

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS
CURSO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

GÉSSICA PATRÍCIA DORNAS

**PROCESSAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MANTAS DE NANOFIBRAS DE
POLI(ÁLCOOL VINÍLICO) (PVOH) COM PRÓPOLIS OBTIDAS POR
ELETROFIAÇÃO**

BELO HORIZONTE

2018

GÉSSICA PATRÍCIA DORNAS

PROCESSAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MANTAS DE NANOFIBRAS DE
POLI(ÁLCOOL VINÍLICO) (PVOH) COM PRÓPOLIS OBTIDAS POR ELETROFIAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
no Curso de Graduação em Engenharia de
Materiais do Centro Federal de Educação
Tecnológica de Minas Gerais como requisito
parcial para obtenção do título de Bacharel em
Engenharia de Materiais.

Orientadora: Aline Bruna da Silva

BELO HORIZONTE

2018

GÉSSICA PATRÍCIA DORNAS

**PROCESSAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MANTAS DE NANOFIBRAS DE
POLI(ÁLCOOL VINÍLICO) (PVOH) COM PRÓPOLIS OBTIDAS POR
ELETROFIAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no Curso de Graduação em Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Materiais.

Aprovado em: 06/07/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Aline Bruna da Silva – Orientadora

Prof.^a Dr.^a Roberta Viana Ferreira

Prof. Dr. Sidney Nicodemos da Silva

AGRADECIMENTOS

Os meses dedicados à elaboração desse trabalho reafirmaram o que o CEFET já vinha me demonstrando ao longo da graduação: foco diz muito sobre abdicar. Precisei dizer muitos “nãos” ao longo desse caminho e, contar com o apoio, compreensão, ajuda e carinho de pessoas muito especiais, que firmaram uma parceria única em busca dos meus objetivos, foi fundamental nesse processo. Essas pessoas foram os maiores responsáveis por me manterem firme na direção do meu sonho, por não me deixarem fraquejar. Algumas dessas pessoas talvez nem tenham dimensão do quão essenciais foram, mas em alguns dias apenas a gentileza da secretária do DEMAT ao entregar a chave do Laboratório de Biomateriais ou a atenção das estagiárias do Laboratório de Caracterização já era tudo o que bastava para fazer do dia menos árduo. Por isso deixo aqui registrado minha gratidão a cada um que contribuiu para a execução desse projeto. Em especial, gostaria de deixar registrado meus agradecimentos a algumas pessoas:

Professora Aline, obrigada pela orientação, por toda compreensão e atenção.

Professores Roberta e Sidney, obrigada pela disponibilidade em compor a banca e contribuir com esse projeto.

Minhas florzinhas, gratidão por cumprirem tão bem o papel de família. Nossa casinha se fez meu lar.

Mãe, obrigada por tudo. Sem palavras para você, só Deus para compreender a imensidão da minha gratidão e amor.

Familiares, obrigada por compreenderem minhas ausências físicas e às vezes mentais, por todas as orações, por toda ajuda e por todo carinho.

Leandro, obrigada, obrigada, obrigada, por tudo e por tanto. Serei sempre grata por tudo que você fez por mim durante toda a jornada de CEFET e principalmente durante a execução desse trabalho.

RESUMO

As nanofibras possuem propriedades que as tornam potencialmente interessantes para a utilização em várias aplicações no campo biomédico. Uma dessas aplicações é como curativo para o tratamento de feridas, em função, principalmente, de permitirem a drenagem do excesso de exsudado e permeação de oxigênio. A técnica de eletrofiação utilizada para o processamento das nanofibras permite a incorporação de compostos visando a obtenção de propriedades específicas. Neste estudo foi utilizada a própolis, uma substância natural de composição química complexa que apresenta vários compostos com atividades biológicas benéficas reportadas em diversos estudos, como, por exemplo, a atuação no processo de cicatrização de lesões cutâneas. Tintura de própolis de álamo e extrato de própolis verde foram incorporados a uma solução de poli(álcool vinílico) (PVOH) 10% m/m nas concentrações de 5, 10 e 15% m/m para a produção de mantas não tecidas de nanofibras por eletrofiação para a utilização em curativos. O estudo demonstrou que os parâmetros utilizados no processo (tensão de 20kV, distância da ponta da agulha ao coletor de 11,5cm e rotação de 300rpm) permitiram produzir mantas com nanofibras uniformes e contínuas de PVOH com própolis, com diâmetro médio entre (212 ± 21) nm e (314 ± 34) nm. Além da análise morfológica, as fibras coletadas foram caracterizadas termicamente por DSC e TGA e quimicamente por FTIR, e os resultados mostraram que a própolis não afeta significativamente o comportamento térmico e químico das nanofibras de PVOH. Os extratos e a tintura adquiridos foram submetidos a ensaio microbiológico, mas não apresentaram efeito antimicrobiano para os microrganismos estudados.

Palavras-chave: Eletrofiação. PVOH. Própolis. Curativos.

ABSTRACT

Nanofibers have properties that make them potentially interesting for use in various applications in the biomedical field. One such application is as a dressing for the treatment of wounds, mainly due to the drainage of excess exudate and oxygen permeation. The electrochemical technique used for the processing of nanofibers allows the incorporation of compounds in order to obtain specific properties. In this study, propolis was used, a natural substance with complex chemical composition that presents several compounds with beneficial biological activities reported in several studies, such as, for example, the action in the healing process of cutaneous lesions. Tincture of poplar propolis and green propolis extract were incorporated into a solution of 10% wt of poly(vinyl alcohol) (PVOH) at the concentrations of 5, 10 and 15% wt for the production of nonwoven nanofiber webs by electrolysis for use in dressings. The study demonstrated that the parameters used in the process (tension of 20kV, distance from needle tip to collector of 11.5cm and rotation of 300rpm) allowed to produce blankets with uniform and continuous nanofibers of PVOH with propolis, with a mean diameter between (212 ± 21) nm and (314 ± 34) nm. In addition, to the morphological analysis, the collected fibers were thermally characterized by DSC and TGA and chemically by FTIR, and the results showed that propolis doesn't significantly affect the thermal and chemical behavior of PVOH nanofibers. The extracts and the dye acquired were submitted to microbiological test, but didn't present antimicrobial effect for the studied microorganisms.

Keywords: Electrospinning. PVOH. Propolis. Wound dressing.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática da configuração do aparato de eletrofiação.....	16
Figura 2 – Técnica de eletrofiação (a) horizontal e (b) vertical	17
Figura 3 – Estruturas químicas da (a) apigenina (b) galangina (c) pinocembrina e (d) artepillin C	25
Figura 4 – Fórmula geral do PVOH	26
Figura 5 - Síntese do PVOH.....	27
Figura 6 - Efeitos do grau de polimerização e do grau de hidrólise nas propriedades do PVOH	27
Figura 7 – Efeitos na viscosidade da variação do peso molecular e concentração da solução aquosa de PVOH	29
Figura 8 – Efeitos na viscosidade da variação do tempo de armazenamento de soluções aquosas de PVOH com diferentes graus de hidrólise.....	30
Figura 9 – Fluxograma da metodologia.....	33
Figura 10 – Aparato utilizado para coleta das nanofibras	35
Figura 11 – Resultado do ensaio de difusão em disco com os microorganismos (a) <i>Staphylococcus aureus</i> (b) <i>Escherichia coli</i> e (c) <i>Candida albicans</i> para a Tintura Mãe de Própolis de Álamo	39
Figura 12 – Resultado do ensaio de difusão em disco com os microorganismos (a) <i>Staphylococcus aureus</i> (b) <i>Escherichia coli</i> e (c) <i>Candida albicans</i> para o Extrato de Própolis Verde da Apis Flora Industrial e Comercial Ltda e Extrato de Própolis Verde Alecrim do Apiários Mackllani Ltda.....	40
Figura 13 – Micrografia obtida por MEV e distribuição de diâmetro das mantas de nanofibras de PVOH	42
Figura 14 – Micrografias obtidas por MEV e distribuição de diâmetro das mantas de nanofibras (a) PVOHTin5 (b) PVOHTin10 e (c) PVOHTin15.....	43
Figura 15 – Micrografias obtidas por MEV a e distribuição de diâmetro das mantas de nanofibras (a) PVOHExt5 (b) PVOHExt10 e (c) PVOHExt15.....	45
Figura 16 – Curva de DSC para amostra de PVOH	47

Figura 17 – Curva de DSC para o primeiro ciclo de aquecimento.....	48
Figura 18 – Curva de DSC para o segundo ciclo de aquecimento	49
Figura 19 – Espectro das amostras analisadas por FTIR.....	51
Figura 20 – Espectro das amostras analisadas por FTIR em escala reduzida	52
Figura 21 – Curva de TGA das amostras de PVOH e PVOH com extrato de própolis verde .	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Evolução da técnica de eletrofiação	15
Tabela 2 – Síntese dos efeitos dos parâmetros que afetam a morfologia das fibras.....	20
Tabela 3 – Propriedades físicas do PVOH completamente hidrolisado	28
Tabela 4 – Síntese dos parâmetros utilizados na eletrofiação	35
Tabela 5 – Especificação da concentração de componentes utilizados e identificação das mantas eletrofiadas	36
Tabela 6 – Diâmetro das nanofibras de PVOH com tintura de própolis de álamo.....	44
Tabela 7 – Diâmetro das nanofibras de PVOH com extrato de própolis verde.....	46
Tabela 8 – T_g , T_m e cristalinidade das amostras de PVOH e aditivadas com tintura de própolis de álamo e extrato de própolis verde	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral.....	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 Eletrofição.....	14
3.1.1 <i>Parâmetros do processo de eletrofição</i>	17
3.1.2 <i>Aplicação das nanofibras como curativo em tratamento de feridas</i>	20
3.2 Compostos naturais para o tratamento de feridas	22
3.3 Extrato de própolis	23
3.4 Poli(álcool vinílico).....	26
4 MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1 Materiais	32
4.2 Metodologia	32
4.2.1 <i>Ensaio microbiológico</i>	33
4.2.2 <i>Preparação das soluções</i>	34
4.2.3 <i>Obtenção das nanofibras</i>	34
4.2.4 <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	36
4.2.5 <i>Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	36
4.2.6 <i>Espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i>	36
4.2.7 <i>Análise termogravimétrica (TGA)</i>	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
5.1 Ensaio microbiológico.....	38
5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	42
5.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	47
5.4 Espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	50

5.5 Análise termogravimétrica (TGA)	53
6 CONCLUSÃO.....	55
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

1 INTRODUÇÃO

Dentre as várias nanoestruturas desenvolvidas como materiais de engenharia, as nanofibras são favorecidas por sua alta área superficial, elevada porosidade e desempenho mecânico, além da facilidade de fabricação pela técnica de eletrofiação. Em função das propriedades exibidas pela configuração física das nanofibras, elas têm sido amplamente utilizadas no campo biomédico, na qual entre as aplicações destacam-se a geração de *scaffolds* para a engenharia de tecidos, sistemas de liberação controlada de fármacos, imobilização de enzimas visando modular a taxa de reações biológicas, curativos e implantes funcionalizados (HAIDER; HAIDER; KANG, 2015; LIU *et al.*, 2017).

Como curativo, as nanofibras se apresentam como uma alternativa interessante uma vez que servem ao propósito de facilitar a cicatrização de feridas por permitirem a drenagem do exsudado e permeação de oxigênio devido a sua estrutura porosa, além de cumprirem a função básica exigida para a função: proteger a ferida de uma infecção adicional. A técnica de eletrofiação permite ainda a incorporação de compostos durante a manufatura das fibras visando a obtenção de propriedades diversas (ZAHEDI *et al.*, 2010).

Compostos naturais que exibem papel ativo benéfico na melhora de enfermidades estão em evidência nos dias atuais, dentre esses, aqueles que possuem capacidade de estimular a reparação tecidual são visados para o desenvolvimento de formulações não tóxicas e que permitam modular o processo inflamatório em um período mais curto e com o mínimo de complicações para o paciente. Os fitoquímicos podem afetar positivamente vários estágios do processo de cicatrização de feridas, através de efeitos antimicrobianos, anti-inflamatórios, antioxidantes, estimulação da síntese de colágeno, proliferação celular e efeitos angiogênicos, o que se deve à variedade de constituintes potencialmente capazes de melhorar o processo de cura (DZIALO *et al.*, 2016).

Segundo Pinto, Prado e Carvalho (2011) a própolis é uma das misturas mais heterogêneas de ocorrência natural. Acredita-se que mais de 300 substâncias já foram identificadas em amostras de própolis. Sua composição química é muito variada, pois é dependente do clima e flora específicos de cada região, mas apesar disso, os compostos fenólicos representam o seu principal constituinte, que juntamente com os ácidos carboxílicos modificados, formam componentes estratégicos, pois são responsáveis pelos seus principais efeitos biológicos. Estudos sugerem, conforme exposto por Pessolato *et al.* (2011), que a própolis possui efeitos antimicrobianos, antiinflamatórios, antioxidantes, anestésicos, imunossuppressores, imunoestimulantes e desbridantes.

Nesse contexto, a estratégia de combinar poli(álcool vinílico) (PVOH) com própolis para o processamento de mantas nanofibrosas por eletrofiação considera que o uso de matrizes de nanofibras auxiliam o processo de regeneração tecidual e que a associação da própolis potencializará os efeitos cicatrizantes, sugerindo a sua utilização como curativo para o tratamento de feridas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi produzir nanofibras de poli(álcool vinílico) (PVOH) com própolis na forma de extrato e tintura através da técnica de eletrofição.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos foram:

- Caracterizar microbiologicamente os extratos e as tinturas adquiridas;
- Preparar a solução polimérica com própolis através de mistura simples;
- Caracterizar as mantas nanofibrosas produzidas morfologicamente, termicamente e quimicamente.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Eletrofiação

Em síntese, a eletrofiação é “um processo de conversão de uma solução polimérica ou polímero fundido, com ou sem aditivos, em nanofibras sólidas mediante aplicação de força elétrica” (THAKKAR; MISRA, 2017, p. 148, tradução nossa).

Segundo Liu *et al.* (2017), pode ser considerada como uma das técnicas mais simples, versáteis e econômicas para a fabricação de fibras em escalas micro e nanométricas. As fibras eletrofiadas podem ainda possuir características nano-hierárquicas que as tornam potencialmente interessantes para uma ampla gama de aplicações (VASHISTH; PRUTHI, 2016).

A técnica de eletrofiação como conhecida atualmente tem suas raízes no final da década de 1890 com a técnica de eletropulverização, sendo transformada em eletrofiação no ano de 1900 e se constituindo então como uma abordagem única para a produção de fibras poliméricas utilizando força elétrica. Em 1934 Formhals patenteou o primeiro instrumento de eletrofiação (THENMOZHI *et al.*, 2017; ZAHEDI *et al.*, 2009).

Esse instrumento, no entanto, possuía alguns inconvenientes, como a secagem incompleta das fibras, o que resultava em uma estrutura de rede menos agregada. Logo, em patentes subsequentes a abordagem desenvolvida por Formhals foi refinada para proporcionar um maior tempo de secagem das fibras (PATIL *et al.*, 2017 apud FORMHALS, 1934 e FORMHALS, 1939). A tabela 1 apresenta o histórico de desenvolvimentos da técnica.

