marangoni que faz com as gotículas se movimentem e penetrem no interior da solução (ZHANG, BAI, LI, 2015).

Figura 23- Imagem de MEV da região lateral da blenda PLA/PBAT com composição 90/10, com aumento de 6000 vezes.



Fonte: próprio autor.

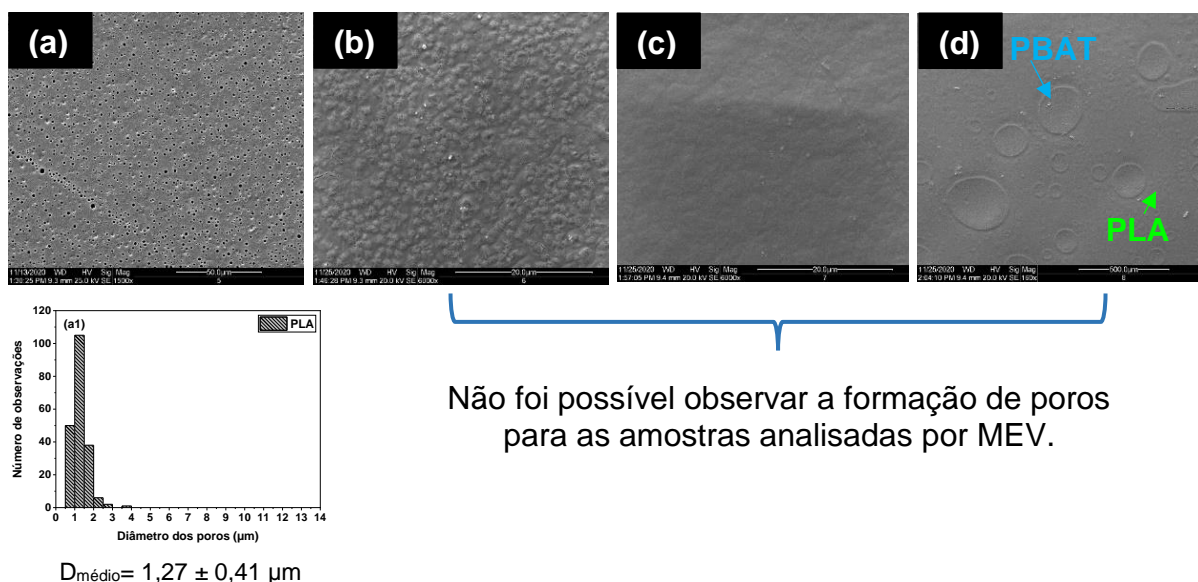
Pelo método BF semidireto adicionou-se de uma gota de solvente sobre os filmes compactos de PLA e PLA/PBAT (95/5, 90/10 e 70/30), sob condições úmidas. As imagens de MEV da superfície dos filmes produzidos por este método

estão representadas na Figura 24.

Através das imagens foi possível observar a presença de poros somente na superfície da amostra do filme de PLA. Para essa amostra, os poros apresentaram morfologia arredondada e os diâmetros bastante inferiores ao filme microporoso de PLA preparado pelo método BF convencional.

Pelo método BF semidireto, observou-se que a adição do solvente sobre os filmes compactos dissolveu parcialmente os filmes e ocasionou o espalhamento das soluções poliméricas nas placas de vidro, formando uma camada muito fina de solução. Consequentemente, a taxa de evaporação do CHCl_3 foi muito rápida, não fornecendo tempo suficiente para a nucleação das gotículas de água. Resultado semelhante foi obtido por Ruiz-Rubio e colaboradores (2016). Na amostra 70/30 foi observada morfologia a presença de fases circulares de PBAT (seta azul) na matriz de PLA (seta verde) (ZOLALI, FAVIS, 2017).

Figura 24- Imagens de MEV e histograma de distribuição do diâmetro dos poros nos filmes de PLA (a) e blendas PLA/PBAT com composição 95/5 (b), 90/10 (c) e 70/30 (d) preparados pelo método *Breath Figure* semidireto.

