



TÓPICOS EM MATERIAIS POLIMÉRICOS

Genilza da Silva Mello
George Barbosa da Silva
Guilherme Augusto Ferreira
Letícia Vitorazi
Thaís Dolzany de Oliveira
(Organização)

Editora
UFPR

**TÓPICOS EM
MATERIAIS
POLIMÉRICOS**



Reitor

Ricardo Marcelo Fonseca

Vice-Reitora

Graciela Inês Bolzón de Muniz

Pró-Reitora de Extensão e Cultura

Mayara Elita Braz Carneiro

Coordenador da Editora UFPR

Rafael Faraco Benthien

Assessora da Editora UFPR

Eva Lenita Scheliga

Conselho Editorial que aprovou este livro

Rodrigo Tadeu Gonçalves (presidente)

Adenise Lorenci Woiciechowski

Alex Soria Medina

Angela Maria Hoffmann Walesko

Cristina Gonçalves de Mendonça

Ida Chapaval Pimentel

João Damasceno Martins Ladeira

Kádima Nayara Teixeira

Rafael Faraco Benthien

Thiago Freitas Hansen

TÓPICOS EM MATERIAIS POLIMÉRICOS

Genilza da Silva Mello
George Barbosa da Silva
Guilherme Augusto Ferreira
Letícia Vitorazi
Thaís Dolzany de Oliveira
(Organização)

© Genilza da Silva Mello, George Barbosa da Silva,
Guilherme Augusto Ferreira, Leticia Vitorazi, Thaís Dolzany de Oliveira

TÓPICOS EM MATERIAIS POLIMÉRICOS

Coordenação da Seção de Produção Editorial
Rachel Cristina Pavim

Revisão
Larissa Brito dos Santos
Maria Diovana Rolim Soares

Projeto gráfico, capa e diagramação
Lara Leder

Revisão final
Autores

Série Pesquisa, n. 442

Universidade Federal do Paraná. Sistema de Bibliotecas.
Biblioteca Central. Seção da Representação da Informação.

T674 Tópicos em materiais poliméricos / Genilza da Silva Mello... [et al],
organização. — Curitiba, PR : Ed. UFPR, 2024.
218 p. : il. color. ; 21 cm. — (Série pesquisa, n. 442).

Inclui referências.

ISBN 978-85-8480-240-1.

1. Polímeros. 2. Biopolímeros. 3. Compostos poliméricos. I. Mello, Genilza da Silva, 1988-. II. Título. III. Série.

CDD: 668.9

CDU: 577.12

Bibliotecário: Arthur Leitis Junior – CRB 9/154

ISBN 978-85-8480-240-1
Ref. 1121

**Direitos desta edição reservados à
Editora UFPR**

Rua Ubaldino do Amaral, 321
80060-195 — Curitiba — Paraná — Brasil

editora@ufpr.br

www.editora.ufpr.br

2024



Associação Brasileira
das Editoras Universitárias

Apresentação

Rafaella Takehara Paschoalin

Oswaldo N. Oliveira Jr.

Aplicações inovadoras de materiais poliméricos com técnicas sofisticadas e otimizadas requerem o conhecimento das interdependências entre estrutura e propriedade. Este livro aborda as aplicações tecnológicas e técnicas de processamento dos polímeros mais utilizadas atualmente. Por ser de caráter introdutório, as autoras e os autores apresentaram os fundamentos da estrutura, do processamento e das propriedades desses materiais. Foram discutidas as correlações entre estrutura química, composição, características morfológicas e propriedades macroscópicas de materiais poliméricos, proporcionando um equilíbrio entre conhecimento teórico e aplicação da ciência dos polímeros. Ênfase foi dada à possibilidade de utilizar tal conhecimento para manipular as propriedades e funcionalidades dos materiais a partir do controle de sua estrutura e da adaptação de técnicas de processamento, pois um alto nível de controle permite transformar matérias-primas em produtos e tecnologias de grande valor para a sociedade.

Devemos ressaltar uma motivação importante para a concepção deste livro, que é a disponibilidade limitada de literatura científica em polímeros em língua portuguesa. Esta obra contém doze capítulos com conteúdo atualizado e exemplos ilustrativos, tanto de aplicações quanto de metodologias de processamento. Com a variedade de conceitos e exemplos apresentados, esperamos que o(a) leitor(a) — iniciante ou já familiarizado com a ciência de polímeros — possa apreciar como o paradigma em que se baseia o controle das propriedades e processamento de polímeros leva a aplicações que transformaram a sociedade nas últimas décadas.

Prefácio

Letícia Vitorazi
Organizadora

Este livro apresenta uma miscelânea de tópicos especiais em materiais poliméricos, com foco especial em polímeros em solução. A obra contempla a descrição de polímeros naturais, incluindo sua extração, purificação e caracterização, usando como exemplo os polissacarídeos, por conta da sua abundância natural e importância tecnológica. As aplicações biomédicas e na indústria de alimentos de alguns desses biopolímeros também são enfatizadas. Polímeros naturais são de complexa processabilidade devido à facilidade de degradação frente ao aquecimento, parâmetro fundamental no processamento de polímeros termoplásticos empregando, por exemplo, extrusão. Nesse âmbito, apresenta-se uma técnica de processamento de obtenção de filmes para polímeros naturais utilizando soluções poliméricas. O método apresentado é chamado de *casting*, em que uma solução polimérica é espalhada sobre uma superfície e, após a secagem do solvente, a película polimérica é formada.

Posteriormente, segue-se para uma sequência de capítulos que descrevem o emprego de polímeros, sintéticos e naturais, em solução, além de alguns exemplos de estruturas formadas e potenciais aplicações. Polímeros podem se coassociar e formar cocervados, por exemplo, pela interação eletrostática entre polieletrólitos de carga oposta. Ainda, polímeros podem se autoassociar em solução e formar nanoestruturas com diferentes morfologias, como é o caso dos copolímeros em bloco anfífilos. Como possibilidade de aplicação simples e clássica, é apresentado um capítulo de biossensores baseados em filmes de polímeros nanoestruturados, que aborda a preparação e caracterização de arquiteturas enzimáticas-poliméricas nanoestruturadas em um estudo de caso de biossensor para detecção de câncer de próstata.

Uma nova sequência de capítulos leva ao leitor a importância das nanopartículas poliméricas, com descrição dos seus principais métodos de síntese

com técnicas *top down* e *bottom up*, além da funcionalização e caracterização dessas nanopartículas, com destaque na aplicação biomédica. Em seguida, apresentamos as suspensões poliméricas, com ênfase em modificação superficial por meio da técnica de leito fluidizado.

Dando continuidade à apresentação da importância de polímeros em solução, algumas técnicas versáteis de manipulação de soluções poliméricas são apresentadas. Nesse tópico, destaca-se a eletrofiação e a fiação por sopro em solução. Enquanto a primeira trata do uso da diferença de potencial na obtenção de fibras, a segunda é baseada no uso de capilares e fluxo de gás na obtenção de nanomateriais. Um exemplo de fiação por sopro em solução é a aerografia, bastante empregada atualmente no recobrimento de superfícies.

Para finalizar, escolheu-se apresentar a impressão 3D, uma técnica recentemente aplicada aos polímeros termoplásticos no desenvolvimento de estruturas sólidas, mostrando que o processamento de polímeros sólidos, como estrutura de engenharia, também vem se desenvolvendo ao longo dos anos. Além das convencionais engenharias de peças automotivas e de minúsculos componentes da indústria de telecomunicações, atualmente essa técnica tem sido amplamente utilizada para aplicações biomédicas e na engenharia de tecidos.

Essa é a ideia central do livro que lhes é apresentado, de modo que possa ser consultado tanto por alunos de graduação quanto por alunos de pós-graduação que estão iniciando suas pesquisas em diferentes linhas, com foco nas técnicas usadas para polímeros em solução que podem ser úteis na elaboração de estruturas controladas em solução, mas também de materiais como fibras ou filmes.

Sumário

Extração, purificação e caracterização química de polissacarídeos	11
Biopolímeros com aplicações biomédicas e na indústria de alimentos.....	35
Filmes de biopolímeros via <i>casting</i>	63
Complexos de polieletrólitos e coacervados.....	81
Controle das estruturas de autoassociação de copolímeros em bloco em solução por gatilhos físico-químicos	100
Monocamadas automontadas poliméricas e filmes finos poliméricos: propriedades e aplicações biomédicas.....	120
Biossensores baseados em polímeros nanoestruturados.....	140
Síntese e caracterização de nanopartículas poliméricas	151
Suspensões poliméricas para recobrimento de material particulado em leito móvel	162
Eletrofiação: andaimes poliméricos fibrosos para aplicações na engenharia de tecidos	175
Nanofibras poliméricas com a técnica de fiação por sopro em solução.....	193
Fabricação de materiais poliméricos complexos: impressão 3D	207

Extração, purificação e caracterização química de polissacarídeos

*Shayane da Silva Milhorini**

Vanessa Suzane Schneider¹

Carina Boaron¹

Franciê Assis Melo Faria¹

Lucimara Mach Côrtes Cordeiro¹

Giuliana Cozzella Campo Grande^{1}*

INTRODUÇÃO

Os carboidratos são os compostos orgânicos mais abundantes no planeta, sendo encontrados como monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos ou, na maioria das vezes, como polissacarídeos (Reid, 1997; Avigad; Dey, 1997). Na natureza, as unidades de açúcar raramente encontram-se como monossacarídeos isolados, mas na forma de moléculas maiores com diversos monômeros ligados entre si. Esses polímeros participam da estrutura da parede celular de plantas, fungos e bactérias, da matriz extracelular de tecidos animais e do armazenamento de energia (Prestegard; Liu; Wildman, 2017). Quimicamente, são moléculas de poliídrolaldeídos, poliídoxicetonas ou compostos que possam ser hidrolisados a essas unidades.

Os monossacarídeos são a forma mais simples desses compostos e podem estar ligados para formar estruturas maiores, como os oligossacarídeos (polímeros com menos de vinte unidades monossacarídicas) e os polissacarídeos (mais de vinte unidades). As moléculas que apresentam mais de um tipo de monossacarídeo em sua cadeia são chamadas de carboidratos complexos, como as galactomananas, formadas por resíduos de galactose e manose (Seeberger, 2017). Esses biopolímeros diferem entre si quanto à configuração do carbono anomérico, os tipos de monômeros que constituem

* Autores correspondente: Shayane da Silva Milhorini (shyanedasilva.s@gmail.com)

Giuliana Cozzella Campo Grande (giu.cozzella@gmail.com)

¹ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Programa de Pós-Graduação em Ciências (Bioquímica), Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba-PR.

sua cadeia, os tipos de ligação que unem esses resíduos, o grau de ramificação e o comprimento das cadeias (Nelson; Cox, 2011).

Os polissacarídeos representam uma relevante classe de compostos bioativos por apresentarem uma variedade de atividades biológicas (Simões *et al.*, 2003) que são intrínsecas aos seus parâmetros estruturais (Srivastava; Kulshreshtha, 1989). Estudos demonstram que os polissacarídeos obtidos a partir de diferentes fontes, como plantas, fungos, vinhos, algas e bactérias, apresentam atividades antioxidantes (Schneider *et al.*, 2020), anti-inflamatórias (Bezerra *et al.*, 2018; Carbonero *et al.*, 2008), gastroprotetoras (Abboud *et al.*, 2019; Nascimento *et al.*, 2013; Cipriani *et al.*, 2006), antivirais (Cassolato *et al.*, 2008), antitumorais (Adami *et al.*, 2018; Adami *et al.*, 2020; Tamiello *et al.*, 2018a), antinociceptivas (Nascimento *et al.*, 2016; Leivas *et al.*, 2016), entre outras.

Na indústria, os polissacarídeos são aplicados por possuírem diferentes propriedades químicas. A carboximetilcelulose (CMC), por exemplo, é adicionada às sobremesas congeladas com a finalidade de inibir o crescimento dos cristais de gelo, atuando como um estabilizante. Na indústria farmacêutica, o mesmo composto atua como agente de revestimento de comprimidos, devido a sua insolubilidade na acidez estomacal e solubilidade no intestino. Ainda, na indústria cosmética, a CMC pode ser adicionada com a finalidade de proporcionar estabilidade em emulsões e loções (Izydorczyk; Cui; Wang, 2005). Outro grande exemplo de aplicação industrial de carboidratos são as pectinas, moléculas abundantes em plantas superiores, caracterizadas, principalmente, pela presença de açúcares ácidos em sua estrutura (Aspinall, 1970).

Na indústria alimentícia, as pectinas atuam como agentes gelificantes em alimentos, como geleias e produtos de confeitaria, e podem ser usadas como uma alternativa ao uso da gelatina (Izydorczyk; Cui; Wang, 2005). Além desses polissacarídeos, a goma guar é muito utilizada como aditivo alimentar, de modo a favorecer a textura dos alimentos, uma vez que os emulsifica, engrossa e estabiliza (Goldstein; Alter; Seaman, 1973). Na indústria cosmética, essa goma favorece o espessamento e a emulsão dos produtos (Chudzikowski, 1971). Outro polissacarídeo com aplicação industrial é a carragenana, amplamente utilizada como espessante, gelificante e estabilizante de alimentos (Campo *et al.*, 2009).

Existem diversos métodos para extrair, purificar e caracterizar esses biopolímeros. Esse capítulo resume alguns métodos para a obtenção de polissacarídeos brutos ou purificados, bem como as técnicas mais comumente utilizadas para sua caracterização química.

EXTRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS

A aplicação e o estudo dos polissacarídeos estão vinculados à extração e ao isolamento eficientes. O processo de extração sempre envolve uma transferência de massa de uma fase para outra. Fatores como temperatura, pH, pressão e força iônica do solvente podem afetar a extração do material polimérico. Para a escolha de um método de extração adequado, deve-se levar em consideração a natureza da estrutura da parede celular da matéria-prima utilizada. Além disso, é preciso ter em vista a inalteração das propriedades polissacarídicas como massa molar média ponderal (Mw), conformação estrutural e tipos de ligações glicosídicas, uma vez que essas características são as principais responsáveis pelas propriedades bioativas desses polímeros (Wang *et al.*, 2016).

Preliminarmente, os compostos apolares, como os lipídios, podem ser removidos da matéria-prima desidratada com algum solvente orgânico, como acetona, etanol ou misturas de clorofórmio e metanol. Em seguida, a extração dos polissacarídeos é realizada. Por meio da variação das condições de extração, partindo de condições mais brandas para mais fortes (pelo aumento da temperatura do solvente, por exemplo), diferentes polissacarídeos podem ser obtidos. Em geral, a extração desses polímeros é realizada com água na temperatura ambiente, seguida de um processo de centrifugação ou filtração para remover o material não solubilizado (Abreu *et al.*, 2019; Milhorini *et al.*, 2018). Esse material pode, posteriormente, ser submetido à extração com água quente ou outras soluções aquosas (Campo Grande, 2019; Chaves; Iacomini; Cordeiro, 2019; Schneider; Iacomini; Cordeiro, 2019).

Soluções alcalinas, como hidróxido de sódio (NaOH) ou hidróxido de potássio (KOH) 10%, também são amplamente utilizadas para a extração desses polímeros da parede celular (Nascimento *et al.*, 2013; Schneider;

Iacomini; Cordeiro, 2019). Nessas condições, os polissacarídeos que inicialmente não foram extraídos são liberados da complexa rede das paredes celulares. O borohidreto de sódio (NaBH_4) é normalmente adicionado para reduzir o risco de reações de β -eliminação, em que os resíduos redutores da cadeia polissacarídica podem ser sequencialmente eliminados em meio fortemente alcalino (Izydorczyk, 2005).

Outras técnicas têm ganhado destaque na comunidade científica e industrial, tanto por ampliarem o rendimento de obtenção de material quanto por serem ambientalmente favoráveis, tais como: a extração com líquido pressurizado (*Pressurized liquid extraction* — PLE); a extração assistida por ultrassom (*Ultrasonic-assisted extraction* — UAE); a extração enzimática assistida (*Enzymatic-assisted extraction* — EAE); entre outras.

A PLE consiste em utilizar pressões supercríticas, que possibilitam aquecer o solvente acima do ponto de ebulição e manter o estado líquido. Dessa forma, a constante dielétrica da água e sua viscosidade são modificadas, viabilizando a solubilização de polissacarídeos (Plaza; Turner, 2015). Já na UAE, a onda de ultrassom contribui para o inchaço e a hidratação da parede celular e, conseqüentemente, sua ruptura e transferência desses biopolímeros para a solução aquosa (Hromádková; Ebringerová; Valachovič, 1999). Enquanto isso, a estratégia de uso da EAE apresenta a vantagem de as enzimas catalisarem seletivamente a região de degradação das paredes e membranas celulares, permitindo uma liberação e extração eficientes de compostos bioativos (Ferri *et al.*, 2020). Esses processos apresentam o benefício de não demandar recuperação de solvente no final da extração.

PURIFICAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS

Uma vez que o procedimento de extração foi realizado, os polissacarídeos podem ser obtidos a partir do extrato bruto. Esses biopolímeros são insolúveis em solventes orgânicos, de forma que podem ser precipitados a partir de uma solução aquosa neutra utilizando um solvente orgânico miscível com água, como o etanol (Morrison, 1996). Essa precipitação pode ser realizada com etanol em excesso (3:1, v/v), que permite a recuperação dos polissacarídeos no precipitado, enquan-

to as moléculas de baixa Mw, como os oligossacarídeos, são mantidas no sobrenadante (Alquini, 2010). Além da precipitação com excesso de etanol, também é possível realizar a precipitação seriada, que consiste na adição gradual de etanol. Uma vez que uma amostra pode conter polissacarídeos com diferentes características físico-químicas, como Mw e grau de ramificação, a adição gradual de etanol permite a precipitação seletiva dessas macromoléculas, com a obtenção de polímeros distintos dependendo da concentração de etanol utilizada (Bian *et al.*, 2010; Peng *et al.*, 2011; Peng *et al.*, 2013).

A adição de solvente orgânico em uma solução aquosa resulta não apenas na precipitação de polissacarídeos, mas também de proteínas (Burgess, 2009; Yoshikawa *et al.*, 2012). Devido a isso, em muitas situações é necessário realizar a remoção das proteínas de um extrato ou fração polissacarídica. Para isso, diferentes técnicas podem ser aplicadas, como o uso de enzimas proteases (Zha *et al.*, 2012; Zeng *et al.*, 2019); o tratamento com ácido tricloroacético (TCA), que pode ser realizado utilizando diferentes concentrações do ácido (Zeng *et al.*, 2019); a adsorção em resina (Liu *et al.*, 2010; Shi *et al.*, 2019); o método de Sevag, utilizando clorofórmio e *n*-butanol para precipitar as proteínas de uma solução de polissacarídeos (Sevag; Lackman; Smolens, 1938; Staub, 1965); e a utilização de solução alcalina aliada ao aumento da temperatura, que assim como em extrações alcalinas, necessita da adição de NaBH_4 para proteger a unidade redutora do polissacarídeo, evitando sua degradação (Smiderle *et al.*, 2008; Silva, 2017).

Além da remoção de proteínas, é necessário considerar que, para obter um polissacarídeo purificado, os diferentes polissacarídeos presentes na amostra devem ser separados. Com esse objetivo, são aplicadas metodologias de separação e purificação que possuem como base as características físicas e químicas dessas biomoléculas, como solubilidade em água, massa molar, carga da molécula, capacidade de formar complexos com íons metálicos Cu (II), composição monossacarídica, tipos de ligação e configuração do carbono anomérico.

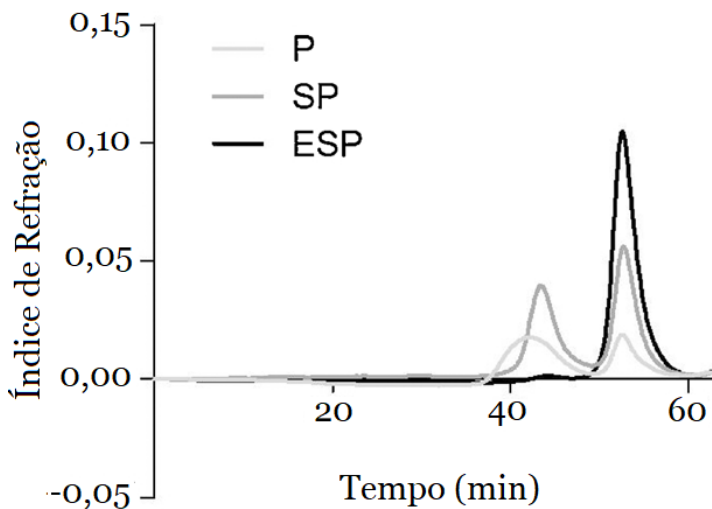
O processo de congelamento e descongelamento (Gorin; Iacomini, 1984) é um método utilizado para separar polissacarídeos que possuem

solubilidades diferentes em água fria. Esse método, que apresenta as vantagens de ser simples e de baixo custo, é eficaz devido às diferenças no grau de ramificação dos polissacarídeos contidos na mistura, pois as moléculas lineares ou menos ramificadas tendem a precipitar em água fria, enquanto as mais ramificadas permanecem solúveis (Ruthes et al., 2013; Ruthes; Smiderle; Iacomini, 2015). Após a realização do procedimento de congelamento e descongelamento por repetidas vezes, os polissacarídeos podem ser facilmente separados por centrifugação, uma vez que as moléculas solúveis em água fria são obtidas no sobrenadante e as insolúveis no precipitado (Gorin; Iacomini, 1984).

A utilização de um único método, como congelamento e descongelamento, corriqueiramente não é o suficiente para a purificação de um polissacarídeo, visto que mais de uma molécula presente na mistura pode ser solúvel ou insolúvel em água fria. Dessa forma, outras características das moléculas que compõem a amostra devem ser ponderadas para a escolha de outros métodos de purificação.

Uma possibilidade é realizar a separação dos polissacarídeos considerando suas diferenças de Mw. Para averiguar se os polissacarídeos de uma amostra possuem Mw distinta, pode-se analisá-la por cromatografia de alta performance por exclusão de tamanho acoplada a um detector de índice de refração (*High Performance Size Exclusion Chromatography — Refraction Index Detector*, HPSEC-RI). Um cromatograma com perfil heterogêneo, ou seja, com dois ou mais picos, evidencia que a amostra é composta por polissacarídeos com Mw diferentes (exemplo: amostras P e SP) (Figura 1). Já um perfil homogêneo, ou seja, com apenas um pico, indica que a amostra é composta por um polissacarídeo puro ou por polissacarídeos com Mw similares (exemplo: amostra ESP) (Figura 1) (Milhorini et al., 2018).

FIGURA 1 — PERFIS DE ELUIÇÃO DAS FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS P, SP E ESP OBTIDOS EM HPSEC-RI



Fonte: Adaptado de Milhorini *et al.* (2018).

Para amostras que apresentam um perfil heterogêneo, metodologias de purificação baseadas nessa heterogeneidade podem ser escolhidas. Membranas de diálise com porosidade específica podem ser utilizadas, nas quais os polissacarídeos de tamanho superior ao da porosidade da membrana ficam retidos, enquanto os de tamanho inferior são eluídos da membrana (Smiderle, 2008; Komura, 2009; Silva, 2017). Além da diálise, membranas específicas podem ser utilizadas em processos de ultrafiltração. Para isso, um sistema de filtragem adequado deve ser empregado, no qual é aplicada pressão pelo acoplamento com um cilindro de ar comprimido (Paredes, 2015; Chaves, 2015; Campo Grande, 2019).

As membranas utilizadas tanto no processo de diálise como na ultrafiltração são projetadas para a purificação de proteínas. Portanto, a escolha de uma porosidade adequada para a purificação de uma mistura de polissacarídeos pode ser difícil, uma vez que essas biomoléculas podem adquirir diferentes conformações em soluções aquosas, o que influencia no perfil de eluição. Devido a isso, mesmo apresentando M_w maior que a porosidade

escolhida, os polissacarídeos podem ser eluídos através da membrana de diálise ou ultrafiltração (Ruthes; Smiderle; Iacomini, 2015).

Além dos métodos supracitados, a utilização de diferentes tipos de técnicas cromatográficas é uma alternativa no processo de purificação. A cromatografia de permeação em gel, por exemplo, pode ser escolhida quando se tem uma mistura de polissacarídeos com diferentes Mw. O gel a ser utilizado vai depender da distribuição de massa dos polissacarídeos, sendo que os géis de Sephadex, Sepharose, Bio-gel, Sephacryl, Superdex e Superose são os mais comuns (Tang *et al.*, 2020).

Há métodos de purificação que não se baseiam na Mw dos polissacarídeos. A cromatografia de troca iônica, por exemplo, pode ser utilizada quando a mistura possui polissacarídeos neutros e carregados (Ruthes; Smiderle; Iacomini, 2015). Para isso, diferentes colunas podem ser empregadas, como dietilaminoetil (DEAE) celulose, DEAE Sepharose Fast Flow, DEAE-Sephadex e Q-Sepharose (Tang *et al.*, 2020).

Outra metodologia é a purificação por precipitação por meio da formação de complexos dos polissacarídeos com íons metálicos Cu (II). Para a realização desse procedimento, é utilizado o reagente de Fehling (Jones; Stoodley, 1965), em que duas soluções são empregadas: uma solução alcalina, composta por hidróxido de potássio, tartarato de sódio e potássio tetra-hidratado; e uma solução de sulfato de cobre (II) (Sovrani, 2016; Silva, 2017). Os íons metálicos Cu (II) formam complexos na presença de grupos reativos (COOH, OH, NH₂), levando à precipitação do polissacarídeo capaz de formar esse complexo (Ruthes; Smiderle; Iacomini, 2015).

Alguns dos polissacarídeos que tendem a ficar no sobrenadante, ou seja, não são precipitados pelo reagente de Fehling, são o glicogênio (Silva, 2017), a arabinogalactana (Tamiello *et al.*, 2018), a arabinana (Cordeiro; Almeida; Iacomini, 2015) e a β -glucana (Sovrani *et al.*, 2017), embora já tenha sido relatada a precipitação desse último polímero (Smiderle, 2008). Os polissacarídeos que normalmente precipitam no tratamento com reagente de Fehling são: fucogalactana (Ruthes *et al.*, 2012), fucomanogalactana (Ruthes *et al.*, 2013), galactana (Brito *et al.*, 2018), manogalactana (Smiderle *et al.*, 2008), homogalacturonana (Tamiello *et al.*, 2018) e glucuronoxilana (Schneider; Iacomini; Cordeiro, 2019).

Outras metodologias simples e efetivas podem ser utilizadas no processo de purificação. Por exemplo, o tratamento brando com NaOH 0,1 mol/L é um método de baixo custo que pode ser empregado para separar glucanas insolúveis em água que possuem diferentes configurações anôméricas e graus de ramificação (Jesus *et al.*, 2018). Além disso, tratamentos com enzimas como β -glucanase (Smiderle, 2012), α -amilase (Smiderle, 2012; Milhorini *et al.*, 2018), galactanase (Leivas; Iacomini; Cordeiro, 2015) e inulinase (Chaves; Iacomini; Cordeiro, 2019) são eficientes na remoção de polissacarídeos indesejados, que são degradados e, posteriormente, removidos por precipitação etanólica e diálise.

CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA QUÍMICA DOS POLISSACARÍDEOS

Não há uma metodologia única apropriada para a análise qualitativa e quantitativa de carboidratos (Nagy; Peng; Pohl, 2017; Nelson; Cox, 2011). Essa falta de ferramentas analíticas tem dificultado uma maior compreensão da relação entre a estrutura e as funções biológicas dos carboidratos, além de prejudicar o desenvolvimento de novas aplicações (Nagy; Pohl, 2015). Atualmente, é necessário o uso em conjunto de métodos cromatográficos, espectrofotométricos e espectrométricos na elucidação estrutural desses biopolímeros, baseando-se inicialmente em seus constituintes unitários, os monossacarídeos.

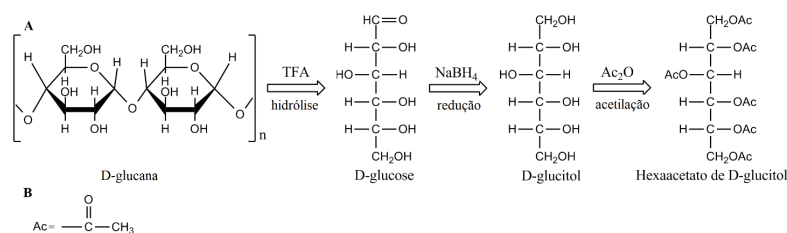
Para a compreensão da composição monossacarídica (tipos de monômeros e suas quantidades), primeiro é realizada a despolimerização do polissacarídeo por meio de hidrólise ácida (Figura 2). Nessa etapa, as ligações glicosídicas são rompidas com o emprego de ácido sulfúrico, ácido clorídrico, ácido trifluoroacético (TFA) ou outro ácido facilmente removível, para formar monossacarídeos livres (Brummer; Cui, 2005). Em seguida, a análise da composição monossacarídica é realizada por métodos como Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (Clae), Cromatografia de Troca Aniônica de Alto Desempenho com Detecção Amperométrica Pulsada (*High Performance Anion-Exchange Chromatography with Pul-*

sed Amperometric Detection — HPAEC-PAD), ou Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa (CG-EM).

Para a análise por cromatografia gasosa, faz-se necessária a derivatização da molécula, visando a obtenção de compostos voláteis e termicamente estáveis. Um método clássico foi estabelecido por Wolfrom e Thompson (1963a). Nesse método, inicialmente, as aldoses e cetoses presentes na amostra hidrolisada são reduzidas a álcool, utilizando o agente redutor NaBH_4 (Figura 2); dessa maneira, evita-se a mutarrotação e a consequente conversão entre as formas α , β , piranosídica e furanosídica dos monossacarídeos. Em seguida, os grupos hidroxilas são acetilados com anidrido acético (Wolfrom; Thompson) (Figura 2). Dessa forma, os monossacarídeos, agora convertidos em acetatos de alditóis, tornam-se voláteis e adequados para serem analisados em CG-EM. A identificação e a quantificação dos monossacarídeos são realizadas utilizando os dados de tempo de retenção e/ou perfil de fragmentação (Sasaki; Souza, 2013).

Honda et al. (1989) desenvolveram outro método de derivatização pré-coluna de carboidratos utilizando 1-fenil-3-metil-5-pirazolona (PMP), que produz derivados com bom rendimento, permitindo sua análise por Clae (Shen; Perreault, 1998).

FIGURA 2 — REPRESENTAÇÃO DOS PROCESSOS DE HIDRÓLISE E DERIVATIZAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS PARA ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA



a) Reações químicas do processo de formação de acetatos de alditol para análise de composição monossacarídica.

b) Grupamento acetil.

Fonte: As autoras (2020).

No que se referem às análises de ácidos urônicos, essas são mais complexas em relação aos monossacarídeos neutros. Isso ocorre possivelmente por consequência da maior estabilidade de suas ligações glicosídicas e, dessa forma, a hidrólise se torna menos eficiente devido à menor liberação de ácidos urônicos como monômeros. Além disso, uma vez liberados, os ácidos urônicos degradam-se mais rapidamente sob condições ácidas em comparação com açúcares neutros (Andersson; Westerlund; Åman, 2006). Sasaki et al. (2008) também apontaram que os acetatos de ácidos urônicos são inadequados para análise em cromatografia gasosa, uma vez que o grupo carboxílico C-6 não permite a sua eluição na coluna. Por esse motivo, a quantificação dos ácidos urônicos é usualmente realizada a partir de métodos colorimétricos. Uma técnica comumente empregada é a reação utilizando *m*-hidroxidifenil, que produz complexos de cor rosa (Brummer; Cui, 2005). Esse método apresenta elevada sensibilidade e especificidade, com pouca interferência por açúcares neutros (Filisetti-Cozzi; Carpita, 1991).

A análise de composição monossacarídica é, com frequência, combinada com o experimento de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Essa técnica permite a identificação dos monossacarídeos, a elucidação da configuração dos carbonos anoméricos (α ou β) e o estabelecimento dos tipos de ligações glicosídicas. Diversos núcleos atômicos podem ser estudados, sendo que os núcleos mais comumente observados em carboidratos são ^{13}C e ^1H e, com menor frequência, os núcleos ^{15}N , ^{19}F e ^{31}P (Duus; Gotfredsen; Bock, 2000).

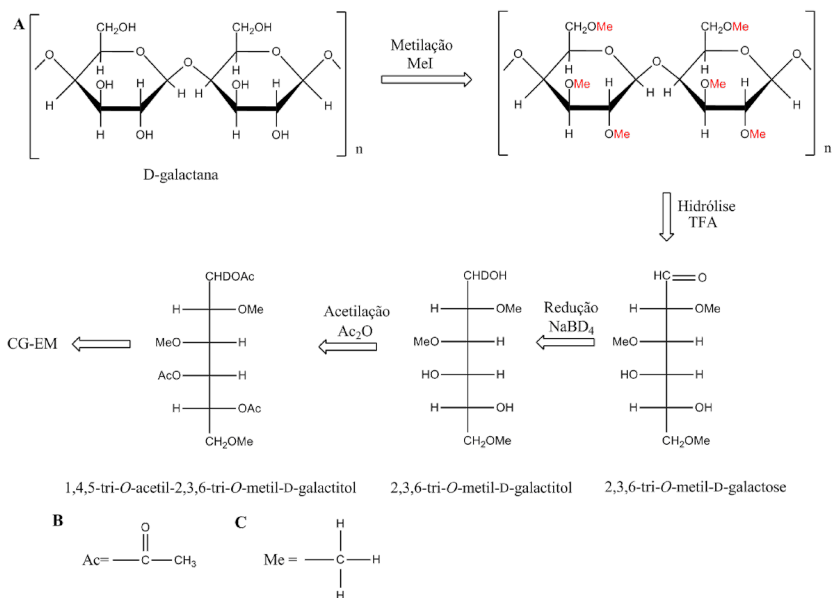
A técnica utiliza uma região de baixa energia do espectro eletromagnético, a das radiofrequências, e baseia-se nas propriedades magnéticas dos núcleos. Nem todos os núcleos de uma molécula apresentam sinais na mesma frequência. Isso ocorre em função dos núcleos serem rodeados por elétrons e, no contexto molecular, estarem em ambientes químicos diferentes uns em relação aos outros (Pavia et al., 2016).

Os espectros obtidos podem ser unidimensionais (1D) ou bidimensionais (2D). Os primeiros, geralmente de núcleos de ^1H ou ^{13}C , são simples de serem adquiridos. Análises mais complexas, com uma riqueza maior de detalhes estruturais, são os mapas de correlações bidimensionais, como experimentos de HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy*), COSY (*Homonuclear Correlation Spectroscopy*)

e TOCSY (*Total Correlation Spectroscopy*), que permitem identificar a interação entre núcleos distintos. A identificação das ligações glicosídicas é normalmente feita pelos experimentos de NOESY (*Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy*) e HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*). De acordo com os deslocamentos químicos observados para cada sinal nos espectros de RMN e a comparação com os dados publicados na literatura, é possível realizar a determinação dos grupos químicos, a identidade dos monossacarídeos, os tipos de ligação e a configuração de carbonos anoméricos, sendo uma análise indispensável na elucidação estrutural de carboidratos (Duus; Gotfredsen; Bock, 2000).

Outra importante análise para a caracterização estrutural é a metilação, que visa a descoberta da posição das ligações glicosídicas entre os monossacarídeos que compõem a cadeia polissacarídica. Essa técnica baseia-se em uma reação de alquilação dos resíduos de açúcar, de forma que todas as hidroxilas livres, ou seja, hidroxilas que não pertencem a nenhuma ligação, são passíveis de serem metiladas (Pettolino et al., 2012). O método de Ciucanu e Kerek (1984), ilustrado na Figura 3, é amplamente empregado e utiliza como agente metilante o iodeto de metila (MeI) em meio fortemente básico. Os polissacarídeos metilados são posteriormente hidrolisados em meio ácido e temperatura elevada, e as unidades monossacarídicas resultantes passam pelos processos de redução com borohidreto de sódio deuterado (NaBD_4) e acetilação com anidrido acético, gerando derivados de acetatos de alditol parcialmente metilados (AAPM). Os AAPM são analisados por CG-EM e a interpretação dos dados é baseada em dois parâmetros: o tempo de retenção e o perfil de fragmentação de cada um dos derivados metilados obtidos, que são comparados aos padrões de açúcares metilados (Pettolino et al., 2012).

FIGURA 3 — REPRESENTAÇÃO DOS PROCESSOS DE METILAÇÃO, HIDRÓLISE E DERIVATIZAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS PARA ANÁLISE DE METILAÇÃO EM CG-EM



- a) Reações químicas do processo de formação de acetatos de alditol parcialmente metilados.
 b) Grupamento acetil.
 c) Grupamento metil.

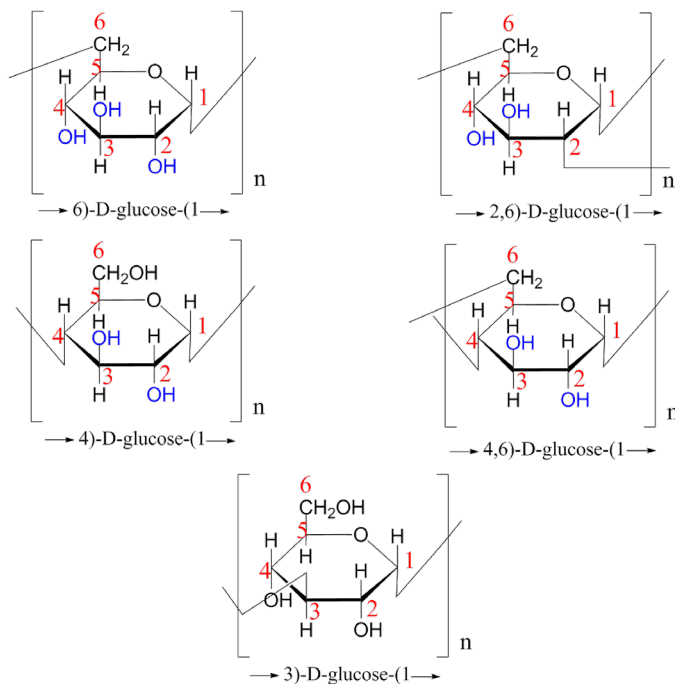
Fonte: As autoras (2020).

Como descrito anteriormente, existem limitações na análise dos açúcares ácidos por CG-EM. Para que os polissacarídeos que apresentam ácidos urônicos possam ser analisados por metilação, é necessário submetê-los previamente ao processo de carboxirredução. Ao final do processo, os açúcares ácidos transformam-se em seus correspondentes neutros (ex. ácido galacturônico em galactose) e podem ser, posteriormente, metilados e analisados (Pettolino *et al.*, 2012). Existem diversos métodos disponíveis para a redução do grupamento carbonila, entre eles, um método utilizando carbo-diimida, desenvolvido por Taylor e Conrad (1972).

Mais uma estratégia empregada no estudo da estrutura de polissacarídeos é a degradação controlada de Smith, que pode ser utilizada para elucidar a cadeia principal de determinados polissacarídeos (Ruthes; Smiderle;

lacomini, 2015). Nesse procedimento, a amostra é tratada com o agente oxidante periodato de sódio, o que leva à oxidação dos monossacarídeos que apresentam hidroxilas adjacentes livres (Abdel-Akher et al., 1952). O tipo de ligação é um determinante para a ocorrência dessas hidroxilas (Figura 4). Por exemplo, os monossacarídeos unidos por ligações do tipo (1→6) ou (1→4) possuem hidroxilas vicinais livres, portanto, podem ser oxidados. Os monômeros unidos por ligações (1→3), por sua vez, não apresentam hidroxilas adjacentes livres e não sofrem o processo de oxidação (Abdel-Akher et al., 1952).

FIGURA 4 — DIFERENTES TIPOS DE LIGAÇÕES GLICOSÍDICAS



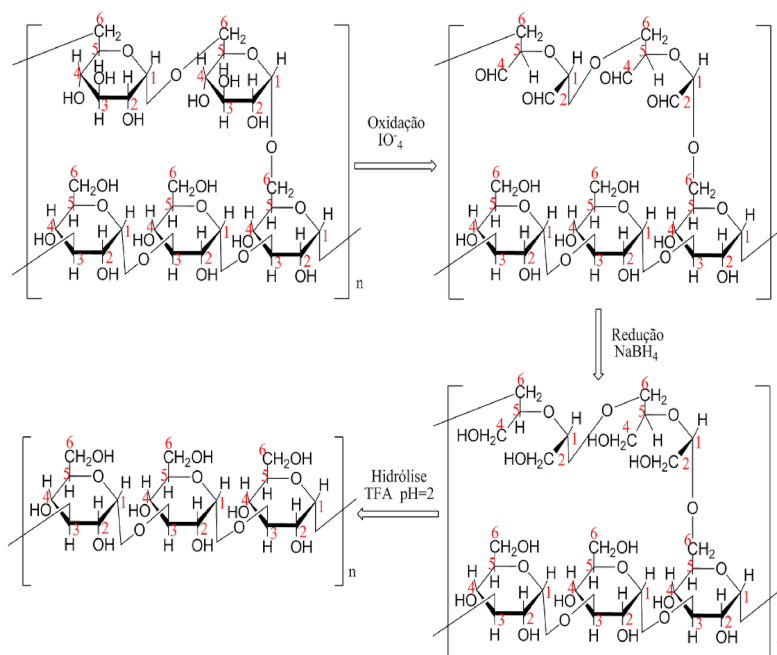
Hidroxilas adjacentes livres estão representadas em azul.

Fonte: As autoras (2020).

Após a oxidação, a amostra é reduzida com NaBH_4 e hidrolisada parcialmente com TFA pH 2,0 (Silva, 2017; Sovrani et al., 2017; Cantu-Jungles et al., 2018). No processo de hidrólise, apenas os monossacarídeos que foram oxidados serão hidrolisados e removidos da amostra. Portanto, ao final do procedimento, permanecerão os monossacarídeos resistentes à oxidação. A molécula resultante da degradação controlada de Smith é analisada por RMN (Silveira, 2015; Sovrani et al., 2017).

Esse método é muito utilizado na elucidação estrutural de β -glucanas que apresentam ligações do tipo (1 \rightarrow 3) e (1 \rightarrow 6), uma vez que a cadeia (1 \rightarrow 3) ligada é resistente à oxidação, enquanto a (1 \rightarrow 6) é oxidada (Figura 5). Esse experimento evidencia se a cadeia principal é (1 \rightarrow 3) ligada, se monossacarídeos ligados (1 \rightarrow 3) estão presentes nas ramificações ou se há uma cadeia principal alternativa, contendo ligações (1 \rightarrow 3) e (1 \rightarrow 6) (Ruthes; Smiderle; Iacomini, 2015).

FIGURA 5 — REPRESENTAÇÃO DA DEGRADAÇÃO CONTROLADA DE SMITH REALIZADA EM UMA B-GLUCANA COM UMA CADEIA PRINCIPAL (1 \rightarrow 3) LIGADA E COM RAMIFICAÇÃO NO C-6 POR UNIDADES (1 \rightarrow 6) LIGADAS



Fonte: As autoras (2020).

Finalmente, a determinação da Mw do polissacarídeo purificado também é importante e pode ser realizada por análise cromatográfica, como HPSEC (Ruthes *et al.*, 2013; Milhorini *et al.*, 2018; Campo Grande, 2019). O acoplamento do cromatógrafo a um detector RI permite o cálculo da massa molar relativa pela comparação com uma curva de padrões de dextranas (Milhorini *et al.*, 2018; Chaves; Iacomini; Cordeiro, 2019; Schneider; Iacomini; Cordeiro, 2019). O cromatógrafo pode, ainda, estar acoplado a um detector de espalhamento de luz, o que permite o cálculo da massa molar absoluta de forma precisa, sem a necessidade da utilização de padrões (Ruthes; Smiderle; Iacomini, 2015).

CONCLUSÃO

Os polissacarídeos são moléculas orgânicas de alta massa molar, formadas por unidades menores, os monossacarídeos. Entre si, esses polímeros variam quimicamente quanto a sua composição, tipo de ligação glicosídica, configuração do carbono anomérico, grau de ramificação e massa molar. Com a finalidade de extrair, isolar e desvendar a estrutura química de um polissacarídeo, diversas etapas são fundamentais. Primeiramente, a fim de obter essas biomoléculas a partir de determinada matéria-prima, deve-se escolher um método de extração. Para um maior rendimento e variedade dos polissacarídeos obtidos, mais de um processo e forma de extração podem ser realizados sequencialmente. Visando obter moléculas puras a partir do extrato bruto, diferentes processos de purificação podem ser utilizados, sendo escolhidos com base nas propriedades químicas e físicas dos polímeros presentes na amostra.

Por fim, para compreender a estrutura de um polissacarídeo purificado, vários métodos de caracterização química devem ser executados conjuntamente, uma vez que não há, até o momento, uma única técnica capaz de desvendar todas as características dessas moléculas. Este capítulo trouxe um compilado dos métodos tradicionais mais empregados no estudo desses biopolímeros, desde sua extração até as etapas mais avançadas de sua caracterização.

REFERÊNCIAS

- ABBOUD, K. Y. et al. Gastroprotective Effect of Soluble Dietary Fibres from Yellow Passion Fruit (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) Peel against Ethanol-Induced Ulcer in Rats. *Journal of Functional Foods*, v. 54, p. 552-558, 2019.
- ABDEL-AKHER, M. et al. A New Procedure for the Determination of the Fine Structure of Polysaccharides. *Journal of the American Chemical Society*, v. 74, p. 4970-4971, 1952.
- ABREU, H. et al. Gelling Functional Property, Anti-Inflammatory and Antinociceptive Bioactivities of B-D-Glucan from the Edible Mushroom *Pholiota nameko*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 122, p. 1128-1135, 2019.
- ADAMI, E. R. et al. Antineoplastic Effect of Pectic Polysaccharide from Green Sweet Pepper (*Capsicum annuum*) on Mammary Tumor Cells *In Vivo* And *In Vitro*. *Carbohydrate Polymers*, v. 201, p. 208-292, 2018.
- ADAMI, E. R. et al. Polysaccharides from Green Sweet Pepper Increase the Antineoplastic Effect of Methotrexate on Mammary Tumor Cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 158, p. 1071-1081, 2020.
- ALQUINI, G. *Caracterização estrutural de polissacarídeos obtidos do corpo de frutificação e cultivo submerso de Agaricus bisporus*. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências-Bioquímica) — Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- ANDERSSON, R.; WESTERLUND, E.; ÅMAN, P. Cell-Wall Polysaccharides: Structural, Chemical and Analytical Aspects. In: ELIASSON, A. C. (ed.). *Carbohydrates in food*. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2006. p. 142-149.
- ASPINALL, G. O. Pectins, Plant Gums and Other Plant Polysaccharides. In: PIGMAN, W. (ed.). *The Carbohydrates*. 2. ed. New York: Academic Press, 1970. p. 515-536.
- AVIGAD, G.; DEY, P. M. Carbohydrate metabolism: storage carbohydrates. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. (ed.). *Plant Biochemistry*. San Diego: Academic Press, 1997. p. 143-204.
- BEZERRA, I. L. et al. Structural Characterization of Polysaccharides from Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon and Sauvignon Blanc Wines: Anti-Inflammatory Activity in LPS Stimulated Raw 264.7 Cells. *Carbohydrate Polymers*, v. 186, p. 91-99, 2018.

BIAN, J. et al. Isolation and Fractionation of Hemicelluloses by Graded Ethanol Precipitation from *Caragana korshinskii*. *Carbohydrate Research*, v. 345, p. 802-809, 2010.

BRITO, D. R. et al. Partially Methylated Galactans Containing Different Proportions of 3-O-Methyl-Galactose from *Pleurotus citrinopileatus*. *Carbohydrate Research*, v. 458-459, p. 29-34, 2018.

BRUMMER, Y.; CUI, S. W. Understanding Carbohydrate Analysis. In: CUI, S. W. (ed.). *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications*. Boca Raton: CRC Press, 2005, p. 67-104.

BURGESS, R. R. Protein Precipitation Techniques. In: BURGESS, R. R.; DEUTSCHER, M. P. (ed.). *Methods in Enzymology*. v. 463, p. 331-342, 2009.

CAMPO, V. L. et al. Carrageenans: Biological Properties, Chemical Modifications and Structural Analysis — A Review. *Carbohydrate Polymers*, v. 77, p. 167-180, 2009.

CAMPO GRANDE, G. C. *Polissacarídeos das folhas de Piper umbellatum e Piper regnellii e atividade anti-inflamatória de Piper umbellatum*. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências-Bioquímica) — Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

CANTU-JUNGLES, T. M. et al. *In Vitro* Fermentation of *Cookeina speciose* Glucans Stimulates the Growth of the Butyrogenic *Clostridium cluster* XIVA in a Targeted Way. *Carbohydrate Polymers*, v. 183, p. 219-229, 2018.

CARBONERO, E. R. et al. *Lentinus edodes* Heterogalactan: Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects. *Food Chemistry*, v. 111, n. 3, p. 531-537, 2008.

CASSOLATO, J. E. F. et al. Chemical Structure and Antiviral Activity of the Sulfated Heterorhamnan Isolated from the Green Seaweed *Gayralia oxysperma*. *Carbohydrate Research*, v. 343, n. 18, p. 3085-3095, 2008.

CHAVES, P. F. P. *Polissacarídeos de infusão de camomila (Chamomilla recutita [L.] Rauschert): caracterização estrutural e atividades antinociceptiva e antiúlcera gástrica*. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências-Bioquímica) — Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

CHAVES, P. F. P.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. M. C. Chemical Characterization of Fructooligosaccharides, Inulin and Structurally Diverse Polysaccharides from Chamomile Tea. *Carbohydrate Polymers*, v. 214, p. 269-275, 2019.

CHUDZIKOWSKI, R. J. Guar Gum and its Applications. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, v. 22, p. 43-60, 1971.

CIPRIANI, T. R. et al. Polysaccharide from a Tea (Infusion) of *Maytenus ilicifolia* Leaves with Anti-Ulcer Protective Effects. *Journal of Natural Products*, v. 69, p. 1018-1021, 2006.

CIUCANU, I.; KEREK, F. A Simple and Rapid Method for the Permethylation of Carbohydrates. *Carbohydrate Research*, v. 131, p. 209-217, 1984.

CORDEIRO, L. M. C.; ALMEIDA, C. P.; IACOMINI, M. Unusual Linear Polysaccharides: (1→5)- α -L-Arabinan, (1→3)-(1→4)- α -D-glucan and (1→4)- β -D-xylan from Pulp of Buriti (*Mauritia flexuosa*), an Edible Palm Fruit from the Amazon Region. *Food Chemistry*, v. 173, p. 141-146, 2015.

DUUS, J.; GOTFREDSEN, C. H.; BOCK, K. Carbohydrate Structural Determination by NMR Spectroscopy: Modern Methods and Limitations. *Chemical Reviews*, v. 100, p. 4589-4614, 2000.

FERRI, M. et al. Advances in Combined Enzymatic Extraction of Ferulic Acid from Wheat Bran. *New Biotechnology*, v. 56, p. 38-45, 2020.

FILISSETTI-COZZI, T. M. C. C.; CARPITA, N. C. Measurement of Uronic Acids without Interference from Neutral Sugars. *Analytical Biochemistry*, v. 197, p. 157-162, 1991.

GOLDSTEIN, A. M.; ALTER, E. N.; SEAMAN, J. K. Guar Gum. In: WHISTLER, R. (ed.). *Industrial Gums: Polysaccharides and their Derivatives*. 2. ed. Academic Press, 1973, p. 303-319.

GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. Polysaccharides of the Lichens *Cetraria islandica* and *Ramalina usnea*. *Carbohydrate Research*, v. 128, p. 119-132, 1984.

HONDA, S. et al. High-Performance Liquid Chromatography of Reducing Carbohydrates as Strongly Ultraviolet-Absorbing and Electrochemically Sensitive 1-phenyl-3-methyl-5-Pyrazolone Derivatives. *Analytical Biochemistry*, v. 180, n. 2, p. 351-357, 1989.

HROMÁDKOVÁ, Z.; EBRINGEROVÁ, A.; VALACHOVIČ, P. Comparison of Classical and Ultrasound Assisted Extraction of Polysaccharides from *Salvia officinalis* L. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 5, p. 163-168, 1999.

IZYDORCZYK, M. S. Understanding the Chemistry of Food Carbohydrates. In: CUI, S. W. (ed.). *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications*. Boca Raton: CRC Press, 2005, p. 1-65.

IZYDORCZYK, M. S.; CUI, S. W.; WANG, Q. Polysaccharide Gums: Structures, Functional Properties and Applications. In: CUI, S. W. (ed.). *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications*. Boca Raton: CRC Press, 2005. p. 269-314.

JESUS, L. I. *et al.* Simple and Effective Purification Approach to Dissociate Mixed Water Insoluble α - and β -D-glucans and its Application on the Medicinal Mushroom *Fomitopsis betulina*. *Carbohydrate Polymers*, v. 200, p. 353-360, 2018.

JONES, J. K. N.; STOODLEY, R. J. Fractionation Using Copper Complexes. *In: WHISTLER, R. L. (ed.). Methods in Carbohydrate Chemistry*. New York: Academic Press, 1965. v. 5. p. 36-38.

KOMURA, D. L. *Pleurotus ostreatus variedade florida: caracterização estrutural de polissacarídeos do micélio e exopolissacarídeos*. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências-Bioquímica) — Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

LEIVAS, C. L.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. M. C. Structural Characterization of a Rhamnogalacturonan I-arabinan-type I Arabinogalactan Macromolecule from Starfruit (*Averrhoa carambola* L.). *Carbohydrate Polymers*, v. 121, p. 224-230, 2015.

LEIVAS, C. L. *et al.* Substitued Galacturonan from Starfruit: Chemical Structure and Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 84, p. 295-300, 2016.

LIU, J. *et al.* A Simple Method for the Simultaneous Decoloration and De-proteinization of Crude Levan Extract from *Paenibacillus spolymyxa* EJS-3 by Macroporous Resin. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 6077-6083, 2010.

MILHORINI, S. S. *et al.* Fucogalactan from the Giant Mushroom *Macrocybe titans* Inhibits Melanoma Cells Migration. *Carbohydrate Polymers*, v. 190, p. 50-56, 2018.

MORRISON, I. M. Fractionation of Cell Wall Components. *In: LINSKENS, H. F.; JACKSON, J. F. (ed.). Plant Cell Wall Analysis*. Berlin: Springer, 1996. v. 17. p. 1-17.

NAGY, G.; PENG, T.; POHL, N. L. B. Recent Liquid Chromatographic Approaches and Developments for the Separation and Purification of Carbohydrates. *Analytical Methods*, v. 9, p. 3579-3593, 2017.

NAGY, G.; POHL, N. L. B. Monosaccharide Identification as a First Step toward *de Novo* Carbohydrate Sequencing: Mass Spectrometry Strategy for the Identification and Differentiation of Diastereomeric and Enantiomeric Pentose Isomers. *Analytical Chemistry*, v. 87, p. 4566-4571, 2015.

NASCIMENTO, G. E. *et al.* Structure of a Galactoarabinoglucuroxylan from Tamarillo (*Solanum betaceum*), a Tropical Exotic Fruit, and its Biological Activity. *Food Chemistry*, v. 141, p. 510-516, 2013.

NASCIMENTO, G. E. *et al.* Arabinoxylan from Mucilage of Tomatoes (*Solanum lycopersicum L.*): Structure and Antinociceptive Effect in Mouse Models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 64, n. 6, p. 1239-1244, 2016.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de bioquímica de Lehninger*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

PAREDES, L. L. R. *Caracterização estrutural dos carboidratos de yacon (Smollanthus sonchifolius) e propriedades biológicas e reológicas dos frutoligossacarídeos*. 107 f. Tese (Doutorado em Ciências-Bioquímica) — Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

PAVIA, D. L. *et al.* *Introdução à espectroscopia*. 5. ed. Washington: Cengage Learning, 2016.

PENG, P. *et al.* Studies on the Starch and Hemicelluloses Fractionated by Graded Ethanol Precipitation from *Bamboo Phyllostachys bambusoides f. shouzhui*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 2680-2688, 2011.

PENG, X. *et al.* Graded Ethanol Fractionation and Structural Characterization of Alkali-Extractable Hemicelluloses from *Olea europaea L.* *Bioresources*, v. 8, n. 1, p. 1110-1123, 2013.

PETTOLINO, F. A. *et al.* Determining the Polysaccharide Composition of Plant Cell Walls. *Nature protocols*, v. 9, p. 1590-1607, 2012.

PLAZA, M.; TURNER, C. Pressurized Hot Water Extraction of bioactives. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 71, p. 39-54, 2015.

PRESTEGARD, J. H.; LIU, J.; WILDMAN, G. Oligosaccharides and Polysaccharides. In: VARKI, A. *et al.* (ed.). *Essentials of Glycobiology*. 3. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2017.

REID, J. S. G. Carbohydrate Metabolism: Structural Carbohydrates. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. (ed.). *Plant Biochemistry*. San Diego: Academic Press, 1997. p. 205-236.

RUTHES, A. C. *et al.* Structural Characterization and Protective Effect Against Murine Sepsis of Fucogalactans from *Agaricus bisporus* and *Lactarius rufus*. *Carbohydrate Polymers*, v. 87, p. 1620-1627, 2012.

RUTHES, A. C. et al. Fucomannogalactan and Glucan from Mushroom *Amanita muscaria*: Structure and Inflammatory Pain Inhibition. *Carbohydrate Polymers*, v. 98, p. 761-769, 2013.

RUTHES, A. C.; SMIDERLE, F. R.; IACOMINI, M. D-Glucans from Edible Mushrooms: A Review on the Extraction, Purification and Chemical Characterization Approaches. *Carbohydrate Polymers*, v. 117, p. 753-761, 2015.