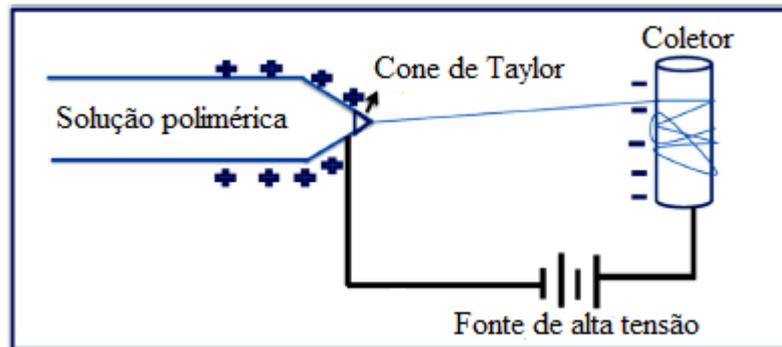
Tabela 1 – Evolução da técnica de eletrofiação

Ano	Natureza dos eventos
1900, 1902	Processo de eletrofiação patenteado por Cooley e Morton
1914	Ejeção do jato na ponta do capilar metálico por John Zeleny
1934	Patente da invenção do instrumento de eletrofiação por Formhals: Fabricação de acetato de celulose usando acetona como solvente
1936	Patente para formação de fibras de explosão de ar a partir de massa fundida em vez de solução por Norton
1938, 1940	Outras patentes de Formhals
1950-1959	Produção em fábrica de nanofibras como filtro para aplicação em máscara de gás (apenas na URSS)
1960	Estudo de formação do jato e fibras eletrofiadas como material de filtração
1964	Formação do cone de Taylor
1971	Aparelho para girar microfibras acrílicas por Baumgarten
1995	Doshi e Reneker relataram que o diâmetro das fibras diminui com o aumento da distância do coletor para a ponta da agulha e para o cone de Taylor
1996-2001	Publicações relacionadas aos parâmetros de trabalho, tais como solução, parâmetros ambientais e instrumentais
2001-2005	Síntese e caracterização de nanofibras eletrofiadas Diferentes tipos de instrumentos de eletrofiação foram introduzidos por diferentes pesquisadores de vários países
2006-hoje	Trabalhos visando aplicações das nanofibras eletrofiadas como sensores, materiais para engenharia de tecidos, proteção contra estimulantes de guerra química, filtros, <i>scaffolds</i> , baterias, catalisadores e sistemas de administração de fármacos no campo médico

Fonte: adaptado de THENMOZHI *et al.*, 2017.

O aparato para a técnica de eletrofiação consiste em três partes principais: fonte de energia de alta tensão, fieira (conjunto seringa e agulha) e coletor. A representação esquemática da configuração do aparato pode ser visualizada na figura 1. A solução a ser eletrofiada, alimentada na seringa, possui uma certa tensão superficial. Ela é carregada externamente através da fonte de alta tensão conectada à agulha. O coletor, por sua vez, é aterrado e colocado a uma certa distância para coletar as fibras ejetadas (PATIL *et al.*, 2017).

Figura 1 – Representação esquemática da configuração do aparato de eletrofiação

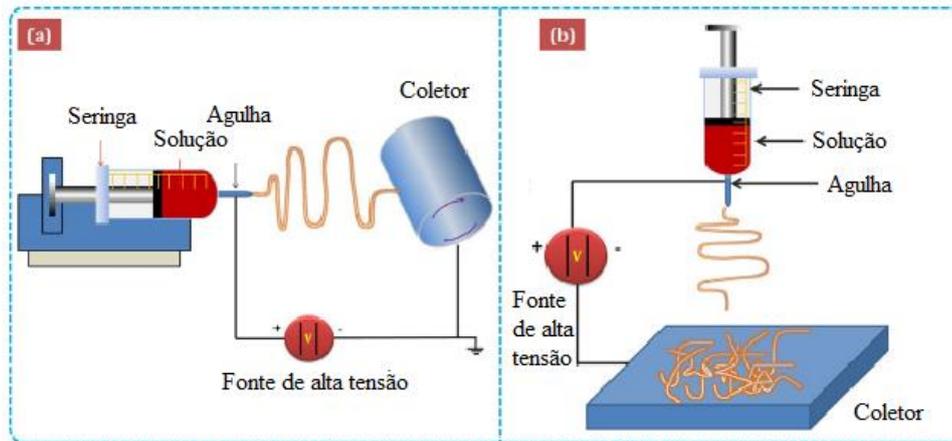


Fonte: adaptado de THENMOZHI *et al.*, 2017.

Durante a aplicação da alta tensão um campo elétrico é gerado. Sob a ação do campo elétrico a solução de polímero na ponta da agulha fica eletrostaticamente carregada e, à medida que o mesmo aumenta, a superfície hemisférica do líquido se expande, dando origem a uma forma cônica conhecida como cone de Taylor. Um jato de solução polimérica é ejetado na ponta do cone de Taylor quando a força eletrostática supera a tensão superficial da solução. O jato é acelerado pelo campo elétrico e se torna mais fino à medida que se aproxima do coletor. Durante a aproximação o solvente evapora e as cadeias de polímero tendem a esticar e orientar. Finalmente, ao se depositar sobre o coletor, o jato se solidifica em uma nanofibra. O resultado é uma manta de fibras não tecidas, formada de minúsculas fibras com o diâmetro na faixa de nanômetros a micrometros (THENMOZHI *et al.*, 2017; THAKKAR; MISRA, 2017; LIU *et al.*, 2017).

Atualmente estão disponíveis no mercado diversos tipos de instrumentos para eletrofiação, que se diferem pelo tipo de feira e coletor, por exemplo. De acordo com Patil *et al.* (2017), alguns utilizam material de eletrodo na feira, enquanto outros utilizam o conjunto seringa e agulha. Duas classes principais de instrumentos estão em prática: horizontal e vertical, esquematizados na figura 2. No tipo horizontal, a força efetiva é a força de atração electrostática. No tipo vertical, há o somatório da força eletrostática e da força gravitacional.

Figura 2 – Técnica de eletrofiação (a) horizontal e (b) vertical



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

3.1.1 Parâmetros do processo de eletrofiação

As propriedades da nanofibra obtida por meio da eletrofiação são afetadas pelos parâmetros de processo e pelas propriedades da solução, que são definidos por Thakkar e Misra (2017) como parâmetros críticos de processo (CPP) e atributos críticos de fabricação (CMA), respectivamente. Os efeitos dos parâmetros do processo nas propriedades das nanofibras estão descritos a seguir:

- a) *Diferença de potencial*: é um parâmetro crítico para iniciar a eletrofiação, pois as forças eletrostáticas determinadas pela diferença de potencial, induzem a formação do cone de Taylor, e quando essas forças superam a força de tensão superficial, o cone de Taylor é distorcido e o jato ejetado. Há uma pequena disputa sobre o comportamento da diferença de potencial aplicada no processo de eletrofiação, conforme relatado por Zhang *et al.* (2005). Liu *et al.* (2017) relataram que aumentar a diferença de potencial implica no aumento das forças eletrostáticas, que aumenta a densidade de carga e acelera o jato, resultando no alongamento da fibra e, em última análise, favorecendo a formação de fibras mais finas. Por outro lado, o tempo que o jato leva para percorrer a distância entre a agulha e o coletor diminui conforme o aumento da diferença de potencial, o que resulta no aumento do diâmetro da fibra. Além disso, o aumento da diferença de potencial pode aumentar as forças repulsivas atuantes no jato, podendo separar o jato em pequenas gotas e culminar na deposição de gotas no coletor. Na maioria dos casos,

segundo Bhardwaj e Kundu (2010), maior tensão provoca maior alongamento da solução devido à ação das forças eletromagnéticas no jato, bem como o campo elétrico mais forte, e esses efeitos levam à redução do diâmetro da fibra.

- b) *Distância entre a ponta da agulha e o coletor*: a estrutura e a morfologia das fibras são altamente afetadas pela distância entre a ponta da agulha e o coletor conforme relatado por Subbiah *et al.* (2005) devido à influência do tempo de deposição, da taxa de evaporação e do intervalo de instabilidade. Quanto menor a distância entre a ponta da agulha e o coletor menor será o tempo de vôo do jato, o que significa que não há tempo suficiente para o solvente evaporar completamente, podendo resultar na coleta de fibras úmidas e morfologia de gotas. Portanto, a distância entre a ponta da agulha e o coletor deve ser otimizada.
- c) *Taxa de alimentação*: o diâmetro da fibra e o diâmetro do poro, segundo Bhardwaj e Kundu (2010), aumentam com o aumento da taxa de alimentação, pois menor é o tempo de evaporação do solvente. A morfologia da fibra também pode sofrer alterações, pois altas taxas de fluxo implicam em tempo insuficiente para secagem das fibras, resultando em fibras frisadas.
- d) *Temperatura de operação*: a elevação da temperatura culmina na expansão das moléculas do polímero, levando a uma redução do grau de emaranhamentos da cadeia e, portanto, na redução da viscosidade da solução. A redução da viscosidade da solução, por sua vez, implica na redução da força viscoelástica para contrariar a força eletrostática de estiramento, o que resulta, em última instância, na redução do diâmetro da fibra. Além da redução dos diâmetros das fibras, o número de fibras depositadas no coletor aumenta com o aumento da temperatura da solução. Para uma massa fixa, a diminuição no diâmetro médio da fibra implica em um aumento no comprimento total das fibras. Para um período de deposição fixo, o aumento no comprimento total das fibras resulta em um aumento do número de fibras depositadas (MIT-UPPATHAM; NITHITANAKUL; SUPAPHOL, 2004).
- e) *Umidade*: em acordo com o exposto por Patil (2017) a umidade afeta a morfologia da fibra. Foi demonstrado por Casper *et al.* (2004) que a alta umidade faz com que a água condense na superfície da fibra, formando poros ao evaporar. Aumentar a umidade faz com que aumente o número de poros, além de aumentar o diâmetro e distribuição de diâmetro dos mesmos. Em umidades baixas um solvente volátil evapora mais rapidamente. Em alguns casos, conforme relatado por Bhardwaj e Kundu (2010), a taxa de evaporação pode ser mais rápida que a remoção do

solvente da ponta da agulha, o que acarretaria em um problema ao processo de eletrofiação.

- f) *Viscosidade da solução*: Bhardwaj e Kundu (2010) relataram que, para uma viscosidade muito baixa não existe formação de fibras contínuas e, para uma viscosidade muito elevada, existe dificuldade na ejeção do jato de solução, exigindo da solução uma viscosidade ideal para eletrofiação. Isso se deve ao fato do processo de eletrofiação se basear no alongamento uniaxial de um jato carregado eletricamente, conforme exposto por Bhardwaj e Kundu (2010, apud HAIDER *et al.*, 2013). O alongamento do jato carregado é significativamente afetado pela alteração da viscosidade da solução polimérica. Se a viscosidade é baixa, o campo elétrico aplicado e a tensão superficial da solução fazem com que as cadeias poliméricas entrelaçadas se quebrem em fragmentos antes de chegar ao coletor, formando gotas. O aumento da viscosidade da solução polimérica, por sua vez, supera a ação da tensão superficial, resultando em nanofibras uniformes. Além disso, aumentar a viscosidade além de um valor crítico, dificulta o fluxo da solução através da ponta da agulha (a solução de polímero seca na ponta da agulha e a bloqueia), o que resulta em nanofibras defeituosas.
- g) *Concentração da solução polimérica*: segundo Sukigara *et al.* (2003), existe uma concentração mínima na qual fibras são formadas. Em concentrações menores que a mínima, são depositadas gotas, as quais são resultado da atuação da tensão superficial que favorece formas esféricas com menor área superficial por massa. Para concentrações superiores à mínima, o que se observa é uma mistura de gotas e fibras. Para uma concentração ótima são obtidas fibras contínuas e acima dela a formação contínua de fibras é impedida devido a incapacidade de manutenção do fluxo da solução na ponta da agulha. Além disso, quanto maior a concentração, observa-se que maior é o diâmetro médio da fibra (BHARDWAJ e KUNDU, 2010).
- h) *Peso molecular*: segundo Tan *et al.* (2005), o peso molecular afeta a morfologia da fibra em função do número de emaranhamentos da cadeia polimérica na solução, que reflete na sua viscosidade. Soluções de baixo peso molecular tendem a formar gotas, devido à ação significativa da tensão superficial, enquanto soluções de alto peso molecular tendem a formar fibras de diâmetros médios maiores. O peso molecular desempenha papel importante na determinação da concentração mínima de polímero para obtenção de fibras contínuas.

- i) *Tensão superficial*: desempenha um papel crítico no processo de eletrofição uma vez que a formação de gotas ou fibras depende da tensão superficial da solução. Em geral, a alta tensão superficial de uma solução inibe a eletrofição uma vez que causa instabilidade ao jato, levando à deposição de gotículas no coletor. Uma menor tensão superficial contribui para que a eletrofição ocorra sob a ação de um campo elétrico mais baixo, mas não necessariamente uma menor tensão superficial de um solvente será sempre mais adequada para o processo. Em resumo, a tensão superficial define os limites inferior e superior da janela de eletrofição, mantidas as demais variáveis constantes (BHARDWAJ e KUNDU, 2010 apud HOMAN *et al.*, 2001; HAGHI e AKBARI, 2007; FONG *et al.*, 1999; ZHANG *et al.*, 2005; PHAM *et al.*, 2006).

A tabela 2 apresenta uma síntese dos parâmetros descritos anteriormente e seus efeitos na morfologia das fibras.

Tabela 2 – Síntese dos efeitos dos parâmetros que afetam a morfologia das fibras

	Parâmetros	Efeito na morfologia das fibras
Parâmetros da solução	Concentração do polímero ↑	Emaranhamentos ↑ Viscosidade ↑
	Peso molecular ↑	Emaranhamentos ↑ Viscosidade ↑
	Viscosidade da solução ↓	Diâmetro ↓ Deposição de gotas ↓ Fibras regulares ↑
	Tensão superficial ↑	Deposição de gotas ↑
Parâmetros do processo	Diferença de potencial ↑	Diâmetro ↓ Deposição de gotas ↑ Distribuição de diâmetro ↑
	Distância entre a fiação e o coletor ↓	Diâmetro ↑ Deposição de gotas ↑ Poros ↑
	Taxa de alimentação ↑	Diâmetro ↑ Deposição de gotas ↑ Poros ↑
Condições ambientais	Temperatura ↑	Diâmetro ↓
	Umidade ↑	Poros ↑

Legenda: ↑ aumento; ↓ redução.

Fonte: adaptado de LIU *et al.*, 2017.

3.1.2 Aplicação das nanofibras como curativo em tratamento de feridas

Em acordo com o exposto por Haider, Haider e Kang (2015), as pesquisas envolvendo nanofibras com aplicações no campo biomédico centram-se na geração de *scaffolds* para a

engenharia de tecidos, curativos, sistema de liberação de fármacos e imobilização de enzimas visando modular a taxa de reações biológicas.