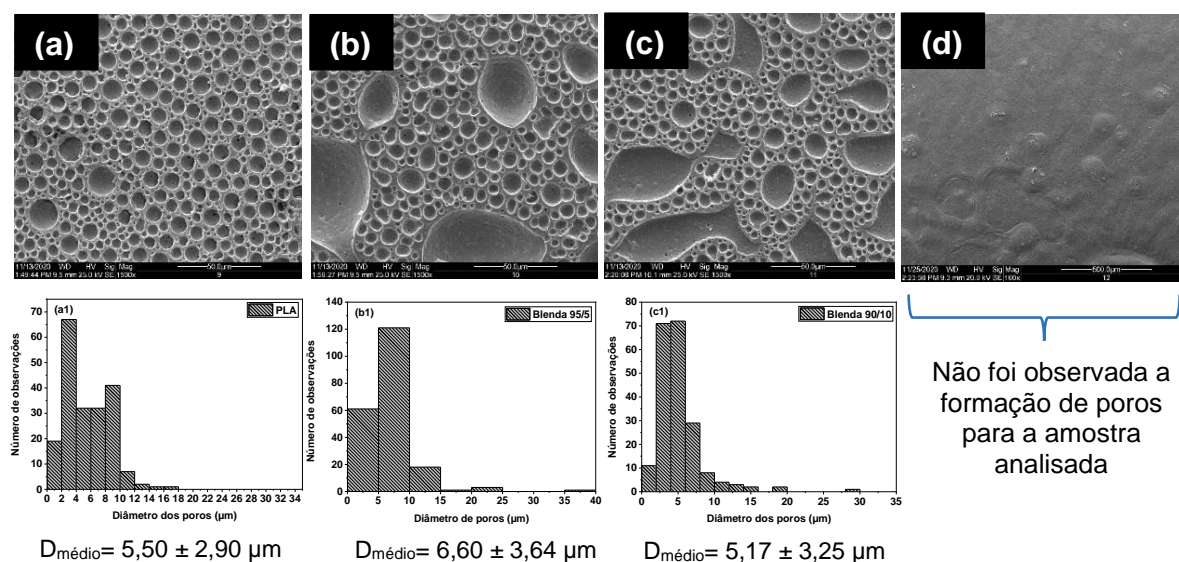


Fonte: próprio autor.

No método *breath figure* por imersão em uma mistura de solvente/não solvente, filmes compactos de PLA puro e PLA/PBAT (composição- 95/5, 90/10 e 70/30) foram imersos na mistura $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ por 10 segundos. Nesse método o BF está combinado com o método NIPS (separação de fase induzida por um não

solvente). A Figura 25 mostra a superfície dos filmes produzidos.

Figura 25- Imagens de MEV e histograma de distribuição do diâmetro dos poros nos filmes de PLA (a) e blendas PLA/PBAT com composição 95/5 (b), 90/10 (c) e 70/30 (d) preparados pelo método *Breath Figure* por imersão na mistura de solvente (CHCl_3 : CH_3OH).



Fonte: próprio autor.

Observando a Figura 25 (a), nota-se que o filme de PLA apresentou poros circulares bem definidos. As blendas 95/5 e 90/10 apresentaram alguns poros com tamanhos gigantes. Os diâmetros médios dos poros nos filmes de PLA e blendas 95/5 e 90/10 foram semelhantes.

Pelas imagens de MEV, só foi possível observar a formação de uma camada de poros. Isso se deve provavelmente a viscosidade dos filmes. Quando os filmes compactos foram imersos na mistura de $\text{CH}_3\text{Cl}/\text{CH}_3\text{OH}$, os filmes ficaram com aspecto amolecido. Com a evaporação dos solventes, houve a nucleação de gotículas de água na superfície dos materiais, porém devido à alta viscosidade as gotículas tiveram dificuldades em penetrar no material e acabaram ficando na superfície do filme. Com a crescente condensação de gotículas de água e sem uma camada polimérica para cobrir a superfície das gotículas, elas provavelmente foram crescendo por aproximação com outra gotícula. A alta viscosidade da solução também limita os movimentos de convecção de Marangoni e a formação de mais de uma camada de poros (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, BORMASHENKO, 2020).

6.3.2 Caracterização das Nanofibras de PLA/PBAT

Nanofibras de PLA/PBAT com composição 95/5, 90/10 e 70/30 foram preparadas nos sistemas binários de solvente CHCl_3/DMF (85:15 ou 40:60 v/v) e $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ (85:15 ou 40:60 v/v). O CHCl_3 e CH_2Cl_2 são bons solventes para os polímeros PLA e PBAT, enquanto DMF é um não solvente.