SASSAKI, G. L. et al. Application of Acetate Derivatives for Gas Chromatography- Mass Spectrometry: Novel Approaches on Carbohydrates, Lipids and Amino Acids Analysis. *Journal of Chromatography A*, v. 1208, p. 215-222, 2008.

SASSAKI, G. L.; SOUZA, L. M. Mass Spectrometry Strategies for Structural Analysis of Carbohydrates and Glycoconjugates. In: COELHO, A. V.; FRANCO, C. M. F. (ed.). *Tandem Mass Spectrometry: Molecular Characterization*. Croatia: IntechOpen, 2013. p. 81-115.

SCHNEIDER, V. S.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. M. C. β -L-Araf-Containing Arabinan and Glucuronoxylan from Guavira Fruit Pomace. *Carbohydrate Research*, v. 481, p. 16-22, 2019.

SCHNEIDER, V. S. et al. Dietary Fibres from Guavira Pomace, a Co-Product from Fruit Pulp Industry: Characterization and Cellular Antioxidant Activity. *Food Research International*, v. 132, p.109065, 2020.

SEEBERGER, P. H. Monosaccharide Diversity. In: VARKI, A. et al. (ed.). *Essentials of Glycobiology*. 3. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2017.

SEVAG, M. G.; LACKMAN, D. B.; SMOLENS, J. The Isolation of the Components of Streptococcal Nucleoproteins in Serologically Active Form. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 124, p. 425, 1938.

SHEN, X.; PERREAULT, H. Characterization Of Carbohydrates Using A Combination Of Derivatization, High-Performance Liquid Chromatography And Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 811, p. 47-59, 1998.

SHI, Y. et al. An Environmentally Friendly Deproteinization And Decolorization Method For Polysaccharides Of *Typha angustifolia* Based On A Metal Ion-Chelating Resin Adsorption. *Industrial Crops&Products*, v. 134, p. 160-167, 2019.

SILVA, S. *Polissacarídeos do cogumelo *Macrocybe titans*: caracterização estrutural e atividade biológica*. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências-Bioquímica) — Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

SILVEIRA, M. L. L. *Caracterização estrutural e ação antinociceptiva e anti-inflamatória de Polissacarídeos Isolados de Pleurotus sajor-caju*. 196 f. Tese (Doutorado em Ciências-Bioquímica) — Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2003.

SMIDERLE, F. R. *Caracterização estrutural de alguns polissacarídeos presentes no basidioma de Pleurotus pulmonarius e aplicações*. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciências-Bioquímica) — Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

SMIDERLE, F. R. et al. A 3-O-Methylated Mannogalactan from *Pleurotus Pulmonarius*: Structure and Antinociceptive Effect. *Phytochemistry*, v. 69, p. 2731-2736, 2008.

SMIDERLE, F. R. *Polissacarídeos produzidos por basidiomicetos e ascomi-ceto: caracterização estrutural e atividade imunomoduladora*. 159 f. Tese (Doutorado em Ciências - Bioquímica) — Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

SOVRANI, V. *Caracterização estrutural de polissacarídeos do cogumelo Pholiota nameko*. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências-Bioquímica) — Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

SOVRANI, V. et al. Structural Characterization and Rheological Properties Of A Gel-Like β -D-glucan from *Pholiota nameko*. *Carbohydrate Polymers*, v. 169, p. 1-8, 2017.

SRIVASTAVA, R.; KULSHRESHTHA, D. K. Bioactive Polysaccharides from Plants. *Phytochemistry*, v. 28, n. 11, p. 2877-2883, 1989.

STAUB, A. M. Removal of Protein — Sevag Method. In: WHISTLER, R. L. (ed.). *Methods in Carbohydrate Chemistry*. Academic Press, New York, v. 5, p. 5-6, 1965.

TAMIELLO, C. S. et al. Structural Features of Polysaccharides from Edible Jambo (*Syzygium jambos*) Fruits and Antitumor Activity of Extracted Pectins. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 118, p. 1414-1421, 2018a.

TAMIELLO, C. S. et al. Arabinogalactan from Edible Jambo Fruit Induces Different Responses on Cytokine Secretion by THP-1 Macrophages in the Absence and Presence of Proinflammatory Stimulus. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 107, p. 35-41, 2018b.

TANG, W. et al. Consecutive and Progressive Purification of Food-Derived Natural Polysaccharide: Based on Material, Extraction Process and Crude Polysaccharide. *Trends in Food Science & Technology*, v. 99, p. 76-87, 2020.

TAYLOR, R. L.; CONRAD, H. E. Stoichiometric Depolymerization of Polyuronides and Glycosaminoglycuronans to Monosaccharides Following Reduction of their Carbodiimide-Activated Carboxyl Groups. *Biochemistry*, v. 11, n. 8, p. 1383-1388, 1972.

WANG, J. et al. Reviews on Mechanisms of In Vitro Antioxidant Activity of Polysaccharides. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 16, p. 1-13, 2016.

WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Reduction with Sodium Borohydride. In: WHISTLER, R.L.; WOLFROM, M. L. (ed.). *Methods in Carbohydrate Chemistry*. New York: Academic Press, 1963a. v. 2. p. 65-67.

WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Acetylation. In: WHISTLER, R. L.; WOLFROM, M. L. (ed.). *Methods in Carbohydrate Chemistry* New York: Academic Press, 1963b. v. 2. p. 211-215.

YOSHIKAWA, H. et al. Mechanistic Insights into Protein Precipitation by Alcohol. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 50, p. 865-871, 2012.

ZHA, X. Q. et al. Polysaccharides in *Laminaria japonica* (LP): Extraction, Physicochemical Properties and their Hypolipidemic Activities in Diet-Induced Mouse Model of Atherosclerosis. *Food Chemistry*, v. 134, p. 244-252, 2012.

ZENG, X. et al. Effects of Deproteinization Methods on Primary Structure and Antioxidant Activity of *Ganoderma lucidum* Polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 126, p. 867-876, 2019.

Biopolímeros com aplicações biomédicas e na indústria de alimentos

Valdir Aniceto Pereira Júnior^{1*}

Carina Boaron²

Franciê Assis Melo Faria²

Genilza da Silva Mello^{2*}

INTRODUÇÃO AOS BIOPOLÍMEROS

Os polímeros desempenham um papel de extrema importância na sociedade, estando presentes em quase todos os setores da medicina, da agricultura, da construção civil, de embalagens e de eletroeletrônicos. O petróleo apresenta-se como a principal matéria-prima para a produção de materiais poliméricos, e essa relação de dependência, atrelada ao aumento do seu preço por causa dos conflitos geopolíticos no Oriente Médio, bem como a necessidade de redução dos índices de poluição e a expansão de mercados consumidores representados por países com grande densidade populacional, como a Índia e a China, resultou no desenvolvimento dos biopolímeros, alternativas mais baratas e *eco-friendly* (Black, 2012).

Biopolímeros são biomoléculas poliméricas com seus monômeros ligados por meio de ligações covalentes, obtidos diretamente de fontes naturais ou quimicamente sintetizados utilizando componentes naturais como matérias-primas, podendo ser extraídos de micro-organismos, crustáceos ou plantas, principalmente (Mohan *et al.*, 2016). Uma característica destacável da grande maioria dos biopolímeros é a biodegradação: a capacidade de degradação em um período de tempo curto e de forma limpa, produzindo moléculas simples encontradas no ambiente (CO_2 e H_2O , por exemplo) após a sua decomposição enzimática (Tang *et al.*, 2012).

* Autores correspondentes.

1 Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina - FAPESC, Florianópolis-SC.

E-mail: valdir.junior@fapesc.sc.gov.br

2 Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Programa de Pós-Graduação em Ciências (Bioquímica), Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba-PR, e-mail: genilza_mello@hotmail.com.

Na medicina, os biopolímeros são empregados na forma de biomateriais, apresentando uma interface com os sistemas biológicos, na perspectiva de avaliar, tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do corpo. Nesse caso, esses materiais precisam ser biocompatíveis, ou seja, aceitáveis pelo organismo sem produzir efeitos indesejáveis (Ratner *et al.*, 2005; Chan; Ngan; King, 2009; Hasan; Pandey, 2015).

Na agricultura os biopolímeros são aplicados, principalmente, na forma de biofilmes, preservando frutas, legumes e sementes contra a ação deteriorante causada por micro-organismos e outros patógenos, favorecendo, desta forma, o seu crescimento e melhorando sua produção (Hernández-Lauzardo *et al.*, 2008; Badawy; Rabea, 2011).

Os biopolímeros têm se destacado em diversas aplicações, incluindo a preservação de alimentos (Dutta *et al.*, 2009; Shahidi; Arachchi; Jeon, 1999), o uso na indústria farmacêutica, a fabricação de embalagens (Yadav *et al.*, 2018; Franco *et al.*, 2004) e a biorremediação por meio da adsorção de metais pesados, corantes e outros resíduos poluentes no meio ambiente (Gutnick; Bach, 2000). Uma das principais vantagens desses materiais está na possibilidade de extração de fontes renováveis, como plantas, oferecendo alternativas sustentáveis. Além disso, micro-organismos desempenham um papel crucial na produção de biomateriais, incluindo polissacarídeos, poliésteres e poliamidas. Recentemente, os bioplásticos derivados de algas também têm se mostrado uma opção promissora para atender à crescente demanda por materiais biodegradáveis e sustentáveis (Mohan *et al.*, 2016).

CLASSIFICAÇÃO DOS BIOPOLÍMEROS: RELEVÂNCIA POR ÁREA

De acordo com Mohan *et al.* (2016), os biopolímeros podem ser classificados de acordo com a degradabilidade, tipo de cadeia polimérica, natureza de repetição monomérica e aplicação:

1. **degradabilidade:** biodegradáveis e não biodegradáveis;
2. **cadeia polimérica:** poliésteres, polissacarídeos, poliamidas, policarbonatos e polímeros vinílicos;
3. **natureza da unidade repetida:** polissacarídeos (unidades repetidas de monossacarídeos), proteínas (unidades repetidas de aminoácidos) e ácidos nucleicos (unidades repetidas de nucleotídeos), entre outros;

4. exemplos de aplicações: bioplásticos, biodetergentes, biossurfactantes, biofloculantes e bioadesivos.

De acordo com Zhu et al. (2001), os biopolímeros podem ser divididos em três categorias distintas, de acordo com a sua origem e síntese:

Categoria 1: polímeros diretamente extraídos da biomassa. Exemplos: polissacarídeos (amido, celulose, pectina etc.) e proteínas (caseína, glúten etc.);

Categoria 2: polímeros sintetizados a partir de biomonômeros renováveis. Exemplo: PLA (polilactato);

Categoria 3: polímeros produzidos por micro-organismos ou bactérias modificadas geneticamente. Exemplo: poli(hidroxicanoatos) (PHAs).

Por fim, Shankar e Rhim (2018) classificaram apenas os biopolímeros de acordo com a sua fonte de obtenção:

1. **biopolímeros naturais:** carboidratos (amido, produtos lignocelulósicos, gomas pectina, quitina e quitosana), proteínas de origem animal (caseína, colágeno e gelatina) e vegetal (glúten);

2. **sintetizados quimicamente:** ácido polilático, álcool polivinílico, álcool poliglicólico, policaprolactona e succinato de polibutileno.

3. **microbianos:** polihidroxibutirato-hidroxicanoato, polihidroxibutirato, polihidroxicanoatos.

BIOPOLÍMEROS MAIS ESTUDADOS

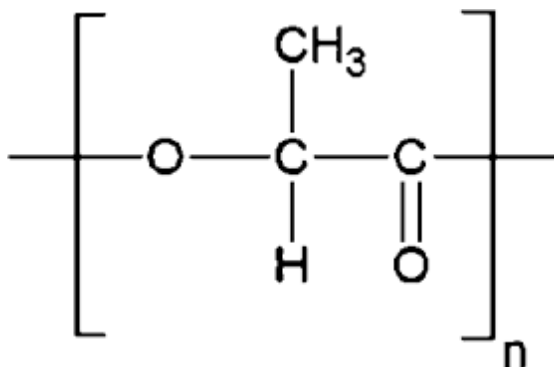
Abaixo estão descritos alguns dos biopolímeros mais estudados na atualidade e uma visão geral de seu processo de obtenção e estrutura química.

PLA ou Polilactato: são poliésteres alifáticos e hidrofóbicos (Figura 1) sintetizados quimicamente por polimerização do ácido lático, obtido em especial por meio da fermentação bacteriana da glicose, aplicando-se potencialmente na fabricação de embalagens e materiais para uso médico (Hamad et al., 2015). O ácido lático pode ser encontrado na forma de dois isômeros ópticos: L (levogiro) e D (dextrogiro) -ácido lático (L-(+)-LA e D-(-)-LA, respectivamente). A produção deste ácido pela via eletroquímica resulta em uma mistura opticamente inativa (50/50) das formas D e L (Jamshidian et al., 2010). De maneira não análoga, o ácido obtido por via biotecnológica é opticamente

ativo e, dependendo do tipo de micro-organismo empregado na fermentação, resulta em propriedades distintamente importantes quando polimerizado (Gupta; Revagade; Hilborn, 2007).

Considerando a produção biotecnológica do PLA, inicialmente o processo ocorre com a extração do amido da biomassa e posterior conversão em glicose por hidrólise ácida ou enzimática; em seguida, o caldo açucarado é fermentado por bactérias. O ácido láctico é produzido a partir do piruvato em condições de anaerobiose. A fermentação pode ser conduzida em batelada ou em processo contínuo, e o ácido, na maior parte das vezes, necessita ser separado do caldo fermentado. O processo de purificação mais comum envolve a neutralização seguida de filtração, concentração e acidificação (Datta; Henry, 2006).

FIGURA 1 — FÓRMULA ESTRUTURAL DO MERO PLA



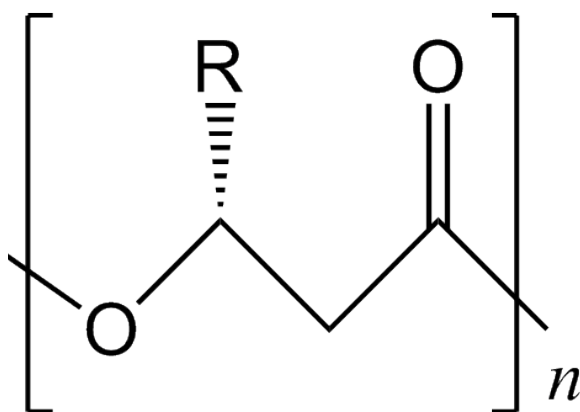
Fonte: Os autores (2021).

PHA ou Polihidroxialcanoatos: representam uma abrangente família de poliésteres naturais, produzidos principalmente por bactérias gram-positivas e gram-negativas em condições aeróbicas e anaeróbicas (Kim et al., 2007; Zinn; Witholt; Egli, 2001). Eles são classificados, de acordo com o número de carbonos na cadeia lateral, em curtos (menos de 5 átomos de C), médios (5-14 átomos de C) e de longo comprimento (mais de 14 átomos de C) e, dependendo da composição monomérica,

podem ser utilizados na produção de embalagens, filmes flexíveis, dentre outras aplicações (Kunasundari; Sudesh, 2011).

Biorreatores são utilizados na biossíntese de PHA por bactérias em condições excessivas de fonte de carbono, bem como na ausência de pelo menos um nutriente essencial para o desenvolvimento celular (N, P, Mg, Fe etc.). O polímero é então acumulado dentro das células bacterianas em forma de grânulos, compreendendo até 90% de sua massa em base seca. O material é, em seguida, extraído por solventes, filtrado para a remoção dos restos celulares, precipitado, dessolventizado e seco. Posteriormente, é empregado na formulação de vários produtos e aplicações. Enzimas podem ser utilizadas para a extração do polímero, neste caso, a biomassa produzida é tratada com enzimas hidrolíticas no intuito de remover uma porção não PHA da célula, liberando desta forma os grânulos do polímero (Raza; Abid; Banat, 2018). A estrutura geral dos PHA está representada na Figura 2.

FIGURA 2 — ESTRUTURA GERAL DOS PHAS, NA QUAL O R REPRESENTA O GRUPAMENTO $-CH_3$



Fonte: Os autores (2021).

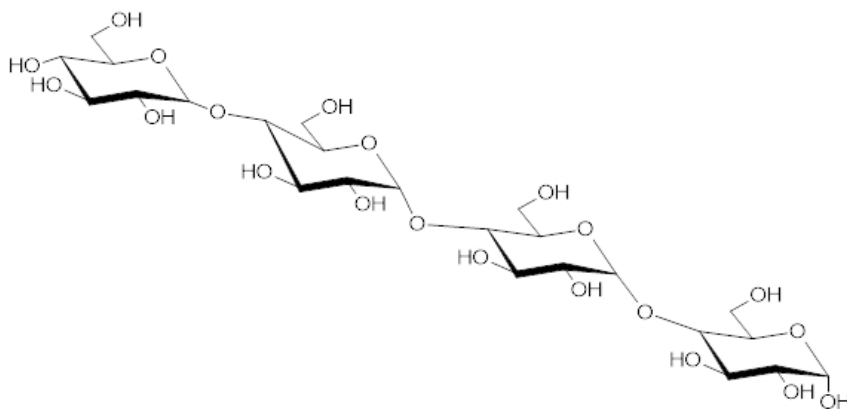
PA ou Polímeros de Amido: o amido é um polímero semicristalino formado por: (1) amilose, apresentando cadeia linear, insolúvel em água em temperatura ambiente, composta por unidades α -D-glucopiranosídicas li-

gadas por ligações α -(1 \rightarrow 4); e (2) amilopectina, composta pelas mesmas unidades, porém contendo um alto nível de pontos de ramificação α -(1 \rightarrow 6) entre um grupo hidroxila de uma cadeia de glicose e o carbono 6 da glicose de outra cadeia (Figura 3) (Curá; Jansson; Krisman, 1995; Nilsson *et al.*, 1996). Assim, os PA são polissacarídeos, modificados quimicamente ou não, produzidos a partir do amido extraído de milho, batata, trigo ou mandioca, principalmente. Os PA podem ser utilizados na produção de embalagens, em blendas com polímeros sintéticos e na confecção de filmes flexíveis.

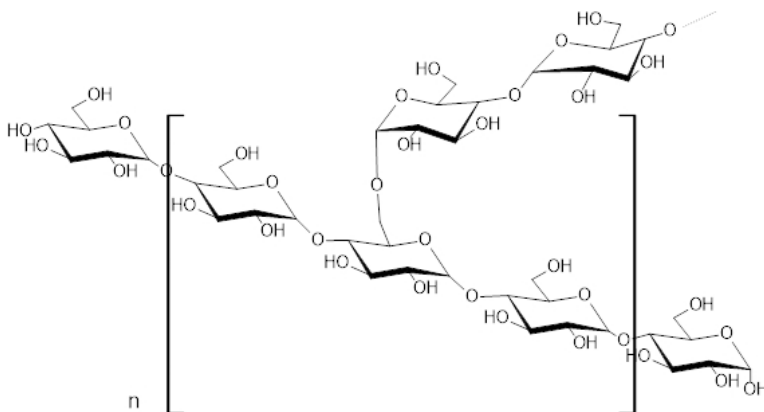
Gomes *et al.* (2001) afirmam que a fabricação de filmes de PA é realizada a partir de extrusoras simples ou de dupla rosca, com adição de plastificantes. A força de cisalhamento e a alta temperatura (>55°C) submetida na massa produzem uma desestruturação das ligações glicosídicas do amido, promovendo um rearranjo intermolecular e originando um material termoplástico denominado amido desestruturado ou gelatinizado. Além disso, o amido e seus derivados podem ser aplicados na indústria têxtil, na produção de papel e adesivos. Na indústria farmacêutica pode ser aplicado em cosméticos e como adjuvante farmacêutico, podendo também ser aplicado em detergentes e pesticidas. Por ser biodegradável e extraído de fontes renováveis, seu uso tem sido ampliado nos mais diversos segmentos (Mohan *et al.*, 2016)

FIGURA 3 — ESTRUTURA QUÍMICA DA AMILOSE E AMILOPECTINA

A: Amilose



B: Amilopectina



Fonte: Os autores (2021).

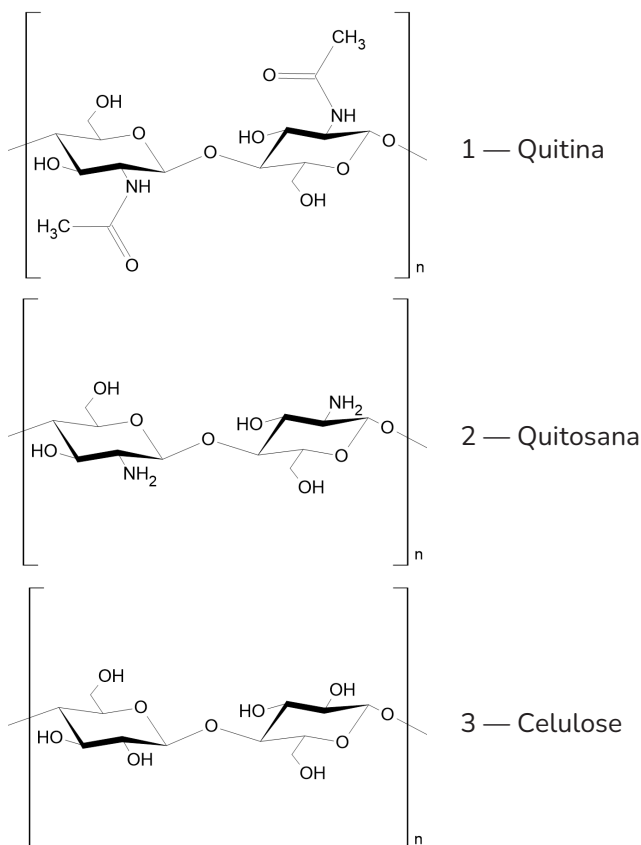
Celulose, quitina e quitosana: assim como o amido, a celulose (Figura 4) é um homopolissacarídeo constituído por unidades de α -D-glucopiranoses. O que diferencia os dois polissacarídeos é, principalmente, o tipo de ligação: os monômeros de celulose são β (1 \rightarrow 4) ligados, favorecendo a formação de ligações fracas intra e intermoleculares entre as hidroxilas e átomos de oxigênio das unidades glucopiranosídicas, facilitando a formação de estruturas lineares e agregadas (microfibrilas de celulose). A celulose é o principal polissacarídeo da parede celular vegetal e o polímero natural mais utilizado na produção de materiais biocompatíveis. Na área biomédica, têm sido produzidas nanofibrilas de celulose após a remoção de lignina por retificação mecânica ou fluidização, formando um gel que pode ser aplicado na produção de filmes para diversas aplicações médicas (Mohan *et al.*, 2016).

A quitina (Figura 4) é um polissacarídeo estruturalmente relacionado à celulose, constituída de unidades β -(1 \rightarrow 4) ligadas de *N*-acetilglucosamina e abundante nas paredes celulares de fungos, rádulas de moluscos, carapaças de crustáceos e exoesqueletos de insetos, sendo o segundo biopolímero mais abundante depois da celulose (Augustine *et al.*, 2013). No âmbito industrial, esse polissacarídeo é extraído de crustáceos com

solventes ácidos para a remoção de carbonato de cálcio, seguido da remoção de proteínas com extração alcalina e branqueamento para remover pigmentos (Rinaudo, 2006).

A quitosana, por sua vez, é um polissacarídeo policatiônico, sendo o derivado da quitina mais importante, e constituída por unidades de *N*-acetil-*D*-glucosamina e *D*-glucosamina β -(1 \rightarrow 4) ligadas (Figura 4) (Mohan et al., 2016). Esse derivado possui grau de desacetilação de aproximadamente 50% e é solúvel em solução ácida devido à protonação do grupamento -NH₂ ligado ao C2 da *D*-glucosamina (Rinaudo, 2006).

FIGURA 4 — ESTRUTURAS QUÍMICAS DA QUITINA, QUITOSANA E CELULOSE



Fonte: Os autores (2021).

Xantana (exopolissacarídeo): é produzida por bactérias do gênero *Xanthomonas campestris* a partir de carboidratos extraídos do milho ou da cana-de-açúcar, com ampla utilização na área de alimentos e na indústria de cosméticos (Silva et al., 2009). A xantana é um polieletrólito de D-glucoses $\beta(1\rightarrow4)$ ligadas, com ramificações alternadas nas posições C-3, constituídas por três monossacarídeos (um ácido glucurônico entre dois resíduos de manose). Grupamentos acetato podem estar O-6 ligados no resíduo de manose não terminal e cerca de metade desses resíduos terminais contêm ácidos pirúvicos ligados nas posições O-4 e O-3 (Abbaszadeh et al., 2015). A massa molecular da xantana varia de 2 a 12×10^6 g.mol⁻¹, dependendo da preparação da amostra (Jansson; Kenne; Lindberg, 1975).

As moléculas de goma xantana que adotam uma conformação helicoidal (simples ou dupla-hélice) podem ser descritas como hastes rígidas sem tendência para associação, resultando num comportamento de um espessante. A goma xantana pode ser usada na presença de eletrólitos e pode formar gel elástico e termorreversível quando associado à goma locusta. A goma xantana é completamente solúvel em água em estado líquido, independentemente de sua temperatura, podendo produzir alta viscosidade em baixas concentrações e apresentando ótima estabilidade em altas temperaturas e variações de pH (Linden; Lorient, 1996).

Dextrana (exopolissacarídeo): são homopolímeros com uma cadeia principal de D-glucopiranoses $\alpha(1\rightarrow6)$ ligados, com proporções variáveis de ramificações, dependendo da bactéria utilizada. São produzidos a partir da sacarose por bactérias ácido-láticas, em especial as do gênero *Leuconostoc*. O substrato é transformado em polissacarídeo sem ter que adentrar a célula, devido à ação da dextrana-sacarase excretada pelo micro-organismo na presença de sacarose. A enzima atua na molécula de sacarose, catalisando a transferência dos resíduos glucosil do dissacarídeo sacarose ao polímero de dextrana, liberando frutose (Heize et al., 2006).

Colágeno: é uma escleroproteína abundante em ossos, pele, tendões e cartilagens, sendo a proteína mais abundante do corpo humano e possuindo uma massa de aproximadamente 3×10^5 g mol⁻¹. A cadeia polipeptídica do colágeno é constituída, principalmente, por resíduos de aminoácidos de glicina, prolina e hidroxiprolina. Existem, aproximadamente, 22 tipos de colágeno

no corpo humano, sendo os do tipo I, II, III e IV os amplamente estudados (Augustine et al., 2013).

CARACTERIZAÇÃO

A caracterização química e física dos biopolímeros é amplamente realizada utilizando diversas técnicas analíticas. Entre elas, destacam-se a espectroscopia na região do infravermelho (IV), a difração de raios X (DRX), a ressonância magnética nuclear de carbono-13 e hidrogênio-1 (RMN ^{13}C e ^1H), a análise termogravimétrica (TG), além de testes mecânicos, como o de tração, e análises de permeabilidade ao vapor d'água (PVA). Essas técnicas permitem determinar propriedades fundamentais dos biopolímeros, como massa molecular, tamanho, grau de associação, dispersão, conformação e a presença de interações específicas, entre outras características relevantes (Mohan et al., 2016).

A espectroscopia na região do infravermelho fornece informações precisas relacionadas aos modos vibracionais das moléculas de determinada substância. O interesse da técnica está no fato de que o conjunto de bandas do espectro (específico para cada substância para bandas isoladas) vincula-se a vibrações de um determinado grupo funcional ou de certo tipo de ligação do composto analisado, e desta maneira se estabelece a composição e configuração estrutural da espécie química por meio de seu espectro de infravermelho (Hamm; Lim; Hochstrasser, 1998). A reflexão total atenuada (ATR), utilizando a transformada de Fourier (ATR-FTIR), é uma técnica de fácil operação, e a espectroscopia visível-próxima ao infravermelho (VIS-NIR) é vantajosa para mensurar constituintes biológicos (Mohan et al. 2016).

Difração de raios X: é uma técnica constantemente usada na determinação da estrutura cristalina e na investigação da estrutura fina do material. Os raios X são um tipo de radiação eletromagnética de comprimento de onda entre 0,5 e 0,25 Å, e são produzidos quando elétrons, com elevada velocidade, chocam-se contra uma placa de metal, liberando a radiação em todas as direções. Ao incidirem sobre os planos cristalográficos da amostra, são difratados com determinado ângulo, que é definido pela forma e tamanho da cela cristalográfica do composto. A intensidade indicada no gráfico, que apresenta a intensidade *versus* ângulo de Bragg, é descrita como a soma das intensidades relativas de todos os raios difratados na mesma direção (Drenth, 1994).

Assim, essa técnica promove a obtenção de informações qualitativas e quantitativas referentes à estrutura do material polimérico e, partindo deste princípio, distingue os distintos estados de ordenamento da matéria. O amido nativo, por exemplo, apresenta picos no difratograma referentes a cristais do tipo A. Esses picos sofrem redução após o processo de gelatinização, mostrando a formação de estruturas amorfas (Mohan et al., 2016).

Ressonância magnética nuclear (RMN): utiliza-se, na química orgânica, principalmente as RMN de ^1H e de ^{13}C para determinar a estrutura dos compostos. A análise por RMN ^1H é mais facilmente obtida do que a RMN ^{13}C , pois os núcleos de hidrogênio possuem demasiada abundância natural. Os núcleos de ^{13}C estão presentes nas moléculas com apenas 1,11% da abundância natural do carbono, contra 99,98% do ^{12}C . Sua sensibilidade total é de apenas 1,6% da sensibilidade do ^1H , por isso a necessidade de maior quantidade de amostra ou tempo de análise para obtenção de um espectro de RMN ^{13}C . Diferentemente, o ^{12}C , mais abundante, não apresenta o fenômeno da ressonância (Bovey; Miaru, 1996).

Análise termogravimétrica (TG): é uma técnica de análise térmica que informa as variações da massa da amostra em função do aumento da temperatura em atmosfera inerte ou oxidante (Brown, 1998), utilizando para isso uma termobalança. O termograma permite obter a temperatura de desidratação, combustão, oxidação e, principalmente, sobre a degradação do material submetido à taxa de aquecimento constante. A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica que pode ser acoplada à TG para estudar o comportamento térmico dos biopolímeros (Mohan et al., 2016).

BIOPOLÍMEROS COM APLICAÇÕES BIOMÉDICAS

Tratando das aplicações biomédicas de biopolímeros, vários trabalhos têm dado destaque ao papel desses materiais devido à sua biocompatibilidade e biodegradação, especialmente nas áreas de controle de liberação de drogas, engenharia de tecidos, biossensores, membranas de diálise e tratamento de feridas (Augustine et al., 2013; Yadav et al., 2015). A biocompatibilidade é a capacidade do material em promover uma resposta adequada do hospedeiro em uma dada aplicação. Os polímeros biodegradáveis devem

sofrer degradação *in vivo* e *in vitro* sem produzir metabólitos estranhos ao organismo ou produtos que não consigam ser eliminados (Augustine et al., 2013). As propriedades de biocompatibilidade, natureza atóxica, potencial antimicrobiano e cicatrizante de alguns biopolímeros vêm sendo aproveitadas nas diversas esferas da medicina, conforme abordado a seguir.

Biopolímeros de alginato: dentre os biopolímeros naturais, o alginato é o mais popular. Na biomedicina, os alginatos são usados para liberação controlada de medicamentos, encapsulamento, *scaffolds* em ligamentos, engenharia de tecidos etc. O alginato é um heteropolissacarídeo formado por unidades de ácidos D-manurônico e L-glucurônico e tem se mostrado eficaz em sistemas de liberação de fármacos por imobilização na estrutura polissacarídica por meio de interações entre os grupamentos carboxilato. O alginato de cálcio mostrou-se eficaz na imobilização de nanopartículas de prata em sutura cirúrgica intestinal, inibindo o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (Augustine et al., 2013).

Biopolímeros de PLA: o PLA é um biopolímero bioabsorvível, o que o torna vantajoso em serviços de transplantes como, por exemplo, na produção de *stents* em que o fato de ser absorvido pelo corpo evita uma segunda cirurgia para sua retirada (Rebelo; Fernandes; Fangueiro, 2017). Alguns trabalhos avaliaram a união de polímeros, como PLA e o ácido poliglicólico (PGA) ou polietileno (PE) para a substituição de placas e parafusos no tratamento de defeitos ósseos e no fornecimento de uma estrutura-molde para formação de cartilagem (Onar, 2014). Enquanto o PLA pode ser absorvido pelo corpo, outros polímeros podem fornecer suporte mecânico, justificando a utilização de copolímeros (Rebelo; Fernandes; Fangueiro, 2017).

Biopolímeros de celulose, pectina e carragenanas: a nanocelulose vem sendo utilizada como curativo pelas suas propriedades antimicrobianas, especialmente quando associada ao zinco. Além disso, por facilitar a deposição de fosfato e cálcio, as nanoceluloses têm sido aplicadas também na regeneração óssea. Alguns estudos demonstraram ainda que nanofibrilas de celulose melhoram a cinética de liberação de fármacos (Augustine et al., 2013). Já foi demonstrado que a metformina associada à nanocelulose, por exemplo, reduz a adesão, migração e invasão de células de melanoma (Tayeb et al.,

2018). A celulose obtida da bactéria *Acetobacter xylinum* vem sendo utilizada como *scaffold* (matriz para crescimento celular) na regeneração de tecidos, pela sua semelhança com a matriz extracelular. Outros ésteres de celulose extraídos de tecidos vegetais, a carboximetilcelulose (CMC), hidroxipropilcelulose (HPC) e hidroxietilcelulose (HEC), já vêm sendo usados na indústria farmacêutica como adjuvantes (Augustine et al., 2013).

A pectina, um polissacarídeo aniônico extraído da parede celular de células vegetais, principalmente de frutas cítricas, vem sendo utilizada na indústria farmacêutica como agente espessante. Esse polissacarídeo é composto por ramnogalacturonanas do tipo I (RGI) e II (RGII) e homogalacturonana, sendo a última o componente principal (Munarin; Tanzi; Petrini, 2012). Para a aplicação biomédica, é importante observar a composição monossacarídica e o grau de ramificação do polímero, uma vez que tais características interferem nas propriedades de formação do gel para aplicações de adesão celular, mucoadesividade e propriedades antimetastáticas (Munarin; Tanzi; Petrini, 2012).

As carragenanas (CG), uma classe de polissacarídeos lineares, aniônicos, hidrofílicos e naturalmente sulfatados, extraídos de algas vermelhas, formadas por unidades alternadas de D-galactose e 3,6-anidrogalactose, vêm sendo usadas na indústria farmacêutica devido a suas características reológicas (Augustine et al., 2013). Ainda, suas propriedades de biocompatibilidade, capacidade de formação de géis e alta viscosidade fizeram das carragenanas um dos biopolímeros mais estudados na atualidade para aplicações biotecnológicas e médicas (Pacheco-Quito; Ruiz-Caro; Veiga, 2020).

Embora existam seis classes principais de carragenanas — *kappa* (κ -), *iota* (ι -), *lambda* (λ -), *mu* (μ -), *nu* (ν -), *beta* (β -), e *Theta* (θ -) — somente três classes são bastante empregadas na área biomédica: *kappa* (κ -), *iota* (ι -) e *lambda* (λ -) carragenanas (Campo et al., 2009). Dentre as atividades biológicas desses polissacarídeos, destacam-se as antivirais, antibacterianas, anticoagulantes, hipolipemiantes, imunomodulatórias, citotóxicas e antioxidantes (Wijesekara; Pangestuti; Kim, 2011).

Biopolímeros derivados de proteínas — colágeno e lectinas: dentre os biopolímeros proteicos, o colágeno vem tendo destaque. O colágeno do tipo I, uma proteína fibrosa com estruturas $\alpha1\alpha2$ compostas pelos resíduos de aminoácidos Gly-X-Y (onde X e Y podem ser, principalmente, Gly, Pro,

Ala e Hyp), é o mais abundante no organismo humano. Esse biopolímero promove a sustentação da matriz extracelular, interage com o citoesqueleto, favorecendo a troca entre a célula e a matriz, além de proporcionar sítios de ligação para glicosaminoglicanos e proteínas. A capacidade do colágeno de formar camadas automontadas por interações fracas torna essa classe de biopolímeros importante na engenharia de tecidos e regeneração tecidual (Freeman *et al.*, 2015; Li; Wu, 2018). Muitos estudos estão sendo realizados visando novo tratamento que aprimore o processo de cicatrização. Nesse sentido, o colágeno apresenta uma característica importante, pois atrai fibroblastos, ativa macrófagos e estimula o crescimento dos fibroblastos e queratinócitos, além de fortalecer o tecido cicatricial (Catalina *et al.*, 2013).

As lectinas têm um importante papel na área de nutracêuticos. Trata-se de proteínas e glicoproteínas de origem natural, encontradas em micro-organismos, animais e plantas, e que se ligam seletivamente, de maneira não covalente, a carboidratos, sendo capazes de aglutinar células e/ou precipitar polissacarídeos ou glicoconjugados (Berg; Tymoczko; Stryer, 2002; Praseptianga, 2017). A aglutinação se deve ao fato de a lectina ter ao menos dois locais de ligação e, portanto, ser capaz de reticular através de sua interação com glicoproteínas e glicoconjugados, principalmente (Berg; Tymoczko; Stryer, 2002). A classificação de lectinas é feita baseada em suas propriedades bioquímicas e na sequência de aminoácidos, sendo as lectinas animais do tipo C (dependentes de cálcio) as mais amplamente representadas (Berg; Tymoczko; Stryer, 2002).

Muitas lectinas já demonstraram atividade antiviral (Hoorelbeke *et al.*, 2010), antifúngica e antibacteriana (Sá *et al.*, 2009) a partir de diversas origens, o que pode ser investigado e aplicado dentro dos campos da medicina, ciência de alimentos, ciências farmacêuticas, bioquímica e glicobiologia (Praseptianga, 2017). As propriedades de adesão de lectinas têm sido aproveitadas na terapêutica e diagnóstico (Sharon; Lis, 2004). Tais características de adesão à superfície celular parecem estar relacionadas à atividade imunomodulatória dessas glicoproteínas (Majee; Biswas, 2013), e podem ser aproveitadas no transporte controlado de fármacos (Neutsch *et al.*, 2013) e no desenvolvimento de biossensores (Silva; Coelho; Correia, 2016).

Biopolímeros de quitina: a quitina e seus derivados têm um grande potencial para as indústrias biomédica, farmacêutica, alimentícia e ambiental, devido às suas propriedades físico-químicas e biológicas, como a capacidade de formar filmes, nanomembranas e nanopartículas, além de possuir atividade nematocida, antitumoral, antioxidante, antimicrobiana, dentre outras. Esse polissacarídeo pode ser utilizado, por exemplo, na área de biotecnologia, como biossensor e como mobilizador de enzimas e células inteiras; na biomedicina, pode ser utilizado como pele artificial ou conduto nervoso para regeneração nervosa; nos cosméticos, como ingrediente para produtos para cabelos e pele; no setor alimentício, para preservar a comida, filtração e clarificação de frutas, entre muitas outras aplicações possíveis em diversos setores (Philibert; Lee; Fabien, 2017).

Outros biopolímeros importantes para aplicações biomédicas: dentre os PHAs, destaca-se o poli(3-hidroxiobutirato), um polímero com propriedades mecânicas e físicas comparáveis ao polipropileno. Tais características tornam esse biopolímero apropriado para o desenvolvimento de veículos de liberação de fármacos, especialmente para perfis de liberação de ordem zero. Outros biopolímeros que vêm sendo utilizados em sistemas de liberação de fármacos são os poli-ortoésteres do tipo IV, polianidridos, poli-alquilcianoacrilatos e polifosfoésteres (Augustine *et al.*, 2013).

O ácido hialurônico e seu derivado, o hialuronato, são polissacarídeos do tipo glicosaminoglicano e têm sido usados, principalmente, na forma de soluções viscosas, como substitutos do fluido sinovial em pacientes com osteoartrite e como agentes aceleradores de recuperação de fraturas ósseas (Augustine *et al.*, 2013). Nos últimos anos, o ácido hialurônico tem sido utilizado também na indústria cosmética como preenchedor, agente antirrugas e regenerador tecidual (Huynh; Priefer, 2020). Os dois polissacarídeos são altamente higroscópicos e produzem géis com baixas propriedades mecânicas, mas aplicáveis como implantes na engenharia de tecidos e como adjuvantes na cicatrização e no reparo de cartilagem. Isso pode ser obtido por meio da reticulação covalente do polissacarídeo com outros biopolímeros, como o colágeno. Os hidrogéis híbridos resultantes, hialuronato/colágeno, demonstraram possuir algumas propriedades funcionais da matriz extracelular de tecidos humanos, mostrando grande potencial para a regeneração de ossos e carti-

lagens. Também é possível a combinação de hialuronato com heparina para o crescimento tecidual em tecidos danificados (Liu et al., 2012).

Alguns biopolímeros podem ser utilizados para produção de fibras pela técnica de *electrospinning*. Eles incluem ácido hialurônico, celulose, seda, gelatina, colágeno, entre outros. Além disso, também é possível misturar biopolímeros e polímeros sintéticos para criar novos biomateriais com propriedades específicas, como resistência mecânica, estabilidade térmica e resistência à barreira. Assim, o tratamento de doenças a partir da criação de materiais biologicamente ativos e de nanofibras eletrofiadas faz parte da medicina regenerativa moderna (Wróblewska-Krepsztul et al., 2019).

Alguns polímeros naturais, como colágeno, pectina, quitosana, alginato, entre outros, vêm sendo aproveitados na forma de hidrogéis. Os hidrogéis são redes poliméricas com alta afinidade pela água, porém não se dissolvem nela devido à sua estrutura reticulada quimicamente ou fisicamente. Os hidrogéis são preparados a partir de macromoléculas contendo grupos hidrofílicos com alta capacidade de absorção, como -OH, -COOH, -SO₃H etc. Além disso, os hidrogéis possuem baixa energia superficial, que facilita sua biocompatibilidade e minimiza a adesão de proteínas e células dos tecidos circundantes após um implante, por exemplo. Assim, há uma gama de aplicações de hidrogéis em diversos setores industriais, como o alimentício, o biomédico, o farmacêutico, entre outros (Liu et al., 2012).

BIOPOLÍMEROS COM APLICAÇÕES NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

A grande maioria dos materiais relacionados a alimentos contém algum tipo de biopolímero: alguns são usados como emulsificantes, outros como espessantes ou endurecedores. Esses biopolímeros podem ser extraídos de fontes diversas: bactérias, plantas, algas marinhas ou animais; e têm se destacado por suas propriedades de biodegradação, biocompatibilidade e por serem extraídos de fontes renováveis (Augustine et al., 2013).

Biopolímeros como aditivos alimentares: os aditivos alimentares compreendem uma classe de substâncias que são adicionadas propositalmente ao alimento para atingir algum propósito tecnológico, como o aumento no

tempo de prateleira ou melhoria das características organolépticas (Motarjemi; Moy; Tood, 2014).

A goma xantana, um polissacarídeo, é amplamente aplicada na indústria de alimentos como agente de suspensão e espessante de chocolate e polpas de frutas. Além disso, sua característica pseudoplástica em solução pode ser aproveitada na produção de alimentos, pela capacidade dessa goma em promover alta viscosidade mesmo em baixas concentrações. Essa propriedade se mantém em uma ampla faixa de pH (1-13) e de temperatura (Palaniraj; Jayaraman, 2011; Sharma *et al.*, 2006). Em produtos de panificação, a goma xantana pode ser utilizada para aumentar a vida de prateleira desses produtos e de massas refrigeradas. Pode ser utilizada também como substituta de ovos em massas, sem alterar as características organolépticas, além de aumentar a incorporação de ar na massa, melhorando o volume e a textura, em especial nos produtos livres de glúten (Sharma *et al.*, 2006).

A celulose bacteriana, por ser livre de pectinas, lignina e hemiceluloses, tem sido utilizada na indústria de alimentos na confecção de molhos, sorvetes, dentre outros alimentos, por suas propriedades como espessante, modificadora de textura e estabilizante (Augustine *et al.*, 2013).

As gelanas e curdlanas são gomas produzidas por micro-organismos e utilizadas na indústria como agentes espessantes, gelificantes e estabilizantes. A primeira, um heteropolissacarídeo extraído de *Pseudomonas elodea*, com unidades monossacarídicas de D-glucose, L-ramnose e ácido D-glucurônico, possui características gelificantes na presença de sais com íons magnésico, cálcio e potássio. As curdlanas são homopolissacarídeos formadas por glucanas $\beta(1\rightarrow3)$ ligadas, extraídas de *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* e formam géis quando aquecidas (Augustine *et al.*, 2013).

Os exopolissacarídeos (EPS) de bactérias ácido-lácticas (BALs) têm se destacado na produção de aditivos naturais seguros para alimentos ou ingredientes funcionais naturais, principalmente por apresentarem papel essencial nas características físico-químicas (viscosidade, estabilização ou ligação à água) e sensoriais (palatabilidade) dos produtos alimentares finais, aumentando, assim, a possibilidade de substituir ou reduzir o uso de hidrocolóides externos (Torino; Valdez; Mozzi, 2015). Além disso, tem-se utilizado

culturas produtoras de EPS na elaboração de leites e bebidas fermentadas, para otimizar características como viscosidade, textura, estabilidade e características organolépticas (Cerning, 1995; Ruas-Madiedo; Hugenholtz; Zoon, 2002), dentre outras propriedades dos produtos finais, além de evitar a sinerese (separação do soro de leite) durante a fermentação ou armazenamento (Torino; Valdez; Mozzi, 2015).

Há um interesse crescente no uso de coacervados à base de biopolímeros, assim, nos últimos anos, houve um aprimoramento em relação ao seu desempenho. Diferentes biopolímeros com várias características podem ser utilizados com o intuito de produzir cápsulas sob medida para sistemas alimentares. O alginato (um polissacarídeo poliurônico), por exemplo, é usado para encapsular vitaminas (Augustine *et al.*, 2013). Como perspectiva futura frente a esse tema, espera-se desvendar a utilização do encapsulamento de bioativos em coacervados, abarcando os vários estágios do processo de digestão humana e avaliando os benefícios fisiológicos que podem conferir (Moschakis; Biliaderis, 2017).

Biopolímeros na produção de embalagens de alimentos: a indústria de embalagens de alimentos visa, cada vez mais, a obtenção de materiais que garantam a qualidade de seus produtos e que ajudem a melhorar e prolongar o tempo de prateleira. Nesse sentido, os polímeros já são frequentemente utilizados para essa finalidade, mas biopolímeros vêm sendo demandados, visando um menor impacto ambiental (Valdés *et al.*, 2014). Os biopolímeros comerciais disponíveis mostram uma limitação de uso pelo seu desempenho: apresentam baixa resistência térmica, fragilidade, além de preços relativamente altos, limitando sua aplicação. Portanto, são necessárias modificações pelo uso de aditivos que melhorem seu desempenho para uso como embalagem de alimentos (Valdés *et al.*, 2014). Para essa finalidade, os biopolímeros precisam atender a alguns requisitos: agir como uma barreira seletiva para gases e água; permitir uma respiração lenta, porém controlada; permitir uma atmosfera modificada para o alimento, levando à extensão da vida de prateleira; diminuir a migração de lipídios, evitando a modificação da embalagem; manter a integridade estrutural dos polímeros para melhor manipulação e processamento mecânico; servir como aditivo

alimentar corporativo (agente de sabor, corantes, antioxidantes, agentes antimicrobianos), entre outros (Tharanathan, 2003).

No Quadro 1 estão listados os principais biopolímeros naturais aplicáveis na produção de embalagens para a indústria de alimentos, após a otimização de suas propriedades físico-químicas com plastificantes e outros aditivos.

QUADRO 1 — BIOPOLÍMEROS DE ORIGEM NATURAL PARA USO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS E COMPÓSITOS

Origem	Biopolímeros
Animal	Gelatina e colágeno
Marinha	Quitina e quitosana
Microbiana	Ácido polilático, pululanas e polihidroxi-alcanoatos
Agrícola	<ul style="list-style-type: none">• Lipídios: cera de abelha, cera de carnaúba, ácidos graxos livres;• Hidrocoloides de proteínas: zeína, soro de leite, soja e glúten de trigo;• Hidrocolóides de polissacarídeos: celulose, lignocelulose, gomas, pectina e amido.

Fonte: Adaptada de Tharanathan (2003).

Embora os biopolímeros ainda sejam pouco aplicados na produção de embalagens, o uso de copolímeros tem se mostrado promissor: a incorporação de lipídios e hidrocoloides, por exemplo, pode melhorar as propriedades individuais de ambos (Tharanathan, 2003). Tais filmes costumam ser produzidos via *casting*, uma vez que o método de extrusão pode levar à degradação do biopolímero (Tharanathan, 2003). Para melhorar as funcionalidades da embalagem, a qualidade e a segurança dos alimentos, é possível a inserção de compostos naturais às matrizes poliméricas, produzindo embalagens ativas. Os compostos naturais podem ser provenientes de plantas, frutas, especiarias ou resíduos agrícolas. A incorporação de óleos essenciais, por exemplo, pode ser útil na inibição da atividade microbiana, aumentando, assim, o tempo de prateleira (Akram et al., 2019).

O amido é uma das principais matérias-primas utilizadas na fabricação de filmes comestíveis e embalagens biodegradáveis na indústria de alimentos. Contudo, a fraca barreira à umidade e as propriedades mecânicas inadequadas desses filmes limitam a sua aplicação (Tang *et al.*, 2012). Uma abordagem possível é a revalorização de resíduos agrícolas como reforço nos biopolímeros. Os biocompósitos, obtidos a partir de biopolímeros e reforçados com fibras naturais, podem oferecer importantes contribuições na produção alternativa de polímeros, reduzindo a dependência de combustíveis fósseis e os impactos ambientais relacionados.

As fibras naturais são materiais extraídos de vegetais (fibras de plantas), animais e minerais, sendo essas três categorias as principais para a sua extração (Valdés *et al.*, 2014). As fibras são constituídas, principalmente, por holocelulose (celulose, hemicelulose e lignina), com menores teores de açúcares, amido, proteínas, extrativos e cinzas (Hamza, *et al.*, 2013). Há muitas vantagens de incorporar fibras naturais nas matrizes de biopolímeros, como, por exemplo, baixa densidade, custo, disponibilidade, reciclabilidade, compatibilidade com o meio ambiente, degradação total no solo sem emissão de compostos tóxicos em condições de compostagem e boas propriedades mecânicas (Valdés *et al.*, 2014).

Alguns materiais proteicos também vêm sendo investigados para a produção de embalagens. Esses biopolímeros possuem melhor capacidade de formação de filmes, além de possuírem baixo custo e natureza biodegradável; contudo, os filmes preparados a partir de proteínas apresentam alta permeabilidade ao vapor, dentre os quais, destacam-se os filmes produzidos a partir de glúten, proteína de soja e gelatina (Tang *et al.*, 2012).

Dentro da biodiversidade marinha, um grande grupo que se apresenta como um importante biorrecurso disponível são as algas marinhas (Praseptianga, 2017). A produção de biopolímeros à base de algas marinhas, como os polissacarídeos agarose, carragenana e alginato, mostrou-se como um importante recurso para a produção de embalagens de alimentos. As carragenanas são galactanas sulfatadas, enquanto a agarose é formada por galactanas lineares. O alginato, por sua vez, é composto por unidades de ácidos β -D-manurônico e α -L-gulurônico (Alba, Kontogiorgos; 2018).

Além disso, o uso de recursos renováveis, incluindo biopolímeros à base de algas marinhas, devido à sua biodegradabilidade, ganhou importância em vista da preocupação ambiental e qualidade dos produtos fabricados. A aplicação desses materiais é como filme e revestimento comestível (Praseptiangga, 2017). Hu et al. (2016) prepararam filmes contendo blendas de quitosana/agarose em diferentes proporções e verificaram que os filmes contendo 60% de agarose apresentaram melhor resistência à tração, tensão, taxa de transmissão de vapor d'água e aumento da atividade antibacteriana, quando comparados aos filmes contendo apenas quitosana. Filmes contendo ágar (um polissacarídeo formado por agarose e agaropectina) mostraram propriedades mecânicas satisfatórias sem a adição de agentes plastificantes, quando extraídos de *Gelidium sesquipedale* (Martínez-Sanz; Martínez-Abad; López-Rubio, 2019). Biopolímeros à base de alginatos e carragenanas têm sido amplamente difundidos devido às suas boas propriedades de barreira ao oxigênio, dióxido de carbono e lipídios, além de suas propriedades mecânicas, como resistência à tração e alongamento à ruptura (Praseptiangga, 2017).

A quitosana, um produto natural obtido a partir da desacetilação da quitina, tem boas características para formar filmes: os grupamentos NH_2 das unidades de 2-deoxi-2-aminoglicose podem ser protonados e formar interações eletrostáticas em um ambiente ácido (Tang et al., 2012).

Outro exemplo são as pectinas, que possuem capacidade gelificante e espessante, atingindo a firmeza desejada e alterando a textura dos géis em diversos produtos. Por esses motivos, a pectina tem sido usada em alimentos, cosméticos e aplicações de condicionamento ambiental para modificar a liberação de compostos de fragrâncias e melhorar a percepção de sabores. A pectina também pode interagir com o cálcio, assim como o alginato, e tem sido estudada para a liberação controlada de produtos químicos orgânicos, voláteis ou proteínas. A pectina, quando usada em combinação com proteínas de qualidade alimentar, como proteínas de gelatina e soja, tem a capacidade de formar hidrogéis comestíveis que podem ser utilizados para a produção de embalagens (Liu et al., 2012).

CONCLUSÃO

Este capítulo apresentou informações relacionadas aos aspectos de produção de biopolímeros, além de suas aplicações nas indústrias de alimentos e biomédica. Atualmente, essa produção se apresenta como uma alternativa para diversos problemas que o setor industrial encontra, principalmente no que refere ao seu desenvolvimento e estabilidade. As pesquisas desenvolvidas na atualidade são, principalmente, na área de engenharia bioquímica e biotecnologia, por envolver tecnologia de produção baseada em mecanismos naturais e seres vivos para sintetizar matérias-primas que não prejudiquem o meio ambiente. Portanto, a considerável demanda relacionada a esses produtos caracteriza-se em um importante fator contributivo para a manutenção e o desenvolvimento de processos produtivos de biomateriais poliméricos com aplicações em diversas áreas.

Apesar de todas as vantagens, os biopolímeros apresentam algumas limitações técnicas que dificultam o seu processamento, bem como o uso do produto final. Assim, vários grupos de pesquisa desempenham estudos referentes à modificação dos biopolímeros, na perspectiva de viabilizar o processamento e uso em diversas aplicações. Para isso, blendas, compósitos e nanocompósitos têm sido estudados no interesse de melhorar suas propriedades, como a resistência térmica e mecânica, as propriedades reológicas (densidade e viscosidade), a interação ativa para gases, a degradabilidade e o processamento.

AGRADECIMENTOS

G. S. Mello e V. A. Pereira Júnior agradecem ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais (PPGMat-UFMT/CUA). G. S. Mello, C. Boaron e F. A. M. Faria agradecem ao Programa de Pós-Graduação em Ciências (Bioquímica) (PPGBq/UFPR) e ao Laboratório de Química de Carboidratos (PPGBq/UFPR). Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo fomento de estudos mediante concessão de bolsas.

REFERÊNCIAS

AKRAM, M. Z. et al. The Use of Essential Oils in Active Food Packaging: A Review of Recent Studies. *Turkish Journal of Agriculture — Food Science and Technology*, v. 7, n. 11, p. 1799-1804, 2019.

ALBA, K.; KONTOGIORGOS, V. Seaweed Polysaccharides (Agar, Alginate Carrageenan). *Encyclopedia of Food Chemistry*. Amsterdam: Elsevier, 2018. p. 240-250.

AUGUSTINE, R. et al. Biopolymers for Health, Food, and Cosmetic Applications. In: THOMAS, S. et al. *Handbook of Biopolymer-Based Materials: From Blends and Composites to Gels and Complex Networks*, 2013. p. 801-849.

ABBASZADEH, A. et al. A Novel Approach to the Determination of the Pyruvate and Acetate Distribution in Xanthan. *Food Hydrocolloid*, v. 44, p. 162-171, 2015.

BADAWY, M. E. I.; RABEA, Entsar I. Review Article: A Biopolymer Chitosan and its Derivatives as Promising Antimicrobial Agents against Plant Pathogens and their Applications in Crop Protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, v. 2011, Article ID 460381, p. 2011.

BERG, J. M; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. *Biochemistry*. 5. ed. New York: W. H. Freeman, 2002. (Lectins Are Specific Carbohydrate-Binding Proteins.)

BLACK, B. *Crude Reality: Petroleum in World History*. Maryland: Rowman & Littlefield Publishers, 2012.

BOVEY, F. A.; MIARU, P. A. *NMR of Polymers*. New York: Academic Press, 1996.

BROWN, M. E. *Introduction to Thermal Analysis*. Dordrecht, Holanda: Kuwer Academic Publishers, 1998.

CAMPO V. L. et al. Carrageenans: Biological Properties, Chemical Modifications and Structural Analysis-A Review. *Carbohydr. Polym*, v. 77, p. 167-180, 2009.

CATALINA, M. et al. From Waste to Healing Biopolymers: Biomedical Applications of Bio-Collagenic Materials Extracted from Industrial Leather Residues in Wound Healing. *Materials*, v. 6, n. 5, p. 1599-1607, 2013.