Em função da sua estrutura porosa, as nanofibras se apresentam adequadas para a drenagem de exsudado e permeação adequada de oxigênio em feridas, além de permitirem a sua manufatura visando evitar possíveis infecções provenientes de ataques microbianos. Essas características fazem com que as mantas de nanofibras se apresentem como excelentes materiais para curativos, uma vez que servem ao propósito de facilitar a cicatrização de feridas, além da função básica de proteger as feridas de uma infecção adicional, atendendo para tal dois requisitos atualmente considerados essenciais para o tratamento de feridas. São eles: a capacidade de alcançar rápida homeostase e boa propriedade antibacteriana (LIU *et al.*, 2017; ZAHEDI *et al.*, 2010).

Conforme mencionado por Liu *et al.* (2017), os curativos originalmente eram fabricados a partir de matérias primas naturais como fibra vegetal e gordura animal para simplesmente cobrir as feridas. Essa condição evoluiu até os dias atuais, no qual materiais artificiais podem ser fabricados por várias tecnologias para criar curativos multifuncionais, onde em uma condição ideal, de acordo com Zhang *et al.* (2005), devem fornecer um ambiente para que a cicatrização ocorra na taxa máxima consistente com o reparo tecidual.

Os curativos são atualmente desenvolvidos a partir de materiais sintéticos ou naturais, com diferentes configurações físicas, como esponjas, hidrogéis, hidrocolóides, filmes e membranas. Cada uma dessas estruturas exibe diferentes propriedades que as tornam adequadas para o tratamento de tipos particulares de feridas (SIMÕES *et al.*, 2018).

Algumas propriedades precisam ser consideradas para que um material seja um candidato à curativo, segundo Zhang *et al.* (2005), são elas: ser hemostático; atuar como barreira bacteriana; absorver o excesso de exsudado; fornecer e manter o ambiente úmido ou a taxa de transmissão de vapor d'água apropriada; promover troca gasosa adequada; ter capacidade de adaptação ao contorno da área da ferida; promover adesão funcional, ou seja, aderente a tecido sadio, mas não aderente ao tecido da ferida; permitir fácil remoção e; ter baixo custo.

Ainda conforme relatado por Zhang *et al.* (2005), os benefícios dos curativos manufaturados pela técnica de eletrofiação incluem:

- a) Ser homeostático: a homeostasia é conferida fisicamente aos curativos pelas fibras em nanoescala que apresentam pequenos interstícios e elevada área superficial;
- b) Capacidade de atuar como barreira antibacteriana: o tamanho dos poros pode ser controlado para que o curativo efetivamente proteja a ferida do ataque bacteriano;

- c) Capacidade de absorver o excesso de exsudado: devido à alta razão entre área superficial e volume os curativos manufacturados por eletrofiação exibem absorção de água maior que os curativos típicos de filmes para os mesmos polímeros;
- d) Capacidade de fornecer e manter o ambiente úmido ou a taxa de transmissão de vapor d'água apropriada e promover troca gasosa: o curativo estruturado em nanofibras é poroso, o que é adequado para a respiração celular, além de poderem satisfazer os requisitos de alta permeação de gases e proporcionar controle da perda de fluido, mantendo um controle adequado do ambiente úmido para a ferida;
- e) Capacidade de adaptação ao contorno da área da ferida: a técnica de eletrofiação pode fornecer membranas de fibras ultrafinas que exibem excelente conformabilidade e, assim, resultar em melhor cobertura e proteção das feridas contra a infecção;
- f) Possibilidade de funcionalização: as membranas de nanofibras podem ser bioativadas, aumentando sua eficácia em diversas aplicações. Os curativos bioativos multifuncionais são alcançáveis devido à facilidade em incorporar compostos terapêuticos nas nanofibras através do próprio processo de eletrofiação.
- g) Estimular regeneração tecidual: os curativos nanofibrosos podem ser encarados como *scaffolds*, que podem fornecer às células da pele um melhor roteiro para a autoreparação, devido aos poros interconectados que garantem a proliferação celular. Do ponto de vista da engenharia de tecidos, a estrutura nanofibrosa biomimeticamente possui boa condutividade celular e pode melhorar a compatibilidade do sangue e de outros fluidos, o que facilitaria a cicatrização de feridas e a regeneração da pele, embora seja uma condição difícil de alcançar.

As principais desvantagens, segundo Simões *et al.* (2018), passam pelos materiais e solventes utilizados na sua produção.

3.2 Compostos naturais para o tratamento de feridas

A pele tem muitas funções em humanos, especialmente na defesa contra fatores físicos, químicos ou biológicos; participa na regulação da homeostase da água e de eletrólitos e desempenha papel secretor. Além disso, está envolvida na percepção e resposta imunológica de todo o organismo. Distúrbios ou danos de um órgão tão extenso e multifuncional como a pele podem ser uma séria ameaça à saúde do paciente ou até mesmo à vida (BAHRAMSOLTANI; FARZAEI; RAHIMI, 2014).

Apesar da utilização de produtos fitoterápicos e plantas medicinais no tratamento de

lesões cutâneas ser uma prática muito antiga, nas últimas décadas as preparações tópicas a partir de fármacos sintéticos dominaram o mercado no tratamento de feridas, como no caso de queimaduras, mas ainda há uma lacuna nesse contexto uma vez que elas vêm apresentando limitações, como, por exemplo, a maioria dos produtos disponíveis tem atividade antimicrobiana, e não cicatrizante, além dos efeitos colaterais associados, o que abriu as portas para a área de medicina alternativa, resultando em múltiplos estudos sobre o uso de produtos naturais para o reparo tecidual. Apenas cerca de 1 a 3% dos medicamentos modernos estão sendo sugeridos como eficazes em peles danificadas; em comparação, um terço dos medicamentos fitoterápicos são para tal uso. Por isso, compostos naturais que tenham capacidade de estimular a reparação tecidual são atualmente visados para o desenvolvimento de formulações não tóxicas, que possibilitem a modulação do processo inflamatório em um período mais curto e com o mínimo de complicações (CORRÊA *et al.*, 2017; DZIALO *et al.*, 2016; SEHN *et al.*, 2009).

O processo de cicatrização de feridas consiste em inflamação, reepitelização, granulação e neovascularização, que resultam na contração da ferida. Os fitoquímicos podem afetar positivamente vários estágios deste processo através de diferentes mecanismos, incluindo efeitos antimicrobianos, anti-inflamatórios, antioxidantes, estimulação da síntese de colágeno, proliferação celular e efeitos angiogênicos. Isso se deve à variedade de constituintes como alcalóides, óleos essenciais, flavonóides, taninos, terpenóides, saponinas, ácidos graxos e compostos fenólicos, que são potencialmente capazes de melhorar o processo de cura de feridas. Baixo custo, disponibilidade e menos efeitos colaterais são outras vantagens dos remédios a base de compostos naturais (DZIALO *et al.*, 2016).

Muitas pesquisas estão em andamento com o intuito de identificar e isolar os componentes ativos das plantas responsáveis por suas propriedades cicatrizantes. Recentemente, muitos relatos sobre a potencial eficácia dos compostos fenólicos, que são considerados um dos mais importantes grupos de metabólitos secundários de plantas, na prevenção ou atenuação de sintomas de distúrbios da pele e redução do tempo de cicatrização foram publicados (BAHRAMSOLTANI; FARZAEI; RAHIMI, 2014; DZIALO *et al.*, 2016).

3.3 Extrato de própolis

A própolis é uma substância resinosa quimicamente complexa coletadas de diferentes partes de plantas que cercam a colmeia, por abelhas, especialmente da espécie *Apis mellifera*. Embora existam própolis coletadas por outras espécies de abelhas, essa espécie é a mais

estudada devido à qualidade e ao valor agregado do seu produto no mercado (FRANCHIN *et al.*, 2018).

Na natureza, segundo Franchin *et al.* (2018) a própolis é utilizada para revestir a colmeia, repelir e embalsamar parasitas, matar microorganismos, atuar como isolador térmico, entre outros fins. Observando a importância da própolis para as abelhas, a humanidade tem se beneficiado ao longo dos séculos do alto valor medicinal, funcional, econômico e até cultural dessa resina coletada em todo o mundo (FREIRES *et al.*, 2016).

A origem botânica e a composição química da própolis podem variar com base no clima e flora específicos de cada região. Ao contrário de outros países, que possuem pouca variabilidade na composição química e origem botânica da própolis, o Brasil possui pelo menos treze tipos diferentes de própolis identificados até o momento. Park, Alencar e Aguiar (2002), grupo de pesquisa da Universidade de Campinas, foram os primeiros a investigar os perfis químicos de amostras brasileiras e classificá-las em doze tipos baseados em suas características físico-químicas. Um novo tipo foi descrito em 2007 por Silva *et al.* (2007) (FRANCHIN *et al.*, 2018).

Acredita-se, segundo Pinto, Prado e Carvalho (2011), que a própolis é uma das misturas mais heterogêneas de ocorrência natural e que mais de 300 substâncias já foram identificadas em amostras de própolis. Apesar da composição variada, os compostos fenólicos representam os principais constituintes bioativos da própolis. De acordo com Fujimoto (2016), eles são metabólitos secundários de plantas que compreendem uma classe diversa de compostos químicos caracterizados por um anel benzeno ligado à um grupo hidroxila. A classe mais importante de fenólicos isolados da própolis são os flavonóides. Juntamente com os ácidos carboxílicos modificados, formam componentes estratégicos, pois são responsáveis pelos seus principais efeitos biológicos.

A própolis pode apresentar de maneira geral: hidrocarbonetos superiores, álcoois, ácidos aromáticos, ácidos graxos superiores típicos de ceras e seus ésteres, cetonas, flavonas e flavonóis, flavononas, chalconas e diidrochalconas, terpenóides, esteróides, aminoácidos, açúcares, lignanas, vitaminas (A, B1, B2, B6, C, E e PP) e minerais (sódio, potássio, magnésio, bário, estrôncio, cádmio, chumbo, cobre, manganês, ferro, cálcio, vanádio, silício, alumínio, níquel, zinco, cromo, titânio, prata, molibdênio e cobalto) (PINTO; PRADO; CARVALHO, 2011).

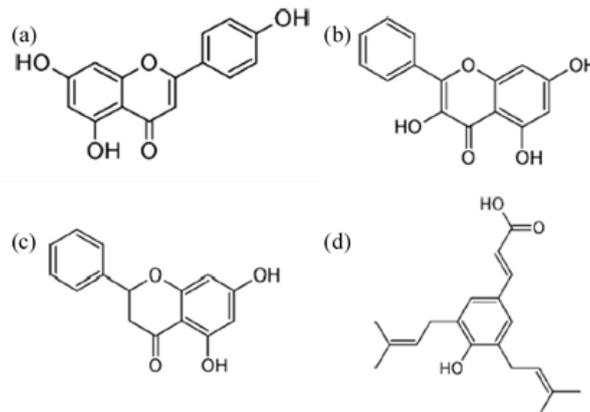
A própolis está disponível a baixo custo e tem se apresentado eficaz no tratamento de lesões graves, incluindo lesões cutâneas purulentas e não-purulentas. Os compostos principais desse agente apiterapêutico que estão relacionados com a reparação tecidual são os derivados

de ácidos graxos, terpenos, β -esteróides, flavonóides, vitaminas e sais minerais (SEHN *et al.*, 2009).

A formação de biofilme e infecção são fatores que atrasam o processo de cicatrização de feridas, sendo o seu controle um passo crucial no processo de cura. A atividade antimicrobiana e o papel na inibição da formação de biofilme têm sido relacionados como as mais importantes propriedades biológicas da própolis. Mas as propriedades biológicas não se limitam à sua atividade antimicrobiana. Estudos sugerem efeitos anti-inflamatórios, imunossupressores, imunoestimulantes, antioxidantes, anestésicos e desbridantes (ORYAN; ALEMZADEH e MOSHIRI, 2018; PESSOLATO *et al.*, 2011).

Diferentes compostos bioativos da própolis brasileira tiveram mecanismos anti-inflamatórios relatados. A própolis de álamo, identificada como tipo 3, possui alguns flavonoides com efeitos anti-inflamatórios promissores, como a apigenina, galangina e pinocembrina, que atuam na inibição da síntese de citocinas pró inflamatórias e modulam o recrutamento de leucócitos. A própolis verde, identificada como tipo 12, por sua vez, possui o artepillin C, que inibe diferentes vias de sinalização do processo inflamatório (FRANCHIN *et al.*, 2018). As estruturas desses flavonoides podem ser visualizadas na figura 3.

Figura 3 – Estruturas químicas da (a) apigenina (b) galangina (c) pinocembrina e (d) artepillin C



Fonte: FRANCHIN *et al.*, 2018.

De acordo com Sforcin (2007), ensaios *in vitro* e *in vivo* demonstraram que a própolis pode ativar macrófagos, aumentando sua atividade microbicida; aumentar a atividade de células natural killer (NK) contra células tumorais; estimular maior produção de anticorpos; inibir a proliferação de linfócitos, o que pode estar associado à sua propriedade anti-

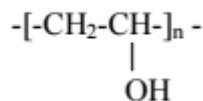
inflamatória, entre outras.

A própolis, assim como outros fitoterápicos, pode ser obtida comercialmente em várias configurações, como tinturas e extratos. A tintura é uma preparação líquida obtida em geral pela maceração do material vegetal em etanol à temperatura ambiente por um período determinado, que depois é pressionado e filtrado para produção do fluido na qual os constituintes ativos do vegetal se dissolvem. O processo é baseado, portanto, na ação solubilizante do etanol sobre o pó seco da planta. Usualmente são obtidas utilizando uma parte do soluto para dez partes do solvente (1:10) ou uma parte do soluto para cinco partes do solvente (1:5). Os extratos, por sua vez, são preparações líquidas nas quais, exceto quando especificado diferentemente, uma parte do extrato, em massa ou volume, corresponde a uma parte em massa da planta seca na sua preparação, ou seja, 1ml de extrato equivale a 1g da planta seca. Logo, os extratos podem ser encarados como tinturas concentradas. Podem ser obtidos por percolação, maceração ou outro método adequado e validado.

3.4 Poli(álcool vinílico)

O poli(álcool vinílico) (PVOH) é um polímero polihidroxilado, cuja fórmula geral pode ser visualizada na figura 4. Seu mero, “álcool vinílico”, não é encontrado no estado livre.

Figura 4 – Fórmula geral do PVOH

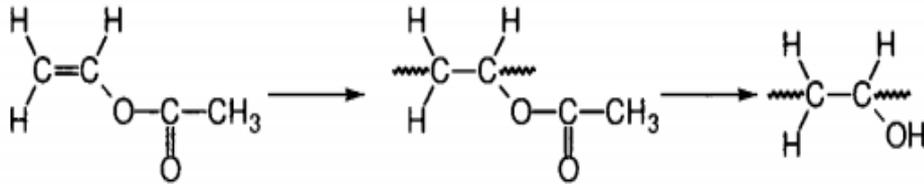


Fonte: CRUZ; CAMPOS; THIM, 2008.