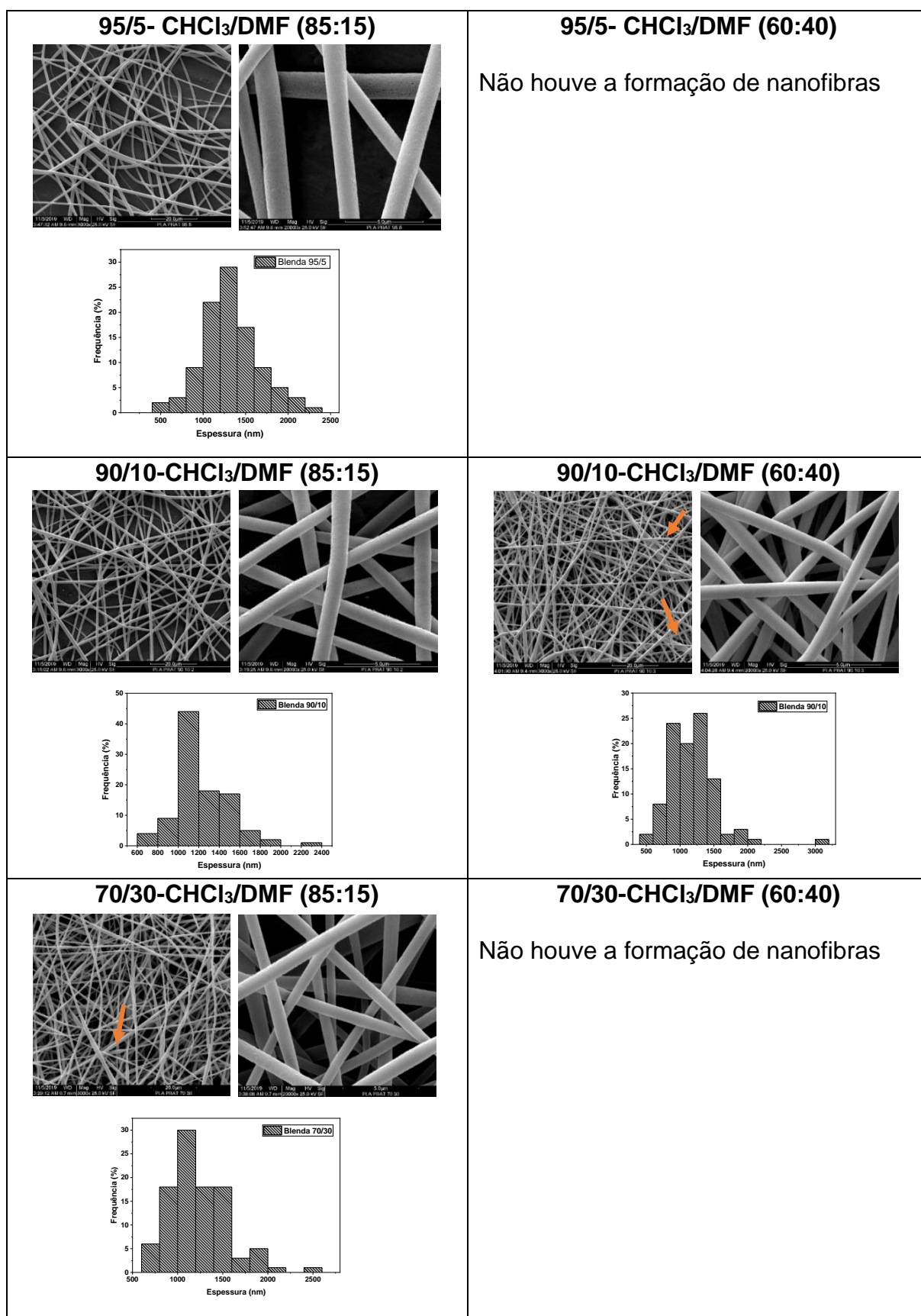
A morfologia das nanofibras foi investigada a partir das imagens de MEV, representadas nas Figuras 26 e 27.

Para a composição 95/5 foram formadas nanofibras somente na mistura CHCl_3/DMF , na proporção 85:15 (v/v). O diâmetro médio das nanofibras foi de $1335 \text{ nm} \pm 339,7 \text{ nm}$. Não foi observada a formação de *beads* nessa composição.

Nanofibras com composição 90/10 foram produzidas para as quatro misturas de solventes investigadas, CHCl_3/DMF (85:15 ou 40:60, v/v) e $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ (85:15 ou 40:60, v/v). Os diâmetros médios das nanofibras preparadas em CHCl_3/DMF foram $1227 \text{ nm} \pm 269,4 \text{ nm}$ (85:15, v/v) e $1182 \text{ nm} \pm 357,8 \text{ nm}$ (40: 60, v/v). Para as nanofibras preparadas em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$, os diâmetros médios foram $2818 \text{ nm} \pm 1096 \text{ nm}$ (85:15) e $1208 \pm 321,6 \text{ nm}$ (60:40). As nanofibras 90/10 apresentaram algumas *beads* (setas laranjas- Figuras 26 e 27). As *beads* estão relacionadas a instabilidade dos jatos de solução.

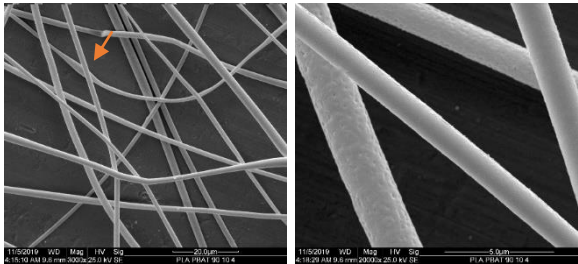
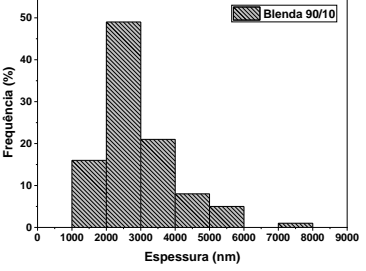
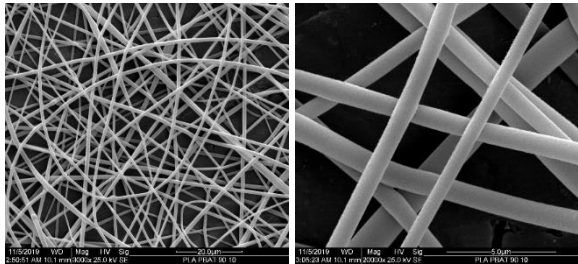
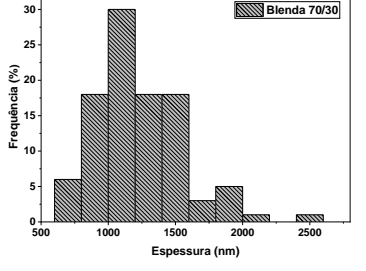
Para a blenda com composição 70/30 só houve a formação de nanofibras na mistura CHCl_3/DMF (85:15, v/v). O diâmetro médio das nanofibras foi de $1228 \text{ nm} \pm 332,1 \text{ nm}$. A adição de PBAT não afetou o diâmetro das nanofibras.