- CERNING, J. Production of Exopolysaccharides by Lactic Acid Bacteria and Dairy Propionibacteria. *LeLait, INRA Editions*, v. 75, n. 4-5, p. 463-472, 1995.
- CHAN, Y.; NGAN, A. H. W.; KING, N. M. Use of Focused Ion Beam Milling for Investigating the Mechanical Properties of Biological Tissues: A Study of Human Primary Molars. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 2, p. 375-383, 2009.
- CURÁ, J. A.; JANSSON, P.E.; KRISMAN C. R. *Starch/Staerke*, v. 47, p. 207, 1995.
- DATTA, R.; HENRY, M. Lactic Acid: Recent Advances in Products, Processes and Technologies: A Review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, v. 81, p. 1119-129, 2006.
- DRENTH, J. *Principles of Protein X-Ray Crystallography*. New York: Springer-Verlag, 1994.
- DUTTA, P. K. et al. Perspectives for Chitosan Based Antimicrobial Films in Food Applications. *Food Chemistry*, v. 114, p. 1173-1182, 2009.
- FRANCO, L. O. et al. Heavy Metal Biosorption by Chitin and Chitosan Isolated from *Cunninghamella Elegans* (IFM 46109). *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 35, p. 243-247, 2004.
- FREEMAN, R. et al. Biopolymers and Supramolecular Polymers as Biomaterials for Biomedical Applications. *Materials and Engineering*, v. 40, n. 12, p. 1089-1101, 2015.
- GOMES, M. E. et al. A New Approach on the Injection Molding to Produce Biodegradable Starch-Based Polymeric Scaffolds. *Biomaterials*, v. 22, p. 883-889, 2001.
- GUPTA, B.; REVAGADE, N.; HILBORN, J. Poly (Lactic Acid) Fiber: An Over-View. *Progress in Polymer Science*, v. 32, p. 455-482, 2007.
- GUTNICK, D. L.; BACH, H. Engineering Bacterial Biopolymers for the Biosorption of Heavy Metals; New Products and Novel Formulations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 54, n. 4, p. 451-460, 2000.
- HAMAD, K. et al. Properties and Medical Applications of Polylactic Acid: A Review. *eXPRESS Polymer Letters*, v. 9, n. 5, 435-455, 2015.
- HAMM, P.; LIM, M.; HOCHSTRASSER, R. M. Structure of the Amide I Band of Peptides Measured by Femtosecond Nonlinear-Infrared Spectroscopy. *J. Phys. Chem. B*, v. 102, n. 31, p. 6123-6138, 1998.

- HAMZA, S. et al. Physico-Chemical Characterization of Tunisian Plant Fibers and its Utilization as Reinforcement for Plaster-Based Composites. *Industrial Crops and Products*, v. 49, p. 357-365, 2013.
- HASAN, A.; PANDEY, L. M. Review: Polymers, Surface-Modified Polymers, and Self-Assembled Monolayers as Surface Modifying Agents for Biomaterials. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, v. 54, p. 1358-1378, 2015.
- HEIZE, T. et al. Functional Polymers Based on Dextran. In: KLEMM, D. *Advances in Polymers Science*, v. 205, p. 199-291, 2006.
- HERNANDÉZ-LAUZARDO, A. N. et al. Antifungal Effects of Chitosan with Different Molecular Weights on in Vitro Development of *Rhizopus Stolonifer* (ehrenb.:fr.) Vuill. *Carbohydrate Polymers*, v. 73, p. 541-547, 2008.
- HOORELBEKE, B. et al. Actinohivin, Abroadly Neutralizing Prokaryotic Lectin, Inhibits HIV-1 Infection by Specifically Targeting High-Mannose-Type Glycans on the gp120 Envelope. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. v. 54, n. 8, p. 3287-3301, 2010.
- HU, Z.; HONG, P.; LIAO, M.; KONG, S.; HUANG, N.; OU, C.; LI, S. Preparation and Characterization of Chitosan-Agarose Composite Films. *Materials*, v. 9, n. 10, p. 816, 2016.
- HUYNH, A.; PRIEFER, R. Hyaluronic Acid Applications in Ophthalmology, Rheumatology, and Dermatology. *Carbohydrate Research*, v. 489, 2020.
- JAMSHIDIAN, M. et al. Poly-Lactic Acid: Production, Applications, Nanocomposites, and Release Studies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 9, 2010.
- JANSSON, P. E.; KENNE, L.; LINDBERG, B. Structure of the Exocellular Polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. *Carbohydrate Research*, v. 45, p. 275-285, 1975.
- KIM, D. Y. et al. Biosynthesis, Modification, and Biodegradation of Bacterial Medium-Chain-Length Polyhydroxyalkanoates. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 45, p. 87-97, 2007.
- KUNASUNDARI, B.; SUDESH, K. Isolation and Recovery of Microbial Polyhydroxyalkanoates. *Polymer Letters*, v. 5, p. 620-634, 2011.
- LI, P.; WU, G. Roles of Dietary Glycine, Proline, and Hydroxyproline in Collagen Synthesis and Animal Growth. *Amino Acids*, v. 50, p. 29-38, 2018.

LINDEN, G.; LORIENT, D. *Bioquímica agroindustrial: revalorización alimentaria de la producción agrícola*. Espanha: Acribia, 1996.

LIU, L. S. et al. Hydrogels from Biopolymer Hybrid for Biomedical, Food, and Functional Food Applications. *Polymers*, v. 4, p. 997-1011, 2015.

MAJEE, S. B.; BISWAS, G. R. Exploring Plant Lectins in Diagnosis, Prophylaxis and Therapy. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 7, n. 47, p. 3444-3451, 2013.

MARTÍNEZ-SANZ, M.; MARTÍNEZ-ABAD, A.; LÓPEZ-RUBIO, A. Cost-Efficient Bio-Based Food Packaging Films from Unpurified Agar-Based Extracts. *Food Packaging and Shelf Life*, v. 21, 2019.

MOHAN, S. et al. *Biopolymers – Application in Nanoscience and Nanotechnology*. InTech., 2016. doi: 10.5772/62225.

MOSCHAKIS, T.; BILIADERIS, C. G. Biopolymer-based coacervates: Structures, functionality and applications in food products. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 28, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2017.03.006>.

MOTARJEMI, Y.; MOY, G; TODD, E. *Encyclopedia of Food Safety*. Holanda: Elsevier/Academic Press, 2014.

MUNARIN, F.; TANZI M. C.; PETRINI, P. Advances in Biomedical Applications of Pectin Gels. *Int. J. Biol. Macromol*, p. 681-689, 2012.

NEUTSCH, L. et al. Synergistic Tar-Geting/Prodrug Strategies for Intravesical Drug Delivery-Lectin-Modified PLGA Microparticles Enhance Cytotoxicity of Stearoyl Gemcitabine by Contact-Dependent Transfer. *Journal of Controlled Release*, v. 169, n. 1-2, p. 62-72, 2013.

NILSSON, G. S. et al. *Starch*, v. 48 p. 352, 1996.

ONAR, N. *Usage of Biopolymers In Medical Applications*. In: Proc. 3rd Indo-Czech Text. Res. Conf., 2014.

PACHECO-QUITO, E. M.; RUIZ-CARO, R.; VEIGA, M. D. Carrageenan: Drug Delivery Systems and Other Biomedical Applications. *Mar Drugs*. v. 18, n. 11, p. 583, 2020.

PALANIRAJ, A.; JAYARAMAN, V. Production, Recovery and Applications of Xanthan Gum by *Xanthomonas campestris*. *Journal of Food Engineering*, v. 106, n. 1, p. 1-12, 2011.

PHILIBERT, T.; LEE, B. H.; FABIEN, N. Current Status and New Perspectives on Chitin and Chitosan as Functional Biopolymers. *Appl Biochem Biotechnol*, v. 181, p. 1314-1337, 2017.

PRASEPTIANGGA, D. Development of Seaweed-Based Biopolymers for Edible Films and Lectins, *IOP Conf Ser: Mater Sci Eng*, v. 193, 2017.

RATNER, B. D. et al. *An Introduction to Materials in Medicine*. San Diego: Academic Press, 2005.

RAZA, Z. A.; ABID, S.; BANAT, I. M. Polyhydroxyalkanoates: Characteristics, Production, Recent Developments and Applications. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 126, p. 45-56, 2018.

REBELO, R.; FERNANDES, M.; FANGUEIRO, R. Biopolymers in Medical Implants: A Brief Review. *Procedia Engineering*, v. 200, p. 236-243, 2017.

RINAUDO, M. Chitin and Chitosan: Properties and Applications. *Progress in Polymer Science*, v. 31, p. 603-632, 2006.

RUAS-MADIEDO, P.; HUGENHOLTZ, J.; ZOON, P. An Overview of the Functionality of Exopolysaccharides Produced by Lactic acid Bacteria. *International Dairy Journal*, v. 12, p. 163-217, 2002.

SÁ R. A. et al. Antibacterial and Antifungal Activities of Myracrodruon urundeuva Heartwood. *Wood Science and Technology*, v. 43, n. 1-2, p. 85-95, 2009.

SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V.; JEON, Y. Food Applications of Chitin and Chitosan. *Trends in Food Science Technology*, v. 10, p. 37-51, 1999.

SHANKAR, S.; RHIM, J. W. Bionanocomposite Films for Food Packaging Applications. *Reference Module in Food Science*, p. 1-10, 2018.

SHARMA, B. R. et al. Xanthan Gum- A Boon to Food Industry. *Food Promotion Chronicle*, v. 1, n. 5, p. 27-30, 2006.

SHARON, N.; LIS, H. History of Lectins: From Hemagglutinins to Biological Recognition Molecules. *Glycobiology*, v. 14, n. 11, p. 53R-62R, 2004.

SILVA, M. F. et al. Production and Characterization of Xanthan Gum by *Xanthomonas Campestris* Using Cheese Whey as Sole Carbon Source. *Journal of Food Engineering*, v. 90, p. 119-123, 2009.

SILVA, P.; COELHO, L.; CORREIA, M. Electrochemical Biosensing Strategies to Detect Serum Glycobiomarkers. *Advances in Research*, v. 6, n. 6, p. 1-17, 2016.

TANG, X. et al. Recent Advances in Biopolymers and Biopolymer-Based Nanocomposites for Food Packaging Materials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 52, p. 426-442, 2012.

TAYEB, A. et al. Cellulose Nanomaterials-Binding Properties and Applications: A Review. *Molecules*, v. 23, n. 10, p. 2-24, 2018.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable Films and Composite Coatings: Past, Present and Future. *Trends. Food. Sci. Technol*, v. 14, p. 71-78, 2003.

TORINO, M. I.; VALDEZ, G. F de.; MOZZI, F. Biopolymers from Lactic Acid Bacteria. Novel Applications in Foods and Beverages. *Frontiers in microbiology*, v. 6, article 834, p. 1-16, 2015.

VALDÉS, A. et al. Natural Additives and Agricultural Wastes in Biopolymer Formulations for Foodpackaging. *Frontiers in Chemistry*, v. 2, article 6, p. 1-10, 2014.

WIJESEKARA I.; PANGESTUTI R.; KIM S.-K. Biological Activities and Potential Health Benefits of Sulfated Polysaccharides Derived from Marine Algae. *Carbohydr. Polym*, v. 84, p. 14-21, 2011.

WRÓBLEWSKA-KREPSZTUL, J. et. al. Biopolymers for Biomedical and Pharmaceutical Applications: Recent Advances and Overview of Alginate Electrospinning. *Nanomaterials*, v. 9, p. 1-23, 2019.

YADAV, P. et al. Biomedical Biopolymers, their Origin and Evolution in Biomedical Sciences: A Systematic Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, v. 9, p. 21-25, 2015.

YADAV, A. et al. Biopolymers as Packaging Material in Food and Allied Industry. *International Journal of Chemical Studies*, v. 6, n. 2, p. 2411-2418, 2018.

ZHU, J. et al. Studies on the Mechanism by Which the Formation of Nanocomposites Enhances Thermal Stability. *Chemistry of Materials*, v. 13, p. 4649-4654, 2001.

ZINN, M.; WITHOLT, B.; EGLI, T. Occurrence, Synthesis and Medical Application of Bacterial Polyhydroxyalkanoate. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 53, p. 5-21, 2001.

Filmes de biopolímeros via casting

Joyce Fagundes Gomes Motta¹
Geraldine Nancy Rodríguez Perea²
Nathália Ramos de Melo^{3*}
Letícia Vitorazi^{2,4*}

INTRODUÇÃO

A União Internacional de Química Pura e Aplicada (Iupac) define biopolímeros como substâncias compostas por um tipo de biomacromolécula, sendo que as biomacromoléculas incluem as proteínas, o ácido nucleico e os polissacarídeos (Vert *et al.*, 2012). Os biopolímeros podem ser classificados em biodegradáveis ou não biodegradáveis (Niaounakis, 2015). Os biodegradáveis são aqueles que se degradam por ação de microrganismos, tais como fungos e bactérias, em um determinado período de tempo e ambiente. Já os não biodegradáveis não se degradam nestas condições e levam anos para conseguirem êxito na total degradação (Vert *et al.*, 2012).

Os biopolímeros podem ser também classificados de acordo com sua base em biobaseados ou a base de combustíveis fósseis. É importante ressaltar que nem todo polímero biobaseado é biodegradável, e existem polímeros a base de combustíveis fósseis que são biodegradáveis (Niaounakis, 2015). Exemplos de biopolímeros biobaseados e biodegradáveis incluem PHB (poli-3-hidroxi-butarato), PLA (poliácido láctico) e amido. Já os biopolímeros a base de combustíveis fósseis e biodegradáveis incluem o PBS (polibutileno succinato), PCL (poli(ϵ -caprolactona)) e PES (polietersulfona). Exemplos de

* Autores correspondentes.

1 CTIM – Grupo de Ciência, Tecnologia e Inovação em Materiais, Universidade Federal do ABC, Santo André-SP.

E-mail: joyce.motta@ufabc.edu.br

2 Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica (PPGEM), Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda, Universidade Federal Fluminense (UFF), Volta Redonda-RJ.

3 Departamento de Engenharia de Agronegócios (VEA), Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda, Universidade Federal Fluminense (UFF), Volta Redonda-RJ e Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica-RJ.

E-mail: nathaliarm@id.uff.br.

4 Departamento de Engenharia Metalúrgica e Materiais (VMT) e Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica (PPGEM), Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda, Universidade Federal Fluminense (UFF), Volta Redonda-RJ, e-mail: leticiavitorazi@id.uff.br.

biopolímeros biobaseados e não biodegradáveis são náilon 11 (poliamida 11) (Tokiwa et al., 2009) e PE (polietileno) verde, obtido, por exemplo, a partir de etanol de cana de açúcar (Otoni et al., 2017; Santos et al., 2019).

O termo artificial deve ser usado para designar os biopolímeros quimicamente modificados (Vert et al., 2012). Por exemplo, a quitina, que é um polímero extraído das conchas de crustáceos e que apresenta baixa solubilidade em água. A partir de modificações químicas, obtém-se a quitosana, que é um polímero artificial, solúvel em meio aquoso ácido (Pillai; Paul; Sharma, 2009). A celulose é um polissacarídeo de origem vegetal, sendo comercialmente disponível, principalmente, a partir do algodão e da madeira (O dian, 2004). Esta pode ser modificada dando origem a, por exemplo, hidroximetilcelulose (Abdel-Halim, 2014), carboximetilcelulose (Chen et al., 2020) e acetato de celulose (Assis et al., 2020).

Por meio de polímeros em geral é possível obter materiais poliméricos na forma de filmes convencionais, e estes ainda podem ter propriedades peculiares, como os filmes termoencolhíveis (*shrink films*) e os aderentes (*climb films*). Adicionalmente, podem ser produzidos tanto em monocamadas quanto em multicamadas de laminação (Niaounakis, 2015). De acordo com a ASTM D883-20 (2012), filmes são como películas finas cuja espessura não deve ultrapassar 250 μm .

Embora a questão ambiental seja preocupante nos dias atuais, existe uma limitação de muitos biopolímeros durante o processamento, relacionada principalmente à degradação térmica que precede a obtenção do material fluidoviscoso (O dian, 2004). Entre os polímeros naturais, o amido é um raro exemplo de polímero que pode ser extrudado, sendo obtido na forma de fluidoviscoso, com aquecimento, na presença de aditivo para criar um “amido termoplástico” (Morris, 2016).

Nesse sentido, técnicas de processamento em que o polímero é solubilizado em vez de “fundido” são vantajosas, como as técnicas *casting*, também chamadas de técnicas “a frio”. O método *casting* consiste em uma técnica de fácil manuseio para produção de filmes, sendo considerado uma boa alternativa para a indústria de embalagens.

A metodologia *casting* é mais comum para obtenção de filmes biopoliméricos. Exemplos de bases de biopolímeros para o preparo de fil-

mes via *casting* são amido (Basiak; Lenart; Debeaufort, 2017), pectina (Jantrawut et al., 2017), alginato de sódio (Mahcene et al., 2020), quitosana (Souza et al., 2017), proteína de soro do leite (Andrade et al., 2018) e acetato de celulose (Gonçalves et al., 2019a). Podem ser empregados solventes orgânicos, como acetona ou aquosos, dependendo diretamente da solubilidade do polímero (Li; He, 2016; Versino et al., 2016; Endres; Weichold, 2019).

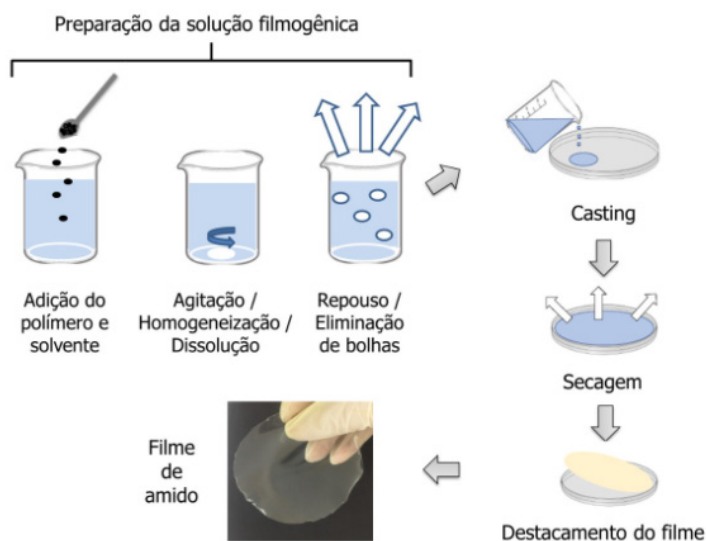
Visto isto, este capítulo objetiva explicar sobre a produção de filmes pelo método *casting*, bem como apresentar algumas técnicas de caracterização destes filmes.

PREPARAÇÃO E FABRICAÇÃO

Método *casting*

O método *casting* é baseado na evaporação do solvente quando a solução filmogênica, contendo um polímero e um solvente apropriado, é espalhada em uma superfície lisa para obtenção de um material, no caso, um filme, como ilustrado na Figura 1 (Tapia-Blácido; Sobral; Menegalli, 2013)

FIGURA 1 — REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA OBTENÇÃO DE FILMES VIA CASTING EM BATELADA



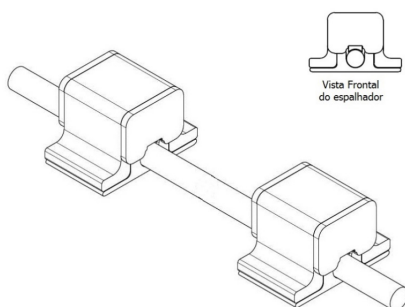
Fonte: As autoras (2020).

Para utilização do método *casting*, a observação de alguns fatores é indispensável para se obter êxito no processo, como a solubilidade do polímero, seja em água ou em um solvente orgânico (Siemann, 2005). Amidos, como exemplo, requerem ser submetidos ao processo de gelatinização para serem solúveis em água (Versino *et al.*, 2016). Já a pectina e o alginato de sódio devem ser intumescidos em água previamente ao preparo da solução (Li; He, 2016; Siracusa *et al.*, 2018). A quitosana e o acetato de celulose devem ser solubilizados em condições específicas, sendo a quitosana em soluções aquosas contendo ácidos, como o ácido acético, de modo que o pH resultante seja menor que 6,5, e o acetato de celulose, solúvel em acetona (Endres; Weichold, 2019; Assis *et al.*, 2020).

Outras condições necessárias para produzir filmes através do método *casting* incluem a formação de soluções estáveis com um mínimo de teor de sólidos e viscosidade, que após secos, sobre uma superfície que também deve ser compatível, possam permitir que o filme formado se desprenda com facilidade (Siemann, 2005).

Pode-se espalhar a solução filmogênica em uma superfície com o uso de espalhadores com espaçamento conhecido; neste caso, é extremamente importante compreender parâmetros como a viscosidade e o tempo de secagem, pois podem influenciar na espessura do filme obtido (Danglad-Flores; Eickelmann; Riegler, 2018; Paolicelli *et al.*, 2018). Um exemplo de um projeto de espalhador pode ser observado na Figura 2.

FIGURA 2 — ESPALHADOR MANUAL DE POLÍMERO EM SOLUÇÃO PARA FORMAÇÃO DE FILMES



Fonte: As autoras (2020).

Também é possível utilizar recipientes ao invés de placas, neste caso, o controle da espessura pode ser feito pela gramatura (g.cm^{-2}) desejada (Luchese et al., 2018; Cardoso et al., 2019).

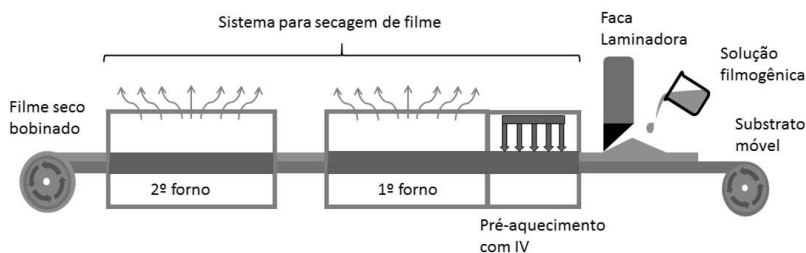
As soluções filmogênicas podem ser espalhadas ou acondicionadas em diversos materiais, como acrílico, desde que respeitem a temperatura de transição vítrea (T_g) do material, quando este for aquecido durante o procedimento de secagem (Costa; Carvalho; Riffel, 2017). No caso de filmes laminados, vale ressaltar que a laminação pode ser feita em laminadores semi-industriais operando em modo batelada (Martelli; Barros; Assis, 2014).

A taxa de evaporação é crítica no processo de formação do filme e depende de fatores como temperatura, pressão atmosférica, fluxo de ar e umidade relativa, as quais devem ser ajustadas conforme as condições de processamento (Felton, 2013).

No método *casting* convencional ou *casting* de bancada, que é um método em batelada (*bench casting*), espalha-se a solução filmogênica sobre uma superfície plana ou acondiciona-se em um recipiente e estes permanecem imóveis durante o processo de secagem (evaporação do solvente). É um método interessante que pode exigir aparatos mais simples, no entanto, é limitado devido à baixa produtividade, que é principalmente associada ao tempo de remoção do solvente.

Pode-se ainda aplicar o método *casting* contínuo, empregando o método de transporte contínuo implementado em equipamento de revestimento, como apresentado na Figura 3.

FIGURA 3 — REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA OBTENÇÃO DE FILMES VIA CASTING CONTÍNUO



Fonte: As autoras (2020).

No método *casting* contínuo, a solução filmogênica é aplicada na forma de lâmina úmida sobre um filme suporte (geralmente são usados filmes de poliéster), que é movido por rolos nas duas extremidades da máquina. A espessura aplicada da lâmina úmida é definida e ajustada por um dispositivo de laminação denominado faca. A lâmina úmida pode ser pré-aquecida em unidade de pré-secagem via infravermelho e segue para a secagem final por convecção de ar em fornos com sistema de exaustão. Ao final do processo, os filmes são bobinados automaticamente e podem ser destacados do suporte. A principal vantagem dessa técnica é a produção de filmes com a espessura controlada e com o tempo de secagem reduzido. Neste caso, uma maior produtividade é alcançada (Vanderlei, 2019).

Otoni et al (2018) fizeram uma comparação da taxa de produção de um processo de obtenção de um filme de biocompósito empregando as técnicas de *casting* contínuo e em batelada. Os autores observaram que, empregando o método de *casting* contínuo em equipamento de dimensão de 4 m², foi possível obter 1,56 m² de filme de biocompósito por hora de produção, equivalendo a 37,4 m² por dia de produção. A mesma quantidade, se fosse obtida em *casting* de batelada, necessitaria de superfície de 37,4 m², o que restringe a produtividade (Otoni et al., 2018).

Se tratando da indústria de alimentos, tanto os filmes quanto os revestimentos têm sido estudados para aplicação em diversos produtos. Se a intenção for a produção de filmes comestíveis (*edible films*), estes se limitam apenas ao uso de componentes apropriados ao consumo humano, ou seja, componentes de grau alimentício, incluindo desde a matriz polimérica ao solvente e aditivos (Otoni et al., 2017), podendo ser utilizados, até mesmo, resíduos de alimentos.

A diferença entre filmes e revestimentos está relacionada diretamente ao local de secagem da solução filmogênica (método *casting*). Os filmes são produzidos para depois serem aplicados à superfície dos alimentos, enquanto os revestimentos são formados diretamente sobre os alimentos, mediante a imersão do produto na solução ou a aspersão da solução no produto, isto é, a secagem, neste caso, ocorre no produto (Otoni et al., 2017).

A técnica *casting* permite o emprego de aditivos e a sua utilização exerce papel importante no desenvolvimento dos filmes. Aditivos podem

ser incorporados na solução filmogênica para atuar na modificação de propriedades finais filmes resultantes, em relação àquelas dos polímeros originais, como as propriedades mecânicas, de barreira e até mesmo de atividade dos materiais (Rabello; De Paoli, 2013).

Quando na formulação do material é adicionado um aditivo que possa atuar no produto embalado de forma desejável, ou seja, quando é permitida uma interação intencional da embalagem com o produto, a exemplo de produtos alimentícios, temos as ditas “Embalagens Ativas”. Exemplos dessas embalagens incluem aquelas contendo agentes antimicrobianos ou antioxidantes incorporados, que podem ser liberados gradativamente para o produto, podendo prolongar a validade comercial (Atarés; Chiralt, 2016; Sunderman; Isa; Sarbon, 2018) e reduzindo a necessidade destes aditivos serem aplicados diretamente no produto.

Às formulações dos filmes também podem ser adicionadas nanopartículas, podendo ser uma fase de reforço estrutural na matriz biopolimérica, bem como cargas ativas e reabsorvíveis (Bharadwaz; Jayasuriya, 2020), ou argila, como a montmorilonita, empregada no aprimoramento de propriedades de barreira (Nouri *et al.*, 2018).

CARACTERIZAÇÃO

Soluções filmogênicas

Pode-se avaliar as propriedades das soluções filmogênicas utilizando análises reológicas. Mediante estudo em reômetro, é possível determinar o comportamento da viscosidade em função da concentração do polímero ou da presença de aditivos. As propriedades reológicas são de suma importância para se ter uma reprodutibilidade do processo de formação dos filmes pelo método *casting*.

Por meio de estudos rotacionais, podem ser determinadas as curvas de fluxo e, assim, o comportamento do fluido. Os fluidos podem ser newtonianos ou não newtonianos. Fluidos newtonianos não apresentam variação da viscosidade em função da taxa de cisalhamento, enquanto que fluidos não newtonianos não apresentam linearidade entre a tensão

de cisalhamento e a taxa de cisalhamento. Assim, as viscosidades variam em função da taxa de cisalhamento (Schramm, 2000).

Adicionalmente, os estudos oscilatórios podem fornecer informações sobre a viscoelasticidade do material. Pode-se determinar o módulo de armazenamento (G') e o módulo de perda (G''), bem como a tangente delta, que é a razão entre G'' e G' . A temperatura de gel ou de fusão pode ser confirmada a partir do ponto de cruzamento entre as curvas de G' e G'' . Quando a curva de $G'' > G'$ ou quando $G'' \gg G'$, o comportamento é predominante de líquido. Quando $G' \gg G''$, o comportamento é de estrutura do tipo gel, de um sólido elástico (Mezger, 2015; Zhang et al., 2020).

A viscosidade de uma solução pode aumentar ou diminuir com a temperatura, taxa de cisalhamento (alta ou baixa), tipo de aditivo (ex: plastificante) e combinações dessas variáveis. Dessa forma, a viscosidade deve ser conhecida para garantir a segurança e a qualidade, bem como para o projeto de equipamentos e processos que exijam o cálculo da transferência de calor e quedas de pressão ou modelagem de tratamentos (Chen et al., 2008; Ayala; Vargas; Agudelo, 2014).

Caracterização dos materiais formados pelo método casting

Espessura

A espessura dos filmes pode ser determinada com auxílio de um micrômetro. A média do número de pontos medidos representa a espessura final. O número de pontos medidos, de acordo com a literatura, varia entre 5 e 10 (Akhter et al., 2019; Gonçalves et al., 2019a; Lee; Jeong; Kanmani, 2019; Fernandes et al., 2020; Pellá et al., 2020).

Caracterização morfológica

Para avaliação da superfície e da seção transversal dos filmes, pode ser utilizado um microscópio eletrônico de varredura (MEV). Por meio deste equipamento é possível observar as características microestruturais de componentes sólidos, como os filmes. O princípio de funcionamento do MEV se dá com o auxílio de um feixe de elétrons de pequeno diâmetro que permite explorar a superfície da amostra, ponto a ponto,

por linhas contínuas, e transmitir o sinal do detector a uma tela que está sincronizada com aquela do feixe incidente (Canevarolo Jr., 2004; Dedavid; Gomes; Machado, 2007).

Faz-se necessário que o feixe de elétrons interaja com a amostra. Posto isto, alguns elétrons são absorvidos pela amostra, que deve conduzi-los para o fio terra. Sendo assim, as amostras precisam ser condutoras. Por isso, pode-se recobrir a amostra para melhorar o nível de emissão de elétrons, aprimorando a construção da imagem. Diante desses fatos, é sugerido que se faça o recobrimento por deposição de íons metálicos utilizando ouro (Au), liga de ouro-paládio (Au-Pd), platina (Pt), entre outros (Dedavid; Gomes; Machado, 2007).

Pode-se resfriar as amostras em nitrogênio líquido e, posteriormente, realizar uma fratura no material para analisar a região da ruptura, uma vez que este sistema permite encontrar e observar composições essenciais e sua distribuição em estruturas celulares e moleculares em estado vítreo, podendo ser bidimensionais ou tridimensionais (Kuo, 2008).

Outra avaliação morfológica dos filmes que pode ser realizada é por meio da microscopia de força atômica (AFM = *Atomic Force Microscopy*). A AFM permite obter imagens de superfícies de filmes mesmo que eles estejam submetidos a diversas condições, tais como ar, vácuo e meio líquido, com resoluções atômicas de um décimo de nanômetro (Bernardes Filho; Mattoso, 2003; Ali; Maiz, 2018). Diferindo do MEV, que exige um sistema de vácuo para a análise, a AFM difere-se por conseguir fornecer informações que não são distinguidas pelo MEV, devido a forma como as imagens são obtidas.

A AFM é baseada na utilização de uma agulha micrométrica, a qual é imobilizada em um cantilever e levada para a proximidade da superfície da amostra. A avaliação é realizada através da interação entre a ponta da agulha e a superfície. Para obter imagens, a agulha varre a superfície da amostra, utilizando um sistema de alinhamento no qual um feixe de luz é capaz de incidir sobre o cantilever e refletir em um sensor que é capaz de corrigir a posição do cantilever, mantendo-o em contato com amostra (Bernardes Filho; Mattoso, 2003; Marrese; Guarino; Ambrosio, 2017).

Caracterização mecânica

Por meio de um instrumento universal de teste mecânico, o texturômetro, três parâmetros podem ser avaliados quanto às propriedades mecânicas dos filmes por meio de suas características, mediante o uso de corpos de prova adequados (que sigam padrões estabelecidos, como ASTM e ISO). O texturômetro é capaz de mensurar a força/trabalho de compressão ou estiramento de maneira constante, descrevendo as características da amostra por meio de um registro gráfico, mostrando a força usada ao longo da análise (Barros et al., 2013).

Os parâmetros analisados são: resistência à tração, módulo de elasticidade (*Young*) e alongamento na ruptura. A resistência à tração representa a resistência do filme em relação a deformação por alongamento quando é submetido a uma força (Carvalho et al., 2017). Já o módulo de elasticidade está associado à rigidez do filme (Gonçalves et al., 2019b) e o alongamento na ruptura indica o quanto o filme é capaz de esticar antes de ocorrer sua ruptura, ou seja, expressa sua flexibilidade e extensibilidade (Gonçalves et al., 2019a).

Caracterização térmica

Uma das técnicas que podem ser usadas para medir e analisar o comportamento dos filmes poliméricos ao calor é a calorimetria diferencial de varredura, DSC (do inglês, *Differential Scanning Calorimetry*). Por meio da curva obtida pelo DSC é possível avaliar parâmetros como temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de fusão cristalina (T_m), temperatura de cristalização (T_c) e capacidade calorífica (Müller; Michell, 2016).

O DSC opera por meio da transferência de calor, comparando uma amostra, que pode ser o filme, com uma referência. Isto é possível por meio da manutenção da diferença de temperatura entre a amostra e a referência ser nula, compensando a energia dada à amostra sempre que ela for submetida a uma mudança de fase ou transição térmica que necessite de mais ou menos energia. Assim, tem como resultado uma compensação de potência que é proporcional a quantidade de calor transferido para a amostra (Müller; Michell, 2016; Drzeżdżon et al., 2019).

Já as análises termogravimétricas (TGA, do inglês *Thermal Gravimetric Analysis*) podem ser utilizadas para complementar ou suplementar a DSC. Esta técnica permite mensurar a perda de massa do filme polimérico em função da temperatura ou do tempo em uma atmosfera controlada (Erickson, 1999).

Na prática, uma temperatura desejada é ajustada e as mudanças da massa são observadas. O aumento da temperatura é realizado com a temperatura linearmente crescente em taxa pré-determinada. Por isso, podem ocorrer diferentes mudanças de acordo com as taxas de aquecimento, que devem, portanto, ser realizadas de diferentes modos (Rydz; Musioł; Janeczek, 2015).

Propriedades óticas

Por meio de um colorímetro, no qual os filmes são alocados, os parâmetros $L^*a^*b^*$ do sistema CIELAB podem ser avaliados por transmitância. O L^* representa a luminosidade do filme e varia de 0 a 100. Portanto, quanto mais próximo de 100, mais claro o filme se encontra, e mais próximo de 0, mais escuro. Já o croma a^* indica o eixo verde-vermelho ($-a =$ verde, $+a =$ vermelho) e o croma b^* azul-amarelo ($-b =$ azul, $+b =$ amarelo) (Silveira et al., 2020).

A opacidade também pode ser determinada com o auxílio do colorímetro ou de um espectrofotômetro por meio de medidas de absorvância, em comprimento de onda que varia conforme a característica do material ou metodologia a ser usada (Haghighi et al., 2019; Navia Porras et al., 2019; Silva et al., 2019).

Propriedades de barreira

As propriedades de barreira dos filmes indicam sua resistência a permeantes, tais como gases — oxigênio, dióxido de carbono, nitrogênio ou monóxido de carbono, vapor de umidade e até mesmo aromas (Kropf; Yancey; Yancey, 2014). Podem ser mensurados utilizando método gravimétrico, em umidade relativa e temperaturas controladas (Al-Hashimi et al., 2020; Marismandani; Husni, 2020) ou ainda equipamentos que têm a função de avaliar tanto a permeabilidade ao vapor d'água quanto aos gases (Nagar et al., 2020).

CONCLUSÃO

Filmes a base de biopolímeros podem ser obtidos pelo método *casting*. Dentre os biopolímeros, ganham destaque os estudos com os biodegradáveis, considerados uma boa opção para as indústrias, por contribuírem positivamente com o meio ambiente.

O método *casting* é versátil e permite a produção dos filmes, por exemplo, na presença de reforços para obtenção de bio e nanocompósitos, ou na presença de agentes ativos, resultando em “filmes ativos”, com propriedades antimicrobianas ou antioxidantes. Adicionalmente, filmes e revestimentos comestíveis também podem ser produzidos por essa técnica.

Embora o método *casting* de batelada seja versátil e promissor, produções em grandes escalas ainda são limitadas. Estas tendem a ser adaptadas ao método de *casting* contínuo para minimizar a problemática desta limitação.

Quanto aos filmes, podem ser destinados a diversos ramos como a indústria alimentícia, farmacêutica e de cosméticos. Para tal, as técnicas de caracterização dos materiais são importantes para direcionar a aplicação dos filmes, incluindo a espessura, caracterizações morfológicas, mecânicas, térmicas, propriedades ópticas e de barreira.

AGRADECIMENTOS

L. Vitorazi agradece à Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda da Universidade Federal Fluminense e à Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pela bolsa de Jovem Cientista do Nosso Estado (Processo E-26/202.724/2019). J. F. G. Motta agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudo de doutorado. G. N. R. Perea, agradece à Capes pela concessão da bolsa de pós-doutoramento.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-HALIM, E. S. Chemical Modification of Cellulose Extracted from Sugarcane Bagasse: Preparation of Hydroxyethyl Cellulose. *Arabian Journal of Chemistry*. Arábia Saudita, v. 7, n. 3, p. 362-371, 2014.
- AKHTER, R. et al. Functional Characterization of Biopolymer Based Composite Film: Incorporation of Natural Essential Oils and Antimicrobial Agents. *International Journal of Biological Macromolecules*. Estados Unidos, v. 137, p. 1245-1255, 2019.
- AL-HASHIMI, A. G. et al. Development of a Millet Starch Edible Film Containing Clove Essential Oil. *Foods*, Suíça, v. 9, n. 184, p. 1-14, 2020.
- ALI, F. M.; MAIZ, F. Structural, Optical and AFM Characterization of PVA: La³⁺ Polymer Films. *Physica B: Condensed Matter*, Holanda, v. 530, p. 19-23, 2018.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). *D883-20: Standard Terminology Relating To Plastics*. Estados Unidos, 2012.
- ANDRADE, M.A. et al. Characterization of Rosemary and Thyme Extracts for Incorporation into a Whey Protein-Based Film. *Lwt*, Estados Unidos, v. 92, p. 497-508, 2018.
- ASSIS, R. Q. et al. Biodegradable Packaging of Cellulose Acetate Incorporated with Norbixin, Lycopene or Zeaxanthin. *Industrial Crops and Products*. Holanda, v. 147, p. 112212, 2020.
- ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Essential Oils as Additives in Biodegradable Films and Coatings for Active Food Packaging. *Trends in Food Science & Technology*, Holanda, v. 48, p. 51-62, 2016.
- AYALA, G.; VARGAS, R. A.; AGUDELO, A. C. Influence of Glycerol and Temperature on the Rheological Properties of Potato Starch Solutions. *International Agrophysics*, Alemanha, v. 28, p. 261-268, 2014.
- BARROS, T. T. et al. Uso de texturômetro e colorimetria para análise de filmes a base de kafirina. In: VII WORKSHOP DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO, 2013, São Carlos, *Anais...* São Carlos: Embrapa Instrumentação, p. 97-99, 2013.
- BASIAK, E.; LENART, A.; DEBEAUFORT, F. Effect of Starch Type on the Physico-Chemical Properties of Edible Films. *International Journal of Biological Macromolecules*, Estados Unidos, v. 98, p. 348-356, 2017.

- BERNARDES FILHO, R.; MATTOSO, L. H. C. *Estudo de polímeros por microscopia de força atômica*. São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2003. (Embrapa Instrumentação: Comunicado Técnico.)
- BHARADWAZ, A.; JAYASURIYA, A. C. Recent Trends in the Application of Widely Used Natural and Synthetic Polymer Nanocomposites in Bone Tissue Regeneration. *Materials Science and Engineering: C*, Holanda, v. 110, 110698, 2020.
- CANEVAROLO JR., S. V. *Técnicas de caracterização de polímeros*. São Paulo: Artliber, 2004.
- CARDOSO, T. et al. Technological Viability of Biobased Films Formulated with Cassava By-Product and *Spirulina platensis*. *Journal of Food Process Engineering*, Estados Unidos, v. 42, n. 5, e13136, 2019.
- CARVALHO, D. de M. et al. Filme ativo de acetato de celulose incorporado com nanosuspensão de curcumina. *Polímeros*, Brasil, v. 27, n. SPE, p. 70-76, 2017.
- CHEN, J. et al. Synthesis and Structure of Carboxymethylcellulose with a High Degree of Substitution Derived from Waste Disposable Paper Cups. *Carbohydrate Polymers*, Reino Unido, v. 237, 116040, 2020.
- CHEN, L. M. et al. Rheological Properties of Dilute Aqueous Solutions of Cassava Starch. *Carbohydrate Polymers*, Reino Unido, v. 74, p. 385-389, 2008.
- COSTA, A. L. de M. et al. Simulação numérica da extrusão hidrostática de acrílico (PMMA). In: IX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE FABRICAÇÃO, 2017. *Anais...* Joinville: 9 COBEF, 2017. p. 1-8.
- DANGLAD-FLORES, J.; EICKELMANN, S.; RIEGLER, H. Deposition of Polymer Films by Spin Casting: A Quantitative Analysis. *Chemical Engineering Science*, Reino Unido, v. 179, p. 257-264, 2018.
- DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, C. *Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparo de amostras*. Porto Alegre: EdiPUCRS, 2007.
- DRZEŹDŹON, J. et al. Characterization of Polymers Based on Differential Scanning Calorimetry Based Techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Holanda, v. 110, p. 51-56, 2019.
- ENDRES, M. B.; WEICHHOLD, O. Sorption-Active Transparent Films Based on Chitosan. *Carbohydrate Polymers*, Reino Unido, v. 208, p. 108-114, 2019.
- ERICKSON, B. E. Product Review: The Many Faces of Thermal Analysis. *Analytical Chemistry*, Estados Unidos, v. 71, n. 19, p. 689A-692A, 1999.
- FELTON, L. A. Mechanisms of Polymeric Film Formation. *International Journal of Pharmaceutics*, Holanda, v. 457, p. 423-427, 2013.

FERNANDES, L. M. *et al.* Whey Protein Films Added with Galactooligosaccharide and Xylooligosaccharide. *Food Hydrocolloids*, Holanda, v. 104, p. 105755, 2020.

GONÇALVES, S. M. *et al.* Structure and Functional Properties of Cellulose Acetate Films Incorporated with Glycerol. *Carbohydrate Polymers*, Reino Unido, v. 209, p. 190-197, 2019a.

GONÇALVES, S. S. *et al.* Efeito do glicerol nas propriedades mecânicas de filmes a base de quitosana. *Desafios-Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins*, Brasil, v. 6, n. ESP, p. 110-117, 2019b.

HAGHIGHI, H. *et al.* Comparative Analysis of Blend and Bilayer Films Based on Chitosan and Gelatin Enriched with LAE (Lauroyl Arginate Ethyl) with Antimicrobial Activity for Food Packaging Applications. *Food Packaging and Shelf Life*, Holanda, v. 19, p. 31-39, 2019.

JANTRAWUT, P. *et al.* Effect of Plasticizer Type on Tensile Property and In Vitro Indomethacin Release of Thin Films Based on Low-Methoxyl Pectin. *Polymers*, Suíça, v. 9, n. 7, p. 1-14, 2017.

KROPF, D. H.; YANCEY, J. W. S.; YANCEY, E. J. *Packaging: Technology and Films*. Cambridge: Academic Press, 2014.

KUO, J. Electron Microscopy. In: WALKER, J. M.; RAPLEY, R. *Molecular Biomethods Handbook: Second Edition*. Nova Jersey: Humana Press, 2008. p. 975-1008.

LEE, J. H.; JEONG, D.; KANMANI, P. Study on Physical and Mechanical Properties of the Biopolymer/Silver Based Active Nanocomposite Films with Antimicrobial Activity. *Carbohydrate Polymers*, Reino Unido, v. 224, p. 115159, 2019.

LI, J.; HE, J. Alginate-Based Films and Membranes: Preparation, Characterization and Applications. In: VISAKH, P. M.; NAZARENKO, O. *Nanostructured Polymer Membranes*, v. 1: Processing and Characterization, Bervely: Scriver Publishing, 2016. p. 457-490.

LUCHESE, C. L. *et al.* Evaluation of Blueberry Residue Incorporated Cassava Starch Film as Ph Indicator in Different Simulants and Foodstuffs. *Food Hydrocolloids*, Holanda, v. 82, p. 209-218, 2018.

MAHCENE, Z. *et al.* Development and Characterization of Sodium Alginate Based Active Edible Films Incorporated with Essential Oils of Some Medicinal Plants. *International Journal of Biological Macromolecules*, Holanda, v. 145, p. 124-132, 2020.

- MARISMANDANI, A. D. P.; HUSNI, A. Development and Characterization of Biobased Alginate/Glycerol/Virgin Coconut Oil as Biodegradable Packaging. *E3S Web of Conference*, v. 147, p. 1-7, 2020.
- MARTELLI, M. R.; BARROS, T. T.; ASSIS, O. B. G. Filmes de polpa de banana produzidos por batelada: propriedades mecânicas e coloração. *Polímeros Ciência e Tecnologia*, Brasil, v. 24, n. 1, p. 137-142, 2014.
- MARRESE, M.; GUARINO, V.; AMBROSIO, L. Atomic Force Microscopy: A Powerful Tool to Address Scaffold Design in Tissue Engineering. *Journal of Functional Biomaterials*, Suíça, v. 8, n. 1, p. 1-20, 2017.
- MEZGER, T. G. *Applied Rheology: With Joe Flow on Rheology Road*. Áustria: Anton Paar, 2015.
- MORRIS, B. A. *The Science and Technology of Flexible Packaging: Multilayer Films from Resin and Process to End Use*. Norwich: William Andrew, 2016.
- MÜLLER, A. J.; MICHELL, R. M. Differential Scanning Calorimetry of Polymers. *Polym. Morphol. Princ. Charact. Process*, p. 72-99, 2016.
- NAGAR, M. et al. Development and Characterization of Elephant Foot Yam Starch-Hydrocolloids Based Edible Packaging Film: Physical, Optical, Thermal and Barrier Properties. *Journal of Food Science and Technology*, Índia, v. 57, n. 4, p. 1331-1341, 2020.
- NAVIA PORRAS, D. P. et al. Optimization of Physical, Optical and Barrier Properties of Films Made From Cassava Starch and Rosemary Oil. *Journal of Polymers and the Environment*, Estados Unidos, v. 27, n. 1, p. 127-140, 2019.
- NIAOUNAKIS, M. *Biopolymers: Applications and Trends*. Norwich: William Andrew, 2015.
- NOURI, A. et al. Enhanced Antibacterial Effect of Chitosan Film Using Montmorillonite/CuO Nanocomposite. *International Journal of Biological Macromolecules*, Holanda, v. 109, p. 1219-1231, 2018.
- ODIAN, G. *Principles of Polymerization*. Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2004.
- OTONI, C. G. et al. Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Estados Unidos, v. 16, n. 5, p. 1151-1169, 2017.
- OTONI, C. G. et al. Optimized and Scaled-Up Production of Cellulose-Reinforced Biodegradable Composite Films Made Up of Carrot Processing Waste. *Industrial Crops and Products*, Holanda, v. 121, p. 66-72, 2018.

- PAOLICELLI, P. et al. Effect of Glycerol on the Physical and Mechanical Properties of Thin Gellan Gum Films for Oral Drug Delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, Holanda, v. 547, p. 226-234, 2018.
- PELLÁ, M. C. G. et al. Effect of Gelatin and Casein Additions on Starch Edible Biodegradable Films for Fruit Surface Coating. *Food Chemistry*, Holanda, v. 309, p. 125764, 2020.
- PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and Chitosan Polymers: Chemistry, Solubility and Fiber Formation. *Progress in Polymer Science*, Holanda, v. 34, n. 7, p. 641-678, 2009.
- RABELLO, M.; DE PAOLI, M. A. *Aditivação de termoplásticos*. São Paulo: Artliber, 2013.
- RYDZ, J.; MUSIOŁ, M.; JANECZEK, H. Thermal Analysis in the Study of Polymer (Bio)-Degradation. In: TIWARI, Atul; RAJ, Baldev. *Reactions and Mechanisms in Thermal Analysis of Advanced Materials*. Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2015.
- SANTOS, J. F. P. et al. Monitoring the Biogenic Fraction of Sugarcane-Based Plastic Bags. *Journal of Cleaner Production*, Holanda, v. 233, p. 348-352, 2019.
- SCHRAMM, G. *Practical Approach to Reology and Rheometry*. Alemanha: Thermo Haake, 2000.
- SIEMANN, U. Solvent Cast Technology: A Versatile Tool for Thin Film Production. In: STRIBECK, N.; SMARSLY, B. (ed.). *Progress in Colloid and Polymer Science*. Berlin Heidelberg: Springer, 2005.
- SILVA, O. A. et al. Synthesis and Characterization of a Low Solubility Edible Film Based on Native Cassava Starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, Holanda, v. 128, p. 290-296, 2019.
- SILVEIRA, M. P. et al. Development of Active Cassava Starch Cellulose Nanofiber-Based Films Incorporated with Natural Antimicrobial Tea Tree Essential Oil. *Journal of Applied Polymer Science*, Estados Unidos, v. 137, n. 21, p. 48726, 2020.
- SIRACUSA, V. et al. Characterization of Active Edible Films Based on Citral Essential Oil Alginate and Pectin. *Materials*, v. 11, n. 10, p. 1980, 2018.
- SOUZA, V. G. L. et al. Physical Properties of Chitosan Films Incorporated with Natural Antioxidants. *Industrial Crops and Products*, Holanda, v. 107, p. 565-572, 2017.

- SUDERMAN, N.; ISA, M. I. N.; SARBON, N. M. The Effect of Plasticizers on the Functional Properties of Biodegradable Gelatin-Based Film: A Review. *Food Bioscience*, Reino Unido, v. 24, p. 111-119, 2018.
- TAPIA-BLÁCIDO, D. R.; SOBRAL, P. J. do A.; MENEGALLI, F. C. Effect of Drying Conditions and Plasticizer Type on Some Physical and Mechanical Properties of Amaranth Flour Films. *LWT — Food Science and Technology*, Estados Unidos, v. 50, p. 392-400, 2013.
- TOKIWA, Y. et al. Biodegradability of Plastics. *International Journal of Molecular Sciences*, Suíça, v. 10, n. 9, p. 3722-3742, 2009.
- VANDERLEI, Rafael Marques. *Desenvolvimento de nanocompósitos de amido/palygorskita modificada com íons de prata via casting contínuo*. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2019.
- VERSINO, F. et al. Starch-Based Films and Food Coatings: An Overview. *Starch — Stärke*, Alemanha, v. 68, p.1-12, 2016.
- VERT, M. et al. Terminology for Biorelated Polymers and Applications (Iupac Recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry*, Estados Unidos, v. 84, n. 2, p. 377-410, 2012.
- ZHANG, N. et al. Effect of Gellan Gum and Xanthan Gum Synergistic Interactions and Plasticizers on Physical Properties of Plant-Based Enteric Polymer Films. *Polymers*, Suíça, v. 12, n. 1, 2020.

Complexos de polieletrólitos e coacervados

Tamiris de Almeida¹

Bruno dos Santos de Macedo²

Renata Mello Giona^{3*}

Letícia Vitorazi^{1,4*}

INTRODUÇÃO

Complexos de polieletrólitos (PECs) são definidos como complexos coloidais formados entre polieletrólitos catiônicos e aniônicos em solução aquosa, que se associam principalmente por interações eletrostáticas. O processo de formação dos PECs ocorre a partir da mistura de uma solução contendo um polícatión a um poliânion, ou vice-versa, e pode levar a uma separação de fases no sistema (Meka et al., 2017; Lalwani; Eneh; Lutkenhaus, 2020).

Um sistema qualquer constituído de misturas de polímeros pode sofrer separação de fases do tipo associativa ou segregativa. A separação de fases segregativa resulta em fases nas quais cada uma se apresenta rica em um dos componentes poliméricos (composição polimérica assimétrica). Isso acontece quando a interação efetiva entre os polímeros é repulsiva e/ou quando um dos polímeros tem maior afinidade pelo solvente do que o outro. Em contrapartida, a separação associativa é favorecida quando há interação atrativa suficientemente forte entre os polímeros. Uma fase concentrada em ambos os polímeros é separada de uma fase que contém basicamente o solvente (Piculell; Lindman, 1992).

* Autores correspondentes

1 Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica (PPGEM), Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda (EEIMVR), Universidade Federal Fluminense (UFF), Volta Redonda-RJ.

2 Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal Fluminense (PPGQ-UFF), Departamento de Química Analítica, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói-RJ.

3 Departamento Acadêmico de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Medianeira-PR, e-mail: renatam@utfpr.edu.br.

4 Departamento de Engenharia Metalúrgica e Materiais (VMT), Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda (EEIMVR), Universidade Federal Fluminense (UFF), Volta Redonda-RJ, e-mail: leticiavitorazi@id.uff.br.

A coacervação advém de um processo de separação de fases do tipo associativa, com a formação de duas fases líquidas. A fase coloidal concentrada, rica em polímero, é a fase de coacervados que coexiste em equilíbrio com uma solução aquosa diluída, pobre em polímero (De Kruijff; Weinbreck; De Vries, 2004; Bhargavi; Dhathathreyan; Sreeram, 2020). Os coacervados geralmente tem forma esférica bem definida e são observados como gotas dispersas na solução aquosa. Já os precipitados, que também podem ser formados a partir de uma separação de fases associativa, apresentam estruturas irregulares que podem ser diferenciadas dos coacervados a partir de imagens de microscopia óptica. Adicionalmente, gotas de coacervados coalescem formando uma fase de alta viscosidade na forma de gel, em um processo que pode ser acelerado por centrifugação. Uma fase de coacervados, na forma de gel, não pode ser redispersa por agitação, enquanto a de precipitados é facilmente redispersa (Priftis; Tirrell, 2012).

Coacervados podem ser simples ou complexos. Nos coacervados complexos, a separação de fases advém da mistura de no mínimo dois polímeros que se associam, enquanto nos coacervados simples a separação de fases é induzida pela presença de um solvente pobre ou incompatível. Para o caso do polímero quitosana, por exemplo, uma coacervação simples pode ser obtida por meio da adição da solução polimérica de pH ácido a um meio precipitante, que pode ser aquoso ou metanólico, contendo hidróxido de sódio. Já a coacervação complexa pode ser obtida via associação com polímeros aniônicos, como o alginato e a carboximetil celulose de sódio (Peniche *et al.*, 2003).

Dentre as principais aplicações dos sistemas de coacervados e PECs estão as áreas farmacêutica e alimentícia. O emprego de coacervação simples ou complexa é útil para microencapsulação, uma vez que pode fornecer altas taxas de encapsulação quando comparada com outros métodos, podendo auxiliar na estabilização de aditivos reativos, sensíveis ou voláteis, mascarar o sabor desagradável e/ou atuar na liberação controlada de certos ingredientes (Gouin, 2004; Santos; Carvalho; Garcia-Rojas, 2021; Zhang *et al.*, 2021). Adicionalmente, os coacervados podem ser empregados no tratamento de águas residuais de efluentes industriais (Valley *et al.*, 2019), na confecção de adesivos verdes (Wei *et al.*, 2019), bem como em biomateriais (Yang *et al.*, 2018; Pham *et al.*, 2019), incluindo hidro-

géis de auto-cura (*self-healing*) (Nam *et al.*, 2019) e compactação de DNA para transfecção (Ribeiro *et al.*, 2017), entre outros.

A complexação de polieletrólitos que resulta nos coacervados é proveniente principalmente das interações eletrostáticas entre as espécies catiônicas e aniônicas. Contudo, algumas outras forças podem ser relevantes na formação dos complexos coacervados, como a ligação de hidrogênio, forças de van der Waals e interações hidrofóbicas (Köse; Bayraktar; Heinz, 2018). As ligações de hidrogênio ocorrem a partir de grupos que contém átomos de hidrogênio ligado a átomos eletronegativos, como nitrogênio, oxigênio ou flúor. Elas podem ser encontradas na formação de coacervados entre espécies como pectina e gelatina, por exemplo (Schmitt *et al.*, 1998). As forças de van der Waals atuam sobre todos os tipos de átomos ou moléculas, mesmo nos totalmente neutros (Kudlay; Ermoshkin; Olvera De La Cruz, 2004). As interações hidrofóbicas são governadas pela entropia e favorecidas com o aumento da temperatura. Essas interações são essenciais na estabilização térmica dos complexos coacervados e apresentam considerável influência das mudanças conformacionais do polímero (Schmitt *et al.*, 1998). As interações intermoleculares podem ser de baixo (para interações fracas) ou de longo alcance (para interações fortes), dependendo do grau de ionização e da concentração dos polieletrólitos (Köse; Bayraktar; Heinz, 2018).

Estudos apresentam o trabalho de Von F. W. Tiebackx (1911) como o primeiro relato sobre coacervados complexos e o de Bungenberg, de Jong e Kruyt (1929), como o primeiro estudo sistemático sobre o assunto (De Kruijff; Weinbreck; De Vries, 2004). Dentre as teorias desenvolvidas para explicar a formação de coacervados estão a de Voorn-Overbeek, Veis-Aranyi, Nakajima-Sato e a de Tainaka. Nenhuma dessas teorias consegue prever um comportamento geral para todas as separações de fase associativas que levam a coacervação, no entanto, fornecem informações importantes para compreender o processo de interação dos polímeros em solução (Schmitt *et al.*, 1998).