De acordo com Vinyl (2002), o PVOH é o polímero sintético solúvel em água produzido em maior volume no mundo. A síntese desse polímero foi descrita em 1924 por Haehnel e Herrmann a partir da hidrólise do poli(acetato de vinila) (PVAc). Atualmente, o PVAc pode ser convertido em PVOH por transesterificação, hidrólise ou aminólise. Industrialmente, a reação mais importante é a de transesterificação, em que uma pequena quantidade de ácido ou base é adicionada em quantidades catalíticas para promover o intercâmbio de éster. Sua obtenção pela conversão de PVAc se deve ao fato do álcool vinílico

não ser um composto estável, inviabilizando a polimerização, em acordo com o exposto por Fink (2011). A esquematização da sequência da reação de síntese a partir do monômero de base acetato de vinila (VA) pode ser visualizada na figura 5.

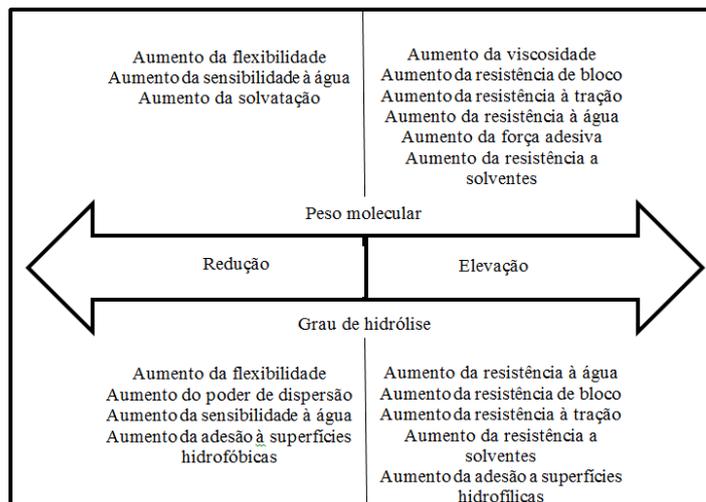
Figura 5 - Síntese do PVOH



Fonte: FINK, 2011.

As propriedades básicas do PVOH dependem do grau de polimerização e do grau de hidrólise, e os efeitos desses parâmetros estão esquematizados na figura 6.

Figura 6 - Efeitos do grau de polimerização e do grau de hidrólise nas propriedades do PVOH



Fonte: Traduzido de VINYL..., 2002.

Algumas propriedades físicas do PVOH completamente hidrolisado estão descritas na tabela 3..

Tabela 3 – Propriedades físicas do PVOH completamente hidrolisado

Propriedade	Valor
Coefficiente de expansão térmica (0-50°C)	10 ⁻⁴
Calor específico (cal/g°C)	0,4
Resistividade elétrica (ohm.cm)	(3,1 - 3,8) 10 ⁷
Condutividade térmica (W/mK)	0,2
Índice de refração (filme) a 20°C	1,49 - 1,55
Densidade (sólido)	1,19 - 1,31
Tg (°C)	75 – 85
Ponto de fusão (°C)	230 (100% hidrolisado) 170 - 190 (parcialmente hidrolisado)
Apresentação	Pó granulado

Fonte: CRUZ; CAMPOS; THIM, 2008.

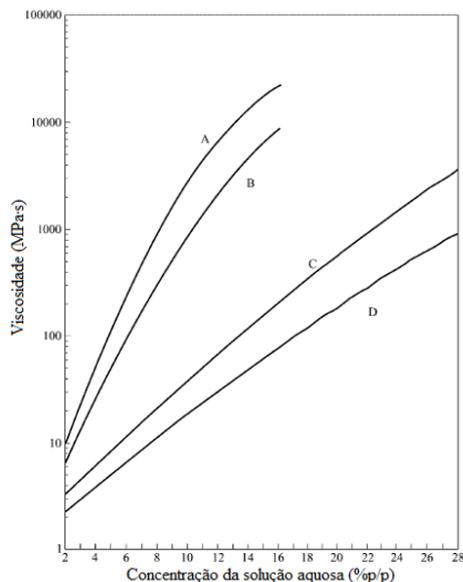
O PVOH é usado principalmente em solução. Quanto à solubilidade, de acordo com Aranha e Lucas (2001), ele é solúvel em solventes altamente polares e hidrófilos, tais como dimetilsulfóxido (DMSO), acetamida, glicóis, dimetilformamida (DMF), sendo a água o melhor solvente. A solubilidade em água, no entanto, dependente do grau de hidrólise, do grau de polimerização e da temperatura da solução.

No PVOH completamente hidrolisado, o elevado número de hidroxilas leva à formação de ligações de hidrogênio fortes entre grupos hidroxilas intra e intermoleculares, impedindo sua solubilização em água, o que explica o PVOH completamente hidrolisado ser insolúvel a frio. A solubilização do PVOH completamente hidrolisado em água requer temperaturas elevadas devido à alta energia associada à dissolução da fase cristalina. Após a dissolução, o PVOH mantém-se em solução aquosa mesmo em temperatura ambiente. No PVOH parcialmente hidrolisado, os grupos acetato residuais são essencialmente hidrófobos, enfraquecendo as ligações intra e intermoleculares dos grupos hidroxila vizinhos, favorecendo a entrada de água nos novelos poliméricos. Isso faz com que a presença de uma quantidade adequada de grupos acetato aumente a solubilidade em água, a frio. O efeito da temperatura na solubilidade está associado à quebra das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. Com o aumento da temperatura, as ligações de hidrogênio são rompidas diminuindo as forças intra e intermoleculares e, com isso, a solubilidade aumenta. Por outro lado, o aumento da temperatura pode quebrar também as ligações de hidrogênio com a água diminuindo então a solubilidade (ARANHA; LUCAS, 2001).

A viscosidade das soluções de PVOH, em acordo com o exposto por Vinyl... (2002), é

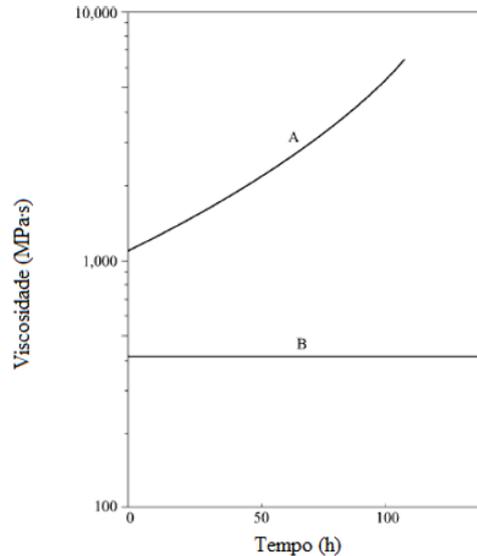
dependente principalmente do peso molecular e da concentração da solução. Os efeitos na viscosidade provocados pela variação da concentração da solução para soluções com diferentes pesos moleculares podem ser visualizados na figura 7. O grau de polimerização decresce de A para D, sendo A = 2200, B = 1500, C = 550 e D = 220, enquanto o grau de hidrólise é mantido fixo em 87-89% mol. O grau de hidrólise e a temperatura também influenciam, sendo que a viscosidade aumenta com o aumento do grau de hidrólise e diminui com o aumento da temperatura. Soluções com alto grau de hidrólise tendem a apresentar ainda um aumento na viscosidade com o tempo de armazenamento, podendo até gelificar. A taxa de aumento depende da temperatura de dissolução, temperatura de armazenamento e concentração. Quanto mais baixas as temperaturas de armazenamento e dissolução e maior a concentração, maior é a taxa de aumento da viscosidade. A viscosidade das soluções de PVOH parcialmente hidrolisadas exibem um maior grau de estabilidade. A figura 8 demonstra a variação da viscosidade com o tempo de armazenamento para soluções de PVOH com diferentes graus de hidrólise. O PVOH identificado como A possui grau de hidrólise 98-99 % mol e B 87-89% mol, enquanto o grau de polimerização é mantido fixo em 1500.

Figura 7 – Efeitos na viscosidade da variação do peso molecular e concentração da solução aquosa de PVOH



Fonte: VINYL..., 2002.

Figura 8 – Efeitos na viscosidade da variação do tempo de armazenamento de soluções aquosas de PVOH com diferentes graus de hidrólise



Fonte: VINYL..., 2002.

A tensão superficial da solução aquosa de PVOH, por sua vez, ainda de acordo com Vinyl... (2002), varia com a concentração, temperatura, grau de hidrólise e distribuição do grupo acetato na cadeia. A distribuição aleatória de grupos acetato no polímero resulta em soluções com tensão superficial mais alta comparadas àquelas dos polímeros nos quais blocos de grupos acetato estão presentes. A tensão superficial também diminui ligeiramente à medida que o peso molecular é reduzido.

Em função das características exibidas pelo PVOH, conforme exposto por Shao *et al.* (2003), como resistência química, propriedades físicas, alta hidrofiliabilidade, processabilidade e biocompatibilidade, o PVOH possui diversas utilizações industriais, incluindo, conforme citado por Koski, Yim e Shivkumar (2004), produtos médicos, cosméticos, alimentícios, farmacêuticos e indústrias de embalagens, além de diversos ramos de aplicações em estudo. Suas aplicações comerciais incluem membranas, processamento e acabamento de tecidos, adesivos, revestimentos e tintas. As propriedades do PVOH podem ainda ser melhoradas ou modificadas através do grupo hidroxila (SHAO *et al.*, 2003).

Enquanto hidrogél polimérico sintético, o PVOH se apresenta como um dos mais tradicionalmente utilizados em aplicações médicas avançadas devido à sua boa biocompatibilidade. Curativos para feridas, sistemas para liberação controlada de fármacos, órgãos artificiais e lentes de contatos estão entre as principais aplicações. No entanto, embora

possua boas propriedades mecânicas no estado seco, sua utilização isolada é limitada devido à alta hidrofiliçidade, fazendo-se necessário utilizar blendas de PVOH com outros polímeros sintéticos ou polissacarídeos para a manufatura dos hidrogéis (KAMOUN *et al.*, 2015; KENAWY *et al.*, 2014).

De acordo com Koski, Yim e Shivkumar (2004), soluções contendo PVOH podem ser processadas por várias técnicas, incluindo processo sol-gel, separação de fases e tratamentos cíclicos de congelamento e descongelamento para produzir uma variada gama de estruturas. A eletrofiação como uma técnica de processamento de soluções de PVOH foi utilizada por Ding *et al.* (2002) para produzir agregados fibrosos em nanoescala.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

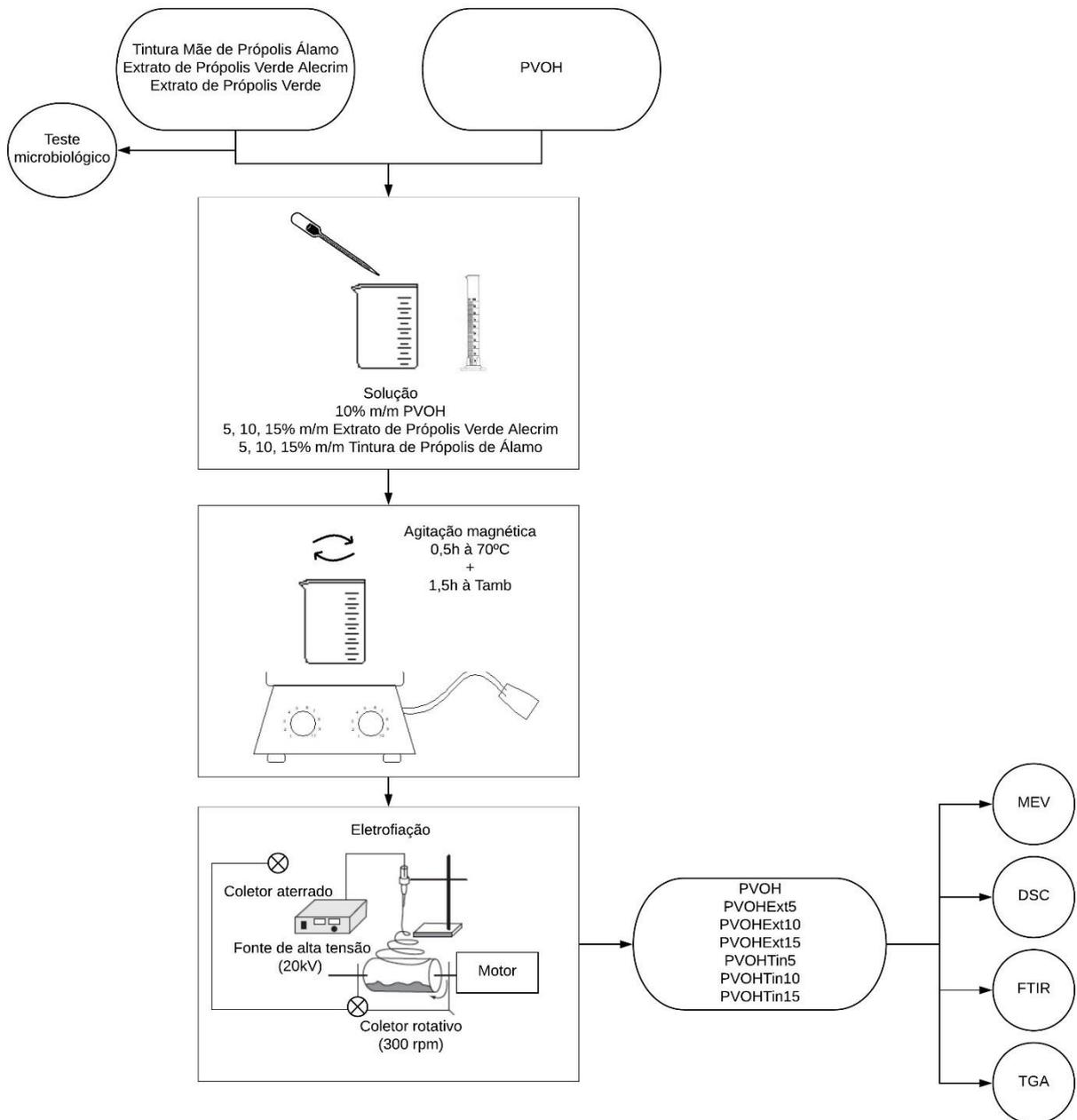
4.1 Materiais

- PVOH - Massa molar 72000g/mol e grau de hidrólise 88% (Vetec Química Fina Ltda);
- Extrato de Própolis Verde Alecrim – 18,6% de resíduo seco (Apiários Mackllani Ltda da região de Santa Bárbara – Minas Gerais);
- Extrato de Própolis Verde – 11,1% de resíduo seco (Apis Flora Industrial e Comercial Ltda da região de Ribeirão Preto – São Paulo)
- Tintura Mãe de Própolis Álamo – 6,6% de resíduo seco (Laboratório Shraibmann Ltda da região de Cotia – São Paulo);
- Água destilada.

4.2 Metodologia

O diagrama apresentado na figura 9 a seguir representa a sequência metodológica adotada neste trabalho.

Figura 9 – Fluxograma da metodologia



Fonte: próprio autor.

4.2.1 Ensaio microbiológico

As três própolis adquiridas foram submetidas a ensaios microbiológicos com os microorganismos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* para análise da atividade antimicrobiana. Os ensaios foram realizados através do método de ensaio de Difusão em Disco (Ágar), no laboratório de Biomateriais do Departamento de Engenharia de

Materiais do CEFET-MG, seguindo a norma M2-A8 – Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão, NCCLS.