Figura 26: Imagens de MEV das nanofibras PLA/PBAT com composição 95/5, 90/10 e 70/30 preparadas em CHCl_3/DMF 85:15 ou 60:40 (v/v).



Fonte: próprio autor.

Figura 27: Imagens de MEV das nanofibras PLA/PBAT com composição 95/5, 90/10 e 70/30 preparadas em CH₂Cl₂/DMF 85:15 ou 60:40 (v/v).

<p>95/5- CH₂Cl₂/DMF (85:15)</p> <p>Não houve a formação de nanofibras</p>	<p>95/5- CH₂Cl₂/DMF (60:40)</p> <p>Não houve a formação de nanofibras</p>
<p>90/10- CH₂Cl₂/DMF (85:15)</p>  	<p>90/10- CH₂Cl₂/DMF (60:40)</p>  
<p>70/30- CH₂Cl₂/DMF (85:15)</p> <p>Não houve a formação de nanofibras</p>	<p>70/30- CH₂Cl₂/DMF (60:40)</p> <p>Não houve a formação de nanofibras</p>

Fonte: próprio autor.

Observou-se que as nanofibras PLA/PBAT preparadas em CH₂Cl₂/DMF ou CHCl₃/DMF apresentaram diâmetro médio superior na proporção 85:15 (v/v) do que proporção 60:40 (v/v). Khatsee e colaboradores (2018) observaram a mesma tendência para nanofibras PBAT preparadas em CH₂Cl₂/DMF. Segundo os autores, o tamanho médio do diâmetro das fibras diminui com o aumento da constante dielétrica na mistura de solventes ou com o aumento na proporção de DMF.

Com base na caracterização morfológica das nanofibras foi definido o sistema de solventes CHCl₃/DMF (85:15, v/v), para a produção de nanofibras de PLA puro e PLA/PBAT com composição- 95/5, 90/10 e 70/30. As nanofibras produzidas nessas condições foram aplicadas no estudo de viabilidade celular.

6.3.3 Ensaio de Viabilidade Celular

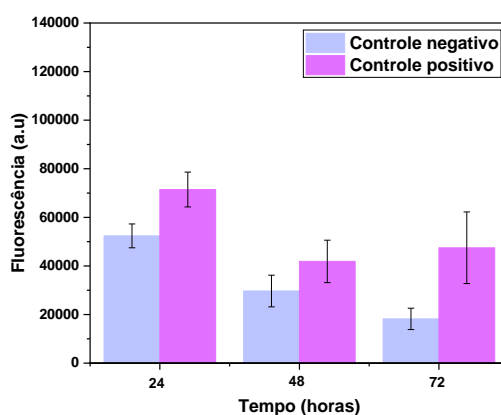
A viabilidade celular *in vitro* de células HaCaT sobre os filmes

compactos e estruturados de PLA e PLA/PBAT foi avaliada pelo ensaio de resazurina (Alamar Blue). O ensaio da resazurina tem sido amplamente utilizado como indicador confiável de viabilidade celular em ensaios de proliferação e citotoxicidade (KUMAR, NAGARAJAN, UCHIL, 2018).

A resazurina é um corante azul intenso, não fluorescente, não tóxico e relativamente estável em meio aquoso. Porém, ao penetrar nas células vivas, a resazurina é reduzida rapidamente e irreversivelmente à resofurina pela ação de enzimas intracelulares. A resofurina apresenta coloração rosa e gera um sinal de fluorescência forte que pode ser quantificado por espectrofotometria (UZARSKI *et al.*, 2017). Dessa forma, o crescimento e a citotoxicidade podem ser investigados pela mudança de coloração e pela medida da fluorescência do meio de cultura, uma vez que ao serem produzidas pelas células são eliminadas para o meio. O aumento da fluorescência indica crescimento de celular, pois a redução de resazurina em resofurina só ocorre na presença de células vivas. Por outro lado, a diminuição da fluorescência indica que as estão células morreram ou parando de se dividir.

A Figura 28, apresenta as medidas de fluorescência do controle positivo e negativo. Observa-se que o controle positivo se diferenciou do controle negativo, apresentando maiores valores de fluorescência para os três tempos de incubação. O tempo de incubação de 24 h apresentou os maiores valores de fluorescência para ambos controles e após esse período a fluorescência foi reduzida.

Figura 28: Medida da fluorescência para o controle positivo e negativo para o tempo de incubação de 24, 48 e 72 horas.