A teoria de Voorn-Overbeek, desenvolvida a partir do sistema gelatina/goma de acácia, considera que a coacervação é um processo espontâneo e que as cadeias das macromoléculas de carga oposta estão associadas entre si como resultado de forças eletrostáticas para formar a fase de coacerva-

dos, aprisionando moléculas de solvente. Esses estudos mostraram que a coacervação é predominantemente dirigida pela carga e pelo comprimento da cadeia de polímero (Ghosh; Bose; Tang, 2021).

Já a teoria de Veis-Aranyi, desenvolvida a partir de gelatinas, afirma que inicialmente ocorre a interação entre as macromoléculas de carga oposta por meio de interação eletrostática, formando agregados. Esses agregados se rearranjam lentamente para formar os coacervados. A coacervação complexa é considerada um processo de duas etapas em vez de um processo espontâneo, como previsto pela teoria de Voorn-Overbeek (Schmitt *et al.*, 1998). Frequentemente, são observados sistemas em que o processo de coacervação ocorre em duas etapas, como previsto pela teoria Veis-Aranyi (Aberkane *et al.*, 2010; Vitorazi *et al.*, 2014; Kayitmazer, 2017).

A teoria de Nakajima-Sato é baseada em estudos realizados a partir de sistemas sintéticos e modifica a teoria de Voorn-Overbeek para incluir o parâmetro de interação de Huggins. No entanto, a teoria de Tainaka está de acordo com a teoria de Veis-Aranyi pela formação de pares agregados de policátions e poliânions na fase diluída, mas sem considerar um emparelhamento específico de carga. Assume-se que os agregados de polímeros presentes na fase inicial se condensam para formar um coacervado. Nesse caso, os agregados são presentes tanto na fase diluída quanto na fase de coacervado, e as forças motrizes para a separação de fases são forças eletrostáticas e atrativas (Schmitt *et al.*, 1998).

Geralmente, se observa que os coacervados começam a se formar quando a carga líquida dos complexos se aproxima de zero. Embora a formação de coacervados complexos requeira macroíons de cargas opostas, as interações eletrostáticas nem sempre são o fator dominante para a coacervação. De fato, para alguns sistemas, o ganho de entropia quando há liberação de contra-íons pode superar a contribuição entálpica decorrente de interações eletrostáticas, além de haver contribuições de interações do tipo ligação de hidrogênio e hidrofóbicas (Kayitmazer, 2017; Neitzel; Hoe; Tirrell, 2021).

Por exemplo, Alonso e colaboradores mostraram que a interação de poli(ácido acrílico) (PAA) e poli(dialildimetil amônio) (PDADMAC) não é apenas dirigida por interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio tem um papel fundamental no processo, sendo essas altamente

dependentes do pH. Em valores baixos de pH, a interação entre PAA e PDADMAC foi exotérmica e resultou em associação imediata e formação do complexo. Em valores altos de pH, em que a carga do PAA aumenta e interações eletrostáticas deveriam ser mais fortes, a interação foi endotérmica em valores de pH acima de 6 e em pH 13 não houve interação entre os polieletrólitos, provavelmente devido à interação do PAA com a água, por meio de ligação de hidrogênio, ser mais favorável que a complexação desse com PDADMAC (Alonso et al., 2013).

Contudo, quando em pH 13, na presença de ureia, que reconhecidamente interfere em ligações de hidrogênio, os experimentos de calorimetria de titulação isotérmica (ITC) mostraram um processo exotérmico (Alonso et al., 2013). A presença de eletrólito durante a formação dos PECs e coacervados pode auxiliar a associação pela diminuição da repulsão intramolecular de cargas no poli-íon. No entanto, altas concentrações de eletrólitos geralmente levam a uma forte blindagem eletrostática entre os polieletrólitos que extinguem a interação (Insua; Wilkinson; Fernandez-Trillo, 2016).

O efeito de blindagem eletrostática em soluções com alta concentração de sais foi empregado por Yan et al. (2010) para a obtenção de nanoagulhas magnéticas. Uma solução de nanopartículas magnéticas revestidas, negativamente carregadas, foi misturada a uma solução de polímero catiônico a 1 mol.L^{-1} de NH_4Cl . A mistura foi dialisada em membranas em um aparato condicionado entre ímãs e quando a concentração atingiu $0,46 \text{ mol.L}^{-1}$ as espécies começaram a interagir, formando nanoagulhas magnéticas em que o crescimento foi orientado pelo campo magnético (Yan; Fresnais; Berret, 2010).

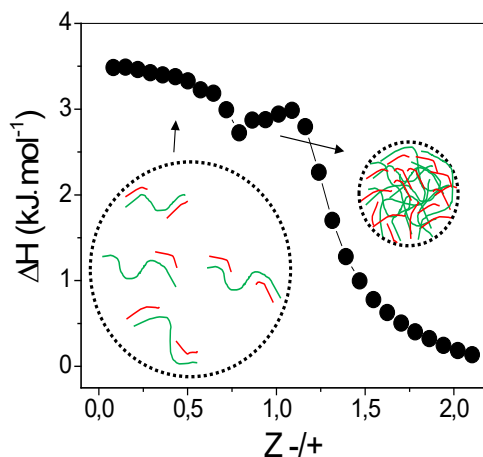
Hadian et al. (2016) estudaram, por densitometria óptica, o efeito da força iônica na formação de complexos de β -lactoglobulina e goma arábica, e observaram que o aumento da força iônica teve efeito significativo na diminuição da interação entre os polímeros. Além disso, os autores verificaram a influência da natureza do sal e, de acordo com os resultados, a formação do complexo é inibida na presença de cátions divalentes Ca^{2+} quando comparada ao cátion monovalente Na^+ , o que

provavelmente ocorre pois o ganho entrópico, quando liberados dois íons monovalentes, é duplamente maior do que quando um único íon divalente é liberado (Hadian *et al.*, 2016).

Assim como em qualquer processo que ocorra espontaneamente, a coacervação é favorecida em processos em que o ΔG é negativo, condição que é alcançada quando ΔH do processo é altamente negativo ou quando o termo $T\Delta S$ é altamente positivo. Por essa razão, processos exotérmicos são considerados como sendo dirigidos entalpicamente, enquanto processos endotérmicos são ditos dirigidos entropicamente. Em geral, pode se dizer que a complexação/coacervação polieletrólito-polieletrólito é entropicamente dirigida. Porém, para sistemas de proteína-polieletrólito e sistemas de micelas-polieletrólito, em que um coloide está envolvido, complexação ou coacervação pode ser entropicamente ou entalpicamente dirigida e depende da natureza dos componentes (Barreleiro; Olofsson; Alexandridis, 2000; Kayitmazer, 2017).

Há, ainda, sistemas em que se observam dois processos sucessivos, sendo o primeiro atribuído à interação eletrostática entre as macromoléculas (formação de complexos), enquanto o segundo é atribuído à coacervação (Aberkane *et al.*, 2010; Vitorazi *et al.*, 2014; Kayitmazer, 2017). A Figura 1 apresenta uma curva de entalpia de um experimento obtido por ITC para a adição de poli(acrilato de sódio) (PANa) em PDADMAC em que podem ser observados esses dois processos sequenciais. Em alguns casos, por exemplo, para a adição de PDADMAC em PANa, o segundo processo passa de exotérmico para endotérmico e esse comportamento pode indicar que o sinal e a magnitude da carga da partícula de PEC podem influenciar o custo de energia para atingir sua condensação em gotículas coacervadas neutras (Liu; Chapel; Schatz, 2017).

FIGURA 1 — ISOTERMA DE ASSOCIAÇÃO PARA A ADIÇÃO DE SOLUÇÃO DE PANa ($20 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; VERMELHO) EM PDADMAC ($2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; VERDE)



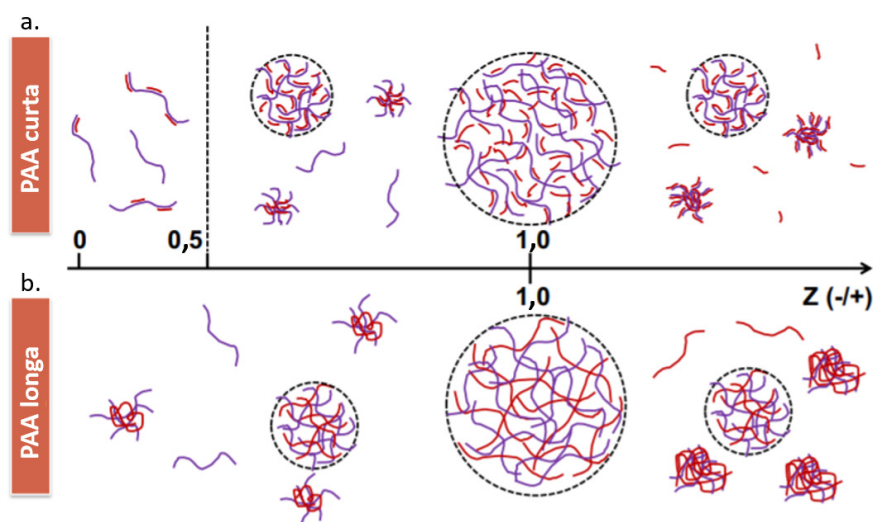
Fonte: Adaptada de Vitorazi et al. (2014).

A ordem de mistura das soluções dos polímeros PANa e PDADMAC também foi um parâmetro importante na estrutura dos PECs. Além do processo de coacervação, em uma direção de titulação é exotérmica e na direção oposta é endotérmica, notou-se que, se adicionando a solução de PANa sobre a solução de PDADMAC, para baixas razões de carga, houve a formação de agregados carregados positivamente, seguida pelo decréscimo de valor de potencial zeta e coacervação nas razões de carga próxima a estequiometria e neutralidade de superfície. Já para altas razões de carga ($Z > 1$), agregados carregados negativamente são formados. No caso da adição de PDADMAC à solução de PANa, inicialmente, agregados carregados negativamente foram formados e, em seguida, se transformaram em coacervados ao redor da estequiometria e potencial zeta neutro (Vitorazi et al., 2014).

Liu et al. (2017) estudaram as características termodinâmicas e cinéticas de coacervados formados pelos mesmos polieletrólitos PANa e PDADMAC e observaram a presença de nanopartículas de complexos de polieletrólito que coexistem com uma certa quantidade de gotículas de coacervados, mesmo longe da razão estequiométrica ($Z \sim 1$), sendo essas

nanopartículas, provavelmente, precursoras da coacervação que ocorre na estequiometria de cargas. Isso sugere então que, para o sistema estudado, os eventos podem não ser consecutivos, e sim ocorrerem simultaneamente. Esse cenário pode ser observado na Figura 2, que apresenta o mecanismo proposto para a associação de PANa de diferentes massas molares e PDADMAC (Liu; Chapel; Schatz, 2017).

FIGURA 2 — MECANISMO DE ASSOCIAÇÃO PANa (VERMELHO) E PDADMAC (ROXO) EM DIFERENTES RAZÕES DE CARGA PARA a. PANa DE BAIXA MASSA MOLAR E PARA b. PANa DE ALTA MASSA MOLAR



Fonte: Liu; Chapel; Schatz (2017)* .

Os complexos coacervados podem ser formados a partir da mistura de diferentes tipos de polieletrólitos. Polieletrólitos sintéticos foram relatados em aplicações como membranas para destiladores, processos de diálise e purificação de água (Köse; Bayraktar; Heinz, 2018). Como exemplos de espécies sintéticas estão PANa e PDADMAC (Vitorazi et al., 2014), poliestireno sulfonato (PSS) e PDADMAC (Wang; Schlenoff, 2014; Mousseau et al., 2016), entre outros. Dentre os polímeros naturais ou biopolímeros estão as proteínas e polissacarídeos (Schmitt et

*Reproduzida e traduzida com permissão da Elsevier a partir de: Liu; Chapel; Schatz (2017).

al., 1998), sendo que a formação de complexos coacervados entre essas espécies ainda é alvo de extensos estudos, principalmente devido as suas características de biocompatibilidade dos PECs e coacervados (Köse; Bayraktar; Heinz, 2018). Dentre os sistemas de coacervação proteína/polissacarídeo, frequentemente estudados estão lisozima/pectina (Souza *et al.*, 2018), caseína/goma arábica (Li *et al.*, 2018) e gelatina/pectina (Joshi; Rawat; Bohidar, 2018).

Adicionalmente, PECs e coacervados podem ser formados a partir de DNA, que é um polieletrólito carregado negativamente, e agentes catiônicos, como polímeros, lipídeos ou surfactantes. Novos materiais têm sido amplamente estudados visando a sua compactação (Eldred *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2016; Jung; Lodge; Reineke, 2018; Martin-Herranz *et al.*, 2004). Esses complexos são extremamente importantes no desenvolvimento de vetores não virais para transporte de genes.

Uma das condições para o bom desempenho da terapia genética é o transporte efetivo do DNA através da membrana celular, o que, por sua vez, é dependente do tamanho do complexo formado. Por essa razão, a escolha de agentes de compactação efetivos, no caso de transporte não viral, é um fator determinante (Ikonen; Murtomaki; Kontturi, 2008; Nimesh; Chandra, 2008). Dentre as espécies catiônicas utilizadas para essa finalidade, podem-se destacar os surfatantes brometos de dodecil e hexadeciltrimetilamônio, DTAB e CTAB, respectivamente (Zhu; Evans, 2006), lipídeos como o 1,2-dioleoil-3-trimetilamônio-propano, DOTAP, (Rädler *et al.*, 1997; Koltover; Salditt; Safinya, 1999) e polímeros e dendrímeros sintéticos constituídos de poli(amido amina) (PAMAN) (Braun *et al.*, 2005), poli-lisina (Eldred *et al.*, 2005), polietilenoimina (PEI) (Petersen *et al.*, 2002; Bellettini *et al.*, 2017), entre outros.

PREPARAÇÃO

Uma das vantagens no preparo de coacervados está na facilidade metodológica, uso de poucos reagentes e emprego de soluções aquosas. Em geral, uma solução contendo um polímero catiônico é adicionada sobre a solução do aniônico ou vice-versa, com a mistura sob agitação.

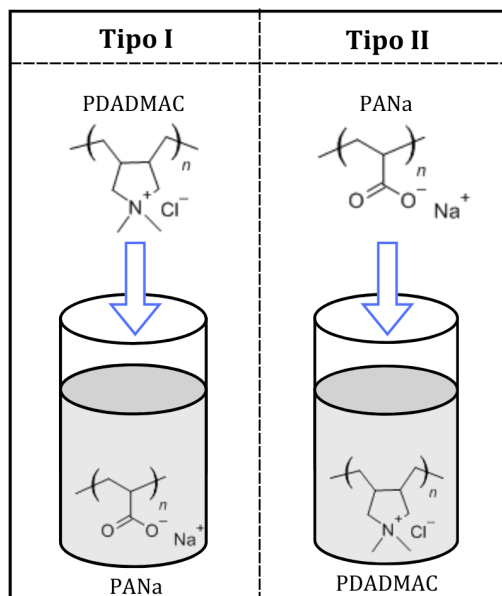
Essa adição pode se dar de duas formas: por meio de titulação ou pela mistura direta das soluções.

Um dos métodos mais empregados para o preparo dos coacervados é a titulação, em que se pode utilizar a técnica de calorimetria de titulação isotérmica na obtenção de parâmetros termodinâmicos e espalhamento de luz/potencial zeta para obtenção de informações estruturais/carga superficial dos PECs e coacervados durante o processo de associação. Nesse caso, sugere-se o emprego de soluções titulantes cerca de 10x mais concentradas do que as tituladas, levando em consideração a quantidade de grupamentos catiônicos e aniônicos dos polímeros (Vitorazi *et al.*, 2014).

No método realizado pela mistura direta das soluções, uma quantidade específica de uma solução estoque contendo o polímero catiônico é adicionada de uma vez no aniônico, ou vice-versa, sob agitação. A adição pode ser feita com auxílio de uma seringa (Liu *et al.*, 2016).

O par de polieletrólitos PANa e PDADMAC será usado como exemplo para se apresentar um método útil de estabelecer as proporções entre os polímeros ou razão de carga durante um experimento de titulação ou mistura direta. Para os experimentos em que houver a adição de PDADMAC sobre PANa, que será chamado de Tipo I, pode-se estabelecer a razão de carga $Z+/-=[PDADMAC]/[PANa]$, em que $[PANa]$ e $[PDADMAC]$ são as quantidades molares dos meros PANa (massa molar 95 g.mol^{-1}) e PDADMAC (massa molar 162 g.mol^{-1}), respectivamente. Para o experimento do Tipo II, quando houver a adição de PANa sobre PDADMAC, pode-se estabelecer a razão de carga $Z-/+= [PANa]/[PDADMAC]$. Nesse caso, durante uma titulação, a razão de carga do experimento sempre sofrerá incrementos (Vitorazi *et al.*, 2014). Os experimentos do Tipo I e II podem ser observados na Figura 3.

FIGURA 3 — ESQUEMA ILUSTRATIVO DE PREPARO DE UMA TITULAÇÃO OU MISTURA DIRETA DO TIPO I E II PARA O SISTEMA PANa E PDADMAC



Fonte: Os autores (2020).

CARACTERIZAÇÃO

Para caracterizar os PECs e complexos coacervados, várias técnicas podem ser utilizadas, de acordo com o que se deseja observar na amostra (Schmitt *et al.*, 1998) e algumas são brevemente descritas. Por exemplo, as técnicas como o espalhamento dinâmico de luz (DLS), espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS) e espalhamento de nêutrons a baixo ângulo (SANS) fornecem informações como o tamanho das partículas, forma, interação partícula-solvente e índice de dispersidade (Fang *et al.*, 2018; Wei; Zhu; Huang, 2019; Liu; Chapel; Schatz, 2017). Informações sobre a carga superficial do PEC ou do coacervado e sua estabilidade também podem ser obtidas a partir de experimentos de determinação de potencial zeta por meio de mobilidade eletroforética (Duhoranimana *et al.*, 2018).

A partir de técnicas como microscopia confocal de varredura à laser (CSLM), microscopia eletrônica de varredura (MEV), criomicroscopia eletrônica de transmissão (Cryo-TEM) e microscopia de força atômica (AFM) é

possível obter imagens com alta resolução a dimensões reduzidas (Schmitt *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2018; Xiao *et al.*, 2019; Kayitmazer *et al.*, 2007). Microscopia óptica também vem sendo empregada na caracterização de gotas de coacervados (Liu; Chapel; Schatz, 2017). Técnicas como espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) e espectroscopia de absorção UV-Vis fornecem informações quanto a composição química dos complexos, sendo a espectroscopia UV-Vis frequentemente usada para o monitoramento da turbidez de sistemas de coacervados e da desnaturação térmica de proteínas e DNA, por exemplo, na presença de políons de cargas opostas (Bellettini *et al.*, 2017; Pei *et al.*, 2019; Xiao *et al.*, 2019)

Dentre as técnicas de calorimetria para caracterização de PECs e coacervados encontram-se a calorimetria de titulação isotérmica (ITC) e a calorimetria diferencial de varredura (DSC). Experimentos de ITC fornecem informações sobre o reconhecimento molecular entre ligantes e macromoléculas, indicando as características termodinâmicas dessa interação, já que é possível se obter dados como constantes de associação (K), estequiometria, variações de entalpia (ΔH), entropia (ΔS) e energia livre de Gibbs para a associação (ΔG) (Coles *et al.*, 2008; Olofsson; Loh, 2009; Vitorazi *et al.*, 2014).

A partir de experimentos de DSC, é possível avaliar a estabilidade de biopolímeros, como DNA e proteínas, e obter informações sobre mudanças estruturais e energéticas na presença de outros compostos, variando a concentração desses compostos, bem como a razão de carga desses com o DNA/proteína, por exemplo. Também, experimentos de DSC são capazes de fornecer informações importantes sobre a cooperatividade de uma transição. Essa informação pode ser obtida comparando a entalpia de van't Hoff (obtida por meio da análise dos dados calorimétricos) e a entalpia calorimétrica. A razão $\Delta H_{vH}/\Delta H_{cal}$ fornece informação quantitativa sobre a natureza da transição, isso é, fornece uma medida da fração da estrutura que se decompõe como uma única entidade termodinâmica, ou seja, define o tamanho da unidade cooperativa (Ladbury; Doyle, 2004).

A técnica de “stopped-flow” com espalhamento de luz (SF) é utilizada para monitorar principalmente os estágios iniciais da cinética de complexação de sistemas de coacervados, e é especialmente útil para sistemas

em que os polieletrólitos interagem fortemente e a complexação ocorre em condições fora de equilíbrio (Liu et al., 2016).

CONCLUSÃO

Estudos envolvendo a formação de PECs, coacervados e propostas de mecanismos de formação com base em dados estruturais e termodinâmicos vêm aumentando significativamente. Os diversos fatores, como força iônica, temperatura, natureza das espécies e ordem de adição influenciam as características estruturais e também os parâmetros termodinâmicos envolvidos na formação dos PECs, sendo possível manipular esses parâmetros para influenciar as características das estruturas formadas, direcionando suas aplicações. Técnicas como DLS, PZ e ITC, entre outras, têm sido usadas para avaliar a formação e estabilidade dos PECs e coacervados em diferentes condições, como temperatura, força iônica e pH, sendo que a partir de ITC é possível, em um único experimento, determinar parâmetros termodinâmicos de interação como variação de entalpia, variação da energia livre de Gibbs e variação de entropia.

Considerando o enorme número de variáveis que se pode estudar para um sistema, como natureza dos polieletrólitos, bem como parâmetros que podem ser variados na formação do complexo, gerando diferentes estruturas com diferentes propriedades, a aplicação de PECs e coacervados vem se diversificando e, cada vez mais, novas possibilidades se abrem no contexto da biomedicina, indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas e engenharia de materiais, trazendo inovação e funcionalidade para vários segmentos do meio científico.

AGRADECIMENTOS

R. M. Giona agradece à Universidade Tecnológica Federal do Paraná — *Campus* Medianeira. L. Vitorazi agradece à Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda da Universidade Federal Fluminense e à Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (Faperj) pela bolsa de Jovem Cientista do Nosso Estado (Processo E-26/202.724/2019). Almeida, T. e Macedo, B. S. agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudo de mestrado.

REFERÊNCIAS

- ABERKANE, L. et al. Thermodynamic Characterization of Acacia Gum-beta-lactoglobulin Complex Coacervation. *Langmuir*, Estados Unidos, v. 26, n. 15, p. 12523-12533, 2010.
- ALONSO, T. et al. Study of the Multilayer Assembly and Complex Formation of Poly(Diallyldimethylammonium Chloride) (PDADMAC) and Poly(Acrylic Acid) (PAA) as a Function of pH. *Soft Matter*, Inglaterra, v. 9, n. 6, p. 1920-1928, 2013.
- BARRELEIRO, P. C. A.; OLOFSSON, G.; ALEXANDRIDIS, P. Interaction of DNA with Cationic Vesicles: A Calorimetric Study. *The Journal of Physical Chemistry B*, Estados Unidos, v. 104, n. 32, p. 7795-7802, 2000.
- BELLETTINI, I. C. et al. Properties of Polyplexes Formed through Interaction between Hydrophobically-Modified Poly(ethylene imine)s and Calf Thymus DNA in Aqueous Solution. *Soft Matter*, Inglaterra, v. 13, n. 14, p. 2609-2619, 2017.
- BHARGAVI, N.; DHATHATHREYAN, A.; SREERAM, K. J. Design of pH-Induced Complex Coacervates of Gelatin and Wattle. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Holanda, v. 602, n. 32, p. 125148, 2020.
- BRAUN, C. S. et al. Structure/Function Relationships of Polyamidoamine/DNA Dendrimers as Gene Delivery Vehicles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Holanda, v. 94, n. 2, p. 423-436, 2005.
- COLES, D. J. et al. The Characterization of a Novel Dendritic System for Gene Delivery by Isothermal Titration Calorimetry. *Biopolymers*, Estados Unidos, v. 90, n. 5, p. 651-654, 2008.
- DE KRUIF, C. G.; WEINBRECK, F.; DE VRIES, R. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, Holanda, v. 9, n. 5, p. 340-349, 2004.
- DUHORANIMANA, E. et al. Thermodynamic Characterization of Gelatin-Sodium Carboxymethyl Cellulose Complex Coacervation Encapsulating Conjugated Linoleic Acid (CLA). *Food Hydrocolloids*, Holanda, v. 80, p. 149-159, 2018.
- ELDRED, S. E. et al. Effects of Side Chain Configuration and Backbone Spacing on the Gene Delivery Properties of Lysine-Derived Cationic Polymers. *Bioconjugate Chemistry*, Estados Unidos, v. 16, n. 3, p. 694-699, 2005.

- FANG, W. et al. Coacervation of Resilin Fusion Proteins Containing Terminal Functionalities. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Holanda, v. 171, p. 590-596, 2018.
- GHOSH, B.; BOSE, R.; TANG, T. Y. D. Can Coacervation Unify Disparate Hypotheses in the Origin of Cellular Life?. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, Inglaterra, v. 52, p. 101415, 2021.
- GOUIN, S. Microencapsulation: Industrial Appraisal of Existing Technologies and Trends. *Trends in Food Science and Technology*, Holanda, v. 15, n. 7-8, p. 330-347, 2004.
- HADIAN, M. et al. Isothermal Titration Calorimetric and Spectroscopic Studies of β -Lactoglobulin-Water-Soluble Fraction of Persian Gum Interaction in Aqueous Solution. *Food Hydrocolloids*, Holanda, v. 55, p. 108-118, 2016.
- HUANG, D. et al. Design and Biophysical Characterization of Novel Polycationic Epsilon-Peptides for DNA Compaction and Delivery. *Biomacromolecules*, Estados Unidos, v. 9, n. 1, p. 321-330, 2008.
- IKONEN, M.; MURTOMAKI, L.; KONTTURI, K. Controlled Complexation of Plasmid DNA with Cationic Polymers: Effect of Surfactant on the Complexation and Stability of the Complexes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Holanda, v. 66, n. 1, p. 77-83, 2008.
- INSUA, I.; WILKINSON, A.; FERNANDEZ-TRILLO, F. Polyion Complex (PIC) Particles: Preparation and Biomedical Applications. *European Polymer Journal*, Holanda, v. 81, p. 198-215, 2016.
- JOSHI, N.; RAWAT, K.; BOHIDAR, H. B. pH and Ionic Strength Induced Complex Coacervation of Pectin and Gelatin A. *Food Hydrocolloids*, Holanda, v. 74, p. 132-138, 2018.
- JUNG, S.; LODGE, T. P.; REINEKE, T. M. Structures and Protonation States of Hydrophilic-Cationic Diblock Copolymers and Their Binding with Plasmid DNA. *The Journal Physical Chemistry B*, Estados Unidos, v. 122, n. 9, p. 2449-2461, 2018.
- KAYITMAZER, A. B. et al. Mesophase Separation and Probe Dynamics in Protein-Polyelectrolyte Coacervates. *Soft Matter*, Inglaterra, v. 3, p. 1064-1076, 2007.
- KAYITMAZER, A. B. Thermodynamics of Complex Coacervation. *Advances in Colloid and Interface Science*, Holanda, v. 239, p. 169-177, 2017.

KOLTOVER, I.; SALDITT, T.; SAFINYA, C. R. Phase Diagram, Stability, and Overcharging of Lamellar Cationic Lipid-DNA Self-Sembléd Complexes. *Biophysical Journal*, Estados Unidos, v. 77, p. 915-924, 1999.

KÖSE, M. D.; BAYRAKTAR, O.; HEINZ, Ö. K. Application of Complex Coacervates in Controlled Delivery. In: GRUMEZESCU, A. M. *Design and Development of New Nanocarriers*. Holanda: Elsevier, 2018. p. 475-507.

KUDLAY, A.; ERMOSHKIN, A. V.; OLVERA DE LA CRUZ, M. Complexation of Oppositely Charged Polyelectrolytes: Effect of Ion Pair Formation. *Macromolecules*, Estados Unidos, v. 37, n. 24, p. 9231-9241, 2004.

LADBURY, J. E.; DOYLE, M. L. *Biocalorimetry 2: Applications of Calorimetry in the Biological Sciences*. 2. ed. Estados Unidos: John Wiley & Sons, 2004.

LALWANI, S. M.; ENEH, C. I.; LUTKENHAUS, J. L. Emerging Trends in the Dynamics of Polyelectrolyte Complexes. *Physical Chemistry Chemical Physics*, Inglaterra, v. 22, p. 24157-24177, 2020.

LI, Y. et al. Complex Coacervation-Integrated Hybrid Nanoparticles Increasing Plasmid DNA Delivery Efficiency In Vivo. *ACS Applied Materials and Interfaces*, Estados Unidos, v. 8, n. 45, p. 30735-30746, 2016.

LI, Y. et al. Formation and Evaluation of Casein-Gum Arabic Coacervates via pH-Dependent Complexation Using Fast Acidification. *International Journal of Biological Macromolecules*, Holanda, v. 120, p. 783-788, 2018.

LIU, X. et al. Early Stage Kinetics of Polyelectrolyte Complex Coacervation Monitored through Stopped-Flow Light Scattering. *Soft Matter*, Inglaterra, v. 12, n. 44, p. 9030-9038, 2016.

LIU, X.; CHAPEL, J. P.; SCHATZ, C. Structure, Thermodynamic and Kinetic Signatures of a Synthetic Polyelectrolyte Coacervating System. *Advances in Colloid and Interface Science*, Holanda, v. 239, p. 178-186, 2017.

MARTIN-HERRANZ, A. et al.. Surface Functionalized Cationic Lipid-DNA Complexes for Gene Delivery: PEGylated Lamellar Complexes Exhibit Distinct DNA-DNA Interaction Regimes. *Biophysical Journal*, Estados Unidos, v. 86, p. 1160-1168, 2004.

MEKA, V. S. et al. A Comprehensive Review on Polyelectrolyte Complexes. *Drug Discovery Today*, Holanda, v. 22, n. 11, p. 1697-1706, 2017.

MOUSSEAU, F. et al. Polyelectrolyte Assisted Charge Titration Spectrometry: Applications to Latex and Oxide Nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, Holanda, v. 475, p. 36-45, 2016.

NAM, H. G. et al. Hydrogen Bonding-Based Strongly Adhesive Coacervate Hydrogels Synthesized Using Poly(N-vinylpyrrolidone) and Tannic Acid. *Soft Matter*, Inglaterra, v. 15, n. 4, p. 785-791, 2019.

NEITZEL, A. E.; HOE, G. X.; TIRRELL, M. V. Expanding the Structural Diversity of Polyelectrolyte Complexes and Polyzwitterions. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, Inglaterra, v. 25, n. 2, p. 100897, 2021.

NIMESH, S.; CHANDRA, R. Guanidinium-Grafted Polyethylenimine: An Efficient Transfecting Agent for Mammalian Cells. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Holanda, v. 68, n. 3, p. 647-655, 2008.

OLOFSSON, G.; LOH, W. On the Use of Titration Calorimetry to Study the Association of Surfactants in Aqueous Solutions. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Brasil, v. 20, n. 4, p. 577-593, 2009.

PEI, Y. et al. Comparison of Structural and Physicochemical Properties of Lysozyme/Carboxymethylcellulose Complexes and Microgels. *Food Research International*, Holanda, v. 122, p. 273-282, 2019.

PENICHE, C. et al. Chitosan: an attractive biocompatible polymer for microencapsulation. *Macromolecular Bioscience*, Alemanha, v. 3, n. 10, p. 511-520, 2003.

PETERSEN, H. et al. Star-Shaped Poly(ethylene glycol)-block-polyethylenimine Copolymers Enhance DNA Condensation of Low Molecular Weight Polyethylenimines. *Biomacromolecules*, Estados Unidos, v. 3, n. 5, p. 926-936, 2002.

PHAM, N. B. et al. S. Toward Reducing Biomaterial Antigenic Potential: A Miniaturized Fc-Binding Domain for Local Deposition of Antibodies. *Biomaterials Science*, Inglaterra, v. 7, n. 3, p. 760-772, 2019.

PICULELL, L.; LINDMAN, B. Association and Segregation in Aqueous Polymer/Polymer, Polymer/Surfactant, and Surfactant/Surfactant Mixtures: Similarities and Differences. *Advances in Colloid and Interface Science*, Holanda, v. 41, n. 0, p. 149-178, 1992.

PRIFTIS, D.; TIRRELL, M. Phase Behaviour and Complex Coacervation of Aqueous Polypeptide Solutions. *Soft Matter*, Inglaterra, v. 8, n. 36, p. 9396-9405, 2012.

RÄDLER, J. O. et al. Structure of DNA- Cationic Liposome Complexes: DNA Intercalation in Multilamellar Membranes in Distinct Interhelical Packing Regimes. *Science*, Estados Unidos, v. 275, p. 810-814, 1997.

RIBEIRO, T. et al. Cationic Smart Copolymer for DNA Binding. *Polymers*, Suíça, v. 9, n. 11, 2017.

SANTOS, M. B.; CARVALHO, M. G.; GARCIA-ROJAS, E. E. Carboxymethyl Tara Gum-Lactoferrin Complex Coacervates as Carriers for Vitamin D3: Encapsulation and Controlled Release. *Food Hydrocolloids*, Holanda, v. 112, p. 106347, 2021.

SCHMITT, C. et al. Structure and Technofunctional Properties of Protein-Polysaccharide Complexes: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Inglaterra, v. 38, n. 8, p. 689-753, 1998.

SCHMITT, C. et al. Study of β -lactoglobulin/acacia Gum Complex Coacervation by Diffusing-Wave Spectroscopy and Confocal Scanning Laser Microscopy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Holanda, v. 20, n. 3, p. 267-280, 2001.

SOUZA, C. J. F. et al. Complex Coacervation between Lysozyme and Pectin: Effect of pH, Salt, and Biopolymer Ratio. *International Journal of Biological Macromolecules*, Holanda, v. 107, p. 1253-1260, 2018.

VALLEY, B. et al. Rapid and Efficient Coacervate Extraction of Cationic Industrial Dyes from Wastewater. *ACS Applied Materials and Interfaces*, Estados Unidos, v. 11, n. 7, p. 7472-7478, 2019.

VITORAZI, L. et al. Evidence of a Two-Step Process and Pathway Dependency in the Thermodynamics of Poly(diallyldimethylammonium Chloride)/Poly(sodium Acrylate) Complexation. *Soft Matter*, Inglaterra, v. 10, n. 47, p. 9496-9505, 2014.

WANG, Q.; SCHLENOFF, J. B. The Polyelectrolyte Complex/Coacervate Continuum. *Macromolecules*, Estados Unidos, v. 47, n. 9, p. 3108-3116, 2014.

WEI, C. et al. Facile Preparation of Lignin-Based Underwater Adhesives with Improved Performances. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, Estados Unidos, v. 7, n. 4, p. 4508-4514, 2019.

WEI, Z.; ZHU, P.; HUANG, Q. Investigation of Ovotransferrin Conformation and its Complexation with Sugar Beet Pectin. *Food Hydrocolloids*, Holanda, v. 87, p. 448-458, 2019.

XIAO, J. X. et al. Complex Coacervation of Carboxymethyl Konjac Glucomannan and Chitosan and Coacervate Characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, Holanda, v. 123, p. 436-445, 2019.

YAN, M.; FRESNAIS, J.; BERRET, J. F. Growth Mechanism of Nanostructured Superparamagnetic Rods Obtained by Electrostatic Co-Assembly. *Soft Matter*, Inglaterra, v. 6, n. 9, p. 1997-2005, 2010.

YANG, B. *et al.* Coacervation of Interfacial Adhesive Proteins for Initial Mussel Adhesion to a Wet Surface. *Small*, Alemanha, v. 14, n. 52, 2018.

ZHANG, Q. *et al.* Nanostructures of Protein-Polysaccharide Complexes or Conjugates for Encapsulation of Bioactive Compounds. *Trends in Food Science & Technology*, Holanda, v. 109, p. 169-196, 2021.

ZHU, D. M.; EVANS, R. K. Molecular Mechanism and Thermodynamics Study of Plasmid DNA and Cationic Surfactants Interactions. *Langmuir*, Estados Unidos, v. 22, n. 8, p. 3735-3743, 2006.

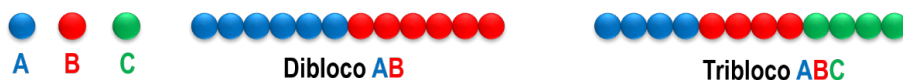
Controle das estruturas de autoassociação de copolímeros em bloco em solução por gatilhos físico-químicos

Guilherme Augusto Ferreira^{1*}

A AUTOASSOCIAÇÃO DE COPOLÍMEROS EM BLOCO EM SOLUÇÃO

Copolímeros em bloco são polímeros formados por dois ou mais tipos de blocos quimicamente distintos e, geralmente, imiscíveis, ligados entre si covalentemente. A Figura 1 ilustra esquematicamente os dois tipos de copolímeros em bloco que serão enfatizados ao longo desse texto: copolímeros do tipo dibloco AB e do tipo tribloco ABC, formados por meio da combinação de dois ou três blocos hipotéticos A, B e C. Na presença de um solvente seletivo para um dos blocos, esses copolímeros podem ser classificados como espécies anfífilas, nos quais um dos blocos interage bem com o solvente e o outro, ou os outros, apresenta pouca ou nenhuma interação. No caso do solvente ser a água, esses blocos são chamados de hidrofílicos e hidrofóbicos, respectivamente (Alexandridis; Lindman, 2000).

FIGURA 1 — REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DE COPOLÍMEROS DIBLOCO FORMADOS PELOS BLOCOS A E B E COPOLÍMEROS TRIBLOCO FORMADOS PELOS BLOCOS A, B E C



Fonte: O autor (2020).

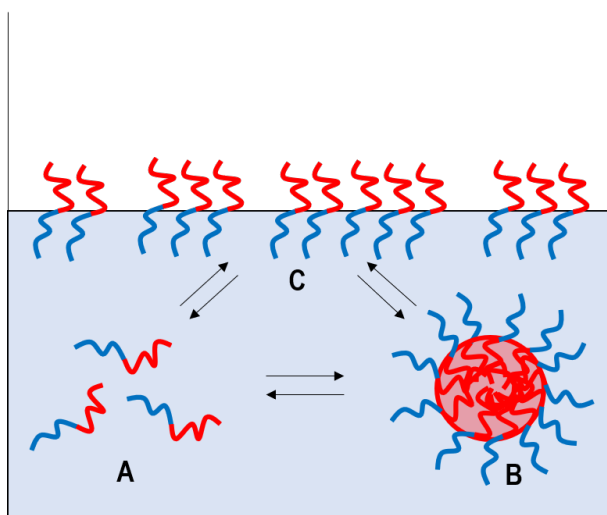
Quando dissolvidos em água, em baixas concentrações, esses copolímeros em bloco tendem a migrar do seio da solução para a superfície, formando um filme superficial em que o bloco hidrofóbico está voltado para

* Autor correspondente.

¹ Departamento de Físico-Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador-BA, e-mail: ferreira.guilherme@ufba.br.

fora e o bloco hidrofílico para dentro da solução, semelhante ao comportamento de um surfactante (também chamado de tensoativo), de modo a minimizar as interações desfavoráveis entre o bloco hidrofóbico e o solvente (Figura 2). A partir de determinada concentração, os copolímeros em bloco deixam de migrar para a superfície do líquido e começam a se autoassociar em solução, formando agregados de diferentes arquiteturas, sendo as micelas o tipo mais simples (Figura 2) (Holmberg et al., 2002).

FIGURA 2 — EQUILÍBRIO DINÂMICO ENTRE MOLÉCULAS EM SOLUÇÃO DE UM COPOLÍMERO EM BLOCO ANFIFÍLICO NO ESTADO LIVRE (A), AGREGADAS EM MICELAS (B) E FORMANDO UM FILME SUPERFICIAL (C)



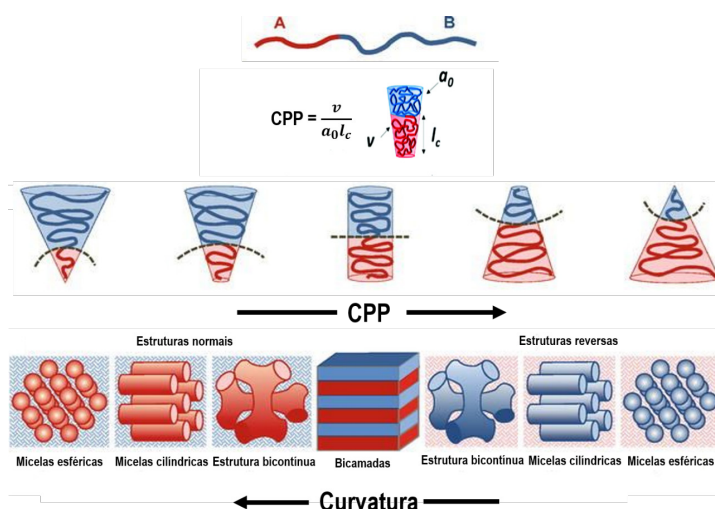
Fonte: O autor (2020).

As micelas, agregados geralmente esféricos que podem apresentar outras formas, como será discutido adiante, com tamanho na escala nanométrica, se compõem por um núcleo formado pelo bloco hidrofóbico e uma superfície formada pelo bloco hidrofílico, que possui grande afinidade pela água. No caso de um solvente apolar, as micelas também são formadas, porém, com a estrutura reversa, de modo a sempre minimizar as interações desfavoráveis entre os próprios blocos incompatíveis entre si e entre os blocos que não interagem bem com o solvente (Holmberg et al., 2002).

As micelas esféricas são o tipo de arranjo mais simples formado pela autoassociação de copolímeros em bloco em solução. Contudo, outros tipos de agregados, com morfologias de diferentes complexidades, podem ser obtidos. A arquitetura dos agregados formados depende da geometria das moléculas anfífilicas que os compõem, e pode ser prevista pelo parâmetro de empacotamento crítico CPP (do inglês *Critical Packing Parameter*), definido como a razão entre volume ocupado pelo bloco hidrofóbico, o produto da área efetiva ocupada pelo bloco hidrofílico e o comprimento do bloco hidrofóbico (Holmberg *et al.*, 2002), conforme representado na Figura 3.

Dependendo dos valores de CPP, copolímeros em bloco podem se associar em solução, gerando estruturas de diferentes complexidades (Figura 3). À medida que os valores de CPP aumentam, agregados de menor curvatura são formados, como as micelas cilíndricas e as estruturas bicontínuas, passando pelas bicamadas, com curvatura próxima de zero, chegando até a estruturas reversas (Gröschel; Walther, 2017), com curvatura negativa (Figura 3).

FIGURA 3 — RELAÇÃO ENTRE CPP (DO INGLÊS CRITICAL PACKING PARAMETER) DE COPOLÍMEROS EM BLOCO DO TIPO AB E A CURVATURA DOS DIFERENTES TIPOS DE AGREGADOS RESULTANTES DA SUA AUTOASSOCIAÇÃO EM SOLUÇÃO



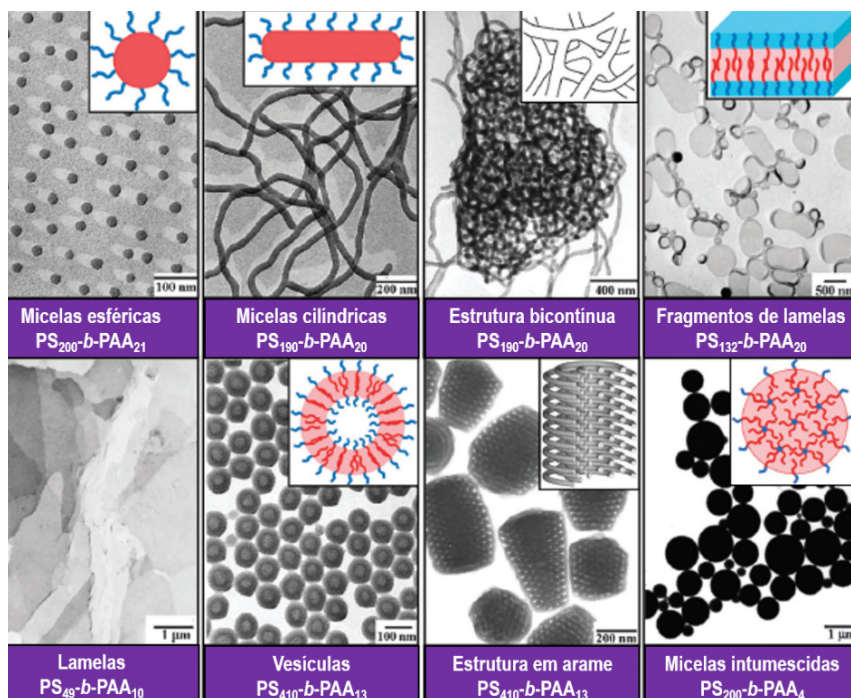
Neste esquema, considerando a água como solvente, a parte hidrofílica é representada pelo bloco azul, enquanto a parte hidrofóbica corresponde ao bloco vermelho.

Fonte: Adaptado de Kobayashi; Müllen (2015) e Doncom *et al.*, (2017).

Durante muito tempo, a obtenção de diferentes nanoestruturas formadas pela autoassociação de copolímeros em bloco em solução foi extensamente investigada, focando nas mudanças na morfologia dos agregados, dependendo da estrutura química dos blocos, na proporção entre eles e no tipo de solvente empregado. Um exemplo desses estudos é o clássico trabalho de Cameron, Corbierre e Eisenberg (1999), que estudaram agregados formados pela associação de poli(estireno)-*bloco*-poli(ácido acrílico), PS-*b*-PAA, em misturas de água e dimetilformamida (DMF). Dependendo da proporção entre o bloco hidrofóbico (PS) e hidrofílico (PAA), os autores obtiveram uma variedade de nanoestruturas, como micelas esféricas, cilíndricas, lamelas, vesículas, estruturas em formato de aro e bicontínuas (Figura 4).

Nos últimos anos, o uso de gatilhos físico-químicos tem se mostrado uma alternativa viável e igualmente precisa no controle de estruturas de associação de copolímeros em bloco, em alternativa aos métodos usuais, que geralmente requerem uma mudança na estrutura molecular inicial, o que implica em laboriosas etapas de síntese envolvendo o uso de monômeros e agentes de polimerização caros, além do consumo de solventes orgânicos, de elevada toxicidade e pouco ambientalmente amigáveis, o que acaba limitando as aplicações das nanoestruturas obtidas.

FIGURA 4 — IMAGENS OBTIDAS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (TEM, DO INGLÊS *TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY*) E RESPECTIVAS ILUSTRAÇÕES PARA AS ESTRUTURAS DE ASSOCIAÇÃO FORMADAS POR COPOLÍMEROS EM BLOCO DO TIPO POLI(ESTIRENO)-BLOCO-POLI(ÁCIDO ACRÍLICO), PS-*b*-PAA, EM MISTURAS DE ÁGUA E DIMETILFORMAMIDA (DMF), CONTENDO DIFERENTES PROPORÇÕES ENTRE OS BLOCOS HIDROFÓBICO, REPRESENTADO EM VERMELHO, E HIDROFÍLICO, REPRESENTADO EM AZUL. EM TODOS OS CASOS, OS CARACTERES SUBSCRITOS SE REFEREM AO NÚMERO MÉDIO DE UNIDADES REPETITIVAS PARA CADA BLOCO



Fonte: Adaptado de Mai e Eisenberg (2012).

GATILHOS FÍSICO-QUÍMICOS COMO CONTROLADORES DAS ESTRUTURAS DE ASSOCIAÇÃO

Dentre os diferentes tipos de gatilhos físico-químicos, o pH da solução é um dos mais investigados na literatura e exerce importante papel no controle dos agregados resultantes. Exemplos incluem o estudo (Lovett et al., 2015) de copolímeros dibloco do tipo poli(glicerol monometacrilato)-*bloco*-poli(2-hidroxipropil metacrilato), PGMA-*b*-PHPMA,

sintetizados pela técnica de RAFT (do inglês *Reversible Addition–Fragmentation Chain-Transfer Polymerization*), onde o bloco PGMA foi funcionalizado com grupos terminais do tipo ácido carboxílico (Figura 5a). Devido à diferença de hidrofobicidade entre os blocos, em baixas concentrações, os copolímeros em bloco PGMA-*b*-PHPMA se associam em solução aquosa formando micelas cilíndricas, onde o núcleo é formado pelo bloco PHPMA e a superfície é composta pelo bloco PGMA contendo grupos carboxílicos.

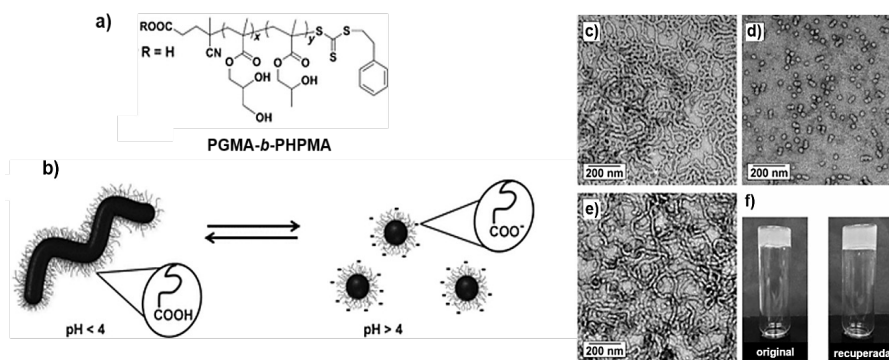
Devido a forma alongada, as micelas resultantes aumentam a viscosidade das soluções, resultando em géis de elevada resistência ao escoamento. Contudo, a adição de hidróxido de sódio, NaOH, em quantidades suficientes para elevar o pH da solução para valores maiores que quatro, acima do pKa dos grupos carboxílicos, promove uma transição de micelas alongadas para micelas esféricas (Figura 5b), resultando na diminuição da viscosidade das soluções. Tal transição foi comprovada por imagens de TEM, que mostram a existência de estruturas cilíndricas e esféricas, dependendo do pH do meio (Figura 5c-d).

Os autores mostraram ainda que a transição é um processo reversível, no qual as micelas alongadas e conseqüentemente a viscosidade elevada das soluções são recuperadas pela diminuição do pH do meio através da adição de quantidades adequadas de uma solução ácida. A reversibilidade da transição foi novamente verificada por imagens de TEM, onde é possível ver as estruturas alongadas recuperadas (Figura 5e) e pela observação visual da resistência ao escoamento das amostras armazenadas em tubos invertidos (Figura 5f).

O estudo ainda indicou outros tipos de transições, como a de vesículas para micelas alongadas, e conseqüente mudança na viscosidade das soluções, para copolímeros com outras proporções entre os diferentes blocos, em função do pH.

FIGURA 5 — A) ESTRUTURA MOLECULAR DO COPOLÍMERO EM BLOCO POLI(GLICEROL MONOMETACRILATO)-BLOCO-POLI(2-HIDROXIPROPIL METACRILATO), PGMA-*b*-PHPMA, CONTENDO GRUPOS TERMINAIS COOH LIGADOS AO BLOCO PGMA. B) ESQUEMA REPRESENTATIVO DA TRANSIÇÃO REVERSÍVEL DE MICELAS LONGADAS FORMADAS PELA ASSOCIAÇÃO DO PGMA-*b*-PHPMA, EM SOLUÇÃO AQUOSA, PARA

MICELAS ESFÉRICAS DE ACORDO COM O pH DA SOLUÇÃO. IMAGENS DE TEM PARA UMA SOLUÇÃO DE PGMA-*b*-PHPMA EM C) pH ABAIXO DE QUATRO, D) pH ACIMA DE QUATRO, E) pH REESTABELECIDO PARA ABAIXO DE QUATRO. F) FOTOGRAFIAS DOS TUBOS INVERTIDOS CONTENDO AS AMOSTRAS ORIGINAL (pH ABAIXO DE QUATRO) E RECUPERADA (pH REESTABELECIDO PARA ABAIXO DE QUATRO)



Fonte: Adaptada de Lovett et al. (2015).

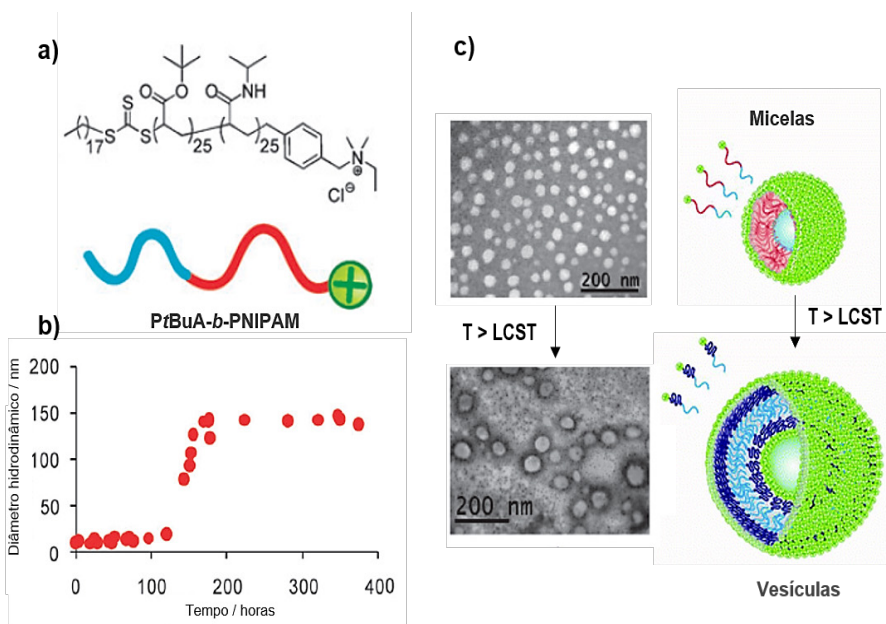
Além do pH, outro gatilho físico-químico amplamente investigado no controle da autoassociação de copolímeros em bloco em solução é a temperatura. Esse gatilho é particularmente importante quando pelo menos um dos blocos que compõem o copolímero é termorresponsivo, como é o caso do poli(*N*-isopropil acrilamida), PNIPAM. O PNIPAM apresenta um comportamento do tipo LCST (do inglês *Lower Critical Solution Temperature*). Isso significa que, em baixas temperaturas, o polímero se dissolve completamente em água e acima de determinada temperatura, 32° C nesse caso, passa de uma conformação estendida, interagindo bem com o solvente, para uma conformação colapsada, separando-se da solução.

Por conta desse comportamento, vários copolímeros em bloco contendo PNIPAM vêm sendo investigados, visando, especialmente, o uso de sua termorresponsividade no controle das estruturas de associação resultantes. Entre esses copolímeros, destaca-se o dibloco poli(*tert*-butilacrilato)-*bloco*-poli(*N*-isopropil acrilamida), PtBuA-*b*-PNIPAM, contendo grupos terminais do tipo amônio quaternário ligados ao bloco PNIPAM (Figura 6a). Esse copolímero em bloco se associa formando

micelas esféricas, em concentrações a partir de 1 mg.mL^{-1} , quando dissolvido em tetrahidrofurano (THF), solvente posteriormente substituído por água (Moughton; O'reilly, 2010). O tamanho médio das micelas resultantes, expresso em função do seu diâmetro hidrodinâmico, medido por DLS (do inglês *Dynamic Light Scattering*), gira em torno de vinte nm (Figura 6b).

O aquecimento contínuo da solução de micelas em temperaturas acima da LCST do bloco PNIPAM resultou num aumento considerável no tamanho dos agregados após, aproximadamente sete dias (Figura 6b), indicando, possivelmente, uma mudança na morfologia das micelas. A formação de vesículas sob aquecimento foi verificada por imagens de TEM para amostras fixadas com molibdato de amônio, que interage seletivamente com os grupos de amônio quaternário positivos da superfície dos agregados. As imagens (Figura 6c) mostram agregados esféricos com tamanho médio no intervalo de 100-200 nm, possuindo uma estrutura de bicamadas, confirmando a transição de micelas esféricas para vesículas através da temperatura (Figura 6c).

FIGURA 6 — A) ESTRUTURA MOLECULAR DO COPOLÍMERO EM BLOCO POLI(TERT-BUTILACRILATO)-BLOCO-POLI(N-ISOPROPIL ACRILAMIDA), P_tBUA-b-PNIPAM, CONTENDO GRUPOS TERMINAIS DE AMÔNIO QUATERNÁRIO LIGADOS AO BLOCO PNIPAM. A ESTRUTURA DO COPOLÍMERO TAMBÉM É REPRESENTADA ESQUEMATICAMENTE, ONDE O BLOCO PTBUA TEM COR AZUL CLARO, O BLOCO PNIPAM, VERMELHO, E O GRUPO AMÔNIO QUATERNÁRIO É APRESENTADO EM VERDE. B) VARIAÇÃO NO DIÂMETRO HIDRODINÂMICO DOS AGREGADOS FORMADOS PELA AUTOASSOCIAÇÃO DO PTBUA-b-PNIPAM A 65 °C EM FUNÇÃO DO TEMPO DE AQUECIMENTO. C) IMAGENS OBTIDAS POR TEM DOS AGREGADOS ABAIXO E ACIMA DA LCST DO BLOCO PNIPAM E REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA TRANSIÇÃO MICELAVESÍCULA DE ACORDO COM A TEMPERATURA. NESSE ESQUEMA, OS BLOCOS PNIPAM COLAPSADOS, ACIMA DA LCST, SÃO REPRESENTADOS EM AZUL ESCURO



Fonte: Adaptado de Moughton e O'Reilly (2010).