A montagem do método consistiu no preenchimento de placas de petri com o respectivo tipo de ágar e distribuição dos discos embebidos com a própolis e o antimicrobiano de controle, seguido da inoculação das culturas com cada tipo de microorganismo. As placas foram incubadas em estufa à 37°C por 18h, para verificação da existência de halos de inibição. Após esse período foram realizadas as leituras do resultado através da interpretação das fotos enviadas pela técnica responsável pela realização do ensaio.

4.2.2 Preparação das soluções

A solução de PVOH para eletrofição foi preparada na concentração de 10% m/m, na qual o solvente utilizado foi a água destilada, baseando-se em trabalhos previamente desenvolvidos por Ding *et al.* (2002) e Vashisth *et al.* (2014) para a produção de nanofibras de PVOH. A solução foi colocada sob agitação no agitador magnético IKA C-MAG HS-7, na rotação 2 e temperatura de 70°C por 30min. Após esse período, a agitação foi mantida sob a mesma rotação em temperatura ambiente por 1h30min.

Foram preparadas soluções de PVOH com concentração de 10% m/m, com de 5%, 10% e 15% m/m da Tintura Mãe de Própolis de Álamo seguindo os mesmos procedimentos descritos anteriormente. As amostras serão denominadas PVOHTin5, PVOHTin10 e PVOHTin15, respectivamente.

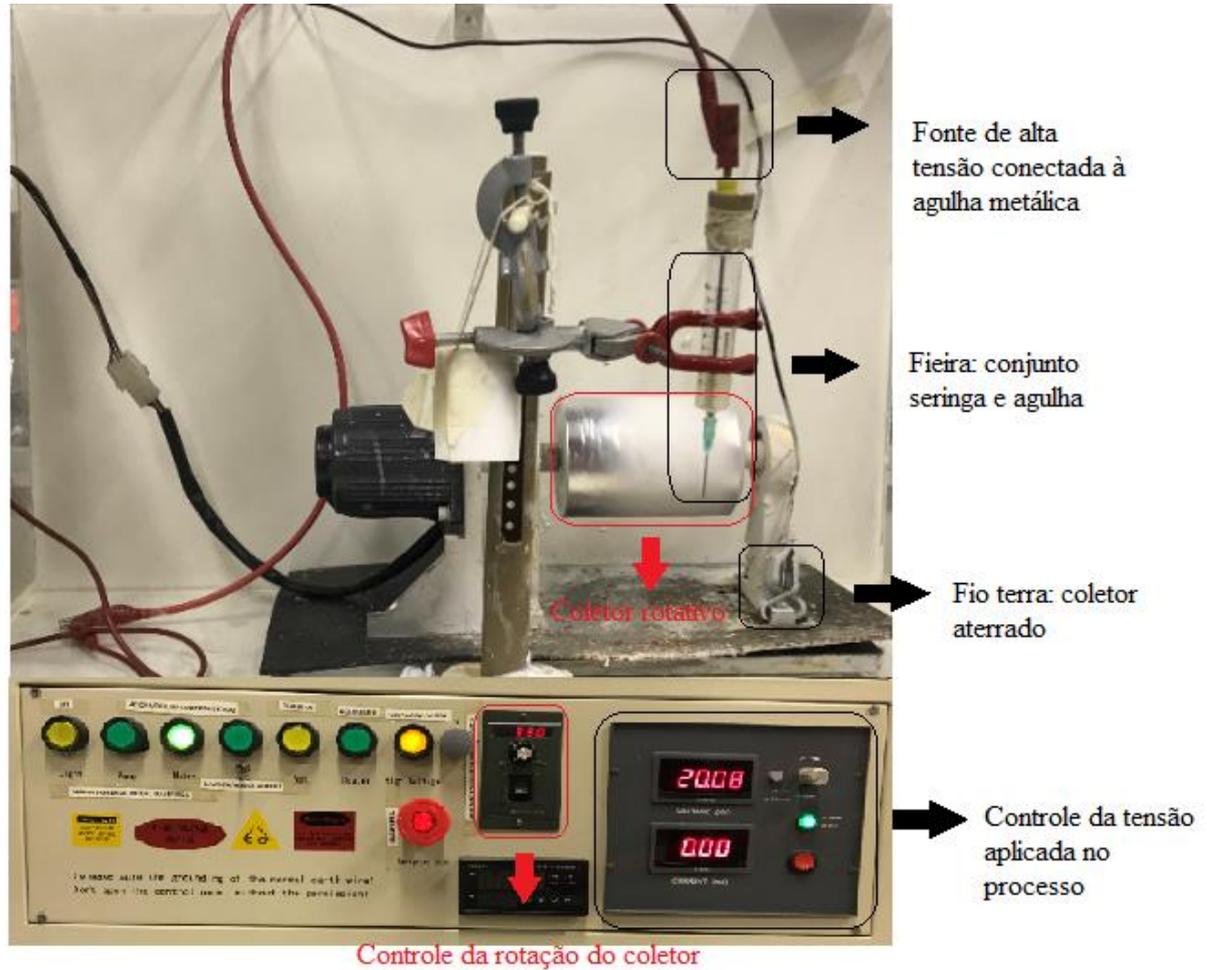
Foram preparadas ainda soluções de PVOH com concentração de 10% m/m, com 5%, 10% e 15% m/m do Extrato de Própolis Verde Alecrim seguindo os mesmos procedimentos. As amostras serão denominadas PVOHExt5, PVOHExt10 e PVOHExt15, respectivamente.

4.2.3 Obtenção das nanofibras

O aparato utilizado para a eletrofição está apresentado na figura 10. A obtenção das nanofibras a partir das soluções de PVOH puro e de PVOH com própolis nas diferentes concentrações foram obtidas aplicando uma tensão de aproximadamente 20kV na agulha metálica de 25x0,80mm (comprimento *versus* diâmetro), conectada na seringa onde foram vertidas as soluções preparadas no mesmo dia a serem eletrofiadas. Folhas de papel alumínio de 25x10cm (comprimento *versus* largura) foram utilizadas para revestir o coletor aterrado visando atuar como substrato para a coleta das nanofibras. O coletor foi mantido a uma

distância fixa de 11,5cm da ponta da agulha e rotação de aproximadamente 300rpm, condições baseadas no trabalho desenvolvido por Vieira (2015).

Figura 10 – Aparato utilizado para coleta das nanofibras



Fonte: próprio autor.

As tabelas 4 e 5 apresentam uma síntese dos parâmetros utilizados na eletrofição.

Tabela 4 – Síntese dos parâmetros utilizados na eletrofição

Parâmetros de eletrofição	
Rotação do coletor	(300±50) rpm
Diferença de potencial	(20,00±0,10) kV
Distância entre a ponta da agulha e o coletor	11,5 cm

Fonte: próprio autor.

Tabela 5 – Especificação da concentração de componentes utilizados e identificação das mantas eletrofiadas

Denominação amostra	Concentração PVOH (% m)	Concentração Extrato de Própolis (% m)	Concentração Tintura de Própolis (% m)
PVOH	10		
PVOHTin5	10		5
PVOHTin10	10		10
PVOHTin15	10		15
PVOHExt5	10	5	
PVOHExt10	10	10	
PVOHExt15	10	15	

Fonte: próprio autor.

4.2.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das nanofibras foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando o equipamento SSX 550 SHIMADZU. Uma pequena seção das mantas ainda sobre o substrato de papel alumínio foi pulverizada com ouro e as imagens foram obtidas com os aumentos de 500, 1000, 1800, 2400 e 3500 vezes. Foram analisadas seções de todas as amostras.

O diâmetro médio e a distribuição de diâmetro das nanofibras foram avaliados através das imagens com auxílio do software ImageJ, Foram realizadas 30 medições dos diâmetros das nanofibras utilizando imagens com o aumento de 3500x para as amostras de PVOH puro e com extrato de própolis verde e com o aumento de 2400x para as amostras com tintura de própolis de álamo. Os dados foram tratados e os gráficos plotados utilizando o Excel.

4.2.5 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O comportamento térmico das mantas de nanofibras foi analisado sob atmosfera de nitrogênio no equipamento DSC-60 SHIMADZU. Os dados foram registrados para temperaturas entre 30 e 250°C a uma taxa de aquecimento de 10°C/min, durante o aquecimento, resfriamento e o reaquecimento das amostras. Os dados foram tratados e os gráficos plotados utilizando o Excel.

4.2.6 Espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As mantas eletrofiadas foram analisadas no espectrômetro IRPrestige-21 SHIMADZU. O ensaio foi conduzido com resolução de 1cm^{-1} ao longo do comprimento de onda de 4000 a 400cm^{-1} , objetivando-se a identificação das ligações químicas entre os átomos das amostras. Os dados foram tratados e os gráficos plotados com o Excel.

4.2.7 Análise termogravimétrica (TGA)

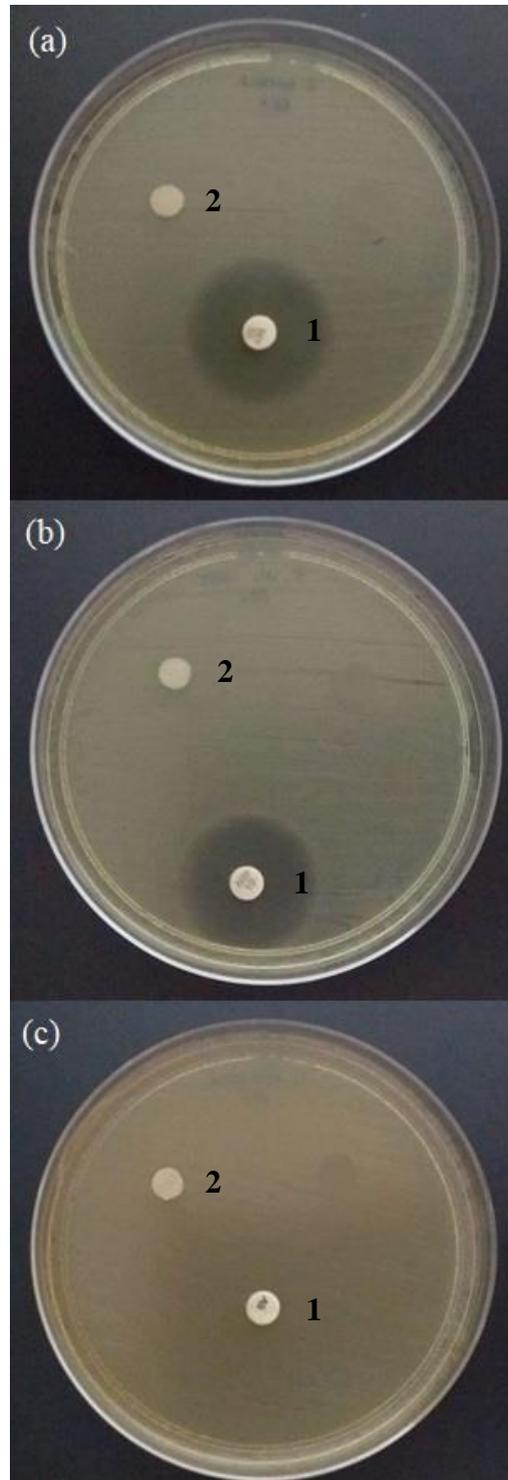
A variação da massa das mantas em função da temperatura para as amostras PVOH e PVOHExt5, PVOHExt10 e PVOHExt15 foi avaliada no equipamento DTG-60H SHIMADZU. Os parâmetros utilizados foram taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ de temperatura 25 a 800°C em atmosfera de nitrogênio. As temperaturas de transição vítrea e de fusão cristalina e a área do pico de fusão foram obtidos com o auxílio do software TA60. Os dados foram tratados e os gráficos plotados utilizando o Excel.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Ensaio microbiológico

As imagens obtidas ao final do período de incubação do ensaio de difusão em disco para as amostras das três diferentes soluções de própolis estudadas estão compiladas nas imagens 11 e 12.

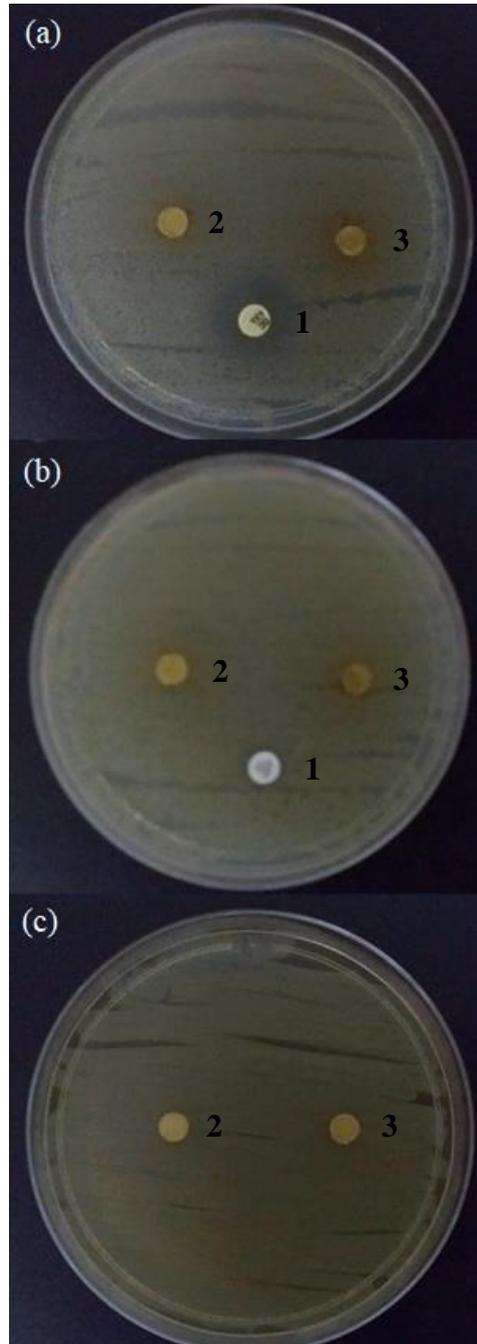
Figura 11 – Resultado do ensaio de difusão em disco com os microorganismos (a) *Staphylococcus aureus* (b) *Escherichia coli* e (c) *Candida albicans* para a Tintura Mãe de Própolis de Álamo



Legenda: 1: Antimicrobiano de controle
2: Tintura de própolis de álamo

Fonte: próprio autor.

Figura 12 – Resultado do ensaio de difusão em disco com os microorganismos (a) *Staphylococcus aureus* (b) *Escherichia coli* e (c) *Candida albicans* para o Extrato de Própolis Verde da Apis Flora Industrial e Comercial Ltda e Extrato de Própolis Verde Alecrim do Apiários Mackllani Ltda



Legenda: 1: Antimicrobiano de controle
2: Extrato de Própolis Verde
3: Extrato de Própolis Verde Alecrim

Fonte: próprio autor.