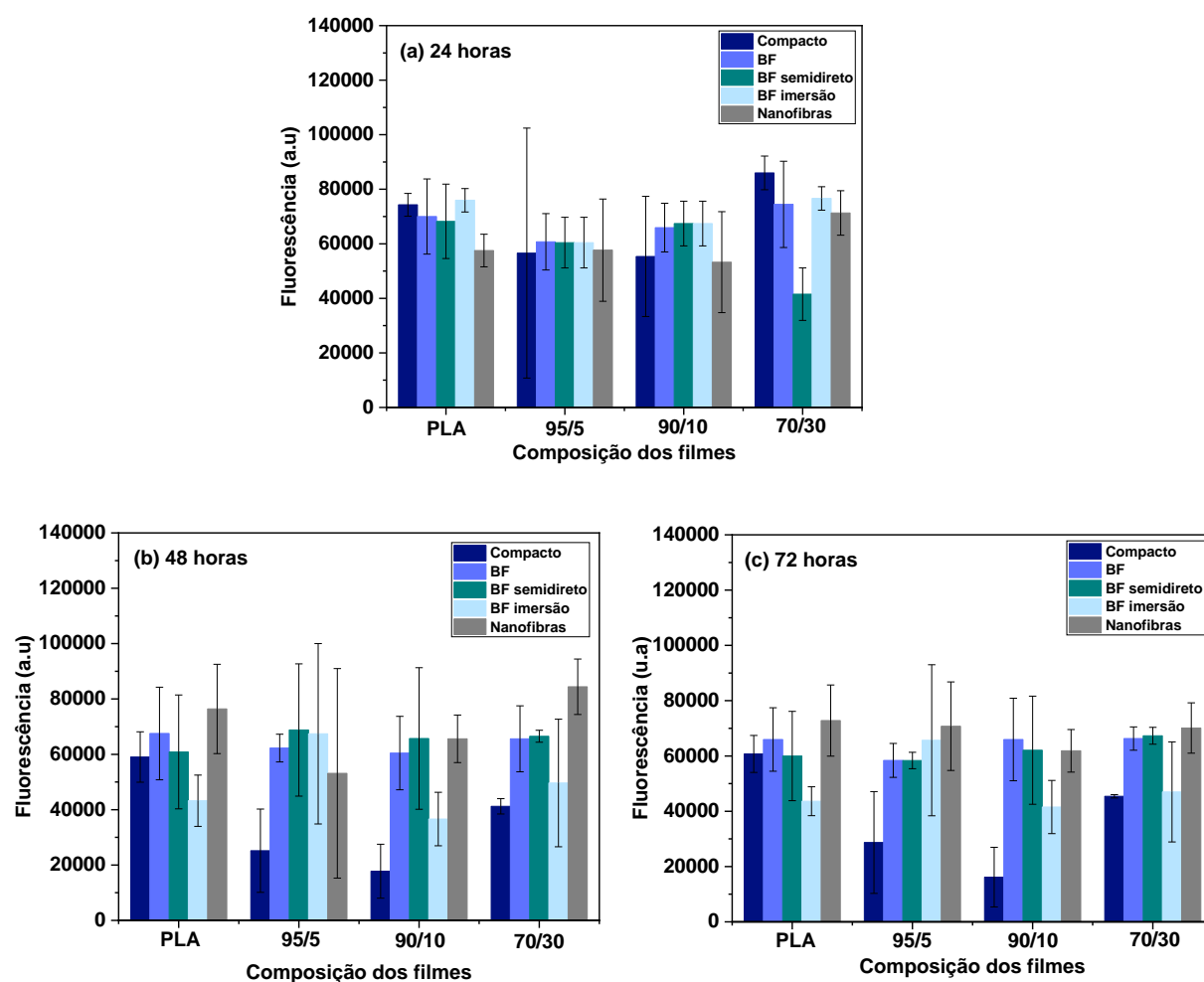


Fonte: próprio autor.

A medida de fluorescência dos poços de cultura contendo os filmes

compactos, microporosos e as nanofibras de PLA e PLA/PBAT nos tempos de 24, 48 e 72 horas de incubação está representado na Figura 29.

Figura 29: Medida da fluorescência dos meios de cultura presentes nos poços de cultura contendo os filmes de PLA e blendas PLA/PBAT com composição 95/5, 90/10 e 70/30, preparados pelo método de evaporação de solvente (compacto), BF convencional (BF), BF semidireto, BF por imersão em mistura de solvente/não solvente e por eletrofiação (nanofibras) após incubação de 24h (a), 48h (b) e 72h(c).



Fonte: próprio autor.

Tabela 5- Valores médios de fluorescência obtidos após a adição de resazurina aos meios de cultura utilizando filmes compactos (PLA, PLA₉₅/PBAT₅, PLA₉₀/PBAT₁₀, PLA₇₀/PBAT₃₀) como suporte para o crescimento das células HaCaT.

Filmes Compactos				
	PLA	PLA ₉₅ /PBAT ₅	PLA ₉₀ /PBAT ₁₀	PLA ₇₀ /PBAT ₃₀
24 h	74300 ^a ± 4162	56593 ^a ± 45843	55367 ^a ± 22047	86000 ^a ± 6180
48 h	59033 ^a ± 9111	25173 ^a ± 15039	17780 ^{a,b} ± 9753	41233 ^b ± 2774
72 h	60733 ^a ± 6702	28707 ^a ± 18425	16170 ^b ± 10800	45400 ^b ± 600

As médias ± desvios-padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente a um

nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 6- Valores médios de fluorescência obtidos após a adição de resazurina aos meios de cultura utilizando filmes preparados pela técnica *breath figure* convencional (PLA, PLA₉₅/PBAT₅, PLA₉₀/PBAT₁₀, PLA₇₀/PBAT₃₀) como suporte para o crescimento das células HaCaT.