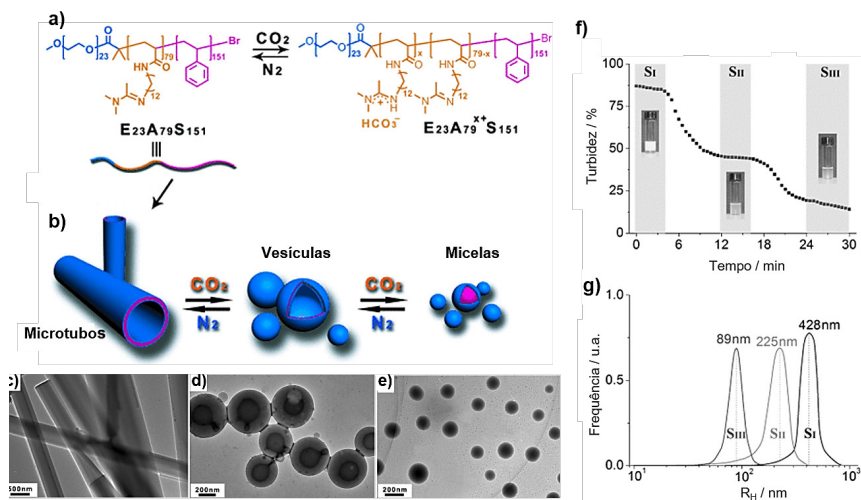
Outro gatilho físico-químico amplamente empregado no controle das estruturas de associação de copolímeros em bloco em solução é a introdução de gases, como o CO₂ e N₂, que se dissolvem na solução e mudam suas propriedades, afetando, conseqüentemente, as formas dos agregados. Nesse caso, pelo menos um dos blocos que constituem o copolímero deve possuir um grupo ionizável, que irá responder às mudanças de pH no ambiente, causadas pela dissolução do gás. Grupos ionizáveis que apresentam responsividade ao CO₂ gasoso são, geralmente, baseados em aminas com diferentes graus de substituição.

Yan e Zhao (2013) estudaram a autoassociação de um copolímero tribloco formado por um bloco hidrofílico de poli(óxido etileno), abreviado como E, um bloco hidrofóbico baseado em poli(estireno), abreviado como S, e um bloco intermediário de poli(*N*-amidina)dodecilacrilamida), abreviado como A, sendo esse último um bloco sensível a presença de CO₂. O copolímero EAS resultante da combinação entre os blocos com diferentes graus de hidrofobicidade (Figura 7a), se associa em solução, formando estruturas microtubulares (Figura 7b).

À medida que o gás CO₂ é borbulhado em solução, a diminuição de pH resultante da formação de espécies ácidas, como o ácido carbônico (H₂CO₃), leva à ionização do bloco A, causando mudanças no balanço entre os blocos hidrofílico e hidrofóbico e, conseqüentemente, sucessivas mudanças na forma dos agregados para vesículas e, por fim, micelas esféricas (Figura 7b). Essas mudanças morfológicas foram confirmadas por imagens de TEM (Figura 7c-e), por medidas de turbidez das soluções resultantes (Figura 7f) e por medidas de tamanho, expresso em função do raio hidrodinâmico obtido por DLS, das estruturas obtidas (Figura 7g). Interessantemente, a forma inicial dos agregados é recuperada, através do borbulhamento de gás N₂ e da conseqüente desprotonação do bloco A (Figura 7a-b).

Além dos apresentados acima, vários outros gatilhos podem ser usados no acurado controle das nanoestruturas resultantes da associação de copolímeros em bloco em solução. Dentre outros exemplos, vale ressaltar o controle por luz com diferentes comprimentos de onda (Yan *et al.*, 2011), válido para aqueles copolímeros onde pelo menos um dos blocos é fotossensível, o controle pela adição de espécies iônicas, como íons metálicos (Knight *et al.*, 2018) e surfactantes iônicos (Ferreira; Piculell; Loh, 2018), que se ligam seletivamente a um bloco polimérico de carga oposta e, ainda, a combinação de dois ou mais gatilhos físico-químicos, quando um dos blocos responde a mais de um tipo de estímulo, como pH e temperatura (Jímenez; Yoshida, 2015), pH e luz (Zhao *et al.*, 2016) e temperatura e luz (Yang; Cao; Wang, 2015).

FIGURA 7 — A) ESTRUTURA MOLECULAR DO COPOLÍMERO TRIBLOCO EAS E SEU COMPORTAMENTO NA PRESENÇA DOS GASES CO_2 E N_2 . B) TRANSIÇÕES MORFOLÓGICAS DOS AGREGADOS DE EAS CAUSADAS PELO BORBULHAMENTO DOS GASES CO_2 E N_2 . IMAGENS OBTIDAS POR TEM PARA C) MICROTUBOS, D) VESÍCULAS E E) MICELAS FORMADAS PELA ASSOCIAÇÃO DE EAS EM SOLUÇÕES CONTENDO CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE CO_2 DISSOLVIDO. F) VARIAÇÃO NA TURBIDEZ DAS AMOSTRAS CONTENDO AGREGADOS DE EAS EM FUNÇÃO DO TEMPO DE BORBULHAMENTO DE CO_2 . G) DISTRIBUIÇÃO DE RAIOS HIDRODINÂMICOS (R_H) PARA OS DIFERENTES AGREGADOS DE EAS EM SOLUÇÃO. EM F) E G), S_I, S_{II} E S_{III} SE REFEREM AOS DIFERENTES ESTADOS DE AGREGAÇÃO (MICROTUBOS, VESÍCULAS E MICELAS, RESPECTIVAMENTE)



Fonte: Adaptado de Yan e Zhao (2013).

POTENCIAIS APLICAÇÕES

O delicado controle dos agregados baseados em copolímeros em bloco por diferentes tipos de gatilhos físico-químicos possibilita o uso das estruturas resultantes em vários campos, como catálise, sensores, formulações coloidais e em aplicações biomédicas. Nesse último caso, especialmente, muitos exemplos podem ser encontrados na literatura. Dentre eles, destaca-se a aplicação de estruturas de associação na liberação controlada de moléculas de interesse biológico, como fármacos.

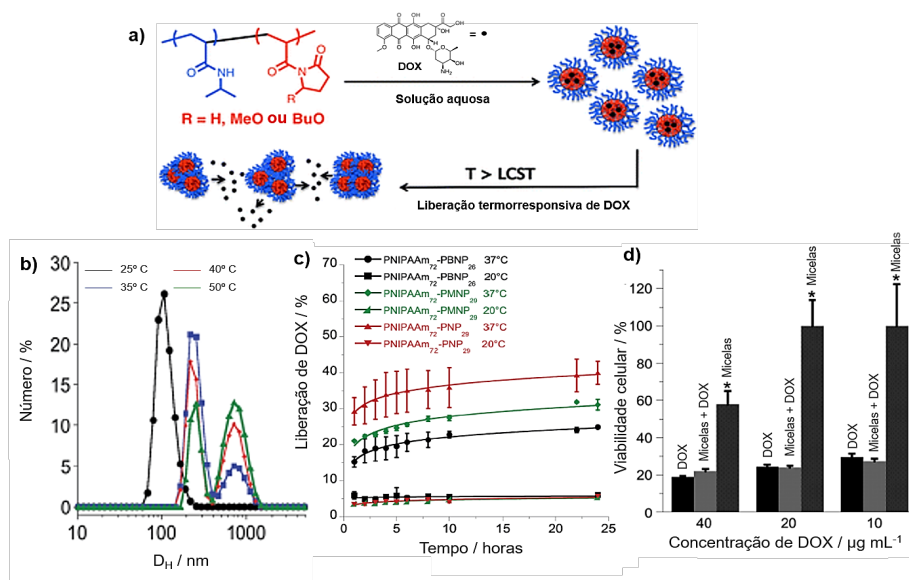
Sun et al. (2015) investigaram o uso de micelas termoresponsivas de copolímeros em bloco na liberação controlada de doxorrubicina (DOX), um fármaco amplamente usado no tratamento de câncer. As

micelas estudadas são baseadas no bloco hidrofílico PNIPAM, que se agrega em temperaturas superiores à 32°C, como discutido anteriormente, ligado a um dos três seguintes blocos, apresentados em ordem crescente de hidrofobicidade: poli(*N*-acrilóil-2-pirrolidona), PNP, poli(*N*-acrilóil-5-metóxi-2-pirrolidona), PMNP, e poli(*N*-acrilóil-5-butóxi-2-pirrolidona), PBNP.

Os três copolímeros em bloco resultantes, PNIPAM-*b*-PNP, PNIPAM-*b*-PMNP e PNIPAM-*b*-PBNP, cujas estruturas estão apresentadas na Figura 8a, foram dissolvidos numa solução aquosa contendo o fármaco e se associaram em micelas esféricas, onde as moléculas de DOX, substância com baixa solubilidade em água, se acomodaram preferencialmente no núcleo hidrofóbico dos agregados (Figura 8a). O aquecimento das soluções em temperaturas superiores à LCST do bloco PNIPAM levou ao colapso desse bloco e conseqüente agregação das micelas (Figura 8a), de acordo com dados de DLS (Figura 8b), causando a liberação da droga encapsulada em todos os sistemas investigados (Figura 8c).

Curiosamente, foi observada uma maior porcentagem de liberação de DOX para micelas cujo núcleo é composto por blocos menos hidrofóbicos (Figura 8c), indicando a forte interação do fármaco com o interior hidrofóbico das micelas. Outro fato muito importante observado é que as formulações de DOX encapsulada pelas micelas apresentaram toxicidade contra células de câncer de mama semelhante ao fármaco não associado (Figura 8d), indicando o grande potencial das formulações obtidas na liberação controlada por temperatura de substâncias de interesse biológico, de modo a melhorar a eficácia do tratamento de câncer, podendo a estratégia ser estendida a outras drogas e, conseqüentemente, outros tipos de doenças. Além de moléculas orgânicas, como a DOX, estudos também mostram que a liberação de outros tipos de agentes de interesse biológico, como o óxido nítrico (NO), um poderoso cicatrizante de feridas, também pode ser controlada por nanoestruturas responsivas de copolímeros em bloco em solução (Cabrin; Champeau; Oliveira, 2020), mostrando a versatilidade dos sistemas obtidos.

FIGURA 8 — A) REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA AUTOASSOCIAÇÃO DOS TRÊS DIFERENTES COPOLÍMEROS EM BLOCO EM SOLUÇÃO CONTENDO O FÁRMACO DOXORRUBICINA (DOX) EM MICELAS CONTENDO DOX ENCAPSULADA E DA AGREGAÇÃO DAS MICELAS, SEGUIDA DA LIBERAÇÃO DA DROGA, CAUSADA PELO AUMENTO DA TEMPERATURA. B) DISTRIBUIÇÃO DE DIÂMETRO HIDRODINÂMICO (D_{H}) DE MICELAS DO COPOLÍMERO PNIPAM₇₂-b-PNP₂₉ EM DIFERENTES TEMPERATURAS. C) PORCENTAGEM DE LIBERAÇÃO DE DOX PELAS MICELAS DOS DIFERENTES COPOLÍMEROS EM BLOCO ABAIXO E ACIMA DA LCST DO BLOCO PNIPAM. D) VIABILIDADE DE CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA EXPOSTAS A 37° C, DURANTE 72 HORAS, AO FÁRMACO DOX, MICELAS DE PNIPAM₇₂-b-PNBP₂₆ E MICELAS DE PNIPAM₇₂-b-PNBP₂₆ CONTENDO DOX. * INDICA QUE DIFERENÇAS NA VIABILIDADE MÉDIA DAS CÉLULAS EXPOSTAS AS MICELAS CARREGADAS COM DOX E MICELAS SÃO ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTES



Fonte: Adaptado de Sun et al. (2015).

Devido à delicada relação entre a nanoestrutura e suas propriedades, várias outras aplicações para agregados de copolímeros em bloco em solução têm sido investigadas nos últimos anos, além daquelas voltadas para a biomedicina. Exemplos dessas aplicações incluem a catálise (Ferreira; Loh, 2019), sensores (Datta et al., 2018), a fotônica (Stefik et al., 2015) e o uso das estruturas de associação como *templates* para a síntese de materiais inorgânicos (Li et al., 2015). A aplicação das nanoestruturas obtidas também vem sendo bastante investigada com o intuito

de obter nanoreatores que possam ser utilizados em reações de interesse químico e biológico.

Nesse sentido, destacam-se os trabalhos de Yan *et al.* (2013) e Feng *et al.* (2016) em que vesículas de copolímeros em bloco, também chamadas de polimerssomos, foram usadas para a separação de partículas de diferentes tamanhos e como reatores para reações enzimáticas.

O copolímero em bloco utilizado foi baseado em um bloco hidrofílico de poli(etileno glicol), PEG, ligado covalentemente ao bloco CO₂-responsivo poli(*N*-amidina)dodecilacrilamida, PAD, de caráter mais hidrofóbico, já mencionado anteriormente. O copolímero em bloco resultante, PEG-*b*-PAD, cuja estrutura molecular está representada na Figura 9a, se associa, em solução aquosa, formando os polimerssomos, estruturas vesiculares formadas por uma bicamada, semelhante à uma membrana lipídica, contendo um compartimento aquoso interno (Figura 9b). À medida que o gás CO₂ é borbulhado em solução, a ionização e consequente mudança reversível na conformação de uma fração do bloco PAD causam um aumento no tamanho dos polimerssomos (Figura 9b), conforme demonstrado por dados de TEM e DLS, seguida de uma diminuição gradativa na espessura das bicamadas que os compõem (Figura 9c).

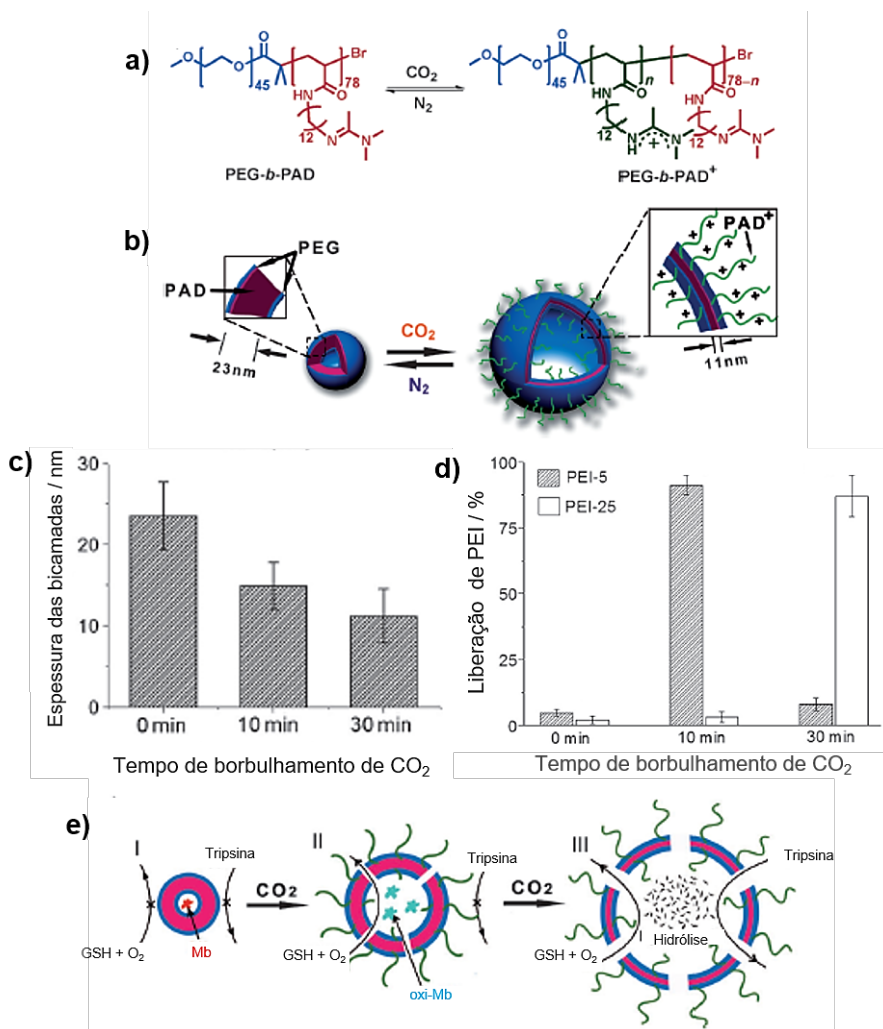
Foi observado que quanto maior o tempo de borbulhamento do gás CO₂ nas soluções, menor a espessura (Figura 9c) e maior a permeabilidade das bicamadas. A última observação foi demonstrada por meio do estudo de liberação de nanopartículas de poli(etilenoimina), PEI, de 5 nm (PEI-5) e de 25 nm (PEI-25) contidas no compartimento interno aquoso dos polimerssomos. As nanopartículas de PEI-5 foram liberadas após cerca de dez minutos de borbulhamento de CO₂, enquanto as de PEI-25 continuaram aprisionadas, indicando que, mesmo com o crescimento das nanoestruturas e consequente diminuição na espessura das bicamadas, essas nanopartículas eram grandes demais para penetrar as bicamadas e alcançar o meio aquoso externo (Figura 9d). Após cerca de trinta minutos de borbulhamento contínuo do gás, as bicamadas foram facilmente penetradas pelas nanopartículas de PEI-25, sendo essas liberadas para a solução (Figura 9d).

Os polímeros obtidos, cujo tamanho, espessura das bicamadas e permeabilidade podem ser controlados através da adição de quantidades adequadas de CO₂, foram usados como nanoreatores para a formação da mioglobina oxigenada (oxi-Mb), a partir da reação da proteína mioglobina (Mb), localizada no compartimento interno aquoso das vesículas, com o tripeptídeo glutationa na forma oxidada (GSH), na presença de gás oxigênio (O₂). A subsequente hidrólise da oxi-Mb causada pela adição da enzima tripsina também foi investigada. Os autores observaram que, na ausência de CO₂, a proteína Mb não foi convertida em oxi-Mb, uma vez que as moléculas de GSH não apresentaram penetração suficiente nas espessas bicamadas das pequenas vesículas de PEO-*b*-PAD (Figura 9e).

O aumento na permeabilidade dos polímeros, causada pela adição do gás CO₂, possibilitou a formação da oxi-Mb através da reação da Mb com GSH na presença de oxigênio (Figura 9e). A hidrólise da oxi-Mb mediada pela tripsina foi somente observada após um período mais longo de borbulhamento de CO₂, uma vez que a enzima é uma macromolécula que apenas consegue penetrar as vesículas e alcançar o substrato (oxi-Mb) quando as bicamadas possuem permeabilidade suficientemente alta para permitir a difusão da tripsina (Figura 9e). É importante salientar que todas essas mudanças podem ser revertidas através do borbulhamento de gás N₂ e consequente desprotonação do bloco PAD (Figura 9a-b).

FIGURA 9 — A) ESTRUTURA MOLECULAR DO COPOLÍMERO EM BLOCO POLI(ETILENO GLICOL)-*b*-POLI(N-AMIDINA)DODECILACRILAMIDA, PEG-*b*-PAD, NA PRESENÇA DOS GASES CO₂ E N₂. B) REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS DIFERENTES TIPOS DE POLÍMEROS (OU VESÍCULAS) OBTIDOS NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DO GÁS CO₂. C) VARIAÇÃO NA ESPESSURA DAS BICAMADAS QUE COMPÕEM OS POLÍMEROS APÓS DIFERENTES TEMPOS DE BORBULHAMENTO DO GÁS CO₂ NAS SOLUÇÕES AQUOSAS. D) PORCENTAGEM DE LIBERAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PEI-5 E PEI-25 PELOS POLÍMEROS EXPOSTOS A DIFERENTES TEMPOS DE BORBULHAMENTO DO GÁS CO₂. E) REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO USO DOS POLÍMEROS EXPOSTOS A DIFERENTES TEMPOS DE BORBULHAMENTO DO GÁS CO₂ COMO NANOREATORES PARA A FORMAÇÃO DA MIOGLOBINA OXIGENADA (OXI-MB), A PARTIR DA REAÇÃO DA PROTEÍNA MIOGLOBINA (MB), LOCALIZADA NO COMPARTIMENTO INTERNO AQUOSO DAS VESÍCULAS, COM O TRIPEPTÍDEO GLUTATIONA NA FORMA OXIDADA (GSH),

NA PRESENÇA DE GÁS OXIGÊNIO (O₂) E SUBSEQUENTE HIDRÓLISE DA OXI-MB MEDIADA PELA ENZIMA TRIPSINA



Fonte: Adaptado de Yan et al. (2015).

PERSPECTIVAS E DESAFIOS

A autoassociação de copolímeros em bloco em solução vem sendo amplamente investigada nos últimos anos por diferentes ramos da ciência. Os estudos iniciais foram de grande importância ao mostrarem o comportamento anfílico dessas espécies e os tipos de nanoestruturas que podem

ser alcançadas, dependendo da sua composição e da seletividade do solvente. Visando um controle acurado dos agregados formados e uma definida relação entre estrutura e propriedades, várias novas classes de copolímeros em bloco foram preparadas e o seus comportamentos foram minuciosamente estudados, de modo a responderem especificamente a determinados estímulos externos, os gatilhos físico-químicos.

O uso desses gatilhos no controle das estruturas de autoassociação tem se mostrado promissor e vem possibilitando o desenvolvimento de aplicações direcionadas para os materiais resultantes, indicando o grande potencial do uso de copolímeros em bloco em diversas áreas. As principais barreiras que impedem uma maior aplicabilidade dos sistemas aqui apresentados são baseadas na baixa estabilidade química e coloidal dos agregados, em alguns casos, na baixa biocompatibilidade dos polímeros e de seus produtos de degradação, no caso de aplicações biomédicas, e, sobretudo, as laboriosas e pouco ambientalmente amigáveis rotas de preparo dos copolímeros em bloco, precursores das nanoestruturas.

No que se refere aos gatilhos físico-químicos, a sua praticidade e aplicabilidade em sistemas multicomponentes, onde o estímulo pode acarretar mudanças indesejadas em outras espécies presentes, ainda devem ser melhor exploradas. Esses constituem alguns dos vários desafios que devem ser vencidos para que as nanoestruturas de copolímeros em bloco apresentadas nesse capítulo sejam difundidas e ganhem aplicações mais práticas.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDRIDIS, P.; LINDMAN, B. *Amphiphilic Block Copolymers: Self-Assembly and Applications*. Holanda: Elsevier, 2000.
- CABRINI, M. F.; CHAMPEAU, M.; OLIVEIRA, M. G. Effect of Pluronic F127 on the 3D Pore Morphology of Poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic Acid) Hydrogels and their Nitric Oxide Release from S-Nitrosoglutathione. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 137, 2020.
- CAMERON, N. S.; CORBIERRE, M. K.; EISENBERG, A. Asymmetric Amphiphilic Block Copolymers In Solution: A Morphological Wonderland. *Canadian Journal of Chemistry*, v. 77, p. 1311-1326, 1999.
- DATTA, L. P. et al. RAFT Derived Fatty Acid-Based Stimuli Responsive Fluorescent Block Copolymers as DNA Sensor and Cargo Delivery Agent. *Polymer*, v. 138, p. 103-112, 2018.
- DONCOM, K. E. B. et al. Dispersity Effects in Polymer Self-Assemblies: A Matter of Hierarchical Control. *Chemical Society Reviews*, v. 46, p. 4119-4134, 2017.
- FENG, A. et al. CO₂-Breathing and Piercing Polymersomes as Tunable and Reversible Nanocarriers. *Scientific Reports*, v. 6, p. 23624, 2016.
- FERREIRA, G. A.; LOH, W. Planet-Satellite Nanostructures Based on Block Copolymer-Surfactant Nanoparticles Surface-Decorated with Gold and Silver: A New Strategy for Interfacial Catalysis. *Advances Materials Interfaces*, v. 6, n. 13, p. 1900348, 2019.
- FERREIRA, G. A.; PICULELL, L.; LOH, W. Hydration-Dependent Hierarchical Structures in Block Copolymer-Surfactant Complex Salts. *Macromolecules*, v. 51, p. 9915-9924, 2018.
- GRÖSCHEL, A. H.; WALTHER, A. Block Copolymer Micelles with Inverted Morphologies. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 56, p. 10992-10994, 2017.
- HOLMBERG, K. et al. *Surfactants and Polymers In Aqueous Solution*. 2 ed., John Wiley & Sons, 2002.
- JÍMENEZ, Z. A.; YOSHIDA, R. Temperature Driven Self-Assembly of a Zwitterionic Block Copolymer that Exhibits Triple Thermoresponsivity and pH Sensitivity. *Macromolecules*, v. 48, p. 4599-4606, 2015.

KNIGHT, A. S. et al. Control of Amphiphile Self-Assembly Via Bioinspired Metal Ion Coordination. *Journal of American Chemical Society*, v. 140, p. 1409-1414, 2018.

KOBAYASHI, S.; MÜLLEN, K. *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*. Alemanha: Springer, 2015.

LI, Y. et al. Polymeric Micelle Assembly for the Smart Synthesis of Mesoporous Platinum Nanospheres With Tunable Pore Sizes. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 54, p. 11073-11077, 2015.

LOVETT, J. R. et al. pH-Responsive Non-Ionic Diblock Copolymers: Ionization of Carboxylic Acid End-Groups Induces an Order-Order Morphological Transition. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 54, p. 1279-1283, 2015.

MAI, Y.; EISENBERG, A. Self-Assembly of Block Copolymers. *Chemical Society Reviews*, v. 41, p. 5969-5985, 2012.

MOUGHTON, A. O.; O'REILLY, L. K. Thermally Induced Micelle to Vesicle Morphology Transition for a Charged Chain End Diblock Copolymer. *Chemical Communications*, v. 46, p. 1091-1093, 2010.

STEFIK, M. et al. Block Copolymer Self-Assembly for Nanophotonics. *Chemical Society Reviews*, v. 44, p. 5076-5091, 2015.

SUN, X-L. et al. Thermoresponsive Block Copolymer Micelles with Tunable Pyrrolidone-Based Polymer Cores: Structure/Property Correlations and Application as Drug Carriers. *Journal of Materials Chemistry B*, v. 3, p. 814-823, 2015.

YAN, B. et al. Near-Infrared Light-Triggered Dissociation of Block Copolymer Micelles Using Upconverting Nanoparticles. *Journal of American Chemical Society*, v. 133, p. 19714-19717, 2011.

YAN, Y. et al. Breathing Polymersomes: CO₂-Tuning Membrane Permeability for Size-Selective Release, Separation, and Reaction. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 52, p. 1-5, 2013.

YAN, Q.; ZHAO, Y. Polymeric Microtubules that Breathe: CO₂-Driven Polymer Controlled-Self-Assembly and Shape Transformation. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 52, p. 9948-9951, 2013.

YANG, F.; CAO, Z.; WANG, G. Micellar Assembly of a Photo- and Temperature-Responsive Amphiphilic Block Copolymer for Controlled Release. *Polymer Chemistry*, v. 6, p. 7995-8002, 2015.

ZHAO, X. *et al.* Synthesis of Photo- and pH Dual-Sensitive Amphiphilic Copolymer PEG₄₃-*b*-P(AA₇₆-co-NBA₃₅-co-tBA₉) and its Micellization as Leakage-Free Drug Delivery System for UV-Triggered Intracellular Delivery of Doxorubicin. *ACS Applied Materials & Interfaces*, v. 8, p. 22.127-22.134, 2016.

Monocamadas automontadas poliméricas e filmes finos poliméricos: propriedades e aplicações biomédicas

Karina Luzia Andrade^{1}*

Carolina Carnicel²

Genilza da Silva Mello³

Ana Cláudia Tasinaffo Alves⁴

Valdir Aniceto Pereira Júnior^{5}*

INTRODUÇÃO

A nanotecnologia e a nanociência têm demonstrado que são fatores imprescindíveis para a evolução da tecnologia. Sendo uma ciência multi e interdisciplinar, a nanotecnologia envolve os campos da física, química, ciência dos materiais e outras ciências da engenharia, fazendo com que as aplicações nanotecnológicas se espalhem por todos os ramos da ciência e da tecnologia (Kolahalam *et al.*, 2019).

Tal ciência compreende os elementos básicos conhecidos como “nanomateriais”, que possuem tamanho inferior a 100 nm, pelo menos em uma dimensão, sendo, portanto, menores que os materiais contidos na microescala. Os nanomateriais apresentam propriedades físico-químicas únicas, diferentes dos materiais comuns, logo, tais características são intrinsecamente dependentes do seu tamanho e forma (Behera *et al.*, 2019; Kolahalam *et al.*, 2019). Pode-se dizer então que a nanociência abrange os estudos de interações moleculares, sendo aplicada em qualquer área tecnológica cujo desempenho do processo final é dependente das características dos materiais introduzidos em escala nanométrica.

As interações entre moléculas e superfícies constam entre os aspectos mais estudados da ciência moderna e tiveram seu início de desenvolvimento em meados dos anos 1960. Uma das interações mais notáveis entre moléculas e substratos é a auto-organização espontânea entre átomos e moléculas em superfícies de arranjos ordenados (Smith; Lewis; Weiss, 2004; Mozafari *et al.*, 2016). Essa automontagem em massa pode proporcionar a

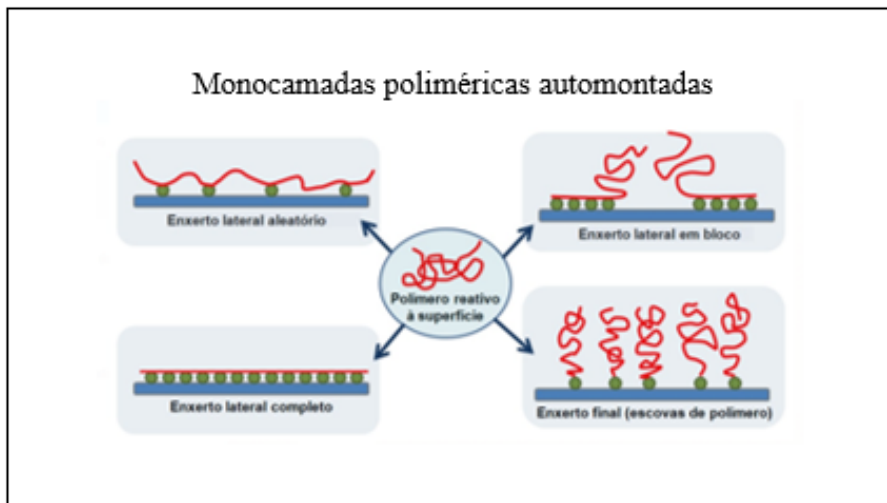
obtenção de estruturas altamente ordenadas em escala nanométrica, sendo a força das interações entre as moléculas e substratos dependentes da natureza química de ambos (Singh; Kaur; Comini, 2020).

As monocamadas automontadas (*self-assembled monolayers* — SAMs) são tipicamente formadas pela exposição de uma superfície de moléculas com grupos químicos que, por afinidade, interagem com o substrato ou com o material incorporado neste. Podem ser formadas diretamente a partir de uma solução ou mediante uma técnica de padronização, sendo o processo de solução o mais utilizado devido à simplicidade de formação e aptidão de realização em temperatura e pressão ambientes (Smith; Lewis; Weiss, 2004; Shuturminska et al., 2018).

Uma das técnicas de preparação de SAMs envolve o uso de moléculas anfífilas. Além dessa abordagem, é possível realizar a preparação a partir de uma cadeia macromolecular, com ênfase em polímeros que possuam características químicas que favoreçam sua ligação à superfície. Assim, essas unidades podem exibir reatividade na superfície ou serem indiretamente atraídas por ela. Para distinguir as SAMs convencionais das SAMs derivadas de macromoléculas poliméricas, utiliza-se o termo PSAM (monocamadas poliméricas auto-organizadas, do inglês *self-assembled polymer monolayers*). As PSAMs oferecem uma ampla gama de funcionalidades exclusivas à superfície, sendo notáveis por sua estabilidade e melhor processabilidade em comparação com as SAMs tradicionais. (Love et al., 2005; Park; Kim; Han, 2010; Hasan; Pandey, 2018).

A estrutura de uma PSAM não apresenta simplicidade, como a de uma SAM, em que os eixos moleculares se estendem e se alinham normalmente à superfície. Uma PSAM, devido às longas cadeias macromoleculares em estado permanente, apresenta tendência à formação de bobinas, com isso, maximiza sua entropia de conformação, minimizando o alongamento das cadeias (Park; Kim; Han, 2010), como é visto na Figura 1.

FIGURA 1 — REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UMA MONOCAMADA POLIMÉRICA AUTOMONTADA



Fonte: Park; Kim e Han (2010)*

Por estarem ligadas à superfície, essas moléculas de cadeia longa apresentam conformações que variam de acordo com a maneira pela qual as cadeias poliméricas são enxertadas na superfície. O modo de enxertia pode ocorrer por intermédio de ligações únicas ou múltiplas, pela extremidade ou pela lateral da cadeia (Park; Kim; Han, 2010).

Segundo Park, Kim e Han (2010), mesmo que as SAMs e PSAMs apresentem diversas características comuns, são observadas diferentes características conformacionais únicas das cadeias macromoleculares, sendo elas:

- I. PSAMs cobrem completamente a superfície mesmo com uma densidade de enxerto muito menor que a dos SAMs;
- II. PSAMs não apresentam espessura relacionada ao comprimento das cadeias macromoleculares, podendo variar com a densidade do enxerto, a posição do enxerto na cadeia e a energia de interação polímero-substrato;
- III. PSAMs geram, de forma espontânea, padrões nanoscópicos via separação por microfase, quando se encontram com copolímeros em bloco de unidades de monômero quimicamente distintas;
- IV. PSAMs podem apresentar alteração nas conformações macromoleculares devido à temperatura, qualidade do solvente, pH e outros.

* Imagem reproduzida e traduzida de Park; Kim; Han (2010) com permissão da Royal Society of Chemistry, com licença de número 1120478-1. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2010/cs/b918135k#divAbstract>.

Vale ressaltar que, como vantagem, a formação simples das SAMs, apresentando camadas molecularmente bem definidas, possibilita a modificação de superfície em nanoescala, podendo ser alterada com ligantes biológicos. Já como desvantagens destacam-se a sua camada molecular de fina espessura, a estabilidade limitada a longo prazo e comum presença de defeitos. As PSAMs apresentam estabilidade a longo prazo, proporcionam a preparação por meio de enxerto e possuem camadas com maior espessura. Em relação as suas desvantagens têm-se a complexidade do seu preparo e da sua estrutura, formando superfícies com características ásperas (Hasen; Pandey, 2018). De modo geral, ambas representam um método promissor para o desenvolvimento de novos materiais para a engenharia de superfícies e interfaces.

Ressalta-se ainda que as características superficiais podem influenciar na eficiência e no comportamento do material. A modificação e o ajuste dessas características tornam-se essenciais para atender a demanda específica, objetivando sempre a melhoria do desempenho do material em questão. Uma forma de modificar estas características é mediante o revestimento da superfície por meio da deposição de filmes finos (Abegunde et al., 2019).

A terminologia “filme fino” é aplicada à matéria condensada, limitada a duas dimensões, organizada em camadas incorporadas em uma superfície. Em relação à espessura desses filmes, classificam-se em filmes nanométricos (faixa de 0,1 a 100 nm), micrométricos (de 0,1 a 100 μm) e milimétricos (entre 0,1 e 100 mm) (Minassian-Saraga, 1994).

APLICAÇÕES NA ÁREA BIOMÉDICA

PSAMs

As PSAMs, devido ao controle das interações interfaciais, apresentam uma vasta variedade de aplicações, incluindo umedecimento, adesão, automontagem controlada de materiais macios, superfícies responsivas a estímulos, dispositivos biomédicos, eletrônica orgânica, microfluídica e síntese modelada de nanomateriais (Park; Kim; Han, 2010).

De acordo com trabalhos encontrados na literatura, na área biomédica, a aplicação de PSAMs inclui produção de nanocarreadores, biossensores e biochips, sistemas de diagnósticos, detecção e tratamentos de doenças, sistemas de entrega de medicamentos (Park *et al.*, 2007; Chhadra *et al.*, 2010, Samanta; Sarkar, 2011; Yang *et al.*, 2014; Mouffok *et al.*, 2015; Nasri; Mirshekarpour, 2015; Cui *et al.*, 2019, Raza *et al.*, 2019), dentre outros, como mencionado a seguir.

Os polissacarídeos têm mostrado propriedades relevantes para a produção de monocamadas automontadas para aplicações biomédicas. Nanomateriais de camadas automontadas de quitosana, por exemplo, mostraram bom potencial em sistemas de liberação de fármacos (Yang *et al.*, 2014). A presença de grupamentos hidroxila, acetoamino e amino fazem da quitosana uma macromolécula versátil para essa aplicação, corroborado por sua anfifilicidade e por também apresentar característica de polieletrólito, possibilitando interação eletrostática (Yi *et al.*, 2005).

As monocamadas ocorrem de forma espontânea na natureza em diversas biomoléculas, tais como o DNA, em proteínas e nas biomembranas. Assim, alternativas que utilizam tais biomoléculas são promissoras, principalmente por conta da biocompatibilidade. São exemplos de biomoléculas poliméricas aplicáveis em SAMs para uso biomédico os peptídeos sintetizados por métodos de fase sólida e os peptídeos funcionalizados com adição de enzimas, anticorpos ou marcadores fluorescentes (Castillo-León; Andersen; Svendsen, 2011; Rubert-Perez *et al.*, 2015).

Raza *et al.* (2019) mencionam a construção de nanocarreadores (lipossomos, micelas, nanotubos, dendrímeros e peptídeos) devido ao destaque de vantagens como ampla seletividade, multifuncionalidade, especificidade, biocompatibilidade e controle preciso da liberação de medicamento. Nano-

medicamentos baseados em sistemas transportadores de peptídeos auto-montados foram estudados nos últimos anos para utilização no combate ao câncer, uma vez que esses peptídeos são promissores para formação de vesículas de entrega de medicamentos, como nano-hidrogéis, contendo características e funcionalidades exclusivas.

Park *et al.* (2007) relataram a construção de biomoléculas com base em PSAMs contendo funções duplas, sendo uma bio-reativa (pós-funcionalizáveis) e uma bio-inerte (anti-incrustantes). Os autores utilizaram, como substratos, soluções à base de SiO₂ (dióxido de silício), formando PSAMs com copolímeros de PEG (polietilenoglicol), enfatizando que esse conjunto de PSAMs com dupla função pode ser aplicado na área de biossensores e biochips.

Destaca-se também o desenvolvimento de variadas técnicas de imobilização de biomoléculas nas superfícies, especificamente biopolímeros, diante de modificação de uma monocamada funcional automontada. Tal sistema apresenta possibilidade de aplicação para desenvolvimento de novos biossensores, detectores em nanoescala de patógenos e outros metabólitos que se relacionam com a saúde humana (Samanta; Sarkar, 2011).

Nanopartículas poliméricas automontadas como novos e inteligentes agentes de contraste para detecção precoce do câncer usando imagens de ressonância magnética foram desenvolvidas por Mouffok e seus colaboradores em 2015. As nanopartículas foram desenvolvidas pela automontagem do um copolímero dibloco poli (etilenoglicol-*b*-trimetilsilil metacrilato), carregado com um complexo hidrofóbico de gadolínio (tBuBipyGd) para exploração do pH ácido nos tecidos cancerígenos. Diante de análise de ressonância magnética *in vitro*, os autores observaram que as micelas carregadas com tBuBipyGd apresentavam sensibilidade ao pH devido à ativação da capacidade de geração de imagens em um ambiente ácido. Com isso, revelou-se o potencial uso para detecção precoce de câncer por meio de ressonância magnética.

Chhabra *et al.* (2010) citam o desenvolvimento de um sistema nanoestrutural de DNA automontado, gerando arquiteturas em escala nanométrica com formação de padrões de DNA que vão da simplicidade (detecção, computação e entrega de fármacos) à complexidade (estruturas para a construção de matrizes de proteínas e de nanopartículas). Os autores mencionam a po-

tencialidade da aplicação desses sistemas em diagnósticos e procedimentos terapêuticos na nanomedicina.

Uma nano-pró-droga polimérica semicondutora (SPNpd), com uma estrutura cuidadosamente delineada para terapia sinérgica ativada por hipóxia no tratamento de câncer, foi sintetizada por Cui *et al.* (2019). O SPNpd foi automaticamente montado a partir de um polímero anfílico semicondutor (PEG — polietilenoglicol), no qual foram enxertadas cadeias laterais da quimiodroga por meio de ligantes cliváveis em resposta à hipóxia. Este estudo revelou que o SPNpd inibiu de maneira eficaz o crescimento tumoral em camundongos, evidenciando que este sistema, uma pró-droga polimérica fototerapêutica ativada por hipóxia, possui considerável potencial para ser empregado no tratamento do cancer.

Nasri e Mirshekarpour (2015) prepararam e caracterizaram produtos coloidais à base de nanopartículas compostas por um polímero biocompatível (carboximetilcelulose de sódio — CMCNa) para uso em sistemas de liberação controlada e direcionada de medicamentos, via mucosa. Cadeias poliméricas de CMCNa foram automontadas com a incorporação de estruturas micelares de polissorbatos. Foi constatada a grande e eficaz potencialidade desse sistema de entrega de medicamentos com liberação controlada e específica.

Filmes finos poliméricos

Os filmes finos poliméricos desempenham função cada vez mais importante em aplicações tecnológicas, sendo empregados, por exemplo, como dispositivos eletrocrômicos e fotoluminescentes, sensores, células solares, revestimentos, adesivos e litografia a diodos orgânicos emissores de luz e vários dispositivos baseados em material orgânico, incluindo sensores e detectores magneto-ópticos empregados nas mais diversas áreas (Hashin, 2010).

A formação de uma camada de filme fino possibilita ajustar de forma precisa as características químicas e físicas de uma membrana, melhorando sua performance (seletividade, fluxo, resistência química e propriedades anti-incrustantes e antibacterianas). Os procedimentos de formação de filmes finos apresentam vantagens únicas sobre outros métodos tradicionais, como

o enxerto, favorecendo a ampliação da sua aplicabilidade a polímeros de baixa energia superficial, os quais geralmente dificultam à modificação por meio de outras técnicas. Além disso, essa técnica apresenta viabilidade, possibilitando a funcionalização de materiais de baixo custo com pequenas quantidades de produtos químicos ativos de custos elevados (Mavukkandy *et al.*, 2020).

Destaca-se que, ao realizar ajustes de superfícies com filmes finos nanoestruturados, controlando as suas propriedades interfaciais em nanoescala, permite-se alcançar diversas possibilidades para aplicações biológicas. A preparação de filmes finos poliméricos com propriedades adequadas capazes de induzir respostas biológicas desejadas em nível celular, promove a aproximação de áreas de pesquisas da física, química, ciência dos materiais, biologia e medicina (Muzzio *et al.*, 2020).

Na área biomédica, destacam-se as aplicações dos filmes finos em dispositivos para diagnósticos de doenças, revestimentos biocompatíveis em implantes (revestimentos repelentes de proteínas, revestimentos antitrombogênicos, que evitam a coagulação do sangue ao redor de implantes e revestimentos antibacterianos), na engenharia de tecidos, na administração de medicamentos e na terapia genética (Hashin, 2010; Venda; Krishnan, 2011; Mozafari *et al.*, 2016; Nistor; May, 2017).

O uso de filmes finos com propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade, compostos por estruturas otimizadas, ocasionam melhoria significativa na integração dos implantes. Dentre as justificativas de tal uso, cita-se a associação das tecnologias de revestimento, evitando problemas de fixação rápida de implantes em tecidos naturais, bem como a biocompatibilidade por períodos de tempo mais longos no corpo humano (Mozafari *et al.*, 2016).

O uso de PSAMs e filmes finos como revestimento para implantes biomédicos, ortopédicos e dentários tem proporcionado uma melhora significativa nos resultados clínicos a longo prazo, sendo possível desenvolver revestimentos mais adequados para células humanas, capazes de inibir a adesão de bactérias. Revestimentos orgânicos, especialmente os poliméricos (polietilenoglicol — PEG; poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico) — PLGA; poli(óxido de etileno) — PEO, têm extensa aplicação em implantes, uma vez que a maioria desses materiais apresenta boa interação com células

de mamíferos, além de propriedades adicionais em alguns casos (o PEO, por exemplo, apresenta propriedades antimicrobianas) (Chen, 2016).

PREPARAÇÃO

Para a preparação das PSAMs e dos filmes finos poliméricos, diversas formas são utilizadas, sendo estas abordadas e descritas na sequência.

PSAMs

As PSAMs são formadas, geralmente, por polímeros estruturados em forma de copolímeros, na forma de bloco e aleatória.

a) **Copolímeros em bloco:** constituem-se por dois ou mais blocos macromoleculares quimicamente distintos e ligados de forma covalente, podendo auto montar-se em nanoestruturas ordenadas mediante o processo de separação por microfase. Tal processo impulsiona-se pela entalpia de formação dos blocos constituintes, havendo impedimento da separação macroscópica devido a conectividade química dos blocos. Uma forma de realizar ajustes estruturais dos copolímeros de bloco automontados é por meio da variação das combinações dos monômeros contendo as mais diversas funcionalidades químicas. Além disso, a alteração das massas moleculares e das composições dos blocos pode ser realizada pelo ajuste da forma e do tamanho (Park; Yoon; Thomas, 2003; Park; Kim; Han, 2010);

b) **Copolímeros aleatórios:** constituem-se de unidades de repetição com partes responsáveis por funcionalização e partes de ancoragem. Essas unidades de repetição distribuem-se uniformemente ao longo da espinha dorsal e, com isso, os padrões de microdomínio não são formados, logo, a superfície dos copolímeros aleatórios é regular quanto ao nível molecular. Ressalta-se que esses copolímeros aleatórios apresentam fácil síntetização a partir de várias combinações de múltiplos monômeros, com diferentes funcionalidades químicas ou físicas. Outro fator de destaque é que os copolímeros aleatórios auxiliam no ajuste de energia superficial, mantendo uma topografia de superfície lisa, e, devido à heterogeneidade química apenas em nível molecular, a superfície da PSAM apresenta uniformidade em escalas maiores de comprimento (Park; Kim; Han, 2010).

Vale ressaltar que, nas PSAMs compostas por copolímero, a maior fração da cadeia polimérica encontra-se livre e atua no transporte de funcionalidades e apenas uma pequena fração das unidades repetitivas da cadeia polimérica é utilizada na ancoragem. As cadeias de copolímeros que formam as PSAMs podem ser projetadas e sintetizadas de forma independente e a funcionalização pode ocorrer posteriormente, com a inserção no substrato (Park; Kim; Han, 2010).

Métodos de enxertia

Como já mencionado, as PSAMs geralmente são preparadas por meio de enxertia de cadeias de copolímeros na superfície. Nesse método pode haver a variação da densidade do enxerto de acordo com as condições utilizadas, como, por exemplo, concentração de polímero, qualidade de solvente, organização macromolecular e afinidade química dos polímeros em relação à superfície (Park; Kim; Han, 2010).

Cadeias poliméricas que apresentam vários locais reativos são imediatamente revestidas superficialmente por imersão. A concentração da solução de revestimento pode ser otimizada, devendo ser maior que uma certa concentração mínima para uma cobertura total da superfície. Quando o copolímero for anfílico e capaz de formar micelas no solvente utilizado no revestimento, a PSAM deve ser formada abaixo da concentração micelar crítica (CMC). Acima do CMC, as micelas formam-se e aderem-se à superfície, formando filmes mais espessos do que as PSAMs (Park; Kim; Han, 2010).

As unidades de repetição ou blocos de repetição que não apresentam adsorção superficial direta proporcionam condições de deposição autolimitadas para a preparação de PSAM, bem como de funcionalização. Ao realizar o enxerto superficial de cadeias poliméricas, a parte não reativa dos polímeros sofre saturação sobre a superfície do substrato, formando uma camada de bloqueio e dificultando a adsorção de cadeias poliméricas livres à superfície (Park; Thomas, 2002; Park; Kim; Han, 2010).

Tanto as monocamadas aleatórias quanto as monocamadas em bloco quanto as de modo aleatório podem ser preparadas diante da enxertia de polímeros funcionalizados na extremidade ou pelo método de polimerização

iniciada na superfície (SIP). Polímeros dotados de apenas um grupo final reativo apresentam enxertia em baixas densidades, por métodos singulares de revestimento por imersão. Neste caso, para sanar o problema da baixa densidade de enxertia, pode-se moldar ou revestir, por centrifugação sobre o substrato, uma película fina do polímero reativo final, aquecendo-a em uma temperatura suficientemente alta. Executa-se uma lavagem com solvente do filme de polímero que não reagiu, sendo dessa forma produzida apenas uma monocamada enxertada. Ao passo que a enxertia com altas densidades pode ser sintetizada por SIP a partir de um SAM de iniciadores (Mansky *et al.*, 1997; Edmondson; Osborne; Huck, 2004; Park; Kim; Han, 2010).

a) **PSAMs de copolímeros em bloco enxertados na extremidade:** ao enxertar cadeias de copolímeros em bloco na superfície, por suas extremidades, são formadas escovas de copolímero em bloco. Tais blocos possuem liberdade conformacional suficiente para apresentar comportamentos de separação por microfase. A morfologia de separação por microfase na monocamada de escova é determinada por diversos fatores, como as energias superficiais dos blocos de polímeros em exposição ao ar ou ao solvente, as interações energéticas entre os blocos de polímero e as superfícies do solvente ou substrato, assim como a estrutura, composição e propriedades moleculares (Park; Kim; Han, 2010);

b) **PSAMs de copolímeros aleatórios enxertados na extremidade:** ao enxertar cadeias aleatórias de copolímeros na superfície por suas extremidades, formam-se escovas aleatórias de copolímeros. Tais escovas não apresentam microdomínio de separação por fase, mas características superficiais amorfas e uniformes, podendo ser usadas no controle de energia superficial de modo semelhante aos PSAMs copolímeros aleatórios (Park; Kim; Han, 2010).

Filmes finos poliméricos

A elaboração de filmes finos ordenados a partir de automontagem de moléculas é realizada mediante a inclusão de soluções (moléculas/polímeros previamente dissolvidos em um determinado solvente com concentração determinada) no substrato ideal. As moléculas interagem com o substrato, ocasionando a formação de morfologias distintas posteriormente à evaporação do solvente. Por fim, não há apenas interações entre molécula-molé-

cula, molécula-solvente e molécula-substrato. A organização final também resulta em forças de tensão superficial aplicadas à solução durante a evaporação (Palermo; Samorì, 2007).

Dentre as técnicas de fabricação de filmes finos poliméricos destacam-se a Langmuir-Blodgett (LB) e a *Layer-by-Layer* (LbL) (Park et al., 2011; Park et al., 2018; Maximino et al., 2019). As técnicas LB são ordenáveis, ecologicamente corretas, econômicas, possibilitam a repetibilidade e apresentam maior tolerância diante das condições de processamento variáveis. Os filmes produzidos por LB são amplamente usados como revestimento, uma vez que a sua tecnologia é simples, repetível e proporciona previsibilidade das estruturas dos filmes depositados (Mavukkandy et al., 2020).

Na forma de automontagem, destaca-se o uso da técnica LBL que proporciona a formação de filmes poliméricos com multicamadas, depositados na superfície do substrato via adsorção alternativa dos materiais que estão interagindo. Essa técnica pode ocorrer por meio dos métodos de: *spin coating*, *dip coating*, *casting* e sublimação. Tratam-se de técnicas de deposição de uma solução polimérica (solução precursora) a um substrato após a evaporação do solvente. As técnicas diferenciam-se conforme a forma de deposição, o formato do substrato e os meios utilizados para a total evaporação do solvente (Faria, 2011; Maximino et al., 2019).

Spin-coating

Essa técnica permite a formação de filmes por meio da incorporação de um líquido (precursor polimérico) no substrato e, através da centrifugação, o líquido sofre uma aceleração centrífuga, fazendo com que se espalhe por todo o substrato. O polímero torna-se rígido sobre o substrato assim que o excesso de solvente evapora (Faria, 2011; Zhang; Hoshino, 2019).

Neste processo, a espessura, a morfologia e a topografia da superfície do filme dependem da concentração, viscosidade, volatilidade, difusividade da solução e massa molar dos solutos, além do tempo e da velocidade de rotação. O controle da aceleração rotacional permite maior controle da espessura final do filme. A maior desvantagem deste pro-

cesso é o grande desperdício de material (Jesus, 2009; Vitorino, 2011; Mavukkandy et al., 2020).

Dip-coating

Trata-se de uma técnica de deposição de filmes por imersão, na qual o substrato é mergulhado em uma solução precursora polimérica por um período de tempo determinado, sendo retirado posteriormente com velocidade controlada e constante, sem nenhum tipo de vibração. A retirada da amostra é realizada até que ocorra total evaporação do solvente e a deposição da amostra sobre a superfície. Esta técnica de imersão vertical consiste em cinco etapas: imersão, emersão, deposição, drenagem e evaporação (Faria, 2011).

A espessura do filme depende da velocidade de imersão/emersão do substrato na solução, sendo possível a obtenção de um filme mais fino aplicando-se uma menor velocidade de remoção da amostra. Além disso, outros fatores que interferem na espessura são o ângulo de inclinação do substrato em relação à superfície da solução, a concentração e viscosidade da solução precursora e o tempo de deposição (Jesus, 2009; Faria, 2011; Vitorino, 2011).

Casting

Trata-se de um método menos eficiente que o *spin-coating* e o *dip-coating* para a construção de filmes finos poliméricos. Essa técnica tem como base o espalhamento da amostra polimérica sobre um substrato. A formação do filme sobre a superfície da placa se dá após a evaporação de todo o solvente e, conseqüentemente, a coalescência das cadeias poliméricas do filme ou de sua blenda, a qual pode ser acelerada com o aquecimento (Pereira Junior; De Arruda, Stefani, 2014).

Nessa técnica, a espessura do filme é controlada pelo ajuste da concentração da amostra no solvente. Filmes obtidos por esta técnica são desorganizados, mas representam uma forma rápida e fácil para modificações na superfície de eletrodos para obtenção de sensores eletroquímicos (Jesus, 2009; Faria, 2011).

Sublimação

Trata-se de uma técnica na qual a fonte de sublimação e o substrato encontram-se a uma distância da ordem de milímetros e o sistema é submetido a uma pressão na faixa do médio a baixo vácuo, o que faz com que a saída das moléculas da fonte para o substrato seja de maneira diferenciada da técnica de evaporação térmica, na qual a distância fonte-substrato é maior (da ordem de cm) e a pressão é na faixa de alto vácuo. Essas condições resultam em altas taxas de deposição e permitem a utilização de altas temperaturas de substrato (Pinheiro *et al.*, 2005; Gonçalves *et al.*, 2009).

Essa técnica tem a vantagem de não requerer equipamento elaborado para estabelecer a pressão de deposição desejada, além de apresentar altas taxas de deposição em relação às outras técnicas (Gonçalves *et al.*, 2009). Os parâmetros de controle dessa técnica são: temperaturas da fonte e do substrato, distância fonte-substrato e pressão (Pinheiro *et al.*, 2005).

No Brasil, existem diversos grupos de pesquisa empenhados no desenvolvimento de técnicas de preparação de filmes finos, utilizando diferentes tipos de substratos, com o intuito melhorar as propriedades de materiais. Uma das técnicas de grande destaque, que apresenta baixo custo e maior confiabilidade, é a produção de filmes na forma de LEDs orgânicos e poliméricos, contendo melhores propriedades e menor custo do que os de materiais inorgânicos (Brauman; Szuromi, 1996).

CARACTERIZAÇÃO

A seguir são elencadas as principais formas de caracterização de PSAMs e filmes finos poliméricos.

PSAMs

Na caracterização de PSAMs destacam-se as técnicas descritas por Schreiber (2000); Smith; Lewis e Weiss (2004); Shuturminska *et al.* (2018); e Chimisso *et al.* (2020):

- I. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR):** fornece informações sobre a presença de moléculas na superfície,

podendo disponibilizar informações sobre a composição química e a ordem da monocamada;

II. **Elipsometria**: utilizada para analisar e compreender a espessura das PSAMs;

III. **Espectroscopia de fotoelétrons de raios X (XPS)**: apresenta informações sobre a composição química, a estrutura e o estado de ligação das PSAMs. Ainda, fornece dados sobre a cobertura e a densidade de empacotamento das moléculas mediante a análise de atenuação de fotoelétrons do substrato (ouro);

IV. **Microscopia de força atômica (AFM) e Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**: determinação da morfologia dos PSAMs, podendo identificar possíveis defeitos;

V. **Ângulo de contato através de Goniômetro**: fornece informações sobre a molhabilidade da superfície formada, auxiliando na verificação da qualidade da estabilidade das PSAMs.

Filmes finos poliméricos

As principais técnicas utilizadas para a caracterização de filmes finos desenvolvidos com os mais diversos substratos e diferentes técnicas são, de acordo com Albert e Epps (2010); Murthy *et al.* (2016) e Kruchinin *et al.* (2018):

I. **Gravimetria**: determina a quantidade da substância depositada;

II. **Espectrofotometria molecular na região do UV-visível**: determina os parâmetros ópticos (índice de refração e porosidade) e espessura dos filmes fabricados;

III. **Difratometria de raios X (DRX)**: fornece dados sobre a fase cristalina e o tamanho dos cristais dos filmes;

IV. **Microscopia de força atômica (AFM) e microscopia eletrônica de varredura (MEV)**: avalia as características morfológicas dos filmes;

V. **Elipsometria**: mede a espessura e a rugosidade da superfície por meio de análise óptica;

VI. Ainda, podem ser citadas as técnicas de ressonância plasmônica de superfície, espectrometria de massas de íons secundários por

tempo de voo, espectroscopia vibracional, espectrometria de massas de ionização por dessorção a laser assistida por matriz de superfície (MALDI-TOF), espectroscopia de retro dispersão de Rutherford (RBS) e espectroscopia de estrutura fina de absorção de raios X na borda (NEXAFS), dentre outras (Murthy *et al.*, 2016).