Nenhuma das soluções de própolis apresentou halo de inibição para os microorganismos estudados, em desacordo com o esperado com base na literatura. Estudos conduzidos por Freires *et al.* (2016) demonstraram que o extrato etanólico de própolis de álamo possui atividade antifúngica contra cepas de *C. albicans*. Fernandes e Costa (2007) demonstraram que o extrato de própolis verde exerce atividade inibitória sobre espécies de *Candida sp*, incluindo *C. albicans*, na concentração de 15mg de própolis por mL de ágar. Fujimoto (2016) demonstrou que o extrato etanólico de própolis verde possui atividade antibacteriana contra cepas de *S. aureus* (ATCC 6538), na qual as médias dos diâmetros dos halos de inibição variaram em torno de 37mm. Barbosa *et al.* (2014), também demonstraram a ação inibitória da própolis coletada em Mato Grosso do Sul sobre a bactéria *S. aureus*, e indicaram que o crescimento da colônia bacteriana apresenta uma relação inversamente proporcional ao aumento da dose de própolis utilizada. Nos estudos conduzidos por Ugur *et al.* (2000), *E. coli* e *S aureus* demonstraram-se sensíveis à própolis coletada na Turquia. Nesse estudo o extrato foi obtido com etanol 95%, mas a determinação da sensibilidade dos microorganismos à própolis foi testada utilizando DMSO e acetona como solventes, na qual, em geral, os diâmetros das zonas inibitórias com extratos de própolis em DMSO foram maiores se comparados aos extratos de própolis em acetona.

A forma de extração, os solventes utilizados e a composição podem interferir na ação antimicrobiana dos produtos naturais, pois estes requisitos técnicos acarretam em diferenças na concentração do princípio ativo responsável pela atividade biológica (ALMEIDA *et al.*, 2012).

O comportamento da tintura e dos extratos estudados podem estar associados aos métodos de extração da própolis, pois conforme mencionado por Sforcin (2007), o método de extração pode influenciar na sua atividade. Solventes diferentes solubilizam e extraem diferentes compostos. Os solventes mais comumente utilizados em ensaios biológicos são o etanol, metanol e água. Os solventes utilizados para extração da própolis nas três amostras adquiridas conforme informação dos fabricantes foi o etanol, mas em diferentes concentrações.

A composição química complexa da própolis, que é dependente da flora de origem, acarreta em propriedades biológicas diferentes para diferentes tipos de própolis, criando um problema para a sua padronização química universal. Em função disso, se faz necessário a utilização de amostras de própolis quimicamente caracterizadas para estudar suas propriedades e realizar estudos comparativos.

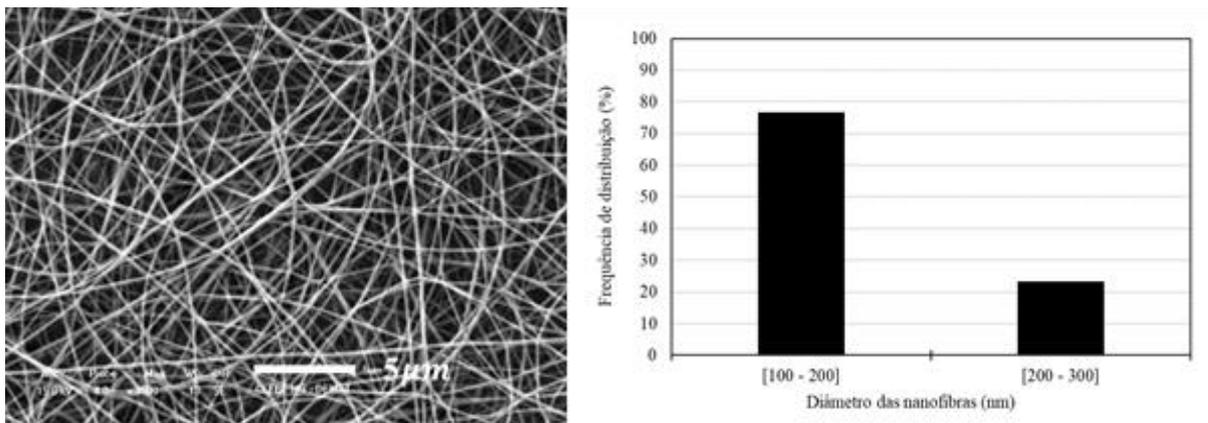
Para a sequência do estudo, optou-se por seguir com a eletrofiliação para a tintura de

própolis e para apenas um extrato de própolis verde, em virtude de nenhum deles terem apresentado atividade antimicrobiana. O extrato de própolis verde utilizado para a eletrofiação foi o do fornecedor Apiários Mackllani Ltda, pois conforme informação do fabricante o mesmo possuía maior teor de resíduo seco da própolis, 18,6%, em contrapartida aos 11,1% do fornecedor Laboratório Shraibmann Ltda.

5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias obtidas por MEV e a distribuição de diâmetro para as mantas de nanofibras de PVOH estão apresentadas na figura 13.

Figura 13 – Micrografia obtida por MEV e distribuição de diâmetro das mantas de nanofibras de PVOH

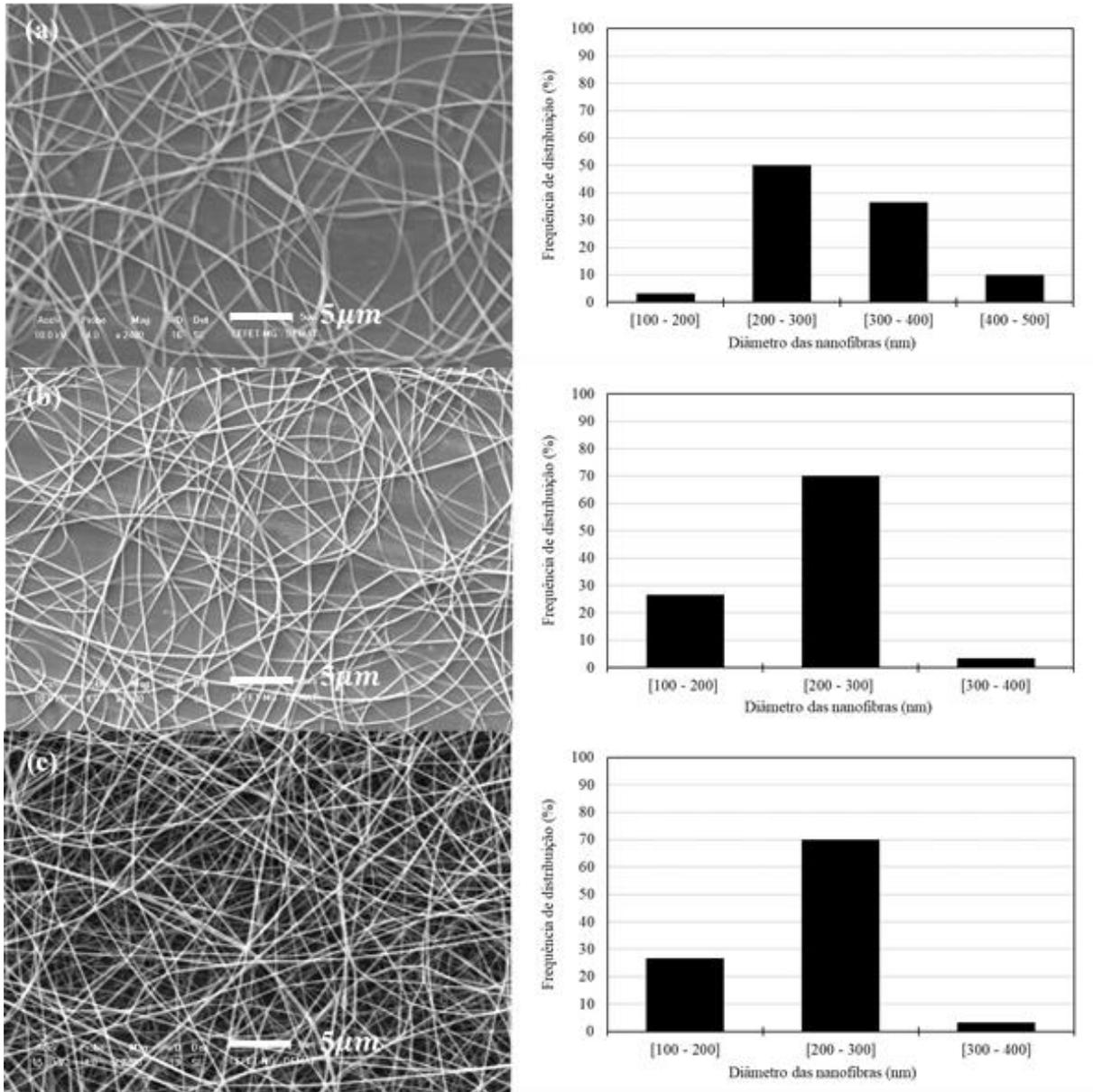


Fonte: próprio autor.

O gráfico permitiu perceber uma distribuição estreita de diâmetros para a amostra de PVOH puro, na qual a maior parte das fibras possuíam entre 100 a 200nm e o diâmetro médio encontrado foi de 189 ± 29 nm. O diâmetro mínimo foi de 135nm e o máximo 300nm. A microscopia permitiu constatar a presença de fibras uniformes e contínuas, sem a presença de defeitos.

As micrografias obtidas por MEV e a distribuição de diâmetro para as mantas de nanofibras de PVOH com 5%, 10% e 15% m/m de tintura mãe de própolis de álamo estão apresentadas na figura 14.

Figura 14 – Micrografias obtidas por MEV e distribuição de diâmetro das mantas de nanofibras (a) PVOHTin5 (b) PVOHTin10 e (c) PVOHTin15



Fonte: próprio autor.

A tabela 6 apresenta os diâmetros médios, máximos e mínimos das nanofibras de PVOH com tintura de própolis de álamo.

Tabela 6 – Diâmetro das nanofibras de PVOH com tintura de própolis de álamo

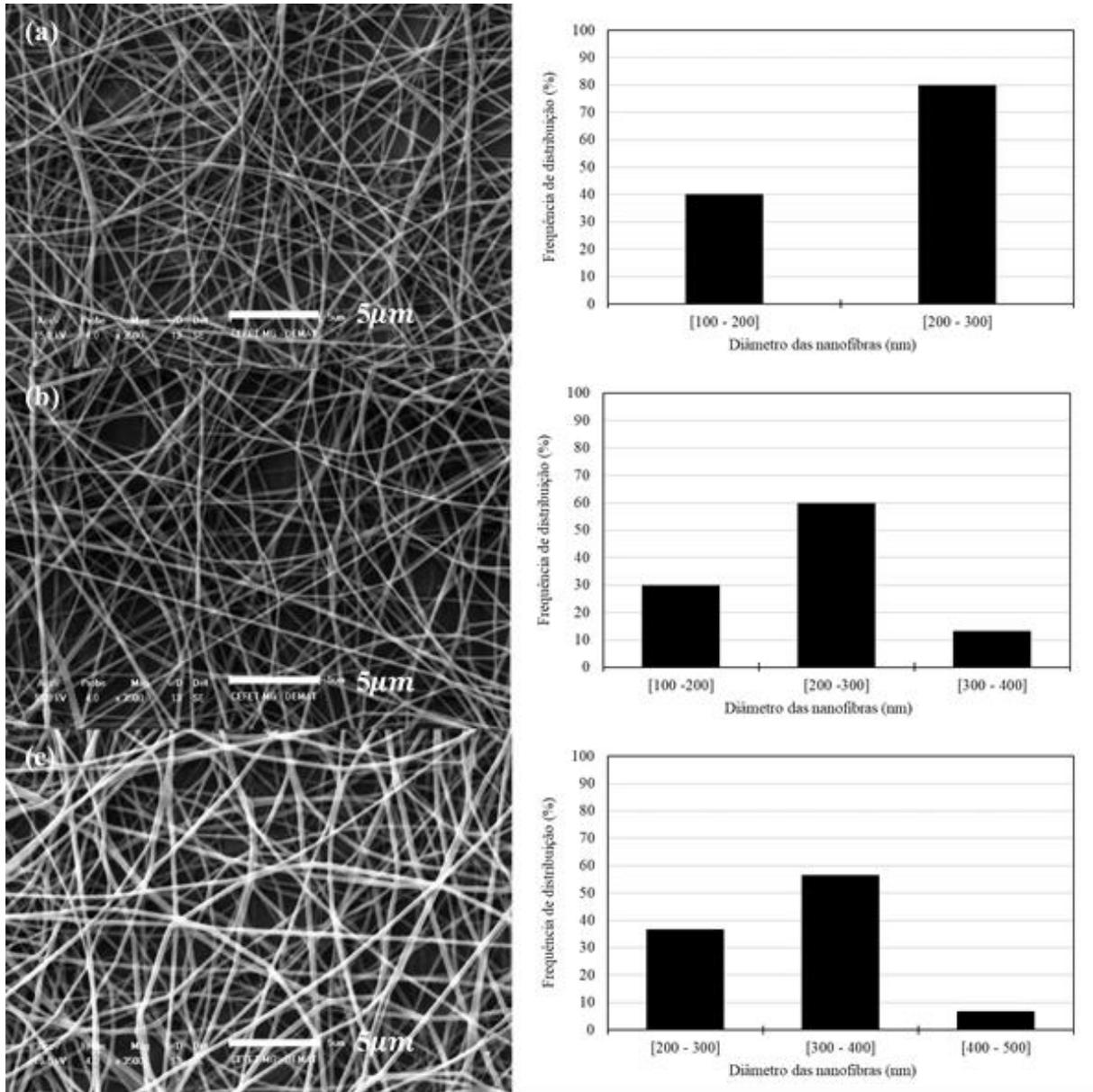
	PVOHTin5	PVOHTin10	PVOHTin15
Diâmetro médio (nm)	307±53	224±26	224±34
Diâmetro máximo (nm)	411	305	326
Diâmetro mínimo (nm)	198	170	156

Fonte: próprio autor.

As distribuições de diâmetro para as amostras de PVOH com tintura de própolis de álamo se exibiram mais largas em relação à amostra de PVOH puro, assim como os diâmetros médios se apresentaram maiores que os diâmetros médios das amostras de PVOH puro para todas as concentrações de tintura, embora o comportamento não tenha seguido um padrão regular com o aumento da concentração da tintura. A microscopia permitiu constatar a presença de fibras uniformes e contínuas, sem a presença de defeitos e sem nenhuma morfologia separada por fases.

As micrografias obtidas por MEV e a distribuição de diâmetro para as mantas de nanofibras de PVOH com 5%, 10% e 15% m/m de extrato de própolis verde estão apresentadas na figura 15.

Figura 15 – Micrografias obtidas por MEV a e distribuição de diâmetro das mantas de nanofibras (a) PVOHExt5 (b) PVOHExt10 e (c) PVOHExt15



Fonte: próprio autor.

A tabela 7 apresenta os diâmetros médios, máximos e mínimos das nanofibras de PVOH com extrato de própolis verde.

Tabela 7 – Diâmetro das nanofibras de PVOH com extrato de própolis verde

	PVOHExt5	PVOHExt10	PVOHExt15
Diâmetro médio (nm)	212±21	238±35	314±34
Diâmetro máximo (nm)	276	324	445
Diâmetro mínimo (nm)	150	164	247

Fonte: próprio autor.