Filmes- BF				
	PLA	PLA ₉₅ /PBAT ₅	PLA ₉₀ /PBAT ₁₀	PLA ₇₀ /PBAT ₃₀
24 h	70000 ^a ± 13781	60733 ^a ± 10318	65933 ^a ± 8919	74467 ^a ± 15824
48 h	67533 ^a ± 16740	62267 ^a ± 5020	60467 ^a ± 13261	65600 ^a ± 11911
72 h	65967 ^a ± 11474	58400 ^a ± 6149	65967 ^a ± 14921	66300 ^a ± 4233

As médias ± desvios-padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 7- Valores médios de fluorescência obtidos após a adição de resazurina aos meios de cultura utilizando filmes preparados pela técnica *breath figure* semidireto (PLA, PLA₉₅/PBAT₅, PLA₉₀/PBAT₁₀, PLA₇₀/PBAT₃₀) como suporte para o crescimento das células HaCaT.

Filmes- BF semidireto				
	PLA	PLA ₉₅ /PBAT ₅	PLA ₉₀ /PBAT ₁₀	PLA ₇₀ /PBAT ₃₀
24 h	68233 ^a ± 13644	60433 ^a ± 9292	67433 ^a ± 8204	76633 ^a ± 4283
48 h	60867 ^a ± 20556	68800 ^a ± 23901	65733 ^a ± 25572	66533 ^b ± 2155
72 h	59967 ^a ± 16154	58367 ^a ± 2957	62067 ^a ± 19554	67300 ^b ± 3045

As médias ± desvios-padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 8- Valores médios de fluorescência obtidos após a adição de resazurina aos meios de cultura utilizando filmes preparados pela técnica *breath figure* imersão (PLA, PLA₉₅/PBAT₅, PLA₉₀/PBAT₁₀, PLA₇₀/PBAT₃₀) como suporte para o crescimento das células HaCaT.

Filmes- BF imersão				
	PLA	PLA ₉₅ /PBAT ₅	PLA ₉₀ /PBAT ₁₀	PLA ₇₀ /PBAT ₃₀
24 h	75967 ^a ± 4302	60433 ^a ± 9292	67433 ^a ± 8204	76633 ^a ± 4283
48 h	43233 ^b ± 9264	67433 ^a ± 32579	36633 ^b ± 9666	49633 ^a ± 23046
72 h	43633 ^b ± 5227	65700 ^a ± 27315	41533 ^b ± 9609	47000 ^a ± 18084

As médias ± desvios-padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 9- Valores médios de fluorescência obtidos após a adição de resazurina aos meios de cultura utilizando nanofibras (PLA, PLA₉₅/PBAT₅, PLA₉₀/PBAT₁₀, PLA₇₀/PBAT₃₀) como suporte para o crescimento das células HaCaT.

Nanofibras				
	PLA	PLA ₉₅ /PBAT ₅	PLA ₉₀ /PBAT ₁₀	PLA ₇₀ /PBAT ₃₀
24 h	57533 ^a ± 5968	57667 ^a ± 18765	53267 ^a ± 18511	71300 ^a ± 8169
48 h	76400 ^a ± 16147	53133 ^a ± 37835	65600 ^a ± 8600	84400 ^a ± 10019
72 h	72800 ^a ± 12864	70767 ^a ± 16003	61867 ^a ± 7702	70100 ^a ± 9106

As médias ± desvios-padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente a um

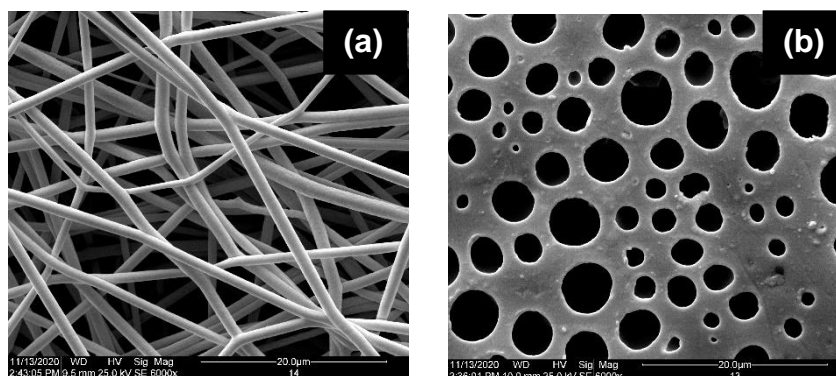
nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Em 24 horas de incubação, os filmes de PLA puro com morfologia compacta e microporosas (BF- convencional, semidireto e por imersão em uma mistura de solvente/não solvente) apresentaram valores próximos de fluorescência e, portanto, crescimento celular semelhante. Por outro lado, a nanofibra de PLA apresentou o menor crescimento celular. A adição de 5 e 10% de PBAT na composição dos filmes não contribuiu significativamente para o crescimento celular. Porém, a adição de 30% de PBAT teve um efeito positivo, principalmente para o filme compacto e para as nanofibras.