CONCLUSÃO

Observa-se, nas últimas décadas, uma busca incessante pelo desenvolvimento de materiais que apresentem potencial revolucionário para as mais diversas aplicações. O emprego das PSAMs em diferentes áreas deve-se ao fato de sua facilidade de preparo, bem como das suas características envolvidas na tecnologia de superfície. Na área biomédica, as PSAMs abrangem as áreas de reconhecimento molecular e biomolecular, biossensores, detecção, diagnósticos e tratamento de doenças, entrega de medicamentos, dentre outras aplicações de suma relevância. Os filmes finos poliméricos são aplicados, no que se refere à engenharia e ciência de materiais, essencialmente no ramo da eletrônica e na área biomédica para fins de diagnóstico, principalmente. Ambos os materiais (PSAMs e filmes finos poliméricos), possuem importância de aplicação biomédica, no entanto, também são utilizados nas demais áreas tecnológicas de produção de bens de consumo. As técnicas de caracterização são bastante conhecidas e comuns aos outros materiais. Portanto, é imprescindível o incentivo da pesquisa e do desenvolvimento desses materiais visando o avanço tecnológico das diversas áreas do conhecimento, tendo em vista a facilidade e a possibilidade de pesquisa para produção desses materiais.

REFERÊNCIAS

- ABEGUNDE, O. O. *et al.* Overview of Thin Film Deposition Techniques. *Materials Science*, v. 6, p. 174-199. 2019.
- ALBERT, J. N. L.; EPPS, T. H. Self-Assembly of Block Copolymer Thin Films. *Materials Today*, v. 13, p. 24-33. 2010.
- BEHERA, A. *et al.* Nanomaterials: Fundamental Principle and Applications. In: VERMA, D. K.; GOYA, M. R.; SULERIA, H. A. R. (eds). *Nanotechnology and Nanomaterial Applications in Food, Health, and Biomedical Sciences*. Apple Academic Press, p. 163-194, 2019.
- BRAUMAN, J. I.; SZUROMI, P. Thin Films. *Science*, v. 273, p. 855. 1996.
- CASTILLO-LEÓN, J.; ANDERSEN, K. B.; SVENDSEN, W. E. Self-Assembled Peptide Nanostructures for Biomedical Applications: Advantages and Challenges. In: PIGNATELLO, R. (ed). *Biomaterials Science and Engineering*. p. 115-138, 2011.
- CHEN, J. Thin Film Coatings and the Biological Interface. In: GRIESSER, H. J. *Thin Film Coatings for Biomaterials and Biomedical Applications*. Woodhead Publishing, 2016. p. 143-164.
- CHHABRA, R. *et al.* DNA Self-Assembly for Nanomedicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 62, p. 617-625, 2010.
- CHIMISSO, V. *et al.* Self-Assembled Polymeric Membranes and Nanoassemblies on Surfaces: Preparation, Characterization, and Current Applications. *Macromolecular Bioscience*, v. 20, p. 1900257, 2020.
- CUI, D. *et al.* Semiconducting Polymer Nano-prodrug for Hypoxia-Activated Photodynamic Cancer Therapy. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 58, p. 5920-5924. 2019.
- EDMONDSON, S.; OSBORNE, V. L.; HUCK, W. T. S. Polymer Brushes Via Surface-Initiated Polymerizations. *Chemical Society Review*, v. 33, n. 1, p. 14-22, 2004.
- FARIA, A. C. R. *Fotossensibilizadores nanoestruturados por sistema camada por camada*. 80 f. Dissertação (Mestrado em Materiais) — Programa de Pós-Graduação em Materiais, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2011.
- GONÇALVES, A. R. S. *et al.* Produção de filmes de ZnTe por sublimação em espaço reduzido. *Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo*, v. 28, p. 51-54, 2009.

HASAN, A.; PANDEY, L. M. Self-Assembled Monolayers in Biomaterials. In: NARAYAN, R. *Nanobiomaterials: Nanostructured Materials for Biomedical Applications*. Woodhead Publishing, 2018. p. 137-178.

HASHIN, A. A. *Polymer Thin Films*. Vukovar: In Tech, 2010, p. 1-324.

JESUS, C. G. *Filmes automontados do cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano e ftalocianina de cobre obtidos pela técnica LbL: preparação, caracterização e aplicações*. 102 f. Dissertação (Mestrado em Química) — Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, 2009.

KOLAHALAM, L. A. et al. Review on Nanomaterials: Synthesis and Applications. *Materials Today: Proceedings*, v. 18, p. 2182-2190, 2019.

KRUCHININ, V. N. et al. Optical Properties of Thin Films of Zinc Phthalocyanines Determined by Spectroscopic Ellipsometry. *Optics and Spectroscopy*, v. 125, n. 6, p. 1019-1024, 2018.

LOVE, J. C. et al. Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. *Chemical Reviews*, v. 105, p. 1103-1169, 2005.

MANSKY, P. et al. Controlling Polymer-Surface Interactions with Random Copolymer Brushes. *Science*, v. 275, n. 5305, p. 1458-1460. 1997.

MAVUKKANDY, M. O. et al. Thin Film Deposition Techniques for Polymeric Membranes: A Review. *Journal of Membrane Science*, v. 610, p. 118258, 2020.

MAXIMINO, M. D. et al. Metallic Phthalocyanines: Impact of the Film Deposition Method on its Supramolecular Arrangement and Sensor Performance. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 91, p. 1-14, 2019.

MINASSIAN-SARAGA, L. T. Thin Films Including Layers: Terminology in Relation to Their Preparation and Characterization. *Pure & Applied Chemistry*, v. 68, p. 1667-1738, 1994.

MOUFFOUK, F. et al. Self-Assembled Polymeric Nanoparticles as New, Smart Contrast Agents for Cancer Early Detection Using Magnetic Resonance Imaging. *International Journal of Nanomedicine*, v. 10, p. 63-76. 2015.

MOZAFARI, M. et al. Thin Films for Tissue Engineering Applications. In: GRIESSER, H. J. (ed). *Thin Film Coatings for Biomaterials and Biomedical Applications*. Woodhead Publishing, 2016. p. 167-195.

MURTHY, N. S. et al. Characterization of Thin Films for Biomedical Applications. In: GRIESSER, H. *Thin Film Coatings for Biomaterials and Biomedical Applications*. Woodhead Publishing, 2016. p. 81-115.

- MUZZIO, E. N. et al. Concepts for Designing Tailored Thin Film Surfaces with Potential Biological Applications. In: BASU, S. (ed). *Multilayer Thin Films: Versatile Applications for Materials Engineering*, p. 1-19, 2020.
- NASRI, M.; MIRSHEKARPOUR, H. Polymeric Nanostructures as Colloidal Drug Delivery Systems: Thermosensitive Hydrogels Containing Self-Assembled Micelles. *Journal Nanomedicine and Nanotechnology*, v. 6, n. 301, p. 1000301, 2015.
- NISTOR, P. A.; MAY, P. W. Diamond Thin Films: Giving Biomedical Applications a New Shine. *Journal of the Royal Society Interface*, v. 14, p. 20170382, 2017.
- PALERMO, V.; SAMORÌ, P. Molecular Self-Assembly across Multiple Length Scales. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 46, p. 4428-4432, 2007.
- PARK, C.; YOON, J.; THOMAS, E. L. Enabling Nanotechnology with Self-Assembled Block Copolymer Patterns. *Polymer*, v. 44, n. 22, p. 6725-6760, 2003.
- PARK, J-H; KIM, H.; HAN, M. Polymeric Self-Assembled Monolayers Derived from Surface-Active Copolymers: A Modular Approach to Functionalized Surfaces. *Chemical Society Review*, v. 39, p. 2935-2947, 2010.
- PARK, J-W.; THOMAS, E. L. A Surface-Reactive Rod-Coil Diblock Copolymer: Nano- and Micropatterned Polymer Brushes. *Journal of the American Chemical Society*, v. 124, n. 4, p. 514-515, 2002.
- PARK, M-H. et al. Controlled and Sustained Release of Drugs from Dendrimer-Nanoparticle Composite Films. *Advance Materials*, v. 23, p. 2839-2842, 2011.
- PARK, S. et al. Dual Functional, Polymeric Self-Assembled Monolayers as a Facile Platform for Construction of Patterns of Biomolecules. *Langmuir*, v. 23, n. 22, p. 10902-10905, 2007.
- PARK, S. et al. Layer-by-Layer Assembled Polymeric Thin Films as Prospective Drug Delivery Carriers: Design and Applications. *Biomaterials Research*, v. 22, n. 29, p. 1-13, 2018.
- PEREIRA JUNIOR, V. A.; DE ARRUDA, I. N. Q.; STEFANI, R. Active Chitosan/PVA Films with Anthocyanins from Brassica oleraceae (Red Cabbage) as Time-Temperature Indicators for Application in Intelligent Food Packaging. *Food Hydrocolloids*, v. 43, p. 180-188, 2014.

- PINHEIRO, W. A. *et al.* Construção de um sistema de sublimação em espaço reduzido. *Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo*, v. 24, p. 62-65, 2005.
- RAZA, F. *et al.* Cancer Nanomedicine: Focus on Recent Developments and Self-Assembled Peptide Nanocarriers. *Journal of Materials Chemistry B*, v. 7, p. 7639-7655, 2019.
- RUBERT-PEREZ, C. M. *et al.* The Powerful Functions of Peptide-Based Bioactive Matrices for Regenerative Medicine. *Annals of Biomedical Engineering*, v. 43, n. 3, p. 501-514, 2015.
- SAMANTA, D.; SARKAR, A. Immobilization of Bio-Macromolecules on Self-Assembled Monolayers: Methods and Sensor Applications. *Chemical Society Reviews*, v. 40, p. 2567-2592, 2011.
- SCHREIBER, F. Structure and Growth of Self-Assembling Monolayers. *Progress in Surface Science*, v. 65, p.151-256, 2000.
- SHUTURMINSKA, K. *et al.* Displaying Biofunctionality on Materials through Templated Self-Assembly. In: AZEVEDO, H. S.; SILVA, R. M. P. da. (eds). *Self-Assembling Biomaterials, Molecular Design, Characterization and Application in Biology and Medicine*, Woodhead Publishing, p. 341-370, 2018.
- SINGH, M.; KAUR, N.; COMINI, E. The Role of Self-Assembled Monolayers in Electronic Devices. *Journal of Materials Chemistry C*, v. 8, p. 3938-3955, 2020.
- SMITH, R. K.; LEWIS, P. A.; WEISS, P. S. Patterning Self-Assembled Monolayers. *Progress in Surface Science*, v. 75, p. 1-68, 2004.
- VENDRA, V.; KRISHNAN, S. Polymer Thin Films for Biomedical Applications. In: KUMAR, Challa S. S. R. (ed.). *Nanostructured Thin Films and Surfaces*. Louisiana: Wiley, 2011. p. 1-55.
- VITORINO, A. R. A. M. *Estudo de técnicas de deposição de filmes finos poliméricos à base de silanos*. 74 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) — Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2011.
- YANG, Y. *et al.* Advances in Self-Assembled Chitosan Nanomaterials for Drug Delivery. *Biotechnology Advances*, v. 32, p. 1301-1316, 2014.
- YI, H. *et al.* Biofabrication with Chitosan. *Biomacromolecules*, v. 6, n. 6, p. 2881-2894, 2005.
- ZHANG, J. X. J.; HOSHINO, K. Fundamentals of Nano/Microfabrication and Scale Effect. In: ZHANG, J. X. J.; HOSHINO, K. (eds). *Molecular Sensors and Nanodevices*, Academic Press, 2019. p. 43-111.

Biossensores baseados em polímeros nanoestruturados

Stanley Bilatto^{1*}

INTRODUÇÃO

Casos de intoxicação de origem alimentar causados por micro-organismos são comuns no Brasil e no mundo. Contudo, em muitos dos surtos não se consegue identificar qual é o micro-organismo causador da contaminação. Além disto, as análises tradicionais usualmente empregadas para identificação do micro-organismo são muitas vezes caras e demoradas. Diagnósticos rápidos podem prevenir os surtos epidêmicos, bem como permitir intervenções rápidas e a tomada de decisões correspondentes. Deste modo, o desenvolvimento de métodos para uma rápida detecção de micro-organismos, similar a um sistema de triagem, focado em indicar se há ou não a contaminação por patogênicos antes da realização de testes específicos, é de grande interesse (Bilatto, 2016).

Biossensores são dispositivos analíticos que utilizam um bioreceptor seletivo com afinidade para uma amostra ou um analito de interesse. O bioreceptor (geralmente uma espécie bioquímica como anticorpos, células, DNA, oligonucleotídeos, enzimas etc.) (Newman; Turner, 2005; Turner, 2013) é acoplado a um transdutor que utiliza um típico mecanismo bioquímico de reconhecimento e converte o resultado de interação em um sinal mensurável. Para a escolha do bioreceptor, deve-se conhecer as características do elemento biológico a ser detectado e as possíveis interações que possam ser mensuradas. Com a definição do bioreceptor, pode-se definir qual transdutor a ser utilizado.

É possível aplicar diferentes técnicas de detecção de acordo com o transdutor utilizado, incluindo as eletroquímicas (Saxena; Das, 2016); impedância elétrica (Soares et al., 2015); gravimétrica (Afonso et al., 2013)

* Autor correspondente.

1 Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, São Carlos-SP. E-mail: stanleyebr@gmail.com.

e óptica (Wang; Wolfbeis, 2015). No caso da detecção elétrica/eletroquímica, o sinal mensurável pode ser caracterizado pela transferência de cargas entre um reagente e a superfície; pela diferença de potencial relativa ao aumento da concentração de íons na reação e quanto às mudanças na condutância e capacitância (Fernandes 2012; Stradiotto; Yamanaka; Zannoni, 2003; Wang, 1999), o que pode ser alcançado com o auxílio de polímeros condutores.

A combinação da especificidade de uma reação enzimática com a precisão de medidas eletroquímicas faz com que o uso de enzimas associadas a um eletrodo se apresente como uma das mais simples e eficientes classes de biossensores. Os produtos e subprodutos de reações enzimáticas podem apresentar características eletroativas, podendo ser detectadas por métodos elétricos e/ou eletroquímicos (Bilatto, 2016). A enzima deve ser imobilizada sobre um transdutor condutor e o sinal elétrico obtido é correlacionado com a espécie ou concentração do substrato a ser detectado (Correa *et al.* 2014).

Neste capítulo abordaremos a preparação e caracterização de arquiteturas enzimáticas-poliméricas nanoestruturadas utilizadas em biossensores na detecção de patógenos, utilizando microeletrodos interdigitados, enzimas, polímeros condutores e a técnica de espectroscopia de impedância. Um exemplo da variedade de aplicações deste tipo de arquitetura será apresentado em um estudo de caso para detecção de câncer.

MICROELETRODOS INTERDIGITADOS

Microeletrodos apresentam como característica uma maior velocidade na taxa de renovação de reagentes em sua superfície. A difusão de uma pequena quantidade de substâncias do seio da solução até a interface eletrodo/solução já é suficiente para ocasionar uma completa renovação desta, quando comparada à macroeletrodos convencionais, além de necessitar de menores concentrações de íons eletroativos na formação da dupla camada (Varshney; Li, 2009). Os microeletrodos são capazes de monitorar pequenas mudanças nas propriedades elétricas dessa região (Yang; Li; Erf, 2004). Microeletrodos interdigitados (MEI's) são interessantes transdutores para utilização em biossensores, devido à possibilidade de miniaturização de dispo-

sitivos e integração com micro- e nanofluídica (Bilatto *et al.*, 2017), além do grande número de pares de dígitos que podem contribuir múltiplas vezes para o aumento do sinal de detecção (Van Gerwen *et al.*, 1998).

A relação sinal-ruído melhora significativamente, melhorando os limites de detecção para concentrações de analito mais baixas. Quanto menor a distância entre os dígitos, maior poderá ser a relação de sinal obtido (Ronkainen; Halsall; Heineman, 2010). Se analisados com a técnica de espectroscopia de impedância, os MEI's geralmente respondem à presença de bactérias na camada ativa (Varshney; Li, 2007); apresentam baixa queda ôhmica (Yang; Guiseppi-Elie, 2008); atingem rapidamente o estado estacionário e possuem uma rápida cinética de reação.

PREPARAÇÃO

Os MEI's podem ser modificados superficialmente utilizando filmes poliméricos nanoestruturados, com ou sem espécies imobilizadas, gerando elementos sensoriais capazes de converter respostas de reações químicas/bioquímicas em sinais mensuráveis. Ainda, o uso de filmes poliméricos nanoestruturados pode aumentar drasticamente a sensibilidade (Correa *et al.*, 2014). Entre as técnicas empregadas com sucesso na produção de filmes com elevada organização em nível molecular, combinado a elevada sensibilidade e controle morfológico, estão as técnicas de Langmuir-Blodgett (LB) e automontagem por adsorção física (LbL, do inglês *Layer-by-Layer*) (Decher; Hong; Schmitt, 1992). Em conjunto com estas técnicas, podem ser utilizados polímeros condutores, e pequenas alterações em sua superfície ou na solução em análise podem gerar grandes mudanças em sua eletroatividade.

Estes polímeros possuem a habilidade de transferir eficientemente a carga elétrica gerada por reações bioquímicas para o circuito eletrônico, que pode ser observada por técnicas elétricas/eletroquímicas (March; Nguyen; Piro, 2015). Outra vantagem consiste na simplicidade em se funcionalizar a superfície polimérica com biomoléculas, servindo o polímero como matriz suporte e minimizando a desnaturação das biomoléculas (Correa *et al.*, 2014; Lvov *et al.*, 1995; Lvov; Decher; Sukhorukov, 1993).

Enzimas podem ser imobilizadas utilizando a técnica de LbL, alterando camadas poliméricas e enzimáticas. Antes da imobilização das enzimas, deposita-se duas camadas poliméricas para favorecer o crescimento dos filmes enzimáticos (Constantine *et al.*, 2003), as chamadas “camadas-colchão”.

Segundo estudos (Jin *et al.*, 1995), a dependência da resposta do eletrodo com o número de camadas enzimáticas é alcançada com a deposição de até 6-7 camadas, onde ocorre a transição da dependência cinética para a difusional, obtendo uma resposta elétrica constante.

As soluções enzimáticas devem ser preparadas utilizando solução tampão no pH de ótima atividade enzimática e posteriormente sua característica catiônica ou aniônica deve ser analisada para a definição das camadas de LbL.

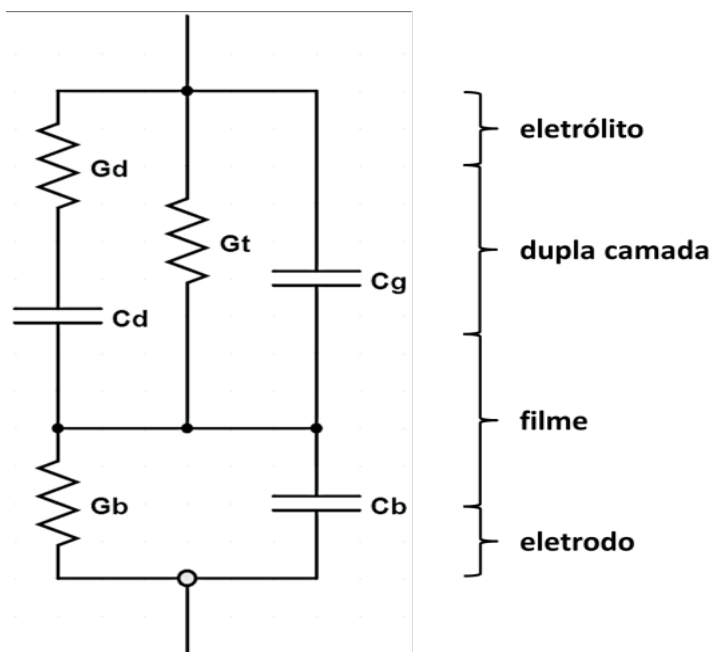
CARACTERIZAÇÃO

Medidas elétricas (espectroscopia de impedância)

Medidas de espectroscopia de impedância provêm informações que podem ser correlacionadas com a atividade bacteriana através da composição e variação do meio. As bactérias produzem metabólitos em contato com o meio, mudando a sua composição e, conseqüentemente, mudando as respostas na impedância elétrica (Strassburger; Hossbach; Seidel, 1991; Sheppard; Tucker; Wu, 1993; Ivnitski *et al.*, 1999).

O uso da técnica de espectroscopia de impedância utilizando eletrodos modificados com filmes superficiais foi discutido por Taylor e Macdonald (1987), propondo o uso de circuitos equivalentes para a análise e caracterização do sistema, podendo ser identificadas mudanças na dupla camada elétrica, na solução eletrolítica e no filme depositado, conforme apresentado esquematicamente na Figura 1.

FIGURA 1 — CIRCUITO EQUIVALENTE PARA ELETRODO METÁLICO RECOBERTO COM FILME CONDUTOR (CONFORME DESCRITO EM RIUL JR ET AL. 2003 E TAYLOR ET AL. 1987)

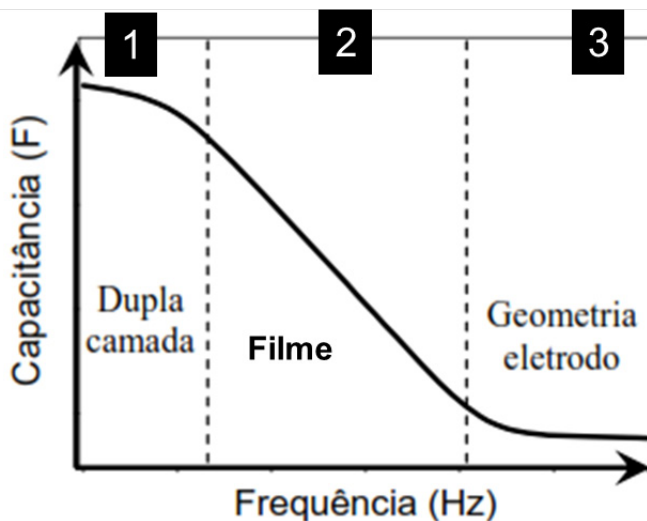


Fonte: O autor (2021).

Neste circuito equivalente, a presença do filme que recobre o eletrodo é representada pela combinação paralela do capacitor C_b com o resistor G_b . Estes componentes estão em série com a impedância do eletrólito que contém três outros componentes: a capacitância geométrica do espaço inter-eletrodo preenchido com o eletrólito (C_g); a capacitância da dupla camada (C_d), que é carregada a partir da resistência da solução (G_d); e a resistência total do eletrólito representada por ($G_d + G_t$). G_t permite a transferência de carga através da interface filme/eletrólito (Taylor; Macdonald, 1987; Riul Jr et al., 2003).

A dependência da capacitância total (C) com a frequência, referente ao circuito equivalente (FIGURA 1), está apresentada na Figura 2.

FIGURA 2 — REPRESENTAÇÃO DA DEPENDÊNCIA DA CAPACITÂNCIA VS. FREQUÊNCIA PARA O CIRCUITO EQUIVALENTE APRESENTADO NA FIGURA 1



Regiões de (1) baixas frequências — correlacionado com as modificações na dupla camada;
(2) médias frequências — correlacionado com as modificações no filme;
(3) altas frequências — correlacionado com as características geométricas do eletrodo e da solução.
Fonte: O autor (2021).

A região de baixa frequência (1) sofre efeito majoritário de modificações referentes à dupla camada, enquanto a região de médias frequências (2), entre 10^2 - 10^4 Hz apresentam efeitos dos filmes sobre os eletrodos. Em frequências acima de 10^5 Hz (3), a impedância do sistema está relacionada com os resultados da capacitância geométrica e da solução (Taylor; Macdonald, 1987; Riul Jr et al., 2003; Riul Jr et al., 2002).

A detecção de bactérias patogênicas em amostras alimentícias pode ocorrer por meio do monitoramento da condutividade ou da impedância das amostras. Esta detecção é possível porque o metabolismo bacteriano modifica a concentração do eletrólito do meio em que está suspenso, alterando significativamente as características elétricas (Ivnitski et al., 1999). Medidas em uma frequência ou em múltiplas frequências tornam o uso desta técnica muito sensível na detecção de fenômenos ocorridos na interface eletrodo/solução (Gomez; Bashir; Sarikaya, 2001).

Com o intuito de simplificar as medidas de impedância, sem a necessidade da utilização de eletrodos de referência (o que facilita na miniaturização do sistema) e sem a presença de pares redox, vem sendo muito utilizadas as análises de Impedância Elétrica, onde pode-se avaliar variações na resistência e na capacitância em uma larga faixa de frequência, abrangendo todas as regiões e interfaces onde podem ocorrer as interações/detecções entre eletrodo/analito (Ivnitski et al., 1999).

Caracterização superficial

O crescimento dos filmes automontados pode ser acompanhado utilizando a técnica de espectroscopia UV-Vis e a caracterização morfológica pela técnica de microscopia de força atômica (AFM).

A técnica de dicroísmo circular auxilia na verificação de que as enzimas continuam em sua forma ativa após a imobilização nos filmes automontados, verificando a presença das estruturas secundárias α -hélice e folhas- β , ou desnaturadas, com a ausência destas bandas características.

A espectroscopia de adsorção e reflexão no infravermelho com polarização modulada (PM-IRRAS) pode ser utilizada para caracterizar a interação entre as moléculas bio-ativas e os filmes finos.

ESTUDO DE CASO

Soares et al. (2019) desenvolveram um biossensor de câncer de próstata via detecção por espectroscopia de impedância do biomarcador PCA3, o que pode reduzir a repetida realização de biopsias durante o diagnóstico. Neste caso, a técnica de LbL foi utilizada para imobilizar o DNA complementar (ssDNA) do PCA3 em micro-eletrodos interdigitados, com o auxílio do polímero natural quitosana e nanotubos de carbono, os quais mantêm a atividade das biomoléculas, além de aumentar o sinal elétrico no caso dos nanotubos. A adsorção de cada camada foi monitorada com o auxílio das técnicas de PM-IRRAS e AFM. Como resultado, foi obtida uma alta seletividade e sensibilidade ao PCA3, com detecção de 0,128 nmol/L, confirmada pelas medidas de impedância e PM-IRRAS. Este estudo demonstra a versatilidade e a importância da aplicação de arquiteturas poliméricas no desenvolvimento de biossensores.

CONCLUSÃO

O desenvolvimento de métodos de rápida detecção é crucial para a saúde da sociedade. Os filmes poliméricos nanoestruturados em sensores e biossensores com o auxílio da técnica de impedância elétrica são ferramentas imprescindíveis para uma gama de aplicações, como na avaliação de insumos, na detecção de contaminantes e no diagnóstico de doenças. Estes podem apresentar maior sensibilidade que os de sistemas comerciais, além de possuírem grande possibilidade de miniaturização. O uso de polímeros condutores na superfície dos eletrodos pode prover resultados desde a detecção global até específicos, demonstrados pelo sinergismo alcançado com a funcionalização de diferentes tipos de biomoléculas.

AGRADECIMENTOS

Processos FAPESP: 2018/10899-4.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, S. et al. QCM Immunoassay for Recombinant Cysteine Peptidase: A Potential Protein Biomarker for Diagnosis of Citrus Canker. *Talanta*, v. 104, n. 193-197, 2013.
- BILATTO, S. E. R. *Desenvolvimento de plataformas nanométricas híbridas baseadas em polímero/enzima visando aplicações em biossensores*. 87 p. Tese (Doutorado em Ciências) — Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2016.
- BILATTO, S. E. R. et al. Printed Microfluidic Filter for Heparinized Blood. *Biomicrofluidics*, v. 11, p. 034101, 2017.
- CONSTANTINE, C. A. et al. Layer-by-Layer Self-Assembled Chitosan/Poly(thiophene-3-acetic Acid) and Organophosphorus Hydrolase Multilayers. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 125, p. 1805, 2003.
- CORREA, D. S. et al. Nanostructured Conjugated Polymers in Chemical Sensors: Synthesis, Properties and Applications. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, v. 14, p. 6509, 2014.
- DECHER, G.; HONG, J. D.; SCHMITT, J. Buildup of Ultrathin Multilayer Films by a Self-Assembly Process: III. Consecutively Alternating Adsorption of Anionic and Cationic Polyelectrolytes on Charged Surfaces. *Thin Solid Films*, v. 210, p. 831, 1992.
- FERNANDES, E. G. R. *Imobilização de enzimas em plataformas (sub) microestruturadas para aplicação em biossensores*. 155 p. Tese (Doutorado em Ciências e Engenharia de Materiais) — Programa de Ciências e Engenharia de Materiais, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.
- GOMEZ, R.; BASHIR, R.; SARIKAYA, A. Microfluidic Biochip for Impedance Spectroscopy of Biological Species. *Biomed. Microdevices*, v. 3, p. 201, 2001.
- IVNITSKI, D. et al. Biosensors for Detection of Pathogenic Bacteria. *Biosens. Bioelectron.*, v. 14, p. 599, 1999.
- JIN, W. et al. Construction and Characterization of a Multi-Layer Enzyme Electrode: Covalent Binding of Quinoprotein Glucose Dehydrogenase onto Gold Electrodes. *Biosens. Bioelectron.*, v. 10, p. 823, 1995.
- LVOV, Y. et al. Assembly of Multicomponent Protein Films by Means of Electrostatic Layer-by-Layer Adsorption. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 117, p. 6117, 1995.

LVOV, Y.; DECHER, G.; SUKHORUKOV, G. Assembly of Thin Films by Means of Successive Deposition of Alternate Layers of DNA and Poly(allylamine). *Macromolecules*, v. 26, p. 5396, 1993.

MARCH, G.; NGUYEN, T.; PIRO, B. Modified Electrodes Used for Electrochemical Detection of Metal Ions in Environmental Analysis. *Biosensors*, v. 5, p. 241, 2015.

NEWMAN, J. D.; TURNER, A. P. F. Home Blood Glucose Biosensors: A Commercial Perspective. *Biosens. Bioelectron.*, v. 20, p. 2435-2453, 2005.

RIUL JR., A. et al. Artificial Taste Sensor: Efficient Combination of Sensors Made from Langmuir-Blodgett Films of Conducting Polymers and A Ruthenium Complex and Self-Assembled Films of An Azobenzene-Containing Polymer. *Langmuir*, v. 18, p. 239, 2002.

RIUL JR., A. et al. An Electronic Tongue Using Polypyrrole and Polyaniline. *Synthetic Met*, v. 132, n. 2, p. 109, 2003.

RONKAINEN, N. J.; HALSALL, H. B.; HEINEMAN, W. R. Electrochemical Biosensors. *Chem Society Reviews*, v. 39, p. 1747, 2010.

SAXENA, U.; DAS, A. B. Nanomaterials Towards Fabrication of Cholesterol Biosensors: Key Roles and Design Approches. *Biosens. Bioelectron.*, v. 75, p. 196-205, 2016.

SHEPPARD, N. F.; TUCKER, R. C.; WU, C. Electrical Conductivity Measurements Using Microfabricated Interdigitated Electrodes. *Anal Chem*, v. 65, p. 1199, 1993.

SOARES, A. C. et al. Controlled Film Architectures to Detect A Biomarker for Pancreatic Cancer Using Impedance Spectroscopy. *ACS Appl Mater Inter*, v. 7, n. 46, p. 25930-25937, 2015.

SOARES, J. C. et al. Detection of the Prostate Cancer Biomarker PCA3 with Electrochemical and Impedance-Based Biosensors. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, v. 11, p. 46645-46650, 2019.

STRADIOTTO, N. R.; YAMANAKA, H.; ZANONI, M. V. B. Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 14, n. 2, p. 159-173, 2003.

STRASSBURGER, J.; HOSSBACH, J.; SEIDEL, R. Application of Impediometry To Rapid Assessment of Liquid Culture Media. *Zentralblatt für Bakteriolog.*, v. 274, p. 481, 1991.

TAYLOR, D. M.; MACDONALD, A. G. AC Admittance of The Metal/Insulator/Electrolyte Interface. *J. Phys. D.*, v. 20, p. 1277, 1987.

TURNER, A. P. F. Biosensors: Sense and Sensibility. *Chem. Soc. Rev.*, n. 42, v. 8, p. 3184-3196, 2013.

VAN GERWEN, P. et al. Nanoscaled Interdigitated Electrode Arrays for Biochemical Sensors. *Proceedings of International Solid State Sensors and Actuators Conference (Transducers '97)*, v. 2, p. 907, 1998.

VARSHNEY, M.; LI, Y. Interdigitated Array Microelectrode Based Impedance Biosensor Coupled with Magnetic Nanoparticle-Antibody Conjugates for Detection of Escherichia coli O157:H7 in Food Samples. *Biosens. Bioelectron.*, v. 22, p. 2408, 2007.

VARSHNEY, M.; LI, Y. Interdigitated Array Microelectrodes Based Impedance Biosensors for Detection of Bacterial Cells. *Biosens. Bioelectron.*, v. 24, p. 2951, 2009.

WANG, J. Amperometric Biosensors for Clinical and Therapeutic Drug Monitoring: A Review. *J Pharmaceut Biomed*, v. 19, n. 1, p. 47-53, 1999.

WANG, X. D.; WOLFBEIS, O. S. Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors. *Anal Chemistry*, v. 88, n. 1, 2015.

YANG, L.; GUISEPPI-ELIE, A. Impedimetric biosensors for nano- and microfluidics. In: LI, D. (eds.). *Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics*. Berlin: Springer, 2008. p. 811-823.

YANG, L.; LI, Y.; ERF, G. F. Interdigitated Array Microelectrode-Based Electrochemical Impedance Immunosensor for Detection of Escherichia coli O157:H7. *Anal Chemistry*, v. 76, p. 1107, 2004.

Síntese e caracterização de nanopartículas poliméricas

Thaís Dolzany de Oliveira^{1*}

INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é a ciência que estuda os materiais na escala nanométrica (10^{-9} m = 1 nm). Dentre os nanomateriais mais utilizados, destacam-se as nanopartículas (NPs) que, devido ao seu tamanho, apresentam propriedades físicas e químicas distintas das moléculas e de matéria de maior escala de mesma composição, principalmente por apresentarem maior razão área superficial/volume e alta energia superficial e, portanto, alta reatividade (Ferrari et al., 2005; Ferreira; Cemlyn-Jones; Robalo Cordeiro, 2013).

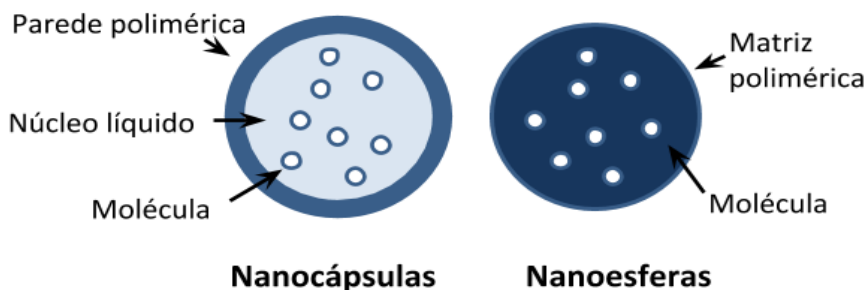
As nanopartículas poliméricas (NPPs) podem ser classificadas como nanoesferas e nanocápsulas, conforme sua organização estrutural. As nanoesferas são partículas formadas por uma matriz sólida e, em geral, como o próprio nome diz, apresentam-se de forma esférica. Já as nanocápsulas são vesículas poliméricas que contém um núcleo líquido que pode ser de óleo ou água. Uma representação esquemática é apresentada na Figura 1.

* Autora correspondente

1 Faculdade de Matemática e Ciências Naturais. Escola de Pós-graduação de Ciências Biológicas, Universidade de Colônia.

Departamento de Medicina Interna I, Hospital Clínico Universitário, Colônia — Alemanha. E-mail: thaisdolzany@gmail.com

FIGURA 1 — ILUSTRAÇÃO DE NANOCÁPSULAS E NANOESFERAS. A MOLÉCULA OU FÁRMACO PODE SER RETIDO NO MEIO LÍQUIDO OU ADSORVIDO NA PAREDE POLIMÉRICA DAS NANOCÁPSULAS. ENQUANTO QUE NAS NANOESFERAS PODE ESTAR RETIDO NA MATRIZ POLIMÉRICA OU ADERIDO À SUPERFÍCIE DA NANOESFERA



Fonte: A autora (2020).

As NPPs têm um grande destaque para síntese de materiais biomédicos, por exemplo, como carreador de medicamentos. A incorporação de um fármaco ou molécula às NPPs pode se dar durante ou após a síntese, de acordo com o resultado desejado. Geralmente, um composto hidrofílico deve ser adicionado à fase aquosa e, no caso de um composto hidrofóbico, adicionado à fase oleosa. As NPPs permitem uma liberação de forma controlada, conforme a degradação do polímero (Kanwar et al., 2012).

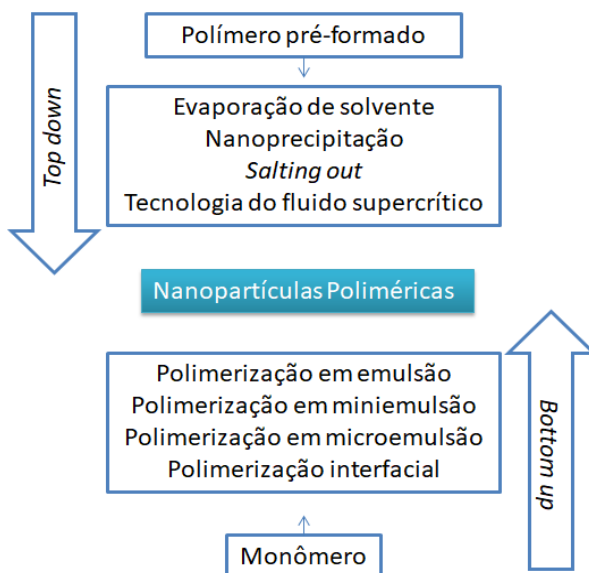
SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

A escolha do método adequado para a síntese desempenha um papel muito importante e compreende vários fatores, tais como o polímero que será utilizado, a área de aplicação e o tamanho desejado das NPPs.

As NPPs, assim como os demais nanomateriais, podem ser preparados de duas principais formas. *Top down* (de cima para baixo), no qual as NPPs são obtidas a partir de um polímero pré-formado. Métodos como evaporação de solvente, *salting-out* e tecnologia de fluido supercrítico podem ser utilizados para a preparação de NPs a partir de polímeros pré-formados. A segunda forma é chamada de *bottom up* (de baixo para cima) e, ao contrário da anterior, a síntese é realizada a partir de átomos ou moléculas individuais

que são depositados em uma superfície regular para que se autoagrupem. A polimerização de monômeros pode ser obtida por várias técnicas como polimerização em emulsão, miniemulsão, microemulsão e polimerização interfacial (Mishra et al., 2014). Diferentes técnicas de preparação de NPs estão representadas na Figura 2.

FIGURA 2 — PRINCIPAIS TÉCNICAS DE SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS



Fonte: A autora (2020).

Dispersão de polímeros pré-formados (top down)

Evaporação de solvente

A evaporação de solvente foi o primeiro método desenvolvido para a síntese de NPPs a partir de um polímero pré-formado (Vanderhoff; El Aasser; Ugelstad, 1979). Nesse método, as soluções de polímero são preparadas em emulsões, que consistem em uma fase orgânica: solventes orgânicos como diclorometano ou dimetilformamida e uma fase aquosa que consiste em água e um agente surfactante como, por exemplo, o poli (álcool vinílico), polissorbato-80, e poloxamer-188. Após a formação de uma emulsão estável, o sol-

vente orgânico é evaporado sob pressão reduzida ou por agitação contínua. Após a completa evaporação do solvente, as NPPs podem ser coletadas por meio de ultracentrifugação (Birnbaum et al., 2000).

Nanoprecipitação

O método de nanoprecipitação, também chamado de método de deslocamento de solvente, baseia-se na deposição interfacial de um polímero após o deslocamento de um solvente orgânico polar com a utilização de um tensoativo para prevenir a coalescência das gotículas a partir de uma solução lipofílica. Para isso, a fase orgânica é dispersa lentamente na fase aquosa, sob agitação magnética moderada, resultando na diminuição de tensão interfacial entre as duas fases, que aumenta a área de superfície e leva à formação de gotículas pequenas de solvente orgânico. Através da rápida difusão do solvente, as NPs são rapidamente formadas. Segue-se então a remoção do solvente sob pressão reduzida e, então, precipitação das NPPs por ultracentrifugação (Wang et al., 2016; Mukherjee et al., 2019).

Salting-Out

O método de *salting-out* surgiu com Bindschaedler, Gurny e Doelker (1988) como uma versão modificada do processo de emulsão, evitando o uso de solventes clorados e surfactantes ao utilizar sais com o intuito de diminuir a toxicidade. O polímero é dissolvido em solução orgânica polar (fase oleosa). Solventes comumente utilizados são tetraidrofurano e acetona. A fase aquosa consiste no surfactante e solução saturada de eletrólito. Os eletrólitos não devem ser solúveis no solvente orgânico. Um dos sais mais utilizados é o cloreto de magnésio hexa-hidratado. A fase oleosa é emulsificada em fase aquosa, sob forte força de cisalhamento por agitador mecânico suspenso. Para diminuir a força iônica no eletrólito, a água destilada é adicionada à emulsão óleo/água formada sob agitação magnética. Ao mesmo tempo, os solventes orgânicos hidrofílicos migram da fase oleosa para a fase aquosa, o que resulta na formação das NPs. Por fim, os sais são removidos e as NPs purificadas por ultracentrifugação.

Tecnologia de fluido supercrítico

Com a crescente preocupação a respeito da toxicidade dos solventes orgânicos, surgiu uma necessidade de novos métodos mais seguros, tanto para as pessoas quanto para o meio ambiente, na produção de NPs. A tecnologia de fluido supercrítico é um dos métodos desenvolvidos para esse propósito, sendo dividida em duas principais técnicas: expansão rápida da solução supercrítica e rápida expansão da solução supercrítica em solvente líquido, que estão descritas a seguir (Rao; Geckeler, 2011).

Na tradicional expansão rápida da solução supercrítica, uma solução é preparada dissolvendo o soluto em um fluido supercrítico, seguido pela rápida expansão da solução através de um orifício ou um bocal capilar em ar a temperatura ambiente. A supersaturação acompanhada pela rápida diminuição da pressão na expansão resulta em nucleação homogênea e, com isso, a formação de partículas bem dispersas (Rao; Geckeler, 2011).

A segunda técnica, expansão rápida da solução supercrítica em solvente líquido apresenta uma pequena e importante modificação, que consiste em expandir a solução supercrítica em um solvente líquido ao invés de ar, ou seja, a solução expansível passa pelo bocal em uma câmara contendo água em temperatura ambiente. Como o polímero é insolúvel em água, ele precipita e então as nanopartículas são formadas (Rao; Geckeler, 2011).

Polimerização de monômeros (bottom up)

A polimerização pode ser classificada em dois grupos: etapas e cadeias. As polimerizações em etapas se caracterizam por uma série de reações entre grupos funcionais reativos presentes nos monômeros. Já nas polimerizações em cadeia utiliza-se um iniciador para formar um centro ativo que então inicia e difunde de forma rápida a polimerização, usualmente por aquecimento, formando cadeias longas (Flory, 1953).

Polimerização em emulsão

A polimerização em emulsão é um método em que os monômeros são dispersos em uma fase contínua, geralmente água com a presença de um surfactante e a polimerização ocorre pela presença de radicais livres prove-

nientes da decomposição de um iniciador solúvel ou parcialmente solúvel na fase contínua. O uso de água como meio de dispersão permite a dissipação de calor durante o processo de polimerização. As NPPs obtidas por este método têm geralmente 100 nm de diâmetro (Canevarolo JR., 2006).

Polimerização em miniemulsão

A polimerização em miniemulsão consiste na distribuição de pequenas gotículas em uma fase contínua utilizando cisalhamento elevado, através de técnicas de ultrassom ou homogeneizadores de alta pressão. A vantagem da miniemulsão em relação à anterior é que essa utiliza um coestabilizador de baixa solubilidade na fase contínua, gerando uma barreira de difusão do monômero para o meio aquoso, dificultando o transporte das gotas pequenas para as grandes e, com isso, gerando maior estabilidade na suspensão final (Landfester, 2009; Jenjob et al., 2019).

Polimerização em microemulsão

A polimerização em microemulsão apresenta algumas vantagens em relação ao método de emulsão, tais como o tamanho e a morfologia da partícula obtida, o número médio de cadeias poliméricas, que são consideravelmente menores, além de obter um resultado mais homogêneo (Ganguli et al., 2008). Nesse método, um iniciador tipicamente solúvel em água é adicionado à fase aquosa de uma microemulsão termodinamicamente estável, contendo micelas inchadas, então a polimerização começa espontaneamente e é influenciada pelas quantidades de sistemas surfactantes, que possuem uma tensão na interface óleo/água perto de zero. Os tipos de iniciador e concentração, surfactante, monômero e temperatura da reação são alguns dos fatores críticos que afetam a cinética de polimerização em microemulsão e as propriedades das NPPs (Eastoe; Warne, 1996; Jenjob et al., 2019).

Polimerização interfacial

A polimerização interfacial é baseada na dissolução de dois monômeros “complementares” em um solvente no qual o polímero é insolúvel. Com a adição das duas fases ocorre a polimerização de um filme na interface das

soluções, que deve ser removido para abrir espaço para os demais monômeros polimerizarem (Landfester *et al.*, 2010; Rao; Geckeler, 2011).

FUNCIONALIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS

Uma das características mais importantes dos nanomateriais, que permite sua extensa faixa de aplicações, é a sua capacidade de executar funções específicas. O termo funcionalização, comum em nanotecnologia, refere-se à execução de algumas funções químicas ou biológicas por meio da projeção e manipulação desses materiais, de forma controlada e pré-determinada (Toma, 2004).

Para modificar a superfície da nanopartícula de modo que altere seu comportamento, por exemplo, é possível adicionar um peptídeo para aumentar a capacidade da NP de atravessar a barreira hemato-encefálica ou prolongar o tempo de circulação sanguínea, entre outras possibilidades. A funcionalização pode ser considerada essencial para sua utilização na área biomédica (Pichot, 2004). A inserção dos grupos funcionais nos polímeros pode ocorrer durante a polimerização, com o uso de monômeros específicos, ou por meio de posterior modificação química no polímero (Tian *et al.*, 2012).

A conjugação por meio de ligação covalente é interessante, pois fornece uma rota para a formação de uma camada biofuncional, sendo a biomolécula ligada de maneira irreversível e estável. Geralmente, os protocolos de conjugação consideram a disposição dos grupos funcionais na biomolécula e na nanopartícula funcionalizada. Os procedimentos mais comuns para imobilizar moléculas são em suportes que contêm grupos carboxilas. Por exemplo, o grupo amina da biomolécula forma uma ligação peptídica com o grupo carboxílico da nanopartícula, constituindo a etapa de ativação (Mahon *et al.*, 2012).

Enquanto a técnica de adsorção não específica envolve o acoplamento do elemento biológico por meio de ligações fracas, tais como força de van der Waals, forças eletrostáticas, ligações de hidrogênio ou interações hidrofóbicas, a imobilização é alcançada simplesmente pelo contato das partículas com o material biológico pelo tempo suficiente para que o equilíbrio da adsorção seja atingido (Welsch *et al.*, 2013).

CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a microscopia eletrônica de transmissão (MET) têm sido amplamente empregadas para observar a morfologia e tamanho das NPs. A MEV utiliza um feixe de elétrons no lugar de fótons, como nos microscópios ópticos, para explorar a superfície da amostra, enquanto a MET pode permitir a diferenciação entre nanocápsulas e nanoesferas, possibilitando também a determinação da espessura da parede das nanocápsulas (Schaffazick et al., 2003).

No entanto, o método mais comumente utilizado é o espalhamento de luz dinâmico, devido a sua facilidade e rapidez, e se baseia na relação Stokes-Einstein. Resumidamente, a velocidade da difusão das NPs em uma suspensão líquida que ocorre com o movimento Browniano é dependente do tamanho, temperatura e viscosidade do líquido. As NPs de menor tamanho movimentam-se mais rápido do que as de maior tamanho. O equipamento captura o espalhamento de luz pelas partículas individuais e analisa por meio de um software, determinando assim a distribuição do diâmetro e a concentração de NPs presentes na suspensão (Schaffazick et al., 2003).

Além do tamanho das NPs, existem outras características que devem ser observadas, como o potencial zeta, a temperatura e o pH. O potencial zeta reflete o potencial de superfície das NPs e pode sofrer alterações com a dissociação de grupos funcionais na superfície ou da adsorção de espécies iônicas presentes na suspensão de NPs. Um alto valor em módulo, ou seja, independentemente de ser negativo ou positivo, indica uma melhor estabilidade da suspensão, pois grandes forças repulsivas tendem a evitar a agregação das NPs. Alguns componentes podem ser incorporados à síntese para aumentar a estabilidade da suspensão como o polietilenoglicol, peptídeos, proteínas, anticorpos, entre outras estratégias possíveis (Cancino et al., 2014).

A temperatura é outro fator importante que deve ser observado durante e após a síntese para a preservação do material. O polímero é sensível a maiores temperaturas, pois o calor pode iniciar o seu processo de degradação e erosão. Durante a síntese, o pH deve ser mantido dentro da faixa desejada para evitar alterações no resultado, como, por exemplo, tamanhos diferentes. Após a síntese, o monitoramento do pH pode fornecer informações

relevantes sobre a estabilidade de suspensões nanoparticuladas em função do tempo e, por exemplo, a alteração do pH pode ser indício de degradação do polímero (Owen *et al.*, 2012).

CONCLUSÕES

O conhecimento de várias técnicas de síntese de NPPs permite uma escolha mais adequada para cada projeto. Apesar do grande avanço nas técnicas de síntese nos últimos anos, ainda é necessário desenvolver um maior controle no tamanho das NPPs obtidas. Além disso, as preocupações com o meio ambiente também devem ser consideradas no desenvolvimento de novos materiais. Com esforços de equipes multidisciplinares será possível permitir novas aplicações e aprimorar as NPPs.

REFERÊNCIAS

- BINDSCHAEDLER, C.; GURNY, R.; DOELKER, E. Process for Preparing a Powder of Water-Insoluble Polymer which Can Be Redispersed in a Liquid Phase, the Resulting Powder and Utilization Thereof. *Patent WO*, v. 88, p. 08011, 1988.
- BIRNBAUM, D. T.; KOSMALA, J. D.; BRANNON-PEPPAS, L. Optimization of Preparation Techniques for Poly(Lactic Acid-Co-Glycolic Acid) Nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research: An Interdisciplinary Forum for Nano-scale Science and Technology*, v. 2, n. 2, p. 173-181, 2000.
- CANCINO, J.; MARANGONI, V. S.; ZUCOLOTTO, V. Nanotechnology in Medicine: Concepts and Concerns. *Química Nova*, v. 37, n. 3, p. 521-526, 2014.
- CANEVAROLO JR., S. V. *Ciência dos polímeros*. São Paulo: Artiber, 2002.
- EASTOE, J.; WARNE, B. Nanoparticle and Polymer Synthesis in Microemulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 1, n. 6, p. 800-805, 1996.
- FERRARI, M. Cancer Nanotechnology: Opportunities and Challenges. *Nat. Rev. Cancer*, v. 5, n. 3, p. 161-171, 2005.
- FLORY, P. J. *Principles of Polymer Chemistry*. Ithaca: Cornell University, 1953.
- GANGULI, Ashok K. et al. Microemulsion Route to the Synthesis of Nanoparticles. *Pure and Applied Chemistry*, v. 80, n. 11, p. 2451-2477, 2008.
- JENJOB, R.; PHAKKEEREE, T.; SEIDI, F.; THEERASILP, M.; CRESPIY, D. Emulsion Techniques for the Production of Pharmacological Nanoparticles. *Macromolecular Bioscience*, v. 19, 2019.
- KANWAR, J. R. et al. Nanoparticles in the Treatment and Diagnosis of Neurological Disorders: Untamed Dragon with Fire Power to Heal. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 8, p. 399-414, 2012.
- LANDFESTER, K. Miniemulsion Polymerization and the Structure of Polymer and Hybrid Nanoparticles. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 48, p. 4488-4507, 2009.
- LANDFESTER, K.; WEISS, C. K. Encapsulation by Miniemulsion Polymerization. In: CARUSO, Frank (ed.). *Modern Techniques for Nano- and Microreactors/-reactions*. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2010. p. 1-49.
- MAHON, E. et al. Designing the Nanoparticle-Biomolecule Interface for "Targeting and Therapeutic Delivery". *Journal of Controlled Release*, v. 161, p. 164-174, 2012.

MISHRA, V.; KESHARWANI, P.; JAIN, N. Functionalized Polymeric Nanoparticles for Delivery of Bioactives. *Drug Nano-carriers*, v. III, p. 91-123, 2014.

MUKHERJEE A. et al. Lipid-Polymer Hybrid Nanoparticles as a Next-Generation Drug Delivery Platform: State of the Art, Emerging Technologies, and Perspectives. *Int J Nanomedicine*, v. 19, n. 14, p. 1937-1952, 2019.

OWEN, S. C.; CHAN, D. P. Y.; SHOICHET, M. S. Polymeric Micelle Stability. *Nano today*, v. 7, n. 1, p. 53-65, 2012.

PICHOT, C. Surface-Functionalized Latexes for Biotechnological Applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 9, p. 213-221, 2004.

RAO, J. P.; GECKELER, K.E. Polymer Nanoparticles: Preparation Techniques and Size-Control Parameters. *Progress in polymer science*, v. 36, n. 7, p. 887-913, 2011.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química Nova*, v. 26, p. 726-737, 2003.

TIAN, H. et al. Biodegradable Synthetic Polymers: Preparation, Functionalization and Biomedical Application. *Progress in Polymer Science*, v. 37, p. 237-280, 2012.

TOMA, H. E. *O mundo nanométrico: a dimensão do novo século*. São Paulo: Oficina de Textos, 2004.

VANDERHOFF, J. W.; EL AASSER, M. S.; UGELSTAD, J. *Polymer Emulsification Process*. US Patent 4.177.177 (1979).

WANG, Y.; TAN, Y. Enhanced Drug Loading Capacity Of 10-Hydroxycampothecin-Loaded Nanoparticles Prepared by Two-Step Nanoprecipitation Method. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 36, p. 183-191, 2016.

WELSCH, N. et al. Adsorption of Proteins to Functional Polymeric Nanoparticles. *Polymer*, v. 54, p. 2835-2849, 2013.

Suspensões poliméricas para recobrimento de material particulado em leito móvel

Mariana Ferreira Ávila^{1}
Karina Luzia Andrade²
Raul Favaro Nascimento³*

INTRODUÇÃO

O recobrimento é um importante processo aplicado em diferentes setores industriais, como químico, alimentício, agrícola e farmacêutico. Consiste na modificação das propriedades químicas e físicas de diferentes materiais particulados com a finalidade de agregar características favoráveis ao produto final, tais como:

- Modificar, sustentar e/ou retardar o princípio ativo de um medicamento;
- Ativar ou produzir um catalisador;
- Colorir comprimidos e alimentos (fatores estéticos);
- Mascaram sabores e odores indesejáveis;
- Proteger sólidos contra agentes ambientais, em particular, umidade, luminosidade, calor excessivo e produtos tóxicos;
- Melhorar as propriedades de manuseio, entre outros.

A escolha do equipamento utilizado no processo de recobrimento está diretamente associada às propriedades físicas e químicas das partículas e às condições de processo, como: tamanho e densidade das partículas, escala de produção, demanda de energia, geometria do equipamento e custos operacionais. Dentre os diversos equipamentos utilizados para o recobrimento de partículas com suspensões poliméricas empregando material particulado, destacam-se os leitos fluidizados e leitos de jorro.

A utilização de leito móvel é justificada por suas características fluidodinâmicas, como o movimento cíclico e contínuo dos sólidos, responsável por garantir a homogeneidade do produto e o íntimo contato fluido-sólido, o que proporciona altas taxas de transferência de massa e de calor, permitindo que as partículas sejam recobertas e secas simultaneamente, obtendo produtos

de elevada qualidade, estabilidade e proteção (Zhang; Hoffmann; Tsotsas, 2020; Almeida; Rocha 2008).

Para que ocorra efetivamente o processo de recobrimento em leito móvel é importante que exista uma boa adesão partícula-suspensão, isto significa que o trabalho de adesão juntamente com as características do sólido e da suspensão são fatores determinantes neste processo (Foroughi-Dahr *et al.*, 2017). Portanto, materiais que apresentam maior energia superficial possuem maior receptividade da suspensão e maior capacidade de formação de camada sobre sua superfície (Xie *et al.* 2020; Rocha; Donida; Marques, 2009).

SUSPENSÃO DE RECOBRIMENTO E O MATERIAL PARTICULADO

O processo de recobrimento possui a finalidade de revestir totalmente a superfície através da aspersão de uma solução sobre as partículas em movimento em um leito, sendo geralmente uma suspensão polimérica o agente de recobrimento (Yusof *et al.*, 2019; Foroughi-Dahr *et al.*, 2017; Rocha; Taranto; Moris, 2009).