As distribuições de diâmetro para as amostras de PVOH com extrato de própolis se apresentaram estreitas. Os diâmetros médios se apresentaram maiores em relação à amostra de PVOH puro para todas as concentrações de extrato, e o diâmetro médio aumentou com o aumento da concentração de extrato. Esse comportamento foi semelhante ao reportado por Kim *et al.* (2014), no qual nanofibras de poliuretano com própolis na concentração de 0, 5, 10 e 30% m/m foram obtidas por eletrofiação e o diâmetro médio obtido foi de 204,4, 321,4, 377,2 e 556,6nm, respectivamente. Em um trabalho conduzido por Kim *et al.* (2016), nanofibras de PVOH com extrato de Juniperus da China também exibiram comportamento similar. As nanofibras foram preparadas com 0,25, 0,5, 1,5 e 2,5% m/m em solução de PVOH 12% m/m e os diâmetros médios exibidos foram (291±15), (311±20), (346±22) e (368±31)nm. Supõe-se que o extrato de própolis afeta a viscosidade da solução, que determina o diâmetro da nanofibra.

A microscopia permitiu constatar a presença de fibras uniformes e contínuas, sem a presença de defeitos e sem nenhuma morfologia separada por fases. Kim *et al.* (2014) relata que a alta concentração de própolis na solução polimérica favorece a conexão de duas fibras eletrofiadas em uma estrutura de ligação pontual, em função das propriedades adesivas da própolis, o que foi visualizado em seu estudo para a concentração de 30% m/m de própolis. No presente estudo essa estrutura não foi visualizada para a concentração máxima utilizada de 15% m/m, característica favorável à aplicação como curativo, pois a conexão entre as fibras poderia diminuir o número e o tamanho dos poros da estrutura, limitando a drenagem do exsudado e a permeação gasosa, afetando negativamente no processo de cicatrização de feridas.

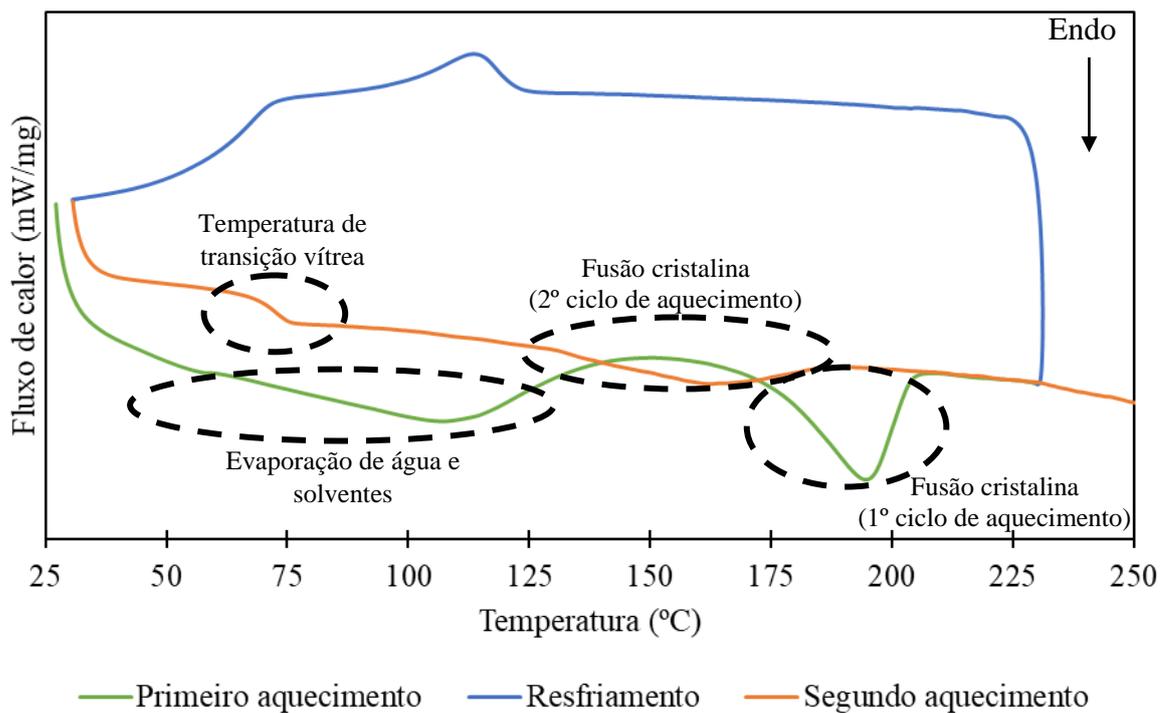
Comparando a distribuição de diâmetro para as amostras aditivadas com 15% de tintura e extrato de própolis, constatou-se que ambas apresentam distribuição de diâmetro estreita, no entanto, para a tintura, 70% das fibras apresentam diâmetro entre 200 a 300nm, com diâmetro médio (224±34)nm, enquanto para o extrato 57% apresentam diâmetro entre

300 a 400nm, com diâmetro médio (314±34)nm. O maior diâmetro médio apresentado pelo extrato pode ser devido à maior concentração de compostos em relação à tintura, que afeta em maior intensidade a viscosidade da solução, o que está associado ao processo de obtenção.

5.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A figura 16 apresenta o fluxo de calor em função da temperatura para a amostra de PVOH puro para a condição completa de ensaio analisada, incluindo primeiro aquecimento, resfriamento e segundo aquecimento.

Figura 16 – Curva de DSC para amostra de PVOH



Fonte: próprio autor.

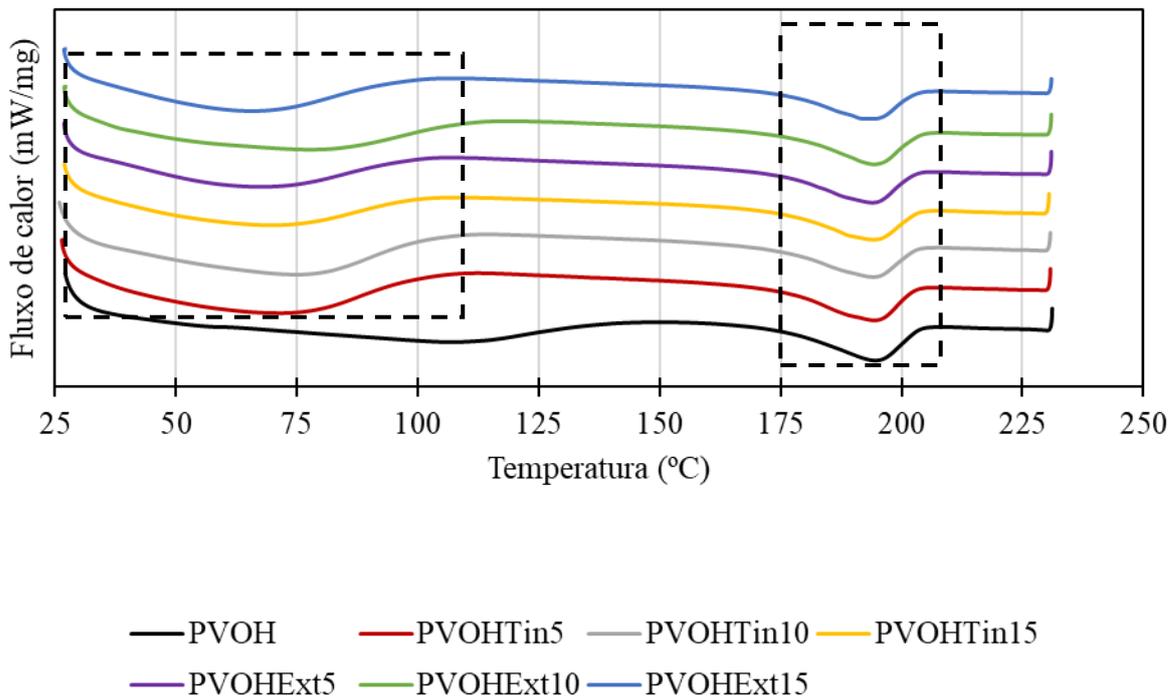
Pôde-se identificar, no primeiro aquecimento, uma endoterma referente à evaporação de água e solventes fisicamente ligados, abaixo de 150°C, e uma endoterma referente à fusão cristalina (T_m) do PVOH. No segundo aquecimento, pôde-se identificar uma variação da linha de base correspondente à temperatura de transição vítrea (T_g) em aproximadamente 73°C e um pico pouco pronunciado também referente à fusão cristalina. A endoterma de fusão referente ao primeiro ciclo de aquecimento apresentou $\Delta H = 50,1\text{J/g}$ e $T_m = 194,6^\circ\text{C}$, enquanto

no segundo aquecimento $\Delta H = 24,6\text{J/g}$ e $T_m = 162,4^\circ\text{C}$. Esse resultado indica que o processo de eletrofiação induz uma maior cristalinidade, o que é evidenciado pela diminuição do valor da entalpia de fusão (ΔH), obtido pela área da endoterma referente à fusão cristalina e da T_m .

A eletrofiação é um processo onde a orientação das cadeias ocorre devido ao estiramento da solução devido ao efeito das forças eletrostáticas impostas ao processo, e o aumento da cristalinidade é esperado devido a maior organização da estrutura. Quando a história de processamento do PVOH é apagada a cristalinidade diminui. Ding *et al.* (2002) demonstram que a temperatura de fusão de agregados de fibras de PVOH são superiores a do PVOH em pó devido a orientação molecular promovida pela eletrofiação, corroborando para o resultado encontrado.

A figura 17 apresenta o fluxo de calor em função da temperatura para o primeiro ciclo de aquecimento para todas as amostras analisadas.

Figura 17 – Curva de DSC para o primeiro ciclo de aquecimento



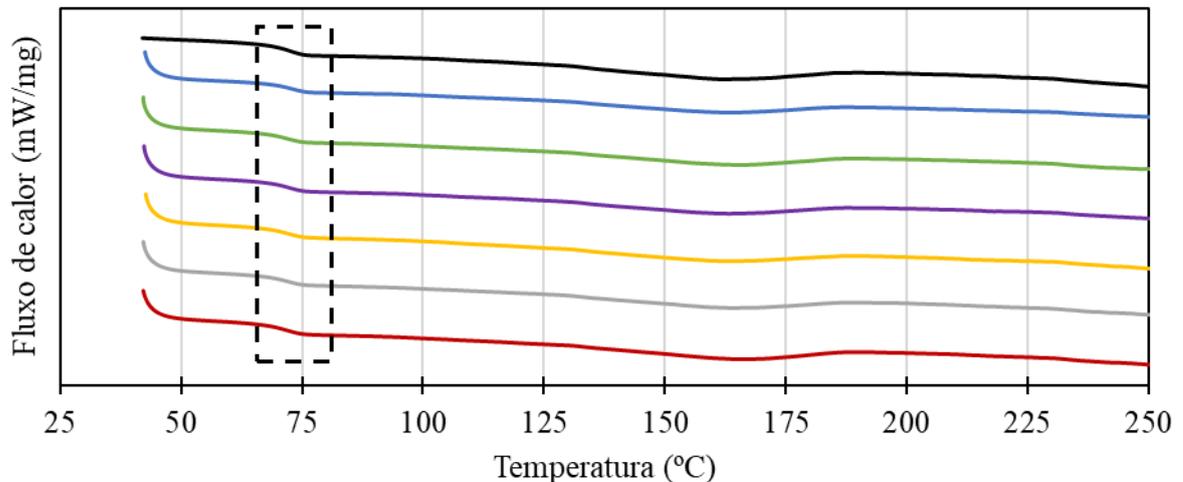
Fonte: próprio autor.

Observou-se que o pico endotérmico associado à evaporação de água e solventes para as amostras aditivadas com tinta e extrato apareceu deslocado para a esquerda, abaixo de 115°C . Esse evento pode ser atribuído à diminuição do ponto de ebulição dos solventes residuais, devido ao etanol contido nas soluções de tinta e extrato utilizados para preparação

das soluções a serem eletrofiadas, enquanto para o PVOH puro o único solvente utilizado para dissolução foi a água destilada. O pico entre a faixa de 175 e 210°C que pode ser observado para todas as amostras indica a fusão da fase cristalina.

A figura 18 apresenta o fluxo de calor em função da temperatura para o segundo ciclo de aquecimento para todas as amostras analisadas.

Figura 18 – Curva de DSC para o segundo ciclo de aquecimento



— PVOH — PVOHTin5 — PVOHTin10 — PVOHTin15
 — PVOHExt5 — PVOHExt10 — PVOHExt15

Fonte: próprio autor.

Percebeu-se uma mudança na linha de base entre 70°C e 75°C para todas as amostras, que indica a temperatura de transição vítrea (T_g) do PVOH, conforme o esperado de acordo com Cruz, Campos e Thim (2008). A adição da própolis não alterou o valor de T_g das amostras.

De acordo com Bhavani *et al.* (2013) a temperatura de fusão é medida no ápice do pico endotérmico e a entalpia de fusão é determinada a partir da área do pico. A porcentagem relativa de cristalinidade foi estimada utilizando a equação a seguir.

$$\%X_c = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^0} \cdot 100\%$$

Na qual ΔH_m é a entalpia de fusão de cada amostra, determinada a partir da área do pico e ΔH_m^0 é a entalpia de fusão do PVOH 100% cristalino, considerado como 138,6J/g tomando como referência Paranhos *et al.* (2007). A tabela 8 apresenta a temperatura de transição vítrea, a temperatura de fusão, a entalpia de fusão e a cristalinidade para cada uma das amostras.