Após 48 horas de incubação, os valores de fluorescência do meio de cultura dos filmes compactos e dos microporosos preparados por imersão tiveram uma redução considerável. O que sugere que a morfologia desses filmes pode ter influenciado na redução do crescimento celular. Os filmes microporosos preparados pelo método BF convencional e semidireto apresentaram fluorescência semelhante a 24 horas de incubação. Por outro lado, as nanofibras de PLA puro e 90/10 e 70/30 apresentaram valores de fluorescência superiores a 24 horas. A mesma tendência de crescimento observada para 48h de incubação foi verificada para 72 horas.

Todas as amostras de filmes empregadas no ensaio de viabilidade celular foram esterilizadas com óxido de etileno. A Figura 30 mostra que após a esterilização, tanto as estruturas microporosas, quanto as nanofibras foram conservadas durante o processo esterilização.

Figura 30: Imagens de MEV das nanofibras de PLA preparadas por eletrofiação (a) e do filme microporoso de PLA preparado pelo método BF convencional, após a esterilização com óxido de etileno.



Fonte: próprio autor.

Sabendo que as estruturas não foram danificadas após a esterilização, é possível relacionar a morfologia dos filmes produzidos no presente estudo com o crescimento das células HaCaT. As medidas de fluorescência indicam as nanofibras e os filmes microporosos preparados pelo método BF convencional e semidireto apresentaram melhores crescimentos celulares. Fato provavelmente relacionado a porosidade dos filmes e a presença de poros interconectados que facilitam a migração celular, o crescimento interno e a distribuição eficaz de nutrientes e remoção de resíduos (BHASKAR *et al.*, 2018).

Os filmes compactos apresentaram o pior desempenho a partir de 48h. Os filmes microporosos preparados por imersão apresentam crescimento celular intermediário entre os filmes compactos e os preparados por BF convencional e semidireto. Esse resultado pode estar relacionado ao fato de os poros não estarem interligados.

6.4 CONCLUSÃO

No presente estudo foram produzidos filmes de PLA puro e PLA/PBAT com diferentes morfologias empregando-se o método de evaporação de solvente, técnica BF convencional, BF semidireto, BF por imersão em uma mistura de solvente/não solvente e a técnica de eletrofiação.

Os filmes foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura e aplicados como suportes para crescimento de células da linhagem HaCaT. A viabilidade celular *in vitro* foi avaliada por meio do ensaio colorimétrico com resazurina.

Os filmes com poros interligados produzidos pela técnica BF convencional, semidireto e por eletrofiação apresentaram os melhores resultados de crescimento de no tempo de incubação de 48 e 72 horas, independente da composição química do filme. Desta forma, pode-se constatar que a morfologia dos materiais estruturados usados como suportes para o crescimento de células HaCaT afetou a adesão e o crescimento celular. Embora não possa ser observado um elevado crescimento celular, não foi observado efeito citotóxico.

REFERÊNCIAS

ALIPPILAKKOTTE, S.; SREEJITH, L. Benign route for the modification and characterization of poly(lactic acid) (PLA) scaffolds for medicinal application. **Journal Of Applied Polymer Science** v. 135, p. 46056, 2017.

APALANGYA, V. A.; RANGARI, V. K.; TIIMOB, B. J.; JEELANI, S.; SAMUEL, T. Eggshell Based Nano-Engineered Hydroxyapatite and Poly(lactic) Acid Electrospun Fibers as Potential Tissue Scaffold. **International Journal Of Biomaterials** v. 2019, p. 1-11, 2019.

BHASKAR, B.; OWEN, R.; BAHMAEE, H.; WALLY, Z.; RAO, P. S.; REILLY, G. C. Composite porous scaffold of PEG/PLA support improved bone matrix deposition in vitro compared to PLA-only scaffolds. **Journal Of Biomedical Materials Research Part A** v. 106, p. 1334-1340, 2018.

BUI, V. T.; KOB, S. H.; CHOI, H. S. A surfactant-free bio-compatible film with a highly ordered honeycomb pattern fabricated via an improved phase separation method. **Chem. Commun.**, v. 50, 3817- 3819, 2014.

DABAN, G.; BAYRAM, C.; BOZDOGAN, B.; DENKBAS, E. B. Porous polyurethane film fabricated via the breath figure approach for sustained drug release. **J. Appl. Polym. Sci.** p. 47658 (1-9), 2019.

GREGOR, A.; FILOVÁ, E.; NOVÁK, M.; KRONEK, J.; HYNEK, C.; BUZGO, M.; BLAHNOVÁ, V.; LUKÁŠOVÁ, V.; BARTOŠ, M.; NEČAS, A.; HOŠEK, J. Designing of PLA scaffolds for bone tissue replacement fabricated by ordinary commercial 3D printer. **Journal of Biological Engineering** v. 11, p. 1-21, 2017.

HUANG, C.; KAMRA, T.; CHAUDHARY, S.; SHEN, X. Breath Figure Patterns Made Easy. **ACS Applied Materials & Interfaces** v. 6, p. 5971–5976, 2014.

KHATSEE, S.; DARANARONG, D.; PUNYODOM, W.; WORAJITTIPHON, P. Electrospinning polymer blend of PLA and PBAT: Electrospinnability–solubility map and effect of polymer solution parameters toward application as antibiotic-carrier mats. **J. Appl. Polym. Sci.**, 46486 (1-19), 2018.

KUMAR, P.; NAGARAJAN, A.; UCHIL, P. D. Analysis of Cell Viability by the alamarBlue Assay. **Cold Spring Harbor Protocols**, 6, 2018.