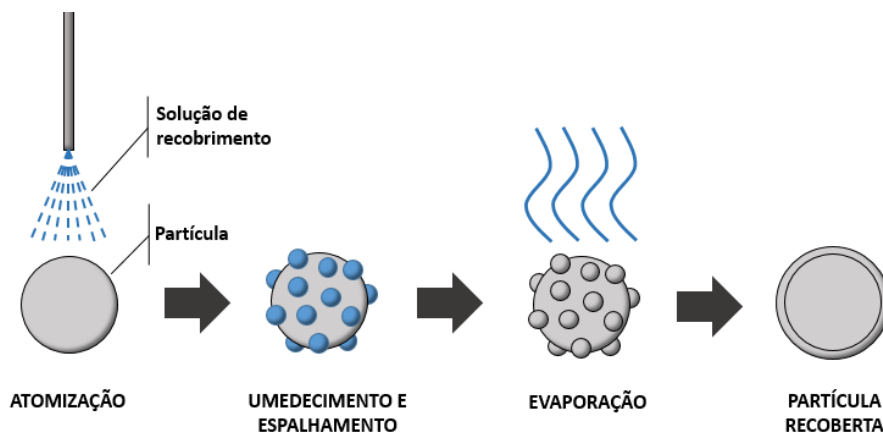
Segundo Freire e Oliveira (1992), os principais tipos de recobrimento dividem-se em três grupos: recobrimento com suspensões à base de açúcar, recobrimento por película e recobrimento por solidificação de material fundido.

Recobrimento com suspensões aquosas à base de açúcar: a aplicação do recobrimento em comprimidos com soluções de açúcar realiza-se em várias etapas, que fazem com que o processo completo, em equipamento convencional, dure de horas a dias para cada carga de comprimidos. O processo comum, utilizando esse tipo de solução, ocorre da seguinte forma: aplicação de uma cera sobre o comprimido (etapa de selamento); um pré-recobrimento com um xarope menos viscoso; o recobrimento propriamente dito com a solução e um polimento final. Devido a estas várias etapas, o produto final tem o tamanho bastante aumentado e o volume do comprimido chega a ser 50% superior ao original. Como consequência, o recobrimento protege eficientemente a droga das condições externas e mascara o sabor e/ou odor indesejável. É uma técnica também utilizada para o recobrimento de balas e confeitos (Epstein; Grace, 2011).

Recobrimento à base da solidificação de materiais fundidos: as principais diferenças referentes aos procedimentos utilizados neste tipo de recobrimento são: o material é atomizado sobre as partículas no estado fundido e, geralmente, não se utiliza solventes. O recobrimento é obtido por resfriamento do leito, provocando a solidificação do material de cobertura sobre as partículas. Um exemplo de aplicação desta técnica é o recobrimento de fertilizantes muito solúveis com enxofre para reduzir a taxa de liberação do nutriente.

Recobrimento por película: esta operação consiste na deposição por atomização de uma membrana fina e uniforme na superfície das partículas, conforme Figura 1.

FIGURA 1 — MECANISMO DE RECOBRIMENTO EM PELÍCULA



Fonte: Os autores (2020).

Os componentes principais de uma composição para o recobrimento por película são um polímero base, um plastificante, pigmentos corantes e um solvente, sendo os principais polímeros utilizados os derivados de celulose, como o acetato ftálico de celulose e o hidroxipropil metilcelulose, ou acrílicos como copolímeros de ácido metacrílico e do metacrilato de metila, ou, ainda, para finalidade adsorvente, biopolímeros naturais como quitosana e alginato de sódio. A maioria dos polímeros empregados são solúveis em água ou em solventes de base orgânica; caso o polímero não seja solúvel

em água, como exemplo do metilcelulose, alguns acrílicos e biopolímeros podem ser aplicados na forma de dispersões aquosas (Yusof et al., 2019; Ávila et al., 2020).

A incorporação de um plastificante na formulação tem a finalidade de dar flexibilidade à película final, de forma a suportar melhor os esforços (Xie et al., 2020). Já os solventes têm a função de facilitar a deposição dos materiais formadores de película à superfície do substrato. As principais vantagens desse processo são:

- Pequena variação de massa, tamanho e forma do produto final;
- Curto tempo de processamento;
- Maior eficiência e rendimento do processo;
- Flexibilidade das formulações;
- Maior resistência da cobertura.

De acordo com Kleinbach e Riede (1995), cada produto recoberto possui diferentes requisitos de qualidade. Porém, muitas aplicações, como a coloração de alimentos, produção de adsorventes e a geração de produtos com efeito retardado exigem um recobrimento uniforme e de mesma espessura em toda sua superfície. Sendo assim, classifica-se o processo de recobrimento nos tipos A, B ou C.

O recobrimento do tipo A é considerado o recobrimento ideal, em que sua superfície se apresenta intacta, com espessura uniforme e liberação da substância de interesse de forma gradual. Já recobrimentos do tipo B também se apresentam intactos, entretanto, podem ocorrer variações em sua espessura, tamanho do núcleo da partícula e/ou na própria camada de recobrimento. E, por último, os recobrimentos do tipo C podem apresentar avarias semelhantes as observadas no tipo B, porém com buracos e fissuras em sua estrutura, o que pode ocasionar em perdas ou inutilização de suas substâncias a depender de sua aplicação (Kleinbach; Riede, 1995).

O desempenho deste processo depende das características inerentes aos materiais de recobrimento e do sólido, consequentemente da fluidodinâmica e também da adesão recobrimento-partícula. Sendo assim, no processo de recobrimento, a gota é capturada pelo sólido e seca, formando o

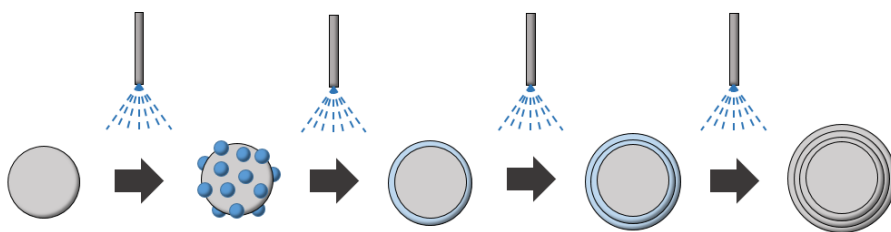
filme aderido, diferenciando-se do processo de secagem, em que a gota é capturada pelo sólido, seca e desprende-se, pois não existe força suficiente para mantê-la aderida. Diante disto, o mecanismo de crescimento das partículas em um leito é governado por dois princípios.

Aglomeramento: resulta da aderência de pequenas partículas pela formação de pontes líquidas e sólidas entre elas. Este mecanismo promove a formação de partículas maiores com pelo menos duas vezes seu tamanho inicial, chamadas de aglomerados.

Formação de camadas: corresponde à deposição de um ingrediente sobre toda a superfície da partícula.

Portanto, no processo de recobrimento estuda-se o mecanismo de formação de camadas, em que as gotas da suspensão são aderidas ao sólido e formam um filme sobre a partícula, com a formação da camada inicial. Consequentemente, com a deposição de suspensão sobre a camada formada, têm-se a formação de diversas camadas, conforme a Figura 2.

FIGURA 2 — MECANISMO DE CRESCIMENTO DAS PARTÍCULAS POR FORMAÇÃO DE CAMADAS



Fonte: Os autores (2020).

A adesão das gotas do material de revestimento na partícula envolve a característica da molhabilidade e espalhamento sobre o sólido. A molhabilidade de um sólido por um líquido pode ser quantificada pelo ângulo de contato entre as três fases presentes: sólido-líquido-gás.

CARACTERIZAÇÃO DOS MECANISMOS DE ADESÃO

Durante a operação de recobrimento estão presentes três fases, a fase sólida (partículas), líquida (suspensão de recobrimento) e a gasosa (o ar de movimentação), e devido à interação entre as fases, ocorrem diferentes fenômenos simultaneamente:

- Interação gás-sólido, ou seja, o contato do ar de movimentação com as partículas dentro do leito móvel;
- Aspersão do material de recobrimento na forma de gotas;
- Espalhamento das gotas sobre a superfície das partículas, seguida pela formação de uma camada líquida e a adesão da gota na partícula (transferência de massa) ou coalescência das gotas sobre a superfície das partículas antes da secagem (transferência de calor) das gotas para formação da camada de recobrimento;
- Formação de camadas ou superposição de diferentes camadas de gotas sobre a partícula; após ciclos de molhamento-secagem, um filme contínuo será formado, com uma espessura controlada e de composição estabelecida.

Diante disto, o desempenho do processo de recobrimento depende de um conjunto de características do sólido e do líquido de recobrimento e da adesão líquido-sólido (Xie et al., 2020). A adesão das gotas da suspensão polimérica envolve a característica da molhabilidade e espalhamento do recobrimento sobre o sólido.

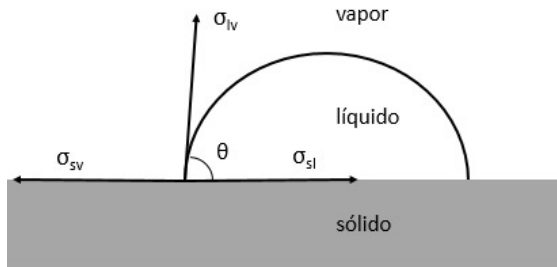
A energia de molhamento, ou seja, a molhabilidade de um sólido, depende do ângulo de contato entre as três fases presentes: sólido-líquido-gás. O ângulo de contato, θ , é definido como o ângulo subtendido pela tangente da fronteira gás-líquido a partir do ponto trifásico e a tangente à fronteira sólido-líquido a partir do mesmo ponto. É uma propriedade dependente das características químicas e físicas das superfícies da partícula (sólido) e da suspensão de recobrimento (líquido), como higroscopicidade, rugosidade e tensão superficial (Adamson, 1990).

A tensão superficial de um líquido pode ser definida como a força de tensão superficial por unidade de comprimento, ou seja, representa a força necessária para estender a superfície por unidade de distância (ou equivalente, energia requerida para criar uma unidade de área superficial para uma dada interface).

Um balanço de tensões interfaciais, como mostra a Figura 3, fornece o ângulo de contato, e é definido pela equação de Young (Equação 1):

$$\sigma_{lv} \cos \theta + \sigma_{ls} = \sigma_s \quad (1)$$

FIGURA 3 — ÂNGULO DE CONTATO DO SISTEMA SÓLIDO-LÍQUIDO-GÁS



Fonte: Os autores (2020).

Quando a base da superfície sólida é receptiva ao líquido, o ângulo de contato é inferior a 90° , indicando que o sólido é molhado pelo líquido. Para superfícies não receptivas, o ângulo de contato é superior a 90° , indicando que o líquido não molha bem o sólido. Nas condições limites, $\theta = 0^\circ$ e $\theta = 180^\circ$, a molhabilidade é completa e não há molhabilidade, respectivamente (Decker; Frank; Garoff, 1999; Kwok; Neumann, 1999).

O efeito da molhabilidade também pode ser quantificado a partir do trabalho de adesão, W_{ad} , Equação 2 (Neumann; Good, 1979):

$$W_{ad} = \sigma_{lv}(1 + \cos \theta) \quad (2)$$

Altos valores de trabalho de adesão indicam uma boa molhabilidade com possibilidade de alta adesão, enquanto que baixos valores de adesão indicam uma baixa molhabilidade (Neumann; Good, 1979; Adamson, 1990; Iveson et al., 2001). Quando $\theta = 0^\circ$, o trabalho de adesão entre o sólido e o líquido é igual ao trabalho de coesão do líquido W_{CL} , definido na Equação 3, que corresponde ao trabalho requerido para separar uma unidade de área de uma interface. Assim, o líquido pode se espalhar indefinidamente sobre a superfície, uma vez que, energeticamente, o sistema é indiferente ao fato

de o líquido estar em contato com si mesmo ou com o sólido. Em oposição, se $\theta = 180^\circ$, $\cos \theta = -1$ e $W_{ad} = 0$, não há consumo de energia de Gibbs para separar o sólido e o líquido.

$$W_{CL} = 2\sigma_{tl} \quad (3)$$

A determinação da molhabilidade é comumente realizada a partir do ângulo de contato do sistema sólido-líquido-gás e da tensão superficial do líquido. Dentre as metodologias existentes, o ângulo de contato em sólidos pode ser medido por análise de imagens da gota séssil ou pendente, ou para pós, através de penetração capilar de diferentes líquidos em um leito fixo de partículas (Adamson, 1990; Awaja et al., 2009).

Já para determinação da tensão superficial da suspensão polimérica, utiliza-se métodos como: tensiômetro de duNouy (anel), método de Wilhelmy (placa) e método da gota (Castellan, 1986; Adamson, 1990).

Um outro fator determinante para o êxito no processo de recobrimento é o conhecimento da reologia das suspensões de recobrimento, pois auxilia no estabelecimento de uma relação entre a taxa de alimentação do líquido e do ar no bico atomizador, além da importante contribuição no espalhamento da superfície do material particulado.

As medidas reológicas padrão são obtidas em equipamentos cuja geometria produz um escoamento viscosimétrico. A grande maioria das suspensões poliméricas utilizadas no processo de recobrimento de partículas apresenta comportamento dilatante ou pseudoplástico, e muitos apresentam um comportamento de tixotropia ou reopetia, o que pode facilitar ou dificultar o procedimento experimental (Rosa; Moraes Júnior, 2019).

DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA DO PROCESSO DE RECOBRIMENTO

Monitoramento em tempo real do processo

Com a crescente automação dos processos industriais, a aplicação de técnicas de monitoramento em tempo real para o acompanhamento do comportamento do leito de partículas é de extremo interesse para projetar, analisar e controlar o processo de recobrimento de partículas (ROSA et al. 2020). As medidas em tempo real, além de possibilitarem o monitoramento contínuo da cinética de crescimento do tamanho de partícula, também

permitem o melhor entendimento dos fenômenos que ocorrem durante o processo, possibilitando assim o controle de parâmetros críticos tais como o tamanho das partículas e teor de umidade e, conseqüentemente, a manutenção de condições estáveis de fluidização durante a operação de recobrimento de sólidos em leito fluidizado (Silva; Taranto, 2015).

Diversos métodos têm sido desenvolvidos para monitoramento *on-line* (medida em tempo real através de uma amostragem contínua ou quase contínua ou através de um *by-pass* no processo), *in-line* (medida e análise realizada diretamente dentro do equipamento) e *at-line* (medida de uma amostra próximo ao processo no ambiente de produção).

A Velocimetria de Filtro Espacial (VFE) (*Spatial Filter Velocimetry — SFV*) é uma técnica *in-line* de monitoramento do tamanho de partículas que tem sido bastante empregada nos últimos anos em processos de aglomeração e recobrimento em leito fluidizado (Langner *et al.*, 2020; Shibayama; Funatsu, 2021; Silva; Taranto, 2015). O monitoramento *in-line* do tamanho de partículas através desta técnica é comumente realizado por meio de sondas compactas que permitem medições em tempo real do tamanho e da velocidade de partículas sólidas. A técnica de VFE permite obter informações da velocidade e do tamanho das partículas quando essas passam por um feixe de laser e a sombra das partículas é registrada por um conjunto de fibras ópticas. As informações de tamanho obtidas por esta técnica se baseiam no cálculo do comprimento de corda (x), que consiste na distância entre dois pontos na sombra da partícula. O comprimento de corda (x) representa o tamanho da partícula.

Eficiência

A eficiência do processo (η) de recobrimento é definida como a razão entre a massa de sólidos aderida às partículas e a massa de sólidos na suspensão adicionada ao leito (Kucharski; Kmiec, 1989; Froughi-Dahr *et al.*, 2017; Lipin; Lipin; Wójtowicz, 2020). Para avaliar a eficiência do recobrimento (η) a partir do crescimento das partículas experimental (δ) pode-se adotar a razão entre o crescimento obtido experimentalmente e o crescimento teórico (Equações 4 e 5), ou seja, o máximo crescimento

obtido, considerando que toda a massa de líquido atomizada fosse aderida à da partícula, não havendo perdas por elutriação e também nas paredes do leito.

$$\delta_{teórico} = \frac{Q_{suspensão} \cdot \rho_{suspensão} \cdot tempo \cdot C_{sólidos}}{Massa\ inicial} \quad (4)$$

$$\eta = \frac{\delta_{exp}}{\delta_{teórico}} \quad (5)$$

Análises qualitativas dos processos de recobrimento

A superfície do material particulado recoberto com suspensão polimérica pode ser analisada com o auxílio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e por meio de técnica semiquantitativa (EDS), com a utilização de microscópio eletrônico.

A partir de análises de imagens de microscopia eletrônica de varredura pode-se observar mudanças de textura na superfície das partículas recobertas, apresentação de aspectos opacos e rugosos, assim como espessura uniforme e homogeneidade da distribuição superficial das partículas.

CONCLUSÃO

O processo de recobrimento de material particulado com suspensões poliméricas em leitos móveis gera resultados satisfatórios, tanto do ponto de vista do desempenho do processo como da qualidade do produto final. A grande vantagem na utilização de leitos móveis com a finalidade de recobrimento está na ampla flexibilidade de formulações para as mais diversas aplicações, com a possibilidade de confirmação da efetividade do recobrimento, apenas se assegurando de que a interação entre a suspensão polimérica e o material particulado atende às características de adesão.

REFERÊNCIAS

- ADAMSON, A. W. *Physical Chemistry of Surfaces*. 5 ed. New York: J. Wiley, 1990.
- ALMEIDA, C.; ROCHA, S. C. S. Eficiência do processo de recobrimento de sementes de brócolos recobertas com polímero em leito de jorro. *Engenharia Agrícola*, v. 28, p. 305-314, 2008.

- ÁVILA, M. F. et al. Parametrization of Particle Coating Process with Chitosan in Spouted Bed. *Particulate Science and Technology*, v. 38, n. 1, p. 54-62, 2020.
- AWAJA, F. et al. Adhesion of Polymers. *Progress in Polymer Science*, v. 34, n. 9, p. 948-68, 2009.
- BACHMANN, P. et al. Prediction of Particle Size and Layer-Thickness Distributions in a Continuous Horizontal Fluidized-Bed Coating Process. *Particuology*, v. 50, p. 1-12, 2020.
- CASTELLAN, G. *Fundamentos de físico-química*. São Paulo: Ed. JC, Cap XVIII: Fenômenos de Superfície, 1986.
- DECKER, E. L.; FRANK, B.; GAROFF, S. Physics of Angle Measurement. *Colloids and Surfaces*, v. 156, p. 177-189, 1999.
- EPSTEIN, N.; GRACE, J. R. *Spouted and Spout-Fluid Beds*. Cambridge: Cambridge University Press, 2011.
- FOROUGHI-DAHR, M. et al. Particle Coating in Fluidized Beds. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*, Elsevier, 2017.
- FREIRE, J. T.; OLIVEIRA, W. P. Aspectos tecnológicos de processos de recobrimento de partículas. In: FREIRE, J. T.; OLIVEIRA, W. P. *Tópicos especiais em secagem*. São Carlos: EdUFSCar, 1992. p. 255-293.
- GUIGNON, B.; DUQUENOY, A.; DUMOULIN, E. D. Fluid Bed Encapsulation of Particles: Principles and Practice. *Drying Technology*, v. 20, n. 2, p. 419-447, 2002.
- IVESON, S. M. et al. Nucleation, Growth and Breakage Phenomena in Agitated Wet Granulation Process: A Review. *Powder Technology*, v. 117, p. 3-39, 2001.
- KLEINBACH, E.; RIEDE, T. Coating of Solids. *Chemical Engineering and Processing*, v. 34, p. 329-337, 1995.
- KUCHARSKI, J.; KMIÉC, A. Kinetics of Granulation Process During Coating of Tablets in a Spouted Bed. *Chemical Engineering Science*, v. 44, p. 1627-1636, 1989.
- KWOK, D. Y.; NEUMANN, A. W. Contact Angle Measurement and Contact Angle Interpretation. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 81, p. 167-249, 1999.

- LANGNER, M. et al. In-Line Particle Size Measurement and Process Influences on Rotary Fluidized Bed Agglomeration. *Powder Technology*, v. 364, p. 673-679, 2020.
- LIPIN, A.; LIPIN, A.; WÓJTOWICZ, R. Calculation of Degree of Coverage in Fluidized Bed Coating. *Drying Technology*, p. 1-12, 2020.
- NEUMANN, A. W.; GOOD, R. J. Techniques of Measuring Contact Angles. In: NEUMANN, A. W.; GOOD, R. J. (ed.). *Surface and Colloid Science*. v. 11: Experimental Methods. New York: Plenum Press, 1979.
- ROCHA, S. C. S.; DONIDA, M. W.; MARQUES, A. M. M. Liquid-Particle Surface Properties on Spouted Bed Coating and Drying Performance. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, v. 87, n. 5, p. 695-703, 2009.
- ROCHA, S. C. S.; TARANTO, O. P.; MORIS, V. A. S. Recobrimento de partículas em leito de jorro e fluidizado. In: FREIRE, J. T.; SILVEIRA, A. M. *Fenômenos de transporte em sistemas particulados: Fundamentos e Aplicações*. São Carlos: Suprema, 200. p. 63-131.
- ROSA, J. G. et al. Acacia Gum Fluidized Bed Agglomeration: Use of Inulin as a Binder and Process Parameters Analysis. *Journal of Food Process Engineering*, v. 4, n. 7, 2020.
- ROSA, V. S.; MORAES JÚNIOR, D. Review Heat Transfer of Non-Newtonian Fluids in Agitated Tanks. *Heat and Mass Transfer-Advances in Science and Technology Applications*. IntechOpen, 2019.
- SHIBAYAMA, S.; FUNATSU, K. Investigation of Preprocessing and Validation Methodologies for PAT: Case Study of the Granulation and Coating Steps for the Manufacturing of Ethenzamide Tablets. *AAPS PharmSciTech*, v. 22, n. 1, p. 41, 2021.
- SILVA, C. A. M.; TARANTO, O. P. Real-Time Monitoring of Gas-Solid Fluidized-Bed Granulation and Coating Process: Evolution of Particle Size, Fluidization Regime Transitions, and Psychrometric Parameters. *Drying Technology*, v. 33, n. 15-16, p. 1929-1948, 2015.
- VON DAAKE, H.; STEPHAN, D. Performance Enhancement of Polycondensate Based Superplasticizers by Encapsulation. *Chemical Engineering and Technology*, v. 102, p. 119-126, 2017.
- XIE, T. et al. Preparation and Characterization of Self-Matting Waterborne Polymer: An Overview. *Progress in Organic Coatings*, v. 142, p. 105569, 2020.

YUSOF, N. *et al.* A Novel Method for the Analysis of Particle Coating Behaviour via Contact Spreading in a Tumbling Drum: Effect of Coating Liquid Viscosity. *Powder Technology*, v. 351, p. 102-114, 2019.

ZHANG, R.; HOFFMANN, T.; TSOTSAS, E. Novel Technique for Coating of Fine Particles Using Fluidized Bed and Aerosol Atomizer. *Processes*, v. 8, n. 12, 2020.

Eletrofiação: andaimes poliméricos fibrosos para aplicações na engenharia de tecidos

Karina Luzia Andrade^{1}*

Mariana Ferreira Ávila²

Emanoelle Diz Acosta¹

Fabício Luiz Faima³

Ricardo Antonio Francisco Machado¹

INTRODUÇÃO

A engenharia de tecidos, ramo da engenharia biomédica, é um campo de estudos interdisciplinar que compreende a regeneração de ossos, cartilagens, nervos, fígado, retina, córnea, tecido cardíaco e pele, dentre outros (Agrahari et al., 2017; Nagarajan et al., 2017). Trata-se de uma área que objetiva reparar a função normal de órgãos, tecidos e células, por meio do uso de andaimes fibrosos e fatores de crescimento. Torna-se, portanto, fundamental a idealização de um material contendo características físico-químicas necessárias e apropriadas para a sua aplicação na medicina regenerativa (Nagarajan et al., 2017).

Dentre as diversas técnicas utilizadas para a produção de andaimes fibrosos, a eletrofiação (*electrospinning*) é de grande interesse e valia por representar uma técnica versátil para produção contínua de fibras nas dimensões de micro ou nanoescala (Figura 1), ser de fácil obtenção, baixo custo e com capacidade para produção em nível industrial.

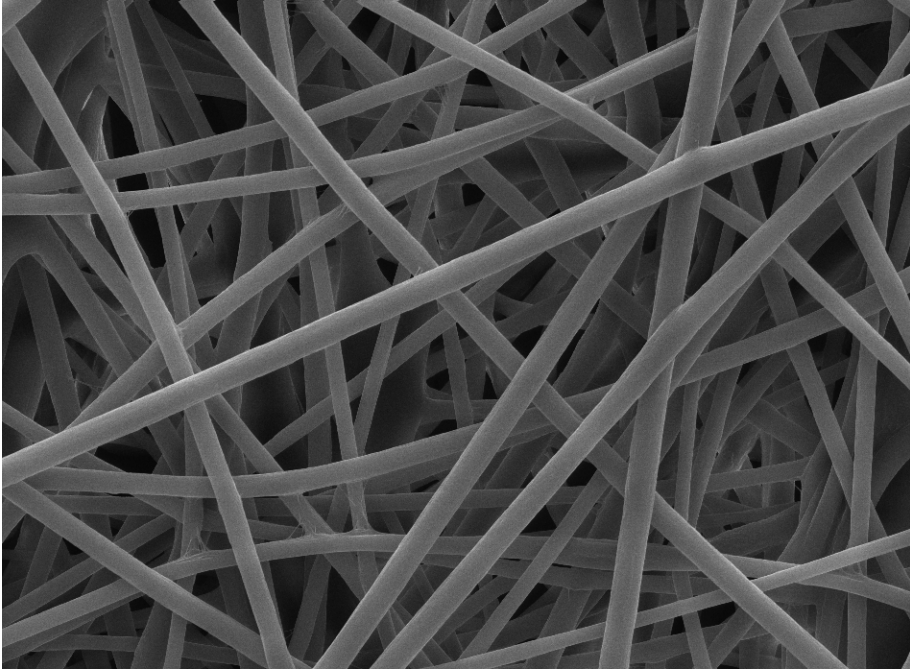
Autores correspondentes

1 Laboratório de Controle e Processos de Polimerização, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Santa Catarina, Brasil, e-mail: karinalandrade27@gmail.com.

2 Laboratório de Processos Termofluidodinâmicos, Departamento de Engenharia de Processos, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas, São Paulo, Brasil, e-mail: marianafeirreira01@hotmail.com.

3 Instituto de Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre-RS.

FIGURA 1 — IMAGEM DE MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV) DE UM ANDAIME FIBROSO



Fonte: Os autores (2020).

Essas fibras apresentam características únicas, com destaque para elevada relação superfície-volume, estabilidade, permeabilidade, porosidade controlada e analogia morfológica com a matriz extracelular, fornecendo suporte estrutural e ambiente oportuno, disponibilizando fatores de crescimento para diferenciação de células (Huang *et al.*, 2003; Dong; Kennedy; Wu, 2011; Nagarajan *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2016; Nagarajan *et al.*, 2017; Gao *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2020).

Ainda, essa alta porosidade auxilia a permeabilidade ao ar, fundamental para a respiração celular. A presença de pequenos poros ocasiona absorção eficaz dos exsudatos, ajustando a desidratação da lesão e preservando-a de infecções bacterianas (Rho *et al.*, 2006; Agrahari, *et al.*, 2017). Outra característica de grande importância dos andaimes eletrofiados trata-se das propriedades mecânicas reguláveis, que evitam a contração da lesão durante o implante. Destacam-se ainda caracterís-

ticas como homeostase otimizada, flexibilidade e resistência mecânica do andaime e possível funcionalização com diversas moléculas bioativas (Agrahari et al., 2017).

PREPARAÇÃO

A produção de andaimes fibrosos pode ser feita com o uso de polímeros naturais e/ou polímeros sintéticos. Os polímeros naturais são, em geral, biocompatíveis e biodegradáveis, mas apresentam algumas limitações como dificuldades nas técnicas de processamento, instabilidade e propriedades mecânicas frágeis (Bediam et al., 2017; Nagarajan et al., 2017). Para superar essas limitações, a combinação de polímeros naturais entre si e/ou com outros polímeros sintéticos tem se demonstrado uma alternativa interessante. Os polímeros sintéticos, alguns destes biocompatíveis, possuem excelentes propriedades mecânicas e seu uso combinado a um polímero natural garante um reforço mecânico e maior estabilidade ao conjunto (Radhakrishnan; Jose; Kurup, 2015; Nagarajan et al., 2017). Alguns dos polímeros sintéticos e naturais que mais destacam-se na engenharia de tecidos estão listados na Tabela 1.

TABELA 1 — POLÍMEROS UTILIZADOS EM ANDAIMES NA ENGENHARIA DE TECIDOS E ALGUMAS APLICAÇÕES.

Polímeros	Aplicação	Referência
Alginato ¹	Aplicações gerais	Tan et al. (2020)
Alginato ¹ + Quitosana ¹	Curativo	Bakhsheshi-Rad et al. (2020)

Continua

Borracha natural¹ + PCL²	Biomaterial	Costa (2014)
Borracha natural¹ + PVA²	Sistema de administração de medicamentos	Jayadevan; Alex; Gopalakrishnapanicker, (2018)
Borracha natural¹ + PVA²	Curativo	Azarian; Boochathum; Kongsema (2019)
Gelatina¹	Aplicações gerais	Nagarajan <i>et al.</i> (2016); Jirkovec <i>et al.</i> (2019);
Gelatina¹ + PCL²	Andaimes nanofibrosos imobilizados com fator de crescimento epidérmico para comportamento celular	Tiğli <i>et al.</i> (2011)
Fibrina¹	Liberação de fator de crescimento endotelial vascular	Zhou <i>et al.</i> (2016)
Quitosana¹	Curativo	Bayat <i>et al.</i> (2019)
PEG² + Quitosana¹ + Alginato¹	Aplicações gerais	Radhakrishnan; Jose; Kurup (2015)
PLGA²	Substituição de tecidos moles e duros	Fouad <i>et al.</i> (2013)
PLGA² + PEG²	Liberação de medicamentos	Zhang <i>et al.</i> (2018)
PVA²	Curativo	Chao <i>et al.</i> (2018)

Continua

PVA ² + Quitosana ¹	Curativo	Alavarse et al. (2017)
PU ²	Curativo	Zatoi (2020)
PU ² + Gelatina ¹	Engenharia de tecidos ósseos	Ali et al. (2020)

LEGENDA: ¹=POLÍMERO NATURAL; ²=POLÍMERO SINTÉTICO; PCL=POLICAPROLACTONA; PVA=POLI(VINIL ÁLCOOL); PEG= POLIETILENOGLICOL; PLGA= POLI(ÁCIDO LÁTICO-CO-ÁCIDO GLICÓLICO); PU= POLIURETANO.

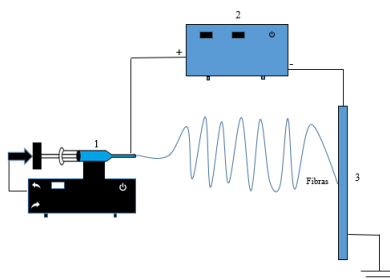
Fonte: Os autores (2020)

Destaca-se a fabricação de andaimes fibrosos a partir de polímeros sintéticos e naturais, empregando técnicas de modificação de superfície para melhorar suas funções e aplicabilidade. Nesse contexto, utiliza-se variadas moléculas bioativas, bem como agentes medicinais aptos para aplicações na engenharia de tecidos (Sofi et al., 2019).

Técnica

A arquitetura simples do equipamento torna a eletrofiação uma técnica versátil perante o processamento de diversos polímeros biocompatíveis em estruturas fibrosas (Sill; Von Recum, 2008). O equipamento é constituído por três elementos essenciais, como é observado na Figura 2.

FIGURA 2 — PROCESSO DE ELETROFIAÇÃO



Fonte: Os autores (2020)

1. Um capilar através do qual a solução polimérica (polímero solubilizado em um solvente) a ser eletrofiada é forçada com auxílio de uma bomba. Geralmente utiliza-se uma seringa com agulha de metal.
2. Uma fonte de alta tensão com polaridade positiva ou negativa, responsável por estabelecer uma diferença de potencial entre a solução e o coletor. A tensão utilizada costuma variar de 1 a 30 kV.
3. Um coletor aterrado no qual as fibras são recolhidas. Este coletor pode apresentar configuração de placa estacionária (promove a formação de um tapete de fibra orientado aleatoriamente) ou rotativa (promove formação de tapetes com fibras alinhadas, onde a velocidade de rotação desempenha papel essencial na determinação do grau de anisotropia).

No processo de eletrofiação utiliza-se uma bomba para forçar a saída da solução polimérica através do capilar, onde forma-se uma gota pendente na ponta. Ao conectar um eletrodo da fonte de alta tensão diretamente no capilar e ao ligar a fonte de tensão, uma elevada diferença de potencial é estabelecida entre a solução e o coletor. Desta forma, ocorre um acúmulo de cargas elétricas na solução polimérica e o surgimento de força de campo elétrico. Acontecem, então, interações repulsivas entre cargas de sinais semelhantes na solução polimérica e também interações atrativas, devido a força de atração entre essa solução carregada eletricamente e o coletor aterrado, onde a diferença de potencial é estabelecida, o que resulta no alongamento da gota pendente na ponta do capilar na direção do coletor.

De acordo com o aumento da força do campo elétrico será alcançado um ponto onde as forças eletrostáticas irão equilibrar a tensão superficial da solução, ocasionando o surgimento do cone de Taylor. Ao aumentar a tensão aplicada além desse ponto, um jato de fibra é ejetado do ápice do cone, sofrendo aceleração em direção ao coletor aterrado. Diante dessa aceleração, o jato de fibra sofre um processo de alongamento e chicoteamento de forma instável, produzindo um fio longo e fino. De forma simultânea ao alongamento, acontece a evaporação do solvente, que promove a redução do diâmetro do jato em uma escala micro ou nanométrica. Por fim, as fibras poliméricas que são atraídas pelo coletor são depositadas e produz-se a malha ou andaime de fibras (Jaworek; Sobcsyk, 2008; Sill; Von Recum, 2008).

Para a obtenção de fibras devidamente estruturadas é necessário que o processo de eletrofição seja eficiente, devendo, assim, levar em consideração os seguintes fatores (Ramakrishna et al., 2005):

- a) Utilização de solvente adequado que garanta a dissolução do polímero;
- b) Utilização de solvente que apresente pressão de vapor que garanta a rápida evaporação, mantendo a integridade da fibra ao atingir o coletor. Essa rapidez deve garantir que a fibra endureça antes de atingir a faixa de nanômetros;
- c) Utilização de solvente com viscosidade e tensão superficial adequadas, não podendo ser muito elevadas, pois impedem a formação do jato, e nem muito pequenas, assegurando que a solução polimérica seja drenada livremente do capilar;
- d) A fonte de tensão elétrica deve superar a viscosidade e a tensão superficial da solução polimérica, possibilitando a formação e sustentação do jato do capilar.

Denota-se, portanto, que embora a eletrofição seja considerada uma técnica relativamente simples e versátil para a formação de andaimos fibrosos, vários parâmetros podem influenciar as propriedades das fibras produzidas (Deitzel et al., 2001; Ramakrishna et al., 2005; Sill, Von Recum, 2008; Bhattarai et al., 2018). Esses parâmetros estão elencados na Figura 3.

FIGURA 3 — PARÂMETROS INFLUENCIADORES DO PROCESSO DE ELETROFIÇÃO



Fonte: Os autores (2020).

Para que haja otimização do processo, necessita-se que estes parâmetros sejam mantidos constantes durante a eletrofiação, permitindo, assim, a produção de fibras de forma contínua e consistente em relação as suas propriedades físico-químicas (Bhattarai et al., 2018).

Parâmetros de processo

I. **Tensão aplicada:** o campo elétrico e o potencial elétrico aplicado determinam a aceleração e o estiramento das fibras, portanto, são parâmetros relacionados a morfologia destas (Ramakrishna et al., 2005). Voltagens maiores que 6 kV fazem com que a queda da solução na ponta do capilar se distorça na forma de um cone de Taylor (Taylor, 1964). Tensões mais altas podem ser necessárias para a formação de um cone de Taylor mais estável. Como a força repulsiva no jato estica a solução viscoelástica, diante do aumento da tensão, o maior número de cargas acelera o jato de solução, aumentando o volume da solução que está sendo extraída do capilar, indicando a formação de um cone de Taylor menor e instável (Zong et al., 2002). Em relação à morfologia das fibras, altas tensões e campos elétricos mais fortes proporcionam maior alongamento da solução, reduzindo o diâmetro das fibras, causando rapidez da evaporação do solvente, produzindo fibras mais secas. Utilizando uma solução de viscosidade mais baixa, altas tensões favorecerão a formação de jatos secundários durante a eletrofiação, o que produz um efeito de redução do diâmetro da fibra (Demir et al., 2002; Megelski et al., 2002; Lee et al., 2004; Pawlowski et al., 2003). Além disso, a duração do voo do jato de solução também influencia o diâmetro da fibra, onde uma duração mais longa permite que as fibras se estendam e se alonguem mais antes de serem depositadas no coletor. Logo, voltagens mais baixas reduzem o jato e, com o campo elétrico mais fraco, podem aumentar o seu tempo de voo, favorecendo a formação de fibras com menores diâmetros. Porém, voltagens mais altas tendem a formar os defeitos chamados “gotas” (Deitzel et al., 2001; Demir et al., 2002; Zong et al., 2002; Zhao et al., 2004).

II. **Taxa de fluxo da solução:** a taxa de fluxo da solução polimérica exerce influência sobre o tamanho e a porosidade da fibra. Foi constatado que o diâmetro da fibra e o tamanho dos poros aumentam com a maximização deste fluxo. Afirma-se que altas taxas de fluxo podem causar defeitos significativos do cordão, devido à incapacidade de as fibras secarem completamente antes de serem

depositadas no coletor, ocasionando a formação de fibras achatadas (forma de fita) (Megelski et al., 2002; Sill, Von Recum, 2008).

III. **Distância entre capilar e coletor:** essa distância é capaz de determinar se o resultado final é a eletrofiação ou a pulverização por eletroforese. Estudos já comprovaram que o diâmetro da fibra é diminuído com o aumento da distância entre o capilar e o coletor. Distâncias curtas podem alterar a morfologia das fibras, pois a força exercida pelo campo elétrico será maximizada para um mesmo potencial que, por sua vez, afetará a aceleração do jato para o coletor. Em decorrência desses efeitos, a evaporação do solvente será incompleta, podendo levar as fibras a fundirem-se umas às outras no coletor (Megelski et al., 2002; Ramakrishna et al., 2005; Sill, Von Recum, 2008).

Destaca-se que a configuração dos capilares (bicos únicos, coaxiais e eletrofiação de jato múltiplo), bem como a inversão da polaridade e o design do coletor podem causar interferência na morfologia das fibras (Bhattarai et al., 2018).

Parâmetros da solução polimérica

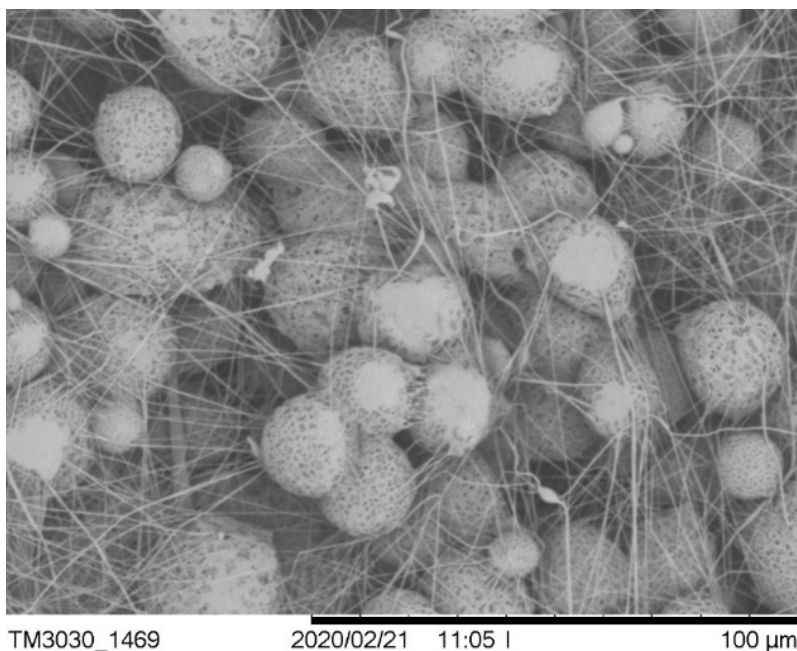
I. **Concentração:** é a concentração de polímero que determinará a formação ou não da fibra. Esse parâmetro tem influência direta na viscosidade e na tensão superficial da solução, requisitos de grande relevância na eletrofiação. Se a solução estiver muito diluída, a fibra polimérica será fracionada em gotículas antes de atingir o coletor, devido aos efeitos da tensão superficial. No caso de solução com concentração elevada, as fibras não se formarão por conta da alta viscosidade que, por sua vez, dificulta o controle da taxa de fluxo da solução através do capilar. Por isso, a solução deve conter uma concentração de polímero ideal (a depender de cada polímero), capaz de ocasionar o emaranhamento da cadeia, permitindo a eletrofiação quando todos os demais parâmetros são mantidos constantes (Sill, Von Recum, 2008)

II. **Viscosidade:** um dos fatores de maior efeito na viscosidade da solução é a massa molecular do polímero, pois o comprimento da cadeia polimérica é representado por ele. Logo, quanto maior a massa molecular, maior será a viscosidade da solução polimérica. Este comprimento causa influência, de forma direta, na viscosidade da solução, visto que isto determina o emaranhamento das cadeias poliméricas na presença do solvente. Portanto, para que haja

a formação de fibras, a solução deve ser feita com polímero de massa molecular suficiente a proporcionar uma viscosidade adequada para a eletrofiação (Ramakrishna et al., 2005).

III. **Tensão superficial:** A eletrofiação só inicia quando as forças de repulsão eletrostática interna somadas a atração ao coletor vencem a tensão superficial. Em soluções pouco viscosas ou diante de uma tensão superficial elevada e viscosidade diminuída, a razão área/volume das fibras diminui, ocasionando o surgimento de defeitos tipo “gotas” nas fibras (Figura 4). Soluções mais viscosas apresentam moléculas de solventes que tendem a se dispor ao redor das moléculas de polímero, precavendo a formação de aglomerados (Ramakrishna et al., 2005).

FIGURA 4 — DEFEITOS TIPO “GOTAS” EM FIBRAS ELETROFIADAS



Fonte: Os autores (2020).

IV. **Volatilidade do solvente:** a escolha do solvente a ser utilizado é essencial para a formação ou não das fibras, além de influenciar na sua porosidade. Deve-se utilizar um solvente volátil, que permita a evaporação

suficiente do solvente entre a ponta do capilar e o coletor. Durante o transporte das fibras pela atmosfera, até o coletor, acontece uma separação de fases onde fibras poliméricas sólidas são formadas antes de serem coletadas. Essa separação é diretamente influenciada pela volatilidade do solvente (Sill, Von Recum, 2008).

Parâmetros ambientais

Fatores ambientais como pressão atmosférica, umidade e temperatura também exercem influência sobre a morfologia e o diâmetro das fibras através do processo de solidificação, pois estão relacionados com a taxa de evaporação do solvente. Porém, quando comparados aos demais fatores, seu efeito é mais limitado. Com aumento de temperatura, o diâmetro da fibra pode ser diminuído, justificado pela menor viscosidade das soluções poliméricas. Alta umidade pode ocasionar a presença de poros na superfície das fibras e levar à formação de contas, os defeitos tipo “gotas” (Ramakrishna et al., 2005; Agrahari et al., 2017).

CARACTERIZAÇÃO

A caracterização de andaimes fibrosos para aplicação na engenharia de tecidos deve estabelecer resultados que contemplem as propriedades físicas, químicas e biológicas das fibras micro/nanométricas.

a) **Ângulo de contato:** essa técnica é responsável por determinar a capacidade de hidroflicidade ou umedecimento de uma superfície polimérica. Para aplicação na engenharia de tecidos é necessária a obtenção de uma superfície com propriedade hidrofílica, sendo esta essencial para a adesão, disseminação e proliferação celular (Liu et al., 2019). A técnica, realizada em um equipamento conhecido como goniômetro, consiste em medir o ângulo de contato formado entre uma gota de água e uma superfície, neste caso, o andaime fibroso polimérico. Uma superfície é considerada hidrofílica quando forma um ângulo menor que 90°, hidrofóbica quando forma ângulo maior que 90° e super-hidrofóbica quando forma ângulo maior que 150° (Gomes; De Souza; Silva, 2013).

b) **Morfologia:** na engenharia de tecidos, a morfologia de andaimes fibrosos ou de fibras é estudada por apresentar grande importância devido à semelhança morfológica com os tecidos biológicos naturais, possibilitando a interação entre o andaime e o meio celular alvo. Essa caracterização é feita por meio de técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Jun et al., 2018; Balakrishnan; Thambusamy, 2019; Tan et al., 2020).

c) **Porosidade:** andaimes fibrosos devem apresentar alta porosidade e interconectividade porosa. Esses fatores auxiliam na exsudação de fluido de uma lesão, melhorando o processo de cicatrização. Poros menores que bactérias (micrômetros) previnem infecções através do efeito de peneira. Os andaimes fibrosos altamente porosos se assemelham à matriz extracelular nativa, onde as células se fixam e migram para dentro deles. Portanto, esses andaimes devem apresentar alta porosidade, de preferência em micro e nanoescala, facilitando a troca de nutrientes e gases, essenciais para o crescimento celular e regeneração tecidual (Murugan; Ramakrishna, 2006; Dwivedi et al., 2017). Esse parâmetro pode ser dimensionado usando gravimetria (Fouad et al., 2013), porosimetria de mercúrio e adsorção/dessorção em nitrogênio (BeT) (Sirc et al., 2012; Aduba Junior et al., 2016).

d) **Propriedades mecânicas:** andaimes fibrosos servem de sustentação para o crescimento celular, porém, esses andaimes geralmente apresentam baixa resistência mecânica e esse fato é considerado um grande desafio para a aplicação na engenharia de tecidos. Enquanto andaimes fibrosos desenvolvidos com polímeros naturais são capazes de produzir características semelhantes a matriz extracelular nativa, polímeros sintéticos possibilitam a produção versátil de características facilmente ajustáveis, incluindo as propriedades mecânicas. Por isso, a combinação de ambos materiais pode auxiliar na manutenção das propriedades mecânicas desejáveis para essa aplicação. As propriedades mecânicas de andaimes fibrosos são geralmente medidas por meio de análise dinâmico mecânica (DMA) (Costa, 2014), onde são investigadas propriedades viscoelásticas dos polímeros em uma ampla faixa de temperatura, fornecendo dados fundamentais em nível molecular e correlacionando-os com os resultados em ensaios de tração (Alemdar; Sain, 2008).

e) **Citotoxicidade:** esse parâmetro determina a medida do potencial dano celular que um agente pode causar, ou seja, estabelece o perí-

odo de concentração onde um agente que apresenta toxicidade atua (Ferreira, 2014). Existem dois tipos de técnicas, as qualitativas, que avaliam a morfologia celular pelo exame microscópico para verificação de alterações morfológicas em geral, e as quantitativas, que se caracterizam perante a viabilidade celular após a exposição ao agente (ISO, 2009). Nesse sentido, destaca-se o uso do ensaio quantitativo colorimétrico MTT (Costa, 2014; Chao et al., 2018).

f) **Biodegradação:** esse fator representa grande importância perante o uso de andaimes poliméricos fibrosos antimicrobianos, pois eles necessitam ser absorvidos pelos tecidos, evitando uma remoção cirúrgica. A taxa de degradação deve ser proporcional à taxa de formação de tecido, indicando que enquanto as células produzem sua própria estrutura natural, o andaime auxilia na integridade estrutural dentro do corpo e, se sofrer fratura, o tecido formado assume a carga mecânica. Os estudos de biodegradação *in vitro* dos andaimes poliméricos fibrosos são geralmente realizados em solução salina tampão fosfato e incubados a 37° C, por diferentes períodos de tempo. Após cada período de degradação, as amostras são lavadas e secas. Determina-se o peso seco dos andaimes após cada incubação e compara-se ao seu peso seco inicial. Assim, com auxílio de uma equação matemática, determina-se a porcentagem de perda de peso (Tiğli et al., 2011; Dwivedi et al., 2017).

Além das análises citadas anteriormente, outras técnicas são utilizadas na caracterização de andaimes fibrosos, como a espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia de UV-Vis, análises térmicas, análise de difração de raio X (DRX), perfil de liberação de drogas e atividade antimicrobiana (quando for o caso), dentre outras.

CONCLUSÃO

A eletrofição permite o desenvolvimento de micro ou nanofibras poliméricas contínuas com configuração simples. Essa técnica oferece vantagens para a preparação de andaimes poliméricos fibrosos que apresentam extraordinária semelhança à arquitetura de uma matriz extracelular. Devido a sua elevada relação superfície/volume, ao baixo peso, pequenos diâmetros, porosidade controlada, facilidade de processamento e baixo custo, andaimes

eletrofiados, produzidos a partir de polímeros naturais e/ou polímeros sintéticos são adequados para a aplicação na engenharia de tecidos regenerativos, servindo como cultivo de tecidos para, por exemplo, um substituto de pele. Ainda, algumas das propriedades desse material, como o diâmetro da fibra, porosidade e propriedades mecânicas e de superfície, podem ser facilmente ajustadas por meio da alteração dos parâmetros de eletrofiação. Portanto, diante do exposto, entende-se que as nanofibras possuem uma ampla vantagem nas aplicações biomédicas, sendo relevante a abordagem dos parâmetros expostos para que, futuramente, sua aplicação seja ainda mais difundida, com sucessos clínicos diversos na engenharia de tecidos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da Capes — Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes-PRINT, projeto número 88887.310560/2018-00), bem como ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PósENQ) e ao Laboratório de Controle e Processos de Polimerização (LCP) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) pelo aporte científico e social.

REFERÊNCIAS

- ADUBA JUNIOR, D. C. et al. Fabrication, Characterization, and In Vitro Evaluation of Silver-Containing Arabinoxylan Foams as Antimicrobial Wound Dressing. *Journal of Biomedical Materials Research A*, v. 00A, p. 1-10, 2016.
- AGRAHARI, V. et al. Electrospun Nanofibers in Drug Delivery: Fabrication, Advances, and Biomedical Applications. In: MITRA, A. K.; CHOLKAR, K.; MANDAL, A. (ed.). *Emerging Nanotechnologies for Diagnostics, Drug Delivery, and Medical Devices*. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 189-216.
- ALAVARSE, A. C. et al. Tetracycline Hydrochloride-Loaded Electrospun Nanofibers Mats Based on Pva And Chitosan for Wound Dressing. *Materials Science and Engineering C*, v. 77, p. 271-281, 2017.
- ALEMDAR, A.; SAIN, M. Biocomposites from Wheat Straw Nanofibers: Morphology, Thermal and Mechanical Properties. *Composites Science and Technology*, v. 68, p. 557-565, 2008.
- ALI, M. G. et al. Dual Nanofiber Scaffolds Composed of Polyurethane-Gelatin/Nylon 6- Gelatin for Bone Tissue Engineering. *Colloids and Surfaces A*, n. 597, p. 124817, 2020.
- AZARIAN, M. H.; BOOCHATHUM, P.; KONGSEMA, M. Biocompatibility and Biodegradability of Filler Encapsulated Chloroacetated Natural Rubber/ Polyvinyl Alcohol Nanofiber for Wound Dressing. *Materials Science & Engineering C*, v. 103, p. 109829, 2019.
- BAKHSHESHI-RAD, H. R. et al. In Vitro and In Vivo Evaluation of Chitosan-Alginate/Gentamicin Wound Dressing Nanofibrous with High Antibacterial Performance. *Polymer Testing*, v. 82, p. 106298, 2020.
- BALAKRISHNAN, S. B; THAMBUSAMY, S. Preparation of Silver Nanoparticles and Riboflavin Embedded Electrospunpolymer Nanofibrous Scaffolds Forin Viovound Dressing Application. *Process Biochemistry*, v. 88, p. 148-158, 2019.
- BAYAT, S. et al. Bromelain-Loaded Chitosan Nanofibers Prepared by Electrospinning Method for Burn Wound Healing in Animal Models. *Life Sciences*, v. 229, p. 57-66, 2019.
- BEDIAN, L. et al. Bio-Based Materials with Novel Characteristics for Tissue Engineering Applications: A Review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 98, p. 837-846, 2017.
- BHATTARAI, R. S. et al. Biomedical Applications of Electrospun Nanofibers: Drug and Nanoparticle Delivery. *Pharmaceutics*, v. 11, p. 1-30, 2018.
- CHAO, S. et al. Synthesis and Characterization of Tigecycline-Loaded Se-ricin/Poly (Vinyl Alcohol) Composite Fibers via Electrospinning as Antibac-

terial Wound Dressings. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 44, p. 440-447, 2018.

COSTA, L. M. M. *Desenvolvimento e caracterização de membranas eletrofiadas a base de borracha natural e poli(ϵ -caprolactona)*. 135 f. Tese (Doutorado em Nanociências e Materiais Avançados) — Programa de Nanociências e Materiais Avançados, Universidade Federal do ABC, Santo André, 2014.

DEITZEL, J. M. et al. The Effect of Processing Variables on The Morphology of Electrospun Nanofibers and Textiles. *Polymer*, v. 42, p. 261-272, 2001.

DEMIR, M. M. et al. Electrospinning of Polyurethane Fibers. *Polymer*, v. 43, p. 3303-3309, 2002.

DONG, Z.; KENNEDY, S. J.; WU, Y. Electrospinning Materials for Energy-Related Applications and Devices. *Journal Power Sources*, v. 196, p. 4886- 4904, 2011.

DWIVEDI, C. et al. Electrospun Nanofibrous Scaffold as a Potential Carrier of Antimicrobial Therapeutics for Diabetic Wound Healing and Tissue Regeneration. In: GRUMEZESCU, A. M. (ed.). *Nano- and Microscale Drug Delivery Systems*. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 147-164.

FERREIRA, I. R. S. *Avaliação da citotoxicidade de fitoquímicos em células V79 e inibição do crescimento celular em células leucêmicas humanas*. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências aplicadas) — Faculdade de Ciências Aplicadas, Unicamp, Limeira, 2014.

FOUAD, H. et al. Preparation and In Vitro Thermo-Mechanical Characterization of Electrospun PLGA Nanofibers for Soft and Hard Tissue Replacement. *International Journal of Electrochemical Science*, v. 8, p. 2293-2304, 2013.

GAO, S. et al. Stimuli-Responsive Bio-Based Polymeric Systems and Their Applications. *Journal of Materials Chemistry B*, v. 7, n. 5, p. 709-729, 2019.

GOMES, D. J. C.; DE SOUZA, N. C.; SILVA, J. R. Using a Monocular Optical Microscope to Assemble a Wetting Contact Angle Analyser. *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation*, v. 46, p. 3623-3627, 2013.

HUANG, Z.-M. et al. A Review on Polymer Nanofibers by Electrospinning and their Applications in Nanocomposites. *Composites Science and Technology*, v. 63, p. 2223-2253, 2003.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). *Biological Evaluation of Medical Devices*. Part 5: Tests for Cytotoxicity In Vitro Methods. Geneva, 2009, 42 p.

JAYADEVAN, J.; ALEX, R.; GOPALAKRISHNAPANICKER, U. Deproteinised Natural Rubber Latex Grafted Poly(dimethylaminoethyl Methacrylate) — Poly(-

vinyl Alcohol) Blend Membranes: Synthesis, Properties and Application. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 107, p. 1821-1834, 2018.

JAWOREK, A.; SOBCSYK, A. T. Electrospaying Route to Nanotechnology: A Review. *Journal of Electrostatics*, v. 66, p. 197-219, 2008.

JIRKOVEC, R. et al. Production of Gelatin Nanofibrous Layers via Alternating Current Electrospinning. *Materials Letters*, v. 252, p. 186-190, 2019.

JUN, I. et al. Electrospun Fibrous Scaffolds for Tissue Engineering: Viewpoints on Architecture and Fabrication. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 19, p. 1-14, 2018.

LEE, J. S. et al. Role of Molecular Weight of Atactic Poly(vinyl Alcohol) (PVA) in the Structure and Properties of PVA Nanofabric Prepared by Electrospinning. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 93, p. 1638-1646, 2004.

LIU, Y. et al. Electrospun Nanofibers as a Wound Dressing for Treating Diabetic Foot Ulcer. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 14, p. 130-143, 2019.

MEGELSKI, S. et al. Micro- and Nanostructured Surface Morphology on Electrospun Polymer Fibers. *Macromolecules*, v. 35, p. 8456-8466, 2002.

MURUGAN, R.; RAMAKRISHNA, S. Nano-Featured Scaffolds for Tissue Engineering: A Review of Spinning Methodologies. *Tissue Engineering*, v. 12, p. 435-447, 2006.

NAGARAJAN, S. et al. Design of Graphene Oxide/Gelatin Electrospun Nanocomposite Fibers for Tissue Engineering Applications. *RSC Advances*, v. 6, p. 109150-109156. 2016.

NAGARAJAN, S. et al. Conference Paper Electrospun Fibers in Regenerative Tissue Engineering and Drug Delivery. *Pure and Applied Chemistry*, p. 1799-1808, 2017.

PAWLOWSKI, K. J. et al. Electrospinning of a Micro-Air Vehicle Wing Skin. *Polymer*, v. 44, p. 1309-1314, 2003.

RADHAKRISHNAN, A.; JOSE, G. M.; KURUP, M. PEG-Penetrated Chitosan-Alginate Co-Polysaccharide-Based Partially and Fully Cross-Linked Hydrogels as ECM Mimic for Tissue Engineering Applications. *Progress in Biomaterials*, v. 4, n. 2-4, p. 101-112, 2015.

RAMAKRISHNA, S. et al. Electrospinning Process. In: RAMAKRISHNA, S.; FUJIHARA, K.; TEO, W.-E.; LIM, T.-C.; MA, Z. (ed.). *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers*. World Scientific, 2005. p. 90-154.

RHO, K. S. et al. Electrospinning of Collagen Nanofibers: Effects on The Behavior of Normal Human Keratinocytes and Early-Stage Wound Healing. *Biomaterials*, v. 27, p. 1452-1456, 2006.

SILL, T. J.; VON RECUM, H. A. Electrospinning: Applications in Drug Delivery and Tissue Engineering. *Biomaterials*, v. 29, p. 1989-2006, 2008.

SIRC, J. et al. Morphological Characterization of Nanofibers: Methods and Application in Practice. *Journal of Nanomaterials*, v. 2012, p. 1-14, 2012.

SOFI, H. S. et al. Reconstructing Nanofibers from Natural Polymers Using Surface Functionalization Approaches for Applications in Tissue Engineering, Drug Delivery and Biosensing Devices. *Materials Science and Engineering C*, v. 94, n. September 2018, p. 1102-1124, 2019.

TAN, H-L. et al. Electrospun Cellulose Acetate Butyrate/Polyethylene Glycol (CAB/PEG) Composite Nanofibers: A Potential Scaffold for Tissue Engineering. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 188, p. 110713, 2020.

TAYLOR, G. Disintegration of Water Drops in an Electric Field. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A*, v. 280, p. 383-397, 1964.

TIĞLI, R. S. et al. Cellular Behavior on Epidermal Growth Factor (EGF)-Immobilized PCL/Gelatin Nanofibrous Scaffolds. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, v. 22, p. 207-223, 2011.

WU, T. et al. Resorbable Polymer Electrospun Nanofibers: History, Shapes and Application for Tissue Engineering. *Chinese Chemical Letters*, v. 31, n. 3, p. 617-625, 2020.

ZATOI, A, W. Polyurethane Nanofibers Incorporated with ZnAg Composite Nanoparticles for Antibacterial Wound Dressing Applications. *Composites Communications*, v. 19, p. 103-107, 2020.

ZHANG, L. et al. Electrospun PEGylated PLGA Nanofibers for Drug Encapsulation and Release. *Materials Science & Engineering C*, v. 91, p. 255-262, 2018.

ZHAO, S. L. et al. Electrospinning of Ethyl-Cyanoethyl Cellulose/Tetrahydrofuran Solutions. *Journal Applied Polymer Science*, v. 91, p. 242- 246, 2004.

ZHOU, J. et al. Facile Method to Prepare Silk Fibroin/Hyaluronic Acid Films for Vascular Endothelial Growth Factor Release. *Carbohydrate Polymers*, v. 143, p. 301-309, 2016.

ZONG, X. H. et al. Structure and Process Relationship of Electrospun Bioabsorbable Nanofiber Membranes. *Polymer*, v. 43, p. 4403-4412, 2002.

Nanofibras poliméricas com a técnica de fiação por sopro em solução

Mariana Bianchini Silva¹

Amanda Rinaldi Sorigotti²

Letícia Vitorazi^{3*}

Rafaella Takehara Paschoalin^{4*}

INTRODUÇÃO

A nanotecnologia compreende uma área da ciência que tem apresentado uma ampla expansão nas últimas décadas, causando intenso progresso em setores envolvendo, sobretudo, o desenvolvimento de materiais para dispositivos eletrônicos e até mesmo para aplicações médicas (Mnyusiwalla; Daar; Singer, 2003; Paschoalin *et al.*, 2017). Esta área envolve a obtenção, manipulação e caracterização de estruturas funcionais que apresentem pelo menos uma de suas dimensões na escala nanométrica, ou seja, entre 1 e 100 nm (Zhang *et al.*, 2005; Assis *et al.*, 2012; Vaz; Vieira Costa; De Morais, 2017). Com a redução das dimensões para esta escala, observa-se um aprimoramento das propriedades físicas e químicas dos materiais, que não são visualizadas na macroescala (Assis *et al.*, 2012; Vaz; Vieira Costa; De Morais, 2017).

Entre as morfologias de maior interesse científico e tecnológico, as nanofibras estão entre as mais estudadas dado o grande número de possibilidades de aplicações, como em membranas, engenharia de tecidos, filtros, reforço, roupas de proteção etc. O decréscimo do diâmetro das fibras à escala nanométrica propicia uma elevação acentuada da razão de aspecto, ou seja, a razão entre o comprimento e a largura do material, além de maximizar a área superficial

* Autores correspondentes

1 Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica (PPGEM), Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda (EEIMVR), Universidade Federal Fluminense (UFF), Volta Redonda-RJ.

2 Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM), Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos-SP.

3 Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica (PPGEM) e Departamento de Engenharia Metalúrgica e Materiais (VMT), Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda (EEIMVR), Universidade Federal Fluminense (UFF), Volta Redonda-RJ, e-mail: leticiavitorazi@id.uff.br.

4 Instituto de Física de São Carlos (IFSC) e Departamento de Física e Ciência dos Materiais (Grupo de Polímeros "Prof. Bernhard Gross"), Universidade de São Paulo (USP), São Carlos-SP, e-mail: rafa.rntp@gmail.com.

específica (Medeiros *et al.*, 2009). Com isso, promove-se uma alteração de textura e aparência, aumento das propriedades mecânicas, tais como rigidez e resistência à tração, isolamentos térmico e acústico e capacidade de retenção de líquidos (Greiner; Wendorff, 2007; Medeiros *et al.*, 2009). Em adição, facilita a interação com outros materiais, incluindo partículas e/ou substâncias, o que a torna um material multifuncional (Huang *et al.*, 2003).

Diante dessas propriedades, nota-se um aumento gradativo quanto às aplicações das nanofibras em diferentes setores. Destacam-se aplicações na medicina, como meios para encapsulamento e liberação controlada de fármacos (Kamble *et al.*, 2017), *scaffolds* aplicados em engenharia tecidual (Yu *et al.*, 2014) e curativos para regeneração da pele (Kamble *et al.*, 2017). No setor de energia (Kenry; Lim, 2017), tem-se a aplicação de nanofibras em células solares (Li *et al.*, 2014), ultracapacitores (Gao *et al.*, 2012), fotocatalise (Shi *et al.*, 2014), além de baterias e células combustíveis (Zeng *et al.*, 2014). Ainda, podem ser usadas como dispositivos voltados para tratamento de água (Wang *et al.*, 2014), em sistemas de filtração de água (Zhuang *et al.*, 2013) e ar (Wang *et al.*, 2018), na adsorção de contaminantes (Farias *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020) e para fabricação de sensores (Miranda *et al.*, 2020).

TÉCNICAS DE FIAÇÃO

Baseada no fenômeno de atomização eletro-hidrodinâmica, a eletrofiação é a técnica de fiação mais explorada na literatura. Isso se deve à sua adaptabilidade a diversos materiais poliméricos e capacidade de produzir fibras muito finas, com diâmetros entre 40 nm e 2 μ m (Medeiros *et al.*, 2009). Nesta técnica, é aplicada uma carga elétrica à solução polimérica de forma a gerar forças repulsivas (Subbiah *et al.*, 2005). Quando tais forças superam a tensão superficial do polímero em uma determinada voltagem crítica, leva-se à geração de um jato a partir de uma gota da solução polimérica formada na ponta da agulha do sistema, o qual é direcionado a um coletor com carga elétrica oposta à da solução (Medeiros *et al.*, 2009). A elevada razão entre a superfície e o volume do jato facilita a ocorrência da evaporação do solvente,

propiciando a constituição de fibras finas sobre o coletor (Medeiros et al., 2009; Parize, 2016).

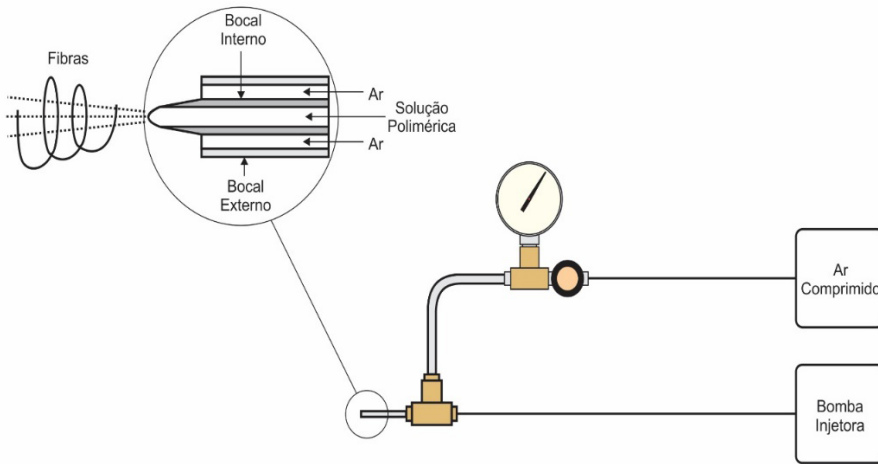
Embora o processo de eletrofiação apresente potencial para a formação de fibras em escala nanométrica em comparação com as demais técnicas, há certas limitações quanto à eficiência de produção e restrição à utilização de solventes com baixas constantes dielétricas (Medeiros et al., 2009). Tais solventes não são adequados à eletrofiação, visto que geralmente são considerados apolares, não favorecendo a mobilidade de cargas na solução, uma propriedade necessária para aumentar a condutividade e favorecer a posterior formação de fibras (Oliveira et al., 2011; Silva; Oliveira; Medeiros, 2015). Como alternativa, surgem outras técnicas como *solution blow spinning*, *centrifugal spinning*, *template synthesis*, *phase inversion*, *spinneret-based tunable engineered parameters* (STEP) ou *drawing techniques*. Entre as técnicas mencionadas, *solution blow spinning* e *centrifugal spinning* são relatadas como as mais vantajosas em relação à escalabilidade (Stojanovska et al., 2016; Dias et al., 2020; Song; Li; Wu, 2020).

Fiação por sopro em solução

O processo de fiação por sopro em solução utiliza elementos conceituais da eletrofiação e da fiação no estado fundido para a produção de fibras com diâmetros nas escalas micro e nanométrica. A técnica permite a produção de fibras com diâmetros equivalentes aos obtidos pela eletrofiação, porém, cerca de uma a duas ordens de grandezas inferiores aos produzidos por meio das técnicas convencionais de fiação (Oliveira et al., 2011; Silva; Oliveira; Medeiros, 2015; Dias et al., 2020). Caracteriza-se por apresentar alta produtividade e baixo custo, viabilizando a produção de fibras em escala comercial (Oliveira et al., 2011). Nesta técnica não é necessário o uso de altas voltagens como na eletrofiação, o que é vantajoso no sentido de permitir a fiação simultânea de células ou outros materiais tais como proteínas, vitaminas e hormônios (Oliveira et al., 2011). As fibras produzidas podem ser depositadas sobre qualquer tipo de superfície, inclusive tecidos vivos (Paschoalin et al., 2017).

A Figura 1 apresenta o aparato experimental da técnica de fiação por sopro em solução.

FIGURA 1 — REPRESENTAÇÃO DO APARATO EXPERIMENTAL EMPREGADO NA FIAÇÃO POR SOPRO EM SOLUÇÃO



Fonte: As autoras (2020).

Após a preparação da solução polimérica a ser fiada, esta é inserida no interior de uma seringa, a qual é acoplada a uma bomba de seringa responsável por manter a taxa de alimentação da solução polimérica constante (Parize, 2016). Um cilindro de gás comprimido ou um compressor é utilizado para o fornecimento de gás, frequentemente ar, nitrogênio ou argônio, sob uma determinada pressão, a qual é controlada por um manômetro e selecionada de acordo com a necessidade do experimento (Vaz; Vieira Costa; De Moraes, 2017). A seringa contendo a solução polimérica e o gás comprimido são conectados a um sistema de bocais concêntricos, onde a solução polimérica é alimentada na agulha interna, cuja projeção pode ser ajustada, enquanto o fluxo de gás é efetuado na agulha externa (Parize, 2016).

A solução polimérica é alimentada através da agulha interna até atingir a agulha externa, local onde a pressão é mais elevada (P_1) devido ao fluxo de gás pressurizado (Medeiros et al., 2009). Esta pressão reduz-se à pressão atmosférica (P_{atm}) na saída da agulha, promovendo o aumento da velocidade

de do gás passando ao redor da agulha interna, conforme o princípio de Bernoulli de conversão da variação da pressão em energia cinética (Parize et al., 2016). A geometria das agulhas leva à criação de uma região de baixa pressão (P2) nas adjacências da agulha interna, de maneira a constituir uma gota de solução polimérica na ponta (Medeiros et al., 2009). Tal gota adquire um formato cônico, similar ao cone de Taylor verificado na técnica de eletrospinning, estando sua deformação associada à ação de forças de arraste, devido à diferença de pressão promovida pela passagem de gás através da agulha externa, promovendo, posteriormente, a formação de um jato de solução polimérica a partir do estiramento do cone (Silva; Oliveira; Medeiros, 2015).

Uma vez que o jato de solução é expelido, este é acelerado até ser depositado sobre o coletor, o qual pode permanecer em condição estática ou rotacionar a uma velocidade pré-determinada e encontra-se posicionado a uma certa distância de trabalho. Durante este trajeto, tem-se a evaporação do solvente, verificando-se ao final do processo a formação de fibras com diâmetros nas escalas micro ou nanométrica, dependendo das condições de processamento (Parize, 2016).

A morfologia e as propriedades das fibras produzidas com a fiação por sopro em solução dependem de parâmetros relacionados à solução polimérica e ao processamento, os quais podem ser alterados de forma a conferir as propriedades e características desejadas para as fibras. Relativamente aos parâmetros da solução, destacam-se sua viscosidade, concentração, tensão superficial, massa molar e volatilidade do solvente (Oliveira et al., 2011).

PREPARAÇÃO

Preparo da solução polimérica para fiação

Durante a seleção dos polímeros e preparo da solução de fiação, alguns parâmetros devem ser considerados, dentre eles estão a viscosidade e a tensão superficial da solução, a concentração e a massa molar do polímero e o solvente adequado, principalmente quanto à volatilidade.

O parâmetro determinante para produzir fibras a partir do polímero em solução na fiação por sopro é o comportamento viscoelástico do material. Para produzir fibras, a solução polimérica deve apresentar viscosidade adequada e escoar continuamente quando submetida às forças externas.

É necessária uma concentração mínima de polímero para a interação entre as moléculas ter um comportamento viscoelástico para uma fiação bem-sucedida. A concentração ou viscosidade mínima, em geral, está associada a um nível de emaranhamento das cadeias no regime semidiluído. Deve-se encontrar um intervalo de concentração com propriedades viscoelásticas adequadas para cada material usado na fiação.

Outro parâmetro importante é a massa molar do polímero, pois normalmente o emaranhamento das cadeias é menor em polímeros de baixa massa molar, podendo impedir o estiramento na forma de um jato ou fibra polimérica. Para polímeros de massas molares menores, pode-se aumentar a concentração do polímero na solução. Já com aumento exagerado da concentração, a viscosidade pode ser demasiado alta e impossibilitar a fiação antes do emaranhamento das cadeias.

Considera-se, para a fiação, altas massas molares acima de 100.000, sendo as baixas entre 30.000 a 50.000 g.mol⁻¹. O solvente também influencia a fiação, em três processos principais: i) secagem das fibras por sua taxa de evaporação; ii) formação de *droplets*, modificando a tensão superficial do fluido; e iii) emaranhamento das cadeias devido à interação solvente-polímero. Uma interação polímero-solvente fraca pode gerar *droplets* devido à retração das moléculas após estiramento no formato de fibras. Para obter mantas poliméricas é necessário estudar diferentes concentrações do polímero em relação ao volume do solvente (% m/v), assim como diferentes solventes, visando a produção de fibras sem defeitos.

Ajuste dos parâmetros de fiação

Apesar dos parâmetros relacionados às características da solução polimérica serem de ampla relevância para a obtenção de fibras mais homogêneas e com boas propriedades, os parâmetros de processamento também são imprescindíveis, visto que a escolha adequada pode influenciar na formação, morfologia e propriedades do produto final. De maneira específica, os principais parâmetros do equipamento compreendem a taxa de alimentação da solução, a pressão aplicada ao gás, a distância de trabalho, a velocidade de rotação do coletor (caso não seja mantido estático) e os parâmetros ambientais (temperatura e umidade relativa). (Oliveira et al., 2011; Dadol et al., 2020).

A taxa de alimentação da solução polimérica está intrinsicamente relacionada à estabilização do jato e a formação de fibras contínuas, uma vez que, conforme a solução é ejetada na ponta da agulha, esta deve ser contínua para que não ocorra interrupção do processo. A taxa de alimentação pode influenciar tanto na formação das fibras quanto no diâmetro. De maneira geral, o uso de menores taxas possibilita a produção de fibras com diâmetros menores, enquanto maiores taxas podem impossibilitar a evaporação do solvente durante o trajeto da solução até o coletor (Oliveira *et al.*, 2011).

A diferença de pressão ao redor da ponta da agulha, como mencionado anteriormente, está associada à força de arraste, responsável pelo estiramento do jato de solução polimérica propiciando a formação das fibras. A pressão deve ser selecionada de acordo com a necessidade do experimento, visto que, para diferentes viscosidades das soluções formuladas exigem-se diferentes forças de arraste e, conseqüentemente, pressões, para que haja a deformação e o alongamento do fluido (Oliveira *et al.*, 2011). Na literatura, o efeito da pressão sobre o diâmetro das fibras produzidas é controverso (Oliveira *et al.*, 2011). Pressões elevadas implicam em maiores forças de arraste, de forma que a quantidade de material estirado seja maior, formando fibras com diâmetros maiores. Em contrapartida, para altas pressões, a velocidade do gás passando através da agulha externa é elevada, ocasionando uma evaporação mais acentuada do solvente (Oliveira *et al.*, 2011).

Coleta das fibras e parâmetros ambientais

Na fiação por sopro em solução não é necessário usar um aparato específico para a coleta das fibras, que podem ser diretamente depositadas nos mais diferentes substratos. Como exemplos, podem ser citados papel, metal ou plástico, tecido vivo (Chen *et al.*, 2017) e coletores com diferentes geometrias, que podem ser projetados e usados com rotação, estáticos ou em formatos tridimensionais (Sahay; Thavasi; Ramakrishna, 2011).

O método mais usual para coleta consiste em um coletor cilíndrico rotativo recoberto por papel alumínio e com velocidade de rotação controlada (Medeiros *et al.*, 2009; Teno; González-Gaitano; González-Benito, 2017). Também podem ser usados coletores estáticos, como placa de Petri

(Chen *et al.*, 2017), grades metálicas (Sett; Stephansen; Yarin, 2016) e de teflon (Behrens *et al.*, 2016). Os coletores ainda podem ser projetados para gerar uma estrutura tridimensional ou, por exemplo: um par de tubos alinhados paralelamente para o alinhamento das fibras, como o desenvolvido por Jia *et al.* (2013); na forma de gaiola, como reportado por Wang *et al.* (2017), o qual permite a passagem de ar para produzir uma estrutura altamente porosa; um arranjo circular de hastes curvadas com rotação, desenvolvido por Liang *et al.* (2017); uma câmara de vidro fechada com aquecimento e coletor circular para produzir fibras na forma de “bolas de algodão” (*cotton-wool*), como apresentado por Medeiros *et al.* (2021).

A distância de trabalho compreende a distância entre o sistema coaxial e o coletor. O ideal é que a distância de trabalho tenha um valor mínimo para que, durante o trajeto das fibras em direção ao coletor, ocorra a completa evaporação do solvente e um valor máximo, suficiente para que as fibras sejam depositadas sobre o coletor (Bhardwaj; Kundu, 2010).

Por fim, parâmetros ambientais, tais como umidade relativa e temperatura também influenciam o processo de fiação. Baixos valores de umidade relativa facilitam a evaporação do solvente, possibilitando a formação de fibras mais homogêneas (Bhardwaj; Kundu, 2010). Altos valores, em contrapartida, propiciam a união das fibras devido à presença de solvente no ambiente (Cui *et al.*, 2006). O efeito da temperatura influencia, sobretudo, na viscosidade das soluções e na taxa de evaporação do solvente, alterando a morfologia das fibras (Hofmann *et al.*, 2018).

Caracterização

O processo de rápida solidificação do polímero na técnica de fiação por sopro em solução pode gerar morfologias variadas, tais como nanofibras rugosas, lisas ou porosas. Uma caracterização das fibras nanoestruturadas deve incluir resultados de morfologia com microscopia eletrônica de varredura (MEV), de transmissão (MET) e microscopia de força atômica (MFA). As fibras podem ser caracterizadas por MEV para determinação do tamanho, diâmetro, porosidade, tamanho de poros e uniformidade das nanofibras. Para cada ensaio, cerca de 100 a 1000 nanofibras são

medidas com um *software* e os dados de tamanho de fibras são analisados estatisticamente.

No caso de nanofibras compósitas, a distribuição dos nanomateriais ao longo das fibras pode ser verificada com MET. Com MFA é feita caracterização morfológica dos materiais em nível molecular entre uma ponta de contato e a superfície a ser analisada. As medidas de MFA são realizadas localmente na interface do polímero puro e/ou de misturas de polímero com outros materiais, percorrendo áreas de centenas de angstroms quadrados, fornecendo a topografia da superfície das fibras.

Quanto à caracterização estrutural, a espectroscopia no infravermelho é usada para identificar os grupos funcionais e as interações a nível molecular. Análises térmicas, como a calorimetria exploratória diferencial, são usadas para avaliar propriedades térmicas das mantas e possíveis mudanças estruturais (cristalinidade e transições de fase) em função das condições experimentais usadas para produzir as nanofibras, devido à rápida solidificação dos polímeros durante a fiação. A cristalinidade também pode ser analisada por difração de raios-X. As propriedades mecânicas das mantas podem ser analisadas com analisadores dinâmico-mecânicos e o grau de hidrofiliçidade pode ser verificado com ângulo de contato (Oliveira *et al.*, 2013; Paschoalin *et al.*, 2017).

CONCLUSÃO

A fiação por sopro em solução combina elementos da eletrofiação e fiação no estado fundido e apresenta vantagens em relação às técnicas mais tradicionais, como alta produtividade, baixo custo, facilidade de operação e possibilidade de fiação com biomateriais, além de também produzir fibras poliméricas em escala micro e nanométrica. No preparo da fiação por sopro em solução, devem ser considerados parâmetros da solução polimérica e do processo de fiação que podem influenciar diretamente na formação e propriedades da fibra produzida. A técnica de fiação por sopro em solução é uma importante alternativa para obtenção de nanofibras poliméricas, com grande potencial comercial, aplicáveis em diversas áreas.

AGRADECIMENTOS

L. Vitorazi agradece à Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda da Universidade Federal Fluminense e à Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (Faperj) pela bolsa de Jovem Cientista do Nosso Estado (Processo E-26/202.724/2019) e pelo projeto E-26/010.000982/2019. Silva, M. B. agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudo de mestrado.

REFERÊNCIAS

- ASSIS, L. M. *et. al.* Review: Characteristics of Nanoparticles and Their Potential Applications in Foods. *Brazilian Journal of Food Technology*, Brasil, v. 15, p. 99-109, abr. 2012.
- BEHRENS, A. M. *et. al.* Rapid Fabrication of Poly(DL-lactide) Nanofiber Scaffolds with Tunable Degradation for Tissue Engineering Applications by Air-Brushing. *Biomedecial Materials*, Inglaterra, v. 11, n. 3, p. 035001, 2016.
- BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: A Fascinating Fiber Fabrication Technique. *Biotechnology Advances*, Holanda, v. 28, n. 3, p. 325-347, 2010.
- CHEN, C. *et. al.* Microchip-Based 3D-Cell Culture Using Polymer Nanofibers Generated by Solution Blow Spinning. *Analytical Methods*, Inglaterra, v. 9, n. 22, p. 3274-3283, 2017.
- CUI, W. *et. al.* Investigation on Process Parameters of Electrospinning System Through Orthogonal Experimental Design. *Journal of Applied Polymer Science*, Estados Unidos, v. 103, n. 5, p. 3105-3112, 2006.
- DADOL, G. C. *et. al.* Solution Blow Spinning (SBS) and SBS-Spun Nanofibers: Materials, Methods, and Applications. *Materials Today Communications*, Holanda, v. 25, p. 101656, 2020.
- DIAS, F. T. G. *et. al.* The Main Blow Spun Polymer Systems: Processing Conditions and Applications. *Journal of Polymer Research*, Suíça, v. 27, n. 8, p. 205, 2020.
- FARIAS, R. M. C. *et. al.* Green Synthesis of Porous N-Carbon/Silica Nanofibers by Solution Blow Spinning and Evaluation of Their Efficiency in Dye Adsorption. *Journal of Materials Research and Technology*, Holanda, v. 9, n. 3, p. 3038-3046 2020.
- GAO, K. *et. al.* Cellulose Nanofiber-Graphene All Solid-State Flexible Supercapacitors. *Journal of Materials Chemistry A*, Inglaterra, v. 1, n. 1, p. 63-67, 2012.
- GREINER, A.; WENDORFF, J. H. Electrospinning: A Fascinating Method for The Preparation of Ultrathin Fibres. *Angewandte Chemie International Edition*, Alemanha, v. 46, n. 30, p. 5670-5703, 2007.
- HOFMANN, E. *et. al.* Microfluidic Nozzle Device for Ultrafine Fiber Solution Blow Spinning with Precise Diameter Control. *Lab on a Chip*, Inglaterra, v. 18, n. 15, p. 2225-2234, 2018.
- HUANG, Z. *et. al.* A Review on Polymer Nanofibers by Electrospinning and Their Applications in Nanocomposites. *Composites Science and Technology*, Holanda, v. 63, n. 15, p. 2223-2253, 2003.

JIA, K. et. al. Solution Blown Aligned Carbon Nanofiber Yarn as Supercapacitor Electrode. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, Canada, v. 24, n. 12, p. 4769-4773, 2013.

KAMBLE, P. et. al. Nanofiber Based Drug Delivery Systems for Skin: A Promising Therapeutic Approach. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, Holanda, v. 41, p. 124-133, 2017.

KENRY; LIM, C. T. Nanofiber Technology: Current Status and Emerging Developments. *Progress in Polymer Science*, Holanda, v. 70, p. 1-17, 2017.

LI, F. et. al. Efficiency Enhancement of ZnO-Based Dye-Sensitized Solar Cell by Hollow TiO₂ Nanofibers. *Journal of Alloys and Compounds*, Holanda, v. 611, p. 19-23, 2014.

LI, R. et. al. Polycaprolactone/Poly(L-lactic Acid) Composite Micro/Nanofibrous Membrane Prepared through Solution Blow Spinning For Oil Adsorption. *Materials Chemistry and Physics*, Holanda, v. 241, p. 122338, 2020.

LIANG, F. et. al. Fabrication of Three-Dimensional Micro-Nanofiber Structures by a Novel Solution Blow Spinning Device. *AIP Advances*, Estados Unidos, v. 7, n. 2, p. 025002, 2017.

MEDEIROS, E. S. et. al. Solution Blow Spinning: A New Method to Produce Micro- and Nanofibers from Polymer Solutions. *Journal of Applied Polymer Science*, Estados Unidos, v. 113, n. 4, p. 2322-2330, 2009.

MEDEIROS, E. L. G. et. al. 3D Nanofibrous Bioactive Glass Scaffolds Produced by One-Step Spinning Process. *Ceramics International*, Holanda, v. 47, n. 1, p. 102-110, 2021.

MIRANDA, K. W. E. et. al. Halochromic Polystyrene Nanofibers Obtained by Solution Blow Spinning for Wine pH Sensing. *Sensors*, Suíça, v. 20, n. 2, 2020.

MNYUSIWALLA, A.; DAAR, A. S.; SINGER, P. A. Mind the Gap: Science and Ethics in Nanotechnology. *Nanotechnology*, Inglaterra, v. 14, n. 3, p. R9-R13, 2003.

OLIVEIRA, J. E. et. al. Nano and Submicrometric Fibers of Poly(D,L-Lactide) Obtained by Solution Blow Spinning: Process and Solution Variables. *Journal of Applied Polymer Science*, Estados Unidos, v. 122, n. 5, p. 3396-3405, 2011.

OLIVEIRA, J. E. et. al. Structural and Morphological Characterization of Micro and Nanofibers Produced by Electrospinning and Solution Blow Spinning: A Comparative Study. *Advances in Materials Science and Engineering*, Egito, v. 2013, p. 1-14, 2013. et al

PARIZE, D. D. S.; et al. Solution Blow Spinning: Parameters Optimization and Effects on the Properties of Nanofibers from Poly(lactic Acid)/Dimethyl Carbonate Solutions. *Journal of Materials Science*, Suíça, v. 51, n. 9, p. 4627-4638, 2016.

PASCHOALIN, R. T. et. al. Solution Blow Spinning Fibres: New Immunologically Inert Substrates for the Analysis of Cell Adhesion and Motility. *Acta Biomaterialia*, Holanda, v. 51, p. 161-174, 2017.

SAHAY, R.; THAVASI, V.; RAMAKRISHNA, S. Design Modifications in Electrospinning Setup for Advanced Applications. *Journal of Nanomaterials*, Egito, v. 2011, p. 1-17, 2011.

SETT, S.; STEPHANSEN, K.; YARIN, A. L. Solution-Blown Nanofiber Mats from Fish Sarcoplasmic Protein. *Polymer*, Holanda, v. 93, p. 78-87, 2016.

SHI, H. et. al. Highly Porous SnO₂/TiO₂ Electrospun Nanofibers with High Photocatalytic Activities. *Ceramics International*, Holanda, v. 40, n. 7, Part B, p. 10383-10393, 2014.

SILVA, T.H., OLIVEIRA, J.E., MEDEIROS, E.S. Obtenção de micro e nanofibras de PVC pela técnica de fiação por sopro em solução. *Polímeros*, Brasil, v. 25, n. 2, p. 229-235, 2015.

SONG, J.; LI, Z.; WU, H. Blowspinning: A New Choice for Nanofibers. *ACS Applied Materials & Interfaces*, Estados Unidos, v. 12, n. 30, p. 33447-33464, 2020.

STOJANOVSKA, E. et. al. A Review on Non-Electro Nanofibre Spinning Techniques. *RSC Advances*, Inglaterra, v. 6, n. 87, p. 83783-83801, 2016.

SUBBIAH, T. et. al. Electrospinning of Nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*, Estados Unidos, v. 96, n. 2, p. 557-569, 2005.

TENO, J.; GONZÁLEZ-GAITANO, G.; GONZÁLEZ-BENITO, J. Poly (Ethylene-Co-Vinyl Acetate) Films Prepared by Solution Blow Spinning: Surface Characterization and Its Relation with E. Coli Adhesion. *Polymer Testing*, Holanda, v. 60, p. 140-148, 2017.

VAZ, B. da S.; VIEIRA COSTA, J. A.; DE MORAIS, M. G. Production of Polymeric Nanofibers with Different Conditions of the Electrospinning Process. *Materia*, Brasil v. 22, n. 2, 2017.

WANG, H. et. al. Ultralight, Scalable, and High Temperature-Resilient Ceramic Nanofiber Sponges. *Science Advances*, Estados Unidos, v. 3, n. 6, p. e1603170, 2017.

WANG, Y. et. al. In Situ Synthesis of MnO₂ Coated Cellulose Nanofibers Hybrid for Effective Removal of Methylene Blue. *Carbohydrate Polymers*, Holanda, v. 110, p. 302-308, 2014.

WANG, H. et. al. High-Temperature Particulate Matter Filtration with Resilient Yttria-Stabilized ZrO₂ Nanofiber Sponge. *Small*, Alemanha, v. 14, n. 19, p. 1800258, 2018.

YU, J. et. al. Electrospun PLGA Fibers Incorporated with Functionalized Biomolecules for Cardiac Tissue Engineering. *Journal of Tissue Engineering Part A*, Estados Unidos, v. 20, n. 13-14, p. 1896-1907, 2014.

ZENG, L. et. al. Free-Standing Porous Carbon Nanofibers-Sulfur Composite for Flexible Li-S Battery Cathode. *Nanoscale*, Inglaterra, v. 6, n. 16, p. 9579-9587, 2014.

ZHANG, Y.; LIM, C.; RAMAKRISHNA, S.; HUANG, Z. Recent Development of Polymer Nanofibers for Biomedical and Biotechnological Applications. *J of Material Science: Materials in Medicine*, Alemanha, v. 16, n. 10, p. 933-946, 2005.

ZHUANG, X. et. al. Solution Blown Nanofibrous Membrane for Microfiltration. *Journal of Membrane Sciences*, Holanda, v. 429, p. 66-70, 2013.

Fabricação de materiais poliméricos complexos: impressão 3D

Marcela Piassi Bernardo^{1*}

Stanley Bilatto¹

INTRODUÇÃO

Métodos comuns de fabricação de microdispositivos incluem fotolitografia, litografia macia, gravação a quente, ablação a laser, moldagem por injeção e gravação a plasma. No entanto, na maioria destes métodos é necessário o uso de moldes e/ou máscaras durante o processo, não sendo estratégias ideais para sistemas de prototipagem rápida.

Avanços na impressão 3D, especialmente sistemas que utilizam a adição de camada sobre camada de material, além de outras tecnologias aditivas em geral, têm um papel importante na habilitação de novos paradigmas na microfabricação. Atualmente, existem várias técnicas para impressão 3D: fabricação por filamentos fundidos (FDM), estereolitografia (SLA); sinterização seletiva a laser (SLS) e fusão seletiva a laser (SLM); derretimento de feixe eletrônico (EBM) e fabricação de objetos laminados (LOM).

Uma vantagem da impressão 3D é a capacidade de fabricar várias estruturas e iterar projetos sem usar moldes ou máscaras, necessárias para a fundição convencional e tradicional do polidimetilsiloxano (PDMS) (Bilatto *et al.*, 2017). Essa tecnologia permite a prototipagem rápida e barata de microestruturas, reduzindo a complexidade do projeto e diminuindo a quantidade de equipamentos de suporte externo necessários. Um exemplo são as impressoras SLA, que empregam resinas curáveis e podem atingir resoluções na ordem de microns (10-100 μm), dependendo da óptica instalada. As impressoras 3D, ao contrário da

* Autora correspondente.

¹ Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação, São Carlos-SP, e-mail: marcelapiassib@gmail.com.-

usinagem padrão, podem fabricar objetos com geometrias não convencionais e combinar modelagem digital e impressão direta.

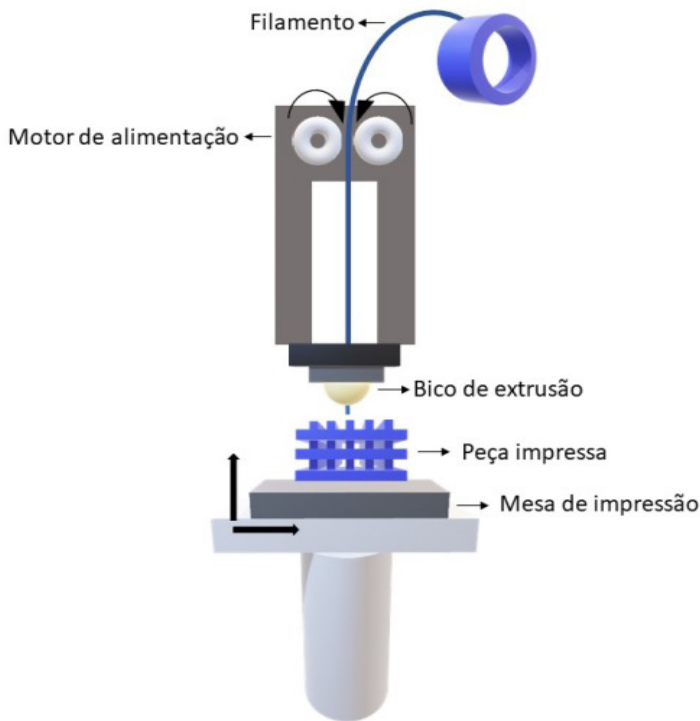
Neste capítulo serão abordados dois métodos mais comuns de impressão 3D: a estereolitografia (SLA) e a fabricação por filamentos fundidos (FDM).

A impressão 3D por fabricação por filamentos fundidos é uma das técnicas de prototipagem rápida mais utilizadas. Por meio de desenhos obtidos por programas de computadores é possível a manufatura automática de peças tridimensionais camada por camada, de acordo com o modelo virtual (Peltola et al., 2008).

Todas as técnicas de prototipagem rápida se baseiam no uso de informações de desenhos realizados em computador (CAD), que são convertidos em formato de arquivo *.STL*, aceito como padrão por toda a indústria de prototipagem rápida. Este formato é derivado do nome “estereolitografia”, a tecnologia mais antiga de prototipagem rápida (Webb et al., 2000). Basicamente, os dados CAD são convertidos em uma série de camadas transversais, a partir das quais são criados modelos sólidos por uma grande variedade de processos. Inicia-se a partir da camada inferior e prossegue para as camadas acima, onde cada camada é colada ou ligada à camada anterior produzindo um objeto sólido, como exibido pelo modelo virtual na Figura 1. Além disso, informações adicionais sobre o objeto de interesse podem ser obtidas por imagens de tomografia computadorizada ou por ressonância magnética (Landers et al., 2002).

A fabricação por filamentos fundidos apresenta-se como técnica promissora, pois é de baixo custo, de alta velocidade e de fácil manuseio. Consiste em uma cabeça móvel que deposita fios de materiais fundidos em um substrato (Figura 1). O líquido fundido extrudado deve estar suficientemente quente para ser fundido junto ao material previamente depositado e numa temperatura tal que permita o rápido resfriamento do polímero, de forma a minimizar o seu fluxo, mantendo-o em posição adequada com relação à camada anterior (Pham; Gault, 1998).

FIGURA 1 — REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA CONFIGURAÇÃO DE UMA IMPRESSORA 3D DE FABRICAÇÃO POR FILAMENTOS FUNDIDOS



Fonte: Os autores (2021)

Os materiais utilizados nesta modalidade de impressão 3D devem obedecer a alguns critérios de seleção, como apresentar características de transferência de calor e reologia adequada e comportamento de líquido fluido. A viscosidade do material é um fator crítico, pois deve ser alta o suficiente para fornecer suporte estrutural e, ao mesmo tempo, baixa o suficiente para permitir o processo de extrusão (Sood; Ohdar; Mahapatra, 2010). A seguir, são apresentados os principais polímeros empregados nas diversas técnicas de impressão 3D (Tabela 1).

TABELA 1 — PRINCIPAIS POLÍMEROS UTILIZADOS EM DIFERENTES PROCESSOS DE IMPRESSÃO 3D

Polímero	Método de impressão 3D	Propriedades térmicas*	Principais vantagens	Principais desvantagens	Referência
ABS (Acrilonitrila butadieno estireno)	FDM	TF: 200 °C Tg: 105 °C	Economicamente acessível; Resistência à impacto, tração e abrasão	Não é biodegradável	LIU; WANG, 2020
PETG (Poli(etileno tereftalato) modificado com glicol)	FDM	TF: 240 °C Tg: 85 °C	Resistência à impacto, tração e abrasão	Não é biodegradável	LIU; WANG, 2020
PLGA (Poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)	FDM	TF: 170 °C Tg: 50 °C	Altamente biocompatível e biodegradável	Baixa bioatividade	LIU; WANG, 2020
Resina epóxi-acrilato	SLA	TF: 240 °C Tg: 82 °C	Melhores qualidade de superfície	Propriedades mecânicas limitadas	LIU; WANG, 2020
PEEK (Poli(éter-éter-cetona))	SLS	TF: 350 °C Tg: 145 °C	Boas propriedades mecânicas	Superfícies rígidas	LIU; WANG, 2020

*:TF: temperatura de fusão; T_g: temperatura de transição vítrea

Fonte: Os autores (2021).

O ácido poli(láctico) (PLA) é um poliéster que pode ser obtido a partir de fontes renováveis, como amido de milho ou açúcar de beterraba. Devido a sua baixa taxa de cristalização, alta estabilidade dimensional, bem como propriedades ajustáveis pela adição de agentes de nucleação (por ex. partículas inorgânicas), o PLA é um dos polímeros mais utilizados em pesquisas e na indústria para impressão 3D. Os materiais impressos baseados em PLA podem ter diferentes geometrias, incluindo diferentes tamanhos de poros, importante propriedade para aplicações biológicas de implantes 3D.

O PLA apresenta baixa temperatura de fusão (aproximadamente 180 °C), com temperatura de transição vítrea ao redor de 60 °C (Stansbury; Idacavage, 2016). A Policaprolactona (PCL) é um polímero semicristalino termoplástico, com aprovação da *Food and Drug Administration of USA* (FDA) para aplicações biomédicas, por exemplo, como em materiais de sutura ou entrega de fármacos. Seu ponto de fusão é ao redor de 60 °C e a temperatura de transição vítrea ao redor de -60 °C. É um polímero ideal para impressão 3D por FDM por manter seu estado semicristalino e com baixas ou moderadas propriedades mecânicas, compatíveis com alguns tecidos humanos como cartilagens e articulações (Nadgorny; Ameli, 2018).

Polímeros naturais também podem ser utilizados para impressão 3D, especialmente para aplicações em regeneração de tecidos ou substituição de órgãos. A agarose é um dos principais biopolímeros utilizados em aplicações biomédicas em decorrência da sua excelente capacidade de formação de géis. Obtida a partir de algas marinhas, a agarose possui uma cadeia linear polimérica com unidade de repetições de agarobiose (dissacarídeo formado por unidades de D-galactose e 3,6-anidro-L-galactopiranoses). Este polímero é um bom substrato para o crescimento de células. O alginato, por sua vez, é obtido a partir de algas marrons e não causa processos inflamatórios quando implantados *in vivo*. É composto por unidades de ácido (1-4)- β -D-manurônico e ácido L-gulurônico. Sua estrutura polimérica permite o aprisionamento por capilaridade de moléculas de água e outras moléculas, bem como a difusão destas para o meio externo, característica ideal para uma “biotinta” a ser utilizada em impressão 3D (Gopinathan; Noh, 2018).

Uma das principais vantagens do sistema de impressão 3D por filamentos fundidos é o fácil manuseamento, necessidade de pouco espaço físico e o fato de que os polímeros utilizados nessas impressoras são baratos, não tóxicos e ambientalmente seguros. Objetos impressos por esta técnica são altamente estáveis, uma vez que apresentam higroscopia. Além disso, diferentes bicos extrusores podem ser usados nas impressoras, eliminando qualquer restrição quanto a composição dos materiais utilizados (Bartolo *et al.*, 2007).

As aplicações de objetos impressos não são restritas à área acadêmica e estão sendo utilizados em diferentes áreas, como saúde (implantes médicos), arqueologia, biorrobótica, componentes de aviões, objetos de decoração, entre outros. Há alguns exemplos de sucesso de uso de protótipos impressos, como na reconstrução de ossos e de peças perdidas ou deterioradas de museus (Novakova-Marcincinova; Ivan, 2012).

O uso de compósitos para impressão 3D tem atraído grande atenção da comunidade científica. Kollamaram *et al.* (2018) utilizaram o polímero Kollidon como matriz para o fármaco Ramipril (utilizado no tratamento de hipertensão), para obter filamentos adequados à impressão 3D, com o objetivo de construir sistemas de liberação controlada de fármacos.

Além disso, 80% da constituição de turbinas de aviões a jato já é produzida por impressão utilizando filamentos fundidos de polímeros como acrilonitrila estireno acrilato (ASA) e polieterimida (PEI), por meio de uma parceria entre Aurora Flight Sciences e Stratasys. Peças 3D impressas compostas por esses polímeros também foram utilizadas em aviões comerciais como o Airbus A350 (Klippstein *et al.*, 2018).

Assim, a impressão 3D é uma excelente e poderosa técnica, de fácil manuseio e baixo custo, que permite a obtenção de objetos tridimensionais desenhados em programas de computador em formato adequado. Os polímeros utilizados para a impressão 3D devem apresentar algumas características básicas, porém, diferentes materiais poliméricos vêm sendo aplicados em diferentes áreas do conhecimento.

PREPARAÇÃO E FABRICAÇÃO

Estereolitografia (SLA)

As impressoras SLA convertem polímero líquido em objetos sólidos 3D via polimerização cruzada induzida por radiação ultravioleta (UV). O processo inclui as seguintes etapas: desenvolvimento de uma estrutura digital 3D (realizada em programas tipo CAD); divisão dos dados estruturais 3D em camadas 2D, que serão utilizadas na impressão camada por camada; exposição das imagens 2D na solução de polímero utilizando um projetor *Digital Light Processing* (DLP) com uma fonte de luz UV; exposição por um tempo pré-definido para curar e solidificar o polímero interfacial entre a imagem projetada e a base de impressão, formando as camadas. O processo é repetido até a conclusão da impressão, seguida de remoção do polímero não curado por lavagem, utilizando solvente apropriado, sendo posteriormente seco com nitrogênio e finalmente realizada a cura final sob intensa luz UV. O passo na direção Z define a espessura de cada camada, podendo variar entre 20-100 μm , o que possui influência direta na resolução da impressão. A resolução em x-y define o tamanho dos *pixels* e, conseqüentemente, a qualidade dos detalhes do material a ser impresso.

Uma das desvantagens da impressão SLA ocorre durante a impressão de canais fechados, os quais podem apresentar rugosidade interna devido ao chamado “efeito colateral”. A primeira camada que irá fechar o canal não possui suporte por uma camada prévia, levando a um efeito de sobre-cura, podendo deformar a parte interior dos canais. Outras desvantagens são o tamanho limitado das peças a serem impressas, devido as dimensões do reservatório polimérico, ao projetor DLP e ao tamanho da base de impressão; e a dependência comercial dos polímeros foto-sensíveis utilizados neste tipo de impressão.

Fabricação por filamentos fundidos (FDM)

Os filamentos para impressão 3D FDM podem ser produzidos por duas principais técnicas: extrusão por capilar ou pistão e extrusão por rosca. A extrusão por pistão é usada para fabricação de pequenas quantidades de filamentos a serem usados em pequenos testes (Onagoruwa et al., 2001). A extrusão por rosca é utilizada para fabricação contínua de filamentos.

Extrusoras mono rosca apresentam o melhor custo-benefício e são o meio mais efetivo de fundir e bombear o polímero (Pan et al., 2012). As principais variáveis durante o processo de extrusão são: velocidade de rotação da rosca; temperaturas do barril e da matriz; temperatura da água do tanque e velocidade de alimentação na extrusora. É necessária a otimização desses parâmetros para que sejam obtidos filamentos contínuos, homogêneos, com diâmetro correto para uso em impressoras 3D.

De maneira geral, os filamentos devem ter diâmetro de 1,75 mm. Caso o filamento tenha diâmetro menor que o necessário, o fluxo de material na impressora 3D torna-se baixo, criando camadas com larguras e espessura menores do que o desejado. Isto resulta em fracas ligações entre as camadas, criando buracos e bolsões de ar que diminuem as propriedades mecânicas e o acabamento superficial das peças. Caso o diâmetro seja maior que o necessário, pode causar problemas na impressora 3D, como entupimentos, ou aumentar o fluxo de material pelo bico de impressão, o que diminui a precisão dimensional e o acabamento da superfície (Boparai; Singh; Singh, 2016).

Uma vez obtido o filamento, é possível realizar a impressão 3D FDM. O filamento é puxado por um mecanismo rolete “*pinch roller*”. Um motor deslizante é conectado a um dos roletes, fornecendo energia para que o filamento possa se mover pelo sistema (Figura 1). Os roletes podem ter a superfície dentada ou estriada, como uma engrenagem, para criar fricção suficiente entre o rolete e o filamento, de forma a alimentar a câmara de fusão sem interrupções. A pressão entre o filamento e os roletes deve ser suficiente para deformar levemente o filamento sem, no entanto, o esmagar (Agarwala et al., 1996).

Na câmara de fusão, o filamento é fundido. Esta câmara é composta de um bloco de metal com um orifício por onde o filamento fundido deve escoar até o bico de impressão. A câmara de fusão está intimamente ligada ao bico de impressão, permitindo livre movimento nas direções x e y (Mueller, 2012).

A geometria do bico de impressão em conjunto com a viscosidade do polímero fundido determina a pressão de queda do polímero no sistema e, por consequência, a força que o mecanismo de alimentação

deve fornecer. O tamanho do bico de impressão é um fator limitante para a resolução final do produto. Normalmente, o diâmetro do bico de impressão varia entre 200-500 μm . A partir do bico de impressão, o filamento é depositado sobre a superfície e camadas sobre camadas, de acordo com o modelo desenhado em computador (CAD), até que seja produzido o objeto tridimensional (Turner et al., 2014).

CARACTERIZAÇÃO

Caracterização morfológica

A deposição de camadas de polímeros pela impressão 3D, bem como a forma e a distribuição de poros, pode ser observada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A composição elementar dos objetos impressos pode ser avaliada por espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS ou EDX).

Para avaliação da relação das forças adesivas e coesivas que possam existir entre uma superfície sólida (objeto impresso) e um líquido, a técnica de ângulo de contato é a mais indicada.

Caracterização mecânica

As propriedades mecânicas, como compressão, tração, cisalhamento e torção podem ser estudadas em máquinas universais de ensaios mecânicos, mediante impressão tridimensional de corpos de prova adequados (que sigam padrões estabelecidos, como ASTM, ISO).

ESTUDO DE CASO

É comum o implante de parafusos em cirurgias de correção de distúrbios da coluna vertebral. Um princípio vital de segurança e exatidão desse procedimento é a diferença palpável entre osso cortical e esponjoso, constituídos por diferentes materiais e composições. Visando o desenvolvimento de protótipos para treinamento médico, Clifton et al. (2020) replicaram a interface corticocancelar vertebral utilizando a técnica de impressão 3D por FDM. Com a combinação de filamentos

de poli-ácido-lático (PLA) e acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS) foi possível obter uma ótima aproximação do formato, dureza e densidade da ultraestrutura do osso vertebral, sendo uma alternativa economicamente viável e útil para o aprimoramento cirúrgico.

CONCLUSÃO

A impressão 3D é uma poderosa técnica que permite a confecção de diferentes objetos tridimensionais com uma ampla gama de aplicações. Diferentes metodologias de impressão 3D estão disponíveis no mercado, permitindo a impressão de diferentes materiais poliméricos.

A impressão 3D permite a impressão de objetos camada por camada constituídos de polímeros ou de compósitos poliméricos, com base em modelos desenhados em apurados *softwares*. Os objetos impressos podem ter grande precisão de detalhes pelo controle das variáveis do processo. Esta técnica vem sendo utilizada na prototipagem de *scaffolds* na indústria médica, automobilística e até espacial. Outras aplicações incluem o reaproveitamento de resíduos para confecção de filamentos adequados para impressão 3D FDM.

AGRADECIMENTOS

Processos FAPESP: 2018/07860-9 e 2018/10899-4.

REFERÊNCIAS

- AGARWALA, M.K. et al. Structural Quality of Parts Processed by Fused Deposition. *Rapid Prototyping Journal*, v. 2, p. 4-19, 1996.
- BARTOLO, P. J. K. et al. Virtual and Rapid Manufacturing: Advanced Research in Virtual and Rapid Prototyping. *CRC Press*, v. 866, 2007.
- BILATTO, S. E. R. et al. Printed Microfluidic Filter for Heparinized Blood. *Biomicrofluidics*, v. 11, p. 034101, 2017.
- BOPARAI, K. S.; SINGH, R.; SINGH, H. Development of Rapid Tooling Using Fused Deposition Modeling: A Review. *Rapid Prototyping Journal*, v. 22, p. 281-299, 2016.
- CLIFTON, W. et al. Investigation and Feasibility of Combined 3D Printed Thermoplastic Filament and Polymeric Foam to Simulate the Cortiocancellous Interface of Human Vertebrae. *Scientific Reports*, v. 10, p. 2912, 2020.
- GOPINATHAN, J.; NOH, I. Recent Trends in Bioprinting for 3D Printing. *Biomaterials research*, v. 22, p. 1-15, 2018
- KLIPPSTEIN, H. et al. Fused Deposition Modeling for Unmanned Aerial Vehicles (uavs): A Review. *Advanced Engineering Materials*, v. 20, p. 1-17, 2018.
- KOLLAMARAM, G. et al. Low Temperature Fused Deposition Modeling (FDM) 3D Printing of Thermolabile Drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 545, p. 144-152, 2018.
- LANDERS, R.; PFISTER, A.; JOHN, H. R.; SCHMELZEISEN R. M. U. Fabrication of Soft Tissue Engineering Scaffolds by Means of Rapid Prototyping Techniques. *Journal of Materials Science*, v. 37, p. 3107-3116, 2002.
- LIU, F.; WANG, X. Synthetic Polymers for Organ 3D Printing. *Polymers*, v. 12, p. 1-34, 2020.
- MUELLER, B. Additive Manufacturing Technologies: Rapid Prototyping to Direct Digital Manufacturing. *Assembly Automation*, v. 32, 2012.
- NADGORNÝ, M.; AMELI, A. Functional Polymers and Nanocomposites For 3D Printing of Smart Structures and Devices. *Appl. Mater. Interfaces*, v. 10, p. 17489-17507, 2018.
- NOVAKOVA-MARCINCINOVA, L.; IVAN, K. Basic and Advanced Materials for Fused Deposition Modeling Rapid Prototyping Technology. *Manufacturing and Industrial Engineering*, v. 11, p. 24-27, 2012.
- ONAGORUWA, S.; SUSMITA, B.; BANDYOPADHYAY, A. *Fused Deposition of Ceramics (FDC) and Composites*, p. 224-231, 2001.

PAN, L. et al. Studies on Positive Conveying in Helically Channeled Single Screw Extruders. *Polymer Letters*, v. 6, p. 543-560, 2012.

PELTOLA, S. M. et al. A Review of Rapid Prototyping Techniques for Tissue Engineering Purposes. *Annals of Medicine*, v. 40, p. 268-280, 2008.

PHAM, D. T.; GAULT, R. S. A Comparison of Rapid Prototyping Technologies. *International Journal of Machine Tools & Manufacture*, v. 38, p. 1257-1287, 1998.

SOOD, K. A.; OHDAR, R. K.; MAHAPATRA, R. S. S. Parametric Appraisal of Mechanical Property of Fused Deposition Modelling Processed Parts. *Materials and Design*, v. 31, p. 287-295, 2010.

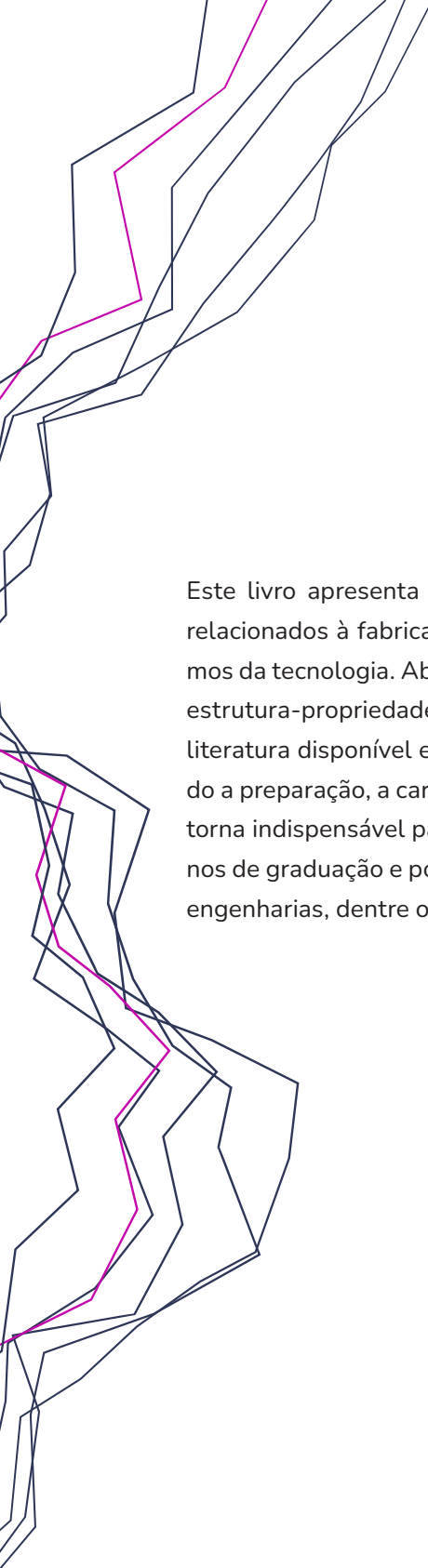
STANSBURY, J. W.; IDACAVAGE, M. J. 3D Printing with Polymers: Challenges Among Expanding Options and Opportunities. *Dental Materials*, v. 32, p. 54-64, 2016.

TURNER, B. et al. A Review of Melt Extrusion Additive Manufacturing Processes: I. Process Design and Modeling. *Rapid Prototyping Journal*. v. 20, p. 192-204, 2014.

WEBB, P. A. A Review of Rapid Prototyping (RP) Techniques in the Medical and Biomedical Sector. *Journal of Medical Engineering & Technology*, v. 24, p. 149-153, 2000.



Livro disponibilizado no site da Editora UFPR em dezembro de 2024.



Este livro apresenta características, propriedades e diversos processos relacionados à fabricação e uso de materiais poliméricos em variados ramos da tecnologia. Abordando diferentes tópicos, o enfoque na correlação estrutura-propriedade é sempre enfatizado, de modo a complementar a literatura disponível em fundamentos da ciência dos polímeros. Mesclando a preparação, a caracterização e a aplicação desses materiais, a obra se torna indispensável para cientistas da academia e da indústria e para alunos de graduação e pós-graduação nas áreas de química, física, farmácia e engenharias, dentre outras áreas.

Guilherme A. Ferreira
Organizador