LIU, W.; XIE, M.; LI, C.; XIE, H., HONG, R.; CHEN, YI, LI, Z.; ZHENG, G. Highly ordered water droplet arrays on a volatile solvent surface. **Colloids and Surfaces A** v. 590, p. 124487 (1-10), 2020.

PINA, S.; Ribeiro, V. P.; Marques, C. F.; Maia, F. R.; Silva, T. H.; Reis, R. L.; Oliveira, J. M. Scaffolding Strategies for Tissue Engineering and Regenerative Medicine Applications. **Materials** v.12, p.1824, 2019.

POLONIO-ALCALÁ, E.; RABIONET, M.; GALLARDO, X; ANGELATS, D. CIURANA,

J.; RUIZ-MARTÍNEZ, S.; PUIG, T. PLA Electrospun Scaffolds for Three-Dimensional Triple-Negative Breast Cancer Cell Culture. **Polymers** v. 11, p. 916, 2019.

RUIZ-RUBIO, L.; AZPITARTE, I.; HARCÍA-HUETE, N.; LAZA, J. M.; VILAS, J. L.; LEÓN, L. M. J. Solvent and relative humidity effect on highly ordered polystyrene honeycomb patterns analyzed by Voronoi tessellation. **Appl. Polym. Sci.**, 44004 (1-9), 2016.

SCAFFORO R.; LOPRESTI, F.; BOTTA, L.; RIGOGLIUSO, S.; GHERSI, G. Preparation of three-layered porous PLA/PEG scaffold: relationship between morphology, mechanical behavior and cell permeability. **J Mech Behav Biomed Mater** v. 54, p. 8-20, 2016.

UZARSKI, J. S.; DIVITO, M. D.; WERTHEIM, J. A., MILLER, W. M. Essential design considerations for the resazurin reduction assay to noninvasively quantify cell expansion within perfused extracellular matrix scaffolds. **Biomaterials** v. 129, p. 163-175, 2017.

WANG, L. F.; RHIM, J. W.; HONG, S. Preparation of poly(lactide)/poly(butylene adipate-co-terephthalate) blend films using a solvent casting method and their food packaging application. **Food Science and Technology** v. 68, p. 454-461, 2016.

WANG, L.; WANG, D.; ZHOU, Y.; ZHANG, Y.; LI, Q.; SHEN, C. Fabrication of open-porous PCL/PLA tissue engineering scaffolds and the relationship of foaming process, morphology, and mechanical behavior. **Polymers For Advanced Technologies** v. 30, p. 2539-2548, 2019.

XIONG, X.; LIN, M.; ZOU, W.; LIU, X. Kinetic control of preparing honeycomb patterned porous film by the method of breath figure. **Reactive & Functional Polymers** v.71, p.964–971, 2011.

YAO, Q.; COSME, J.G.L.; XU, T.; MISZUK, J. M.; PICCIANI, P. H.S.; FONG, H.; SUN, H. Three dimensional electrospun PCL/PLA blend nanofibrous scaffolds with significantly improved stem cells osteogenic differentiation and cranial bone formation. **Biomaterials** v. 115, p. 115-127, 2017.

ZHANG, A.; BAI, H.; LI, L. Breath Figure: A Nature-Inspired Preparation Method for Ordered Porous Films. **Chemical Reviews** v. 115, p. 9801-9868, 2015.

ZOZALI, A. M.; FAVIS, B. D. Partial to complete wetting transitions in immiscible ternary blends with PLA: the influence of interfacial confinement. **Soft Matter** v.13, p. 2844—2856, 2017.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta tese foram produzidos e caracterizados filmes compactos, porosos e eletrofiados de PLA, PBAT e de suas blendas. Os filmes compactos foram produzidos pelo método de evaporação de solvente. Para a produção de filmes porosos foram propostos três processos simples e rápidos, utilizando a técnica de *breath figure*. Para a obtenção da nanofibras foi utilizado o processo de eletrofiação.

A análise inicial dos filmes das blendas de PLA/PBAT obtidas por evaporação de solvente, realizada pelas técnicas de DSC, TGA, MEV, viscosimetria de soluções diluídas e Raman indicaram que as blendas de PLA/PBAT nas composições 70/30 e 30/70 são imiscíveis, enquanto a blenda 5/95 é parcialmente miscível.

A técnica BF convencional permitiu a produção de superfícies porosas nas blendas PLA/PBAT com composições 95/5 e 70/30 a partir de soluções dos polímeros em diclorometano e clorofórmio de diferentes concentrações. Porém, os poros não se encontram ordenados. O solvente, a concentração das soluções e a estrutura química dos polímeros influenciam na formação dos poros.

Utilizando clorofórmio/DMF 85:15 v/v foi possível preparar, por eletrofiação, nanofibras com diâmetro de aproximadamente 1200 nm para todas as composições das blendas de PLA/PBAT.

No ensaio de viabilidade celular, verificou-se que a morfologia dos suportes é um parâmetro mais importante do que a composição das blendas. Os filmes com poros interligados produzidos pelo método BF convencional, semidireto e por eletrofiação apresentaram os melhores resultados de crescimento de células, independente da composição da blenda utilizada.