Tabela 8 – T_g, T_m e cristalinidade das amostras de PVOH e aditivadas com tintura de própolis de álamo e extrato de própolis verde

	PVOH	PVOHExt5	PVOHExt10	PVOHExt15	PVOHTin5	PVOHTin10	PVOHTin15
T_g (°C)	72,6	72,5	72,2	72,6	71,8	71,7	71,6
T_m (°C)	194,6	194,0	194,3	193,8	194,4	194,1	194,2
ΔH_m (J/g)	50,1	44,8	44,4	43,1	48,2	43,8	42,7
%X_c	36,1	32,3	32,0	31,1	34,7	31,6	30,8

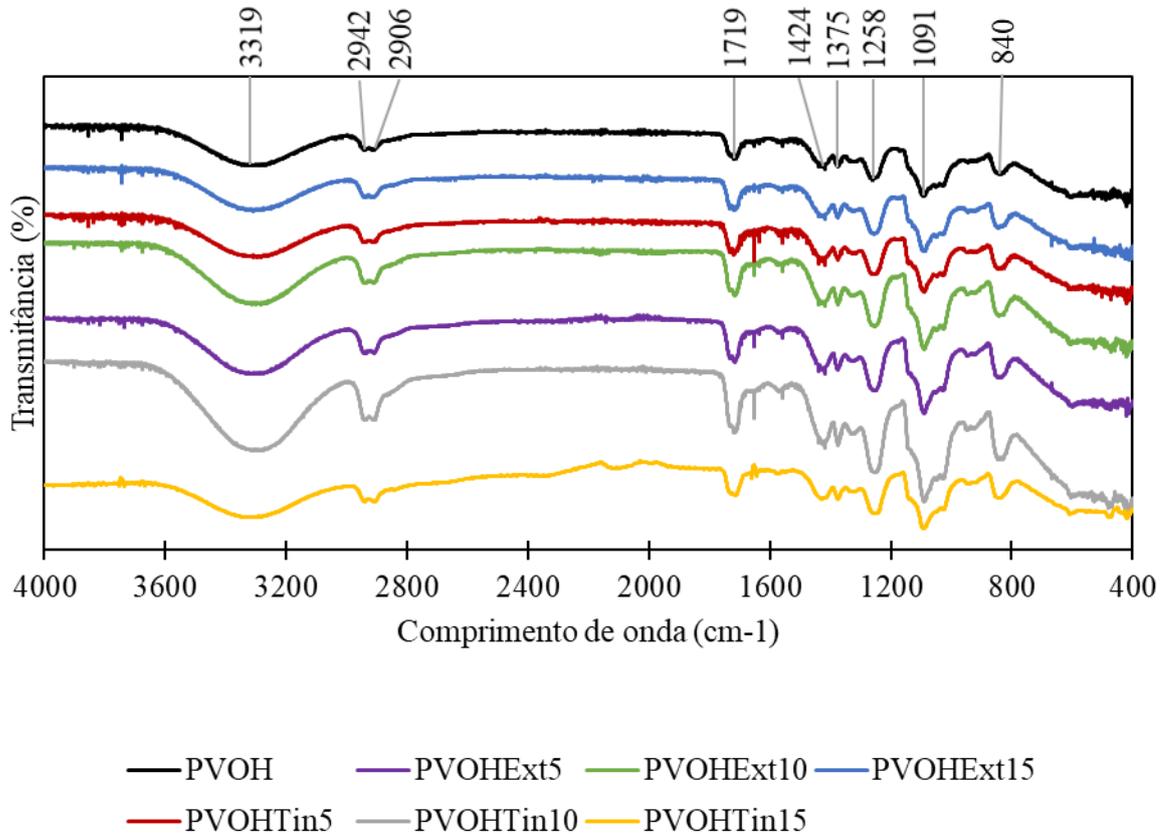
Fonte: próprio autor.

Pôde-se constatar que todas as amostras analisadas apresentaram T_g em torno de 72°C e T_m em torno de 194°C, indicando que a própolis não afeta o comportamento térmico das nanofibras de PVOH. A porcentagem de cristalinidade exibiu uma pequena diminuição para as amostras com própolis, mas essa diminuição pode estar atribuída ao erro de leitura, não indicando precisamente que a própolis influencia na organização das cadeias do PVOH durante a eletrofição.

5.4 Espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A figura 19 apresenta os espectros obtidos para as amostras de PVOH, PVOH com extrato de própolis verde e PVOH com tintura de própolis de álamo.

Figura 19 – Espectro das amostras analisadas por FTIR

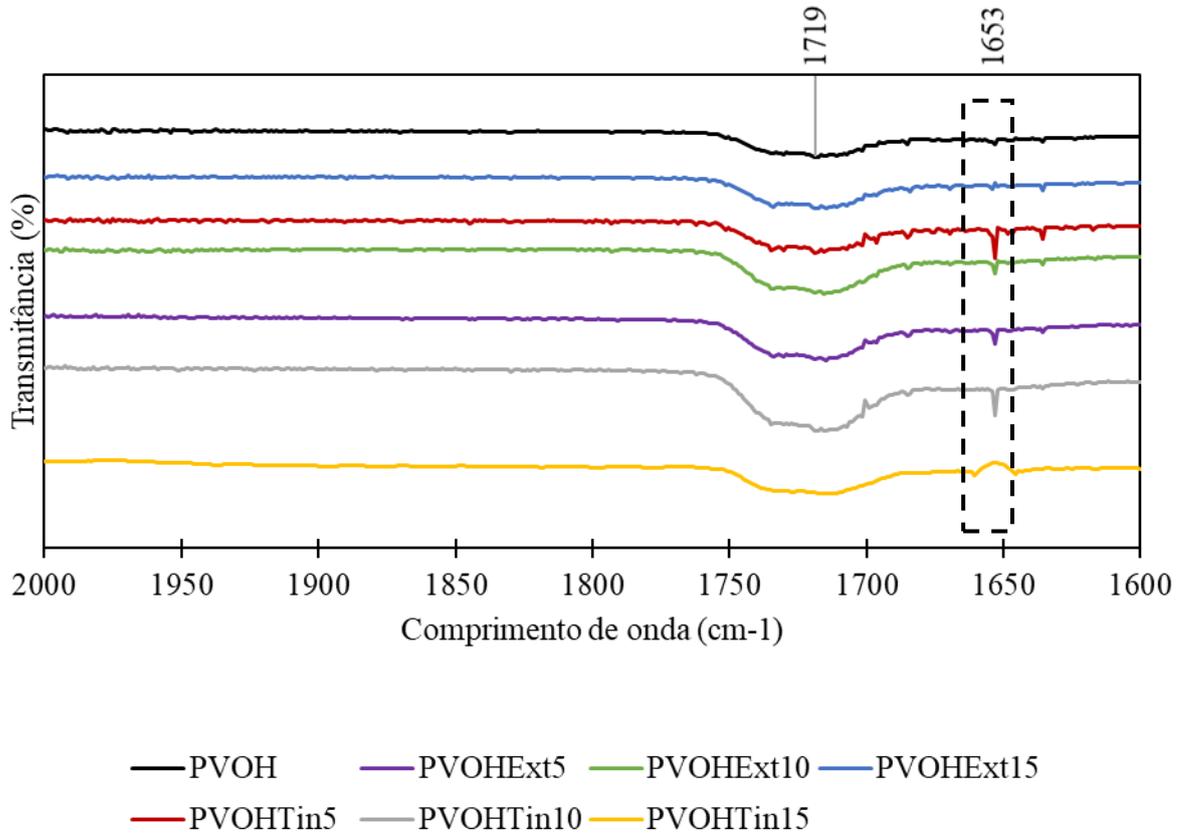


Fonte: próprio autor.

Como ilustrado na figura 19, não parece haver novos picos nos espectros das fibras contendo própolis comparando com as fibras de PVOH puro. Isso pode estar associado ao fato dos picos esperados para o extrato da própolis se sobreporem aos picos associados ao PVOH.

A figura 20 apresenta os espectros obtidos para as amostras de PVOH puro, PVOH com extrato de própolis verde e PVOH com tintura de própolis de álamo em escala reduzida para possibilitar a visualização do pico em 1653cm^{-1} .

Figura 20 – Espectro das amostras analisadas por FTIR em escala reduzida



Fonte: próprio autor.

A banda encontrada em 1653cm^{-1} para as amostras aditivadas, conforme indicado na figura 20, era esperada para as amostras com própolis. Esse pico pode ser em função de deformações do anel aromático de compostos fenólicos ou atribuído ao estiramento da ligação C=O de flavonóides e lipídeos, segundo França *et al.* (2014).

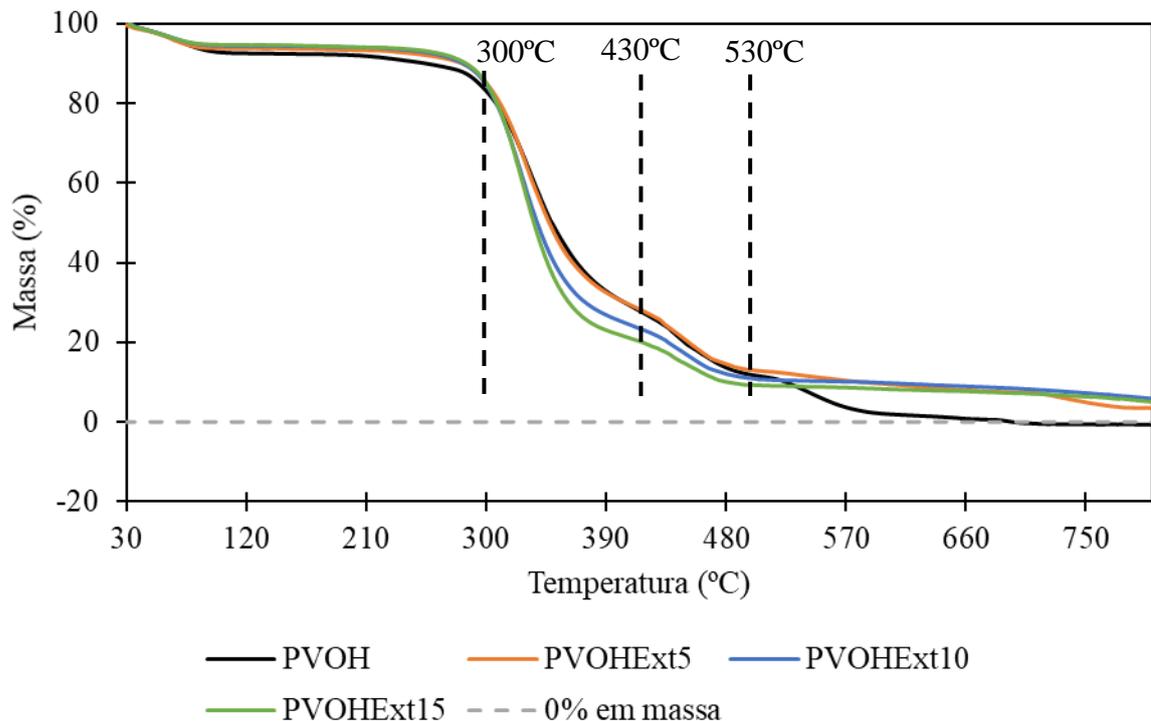
O espectro da amostra de PVOH puro apresentado em preto revela os principais picos associados a ele. Pode-se observar uma banda larga em 3319cm^{-1} correspondente ao alongamento O-H das ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares, esperadas devido à alta força hidrofílica entre as cadeias do PVOH. Observa-se entre 2840 e 3000cm^{-1} dois picos referentes ao estiramento C-H de carbonos primários e secundários. O pico em 1719cm^{-1} corresponde ao estiramento da ligação C=O do grupo acetato remanescente, advindo da reação de transesterificação do poli(acetato de vinila). O pico em 1424 sugere o estiramento da ligação C-H₂ e o pico em 1375cm^{-1} sugere o estiramento da ligação C-H₃, indicando a presença de grupos metil em ramificações ou pontas de cadeia. Os picos em 1258 e 1091cm^{-1} sugerem estiramento da ligação C-O. O pico em 840cm^{-1} indica a presença da ligação C=C, como em grupos alcenos (ARUAN *et al.*, 2017; AWADA e DANEULT,

2015; MOZAFARI *et al.*, 2012).

5.5 Análise termogravimétrica (TGA)

A figura 21 apresenta as curvas de perda de massa em percentual em função da temperatura para as amostras de PVOH puro e PVOH com extrato de própolis verde.

Figura 21 – Curva de TGA das amostras de PVOH e PVOH com extrato de própolis verde



Fonte: próprio autor.

Para a amostra de PVOH puro, observaram-se quatro etapas de perda de massa. Como usualmente encontrado para polímeros hidrofílicos, o primeiro evento responsável pela variação da massa, entre 30 e 95°C, pode ser atribuído à perda de umidade e evaporação do solvente retido, o que correspondeu a perda de aproximadamente 8% em massa. O segundo estágio de perda de massa pode ser associado à decomposição das cadeias laterais do polímero, cuja temperatura está em torno de 300°C. No terceiro estágio de perda de massa, em 430°C, houve a decomposição da cadeia principal do polímero, produzindo carbono e hidrocarbonetos. A partir de 530°C, houve a decomposição total dos resíduos (GOLÇALVES *et al.*, 2017; SHAO *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2018).

Para as amostras de PVOH aditivadas com extrato de própolis verde, houveram três etapas de perda de massa. O primeiro evento, similarmente à amostra de PVOH puro, pode ser atribuído à perda de umidade e evaporação do solvente retido. O evento ocorreu à mesma temperatura, no entanto a perda correspondeu a aproximadamente 6% em massa, e a perda de massa foi tanto menor quanto maior a concentração do extrato adicionado. O segundo estágio de perda de massa iniciou em temperatura similar à temperatura da amostra de PVOH puro, mas a perda de massa foi tanto maior quanto maior a concentração de extrato. O terceiro e último estágio também teve início em temperatura similar à temperatura da amostra de PVOH puro, mas, diferente da amostra pura, a temperatura de 800°C não foi suficiente para decompor totalmente as amostras; ao final do processo restaram aproximadamente 5% da massa inicial, o que pode ser devido a estruturas de carbono formadas pela pirólise dos anéis aromáticos dos compostos fenólicos encontrados na própolis.

6 CONCLUSÃO

Mantas de nanofibras não tecidas de PVOH com própolis foram processadas com sucesso através da técnica de eletrofiação. Nanofibras uniformes e contínuas sem qualquer morfologia separada por fases foram obtidas a partir da mistura simples da solução de 10% em massa de PVOH com 5, 10 e 15% em massa de tintura de própolis de álamo e extrato de propólis verde obtidos comercialmente, utilizando água destilada como solvente.

Os ensaios microbiológicos das própolis obtidas comercialmente não demonstraram efeitos antimicrobianos para os microrganismos estudados, e maiores investigações são necessárias.

A análise morfológica demonstrou que os diâmetros das nanofibras, em geral, aumentaram com o aumento da concentração de extrato utilizada, indicando que a própolis afeta a viscosidade da solução a ser eletrofiada. Os diâmetros médios encontrados para as nanofibras de PVOH com extrato estavam entre (212 ± 21) nm e (314 ± 34) nm, enquanto as com tintura estavam entre (224 ± 26) nm e (307 ± 53) nm.

A análise química por FTIR demonstrou que as ligações presentes na estrutura obtida não sofreram alterações significativas mediante a presença da própolis, indicando que a própolis se incorpora adequadamente na matriz polimérica. As análises térmicas também corroboraram para essa conclusão, uma vez que as curvas de fluxo de calor em função da temperatura também se apresentaram bastante similares. Pelas curvas de perda de massa em função da temperatura, por sua vez, é possível perceber que, apesar do perfil ser um pouco diferente, a degradação tem início à mesma temperatura para todas as condições analisadas.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Em função da ausência de padronização química da própolis, propõe-se a utilização de amostras de própolis quimicamente caracterizadas para o estudo das suas propriedades, principalmente microbiológicas.

Diante da factibilidade demonstrada no presente estudo do processamento das mantas de nanofibras de PVOH com própolis por eletrofiação, propõe-se o estudo das características biológicas *in vitro* das mesmas para propor a sua utilização como curativo para o tratamento de feridas.

Propõe-se ainda a elaboração de um projeto de estrutura viável para a utilização como curativo a partir da manta de nanofibra e o estudo das características biológicas dessa estrutura *in vivo*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, L. F. D. et al. Efeito antifúngico de tinturas de própolis e romã sobre espécies de *Candida*. **Revista Cubana de Estomatología**, Ciudad de La Habana, v. 26, n. 2, p.99-106, abr. 2012.

ARANHA, I. B.; LUCAS, E. F. Poli(Álcool Vinílico) Modificado com Cadeias Hidrocarbônicas: Avaliação do Balanço Hidrófilo/Lipófilo. **Polímeros**, São Carlos, v. 11, n. 4, p.174-181, 2001. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-14282001000400007>.

ARUAN, N. M. et al. Polyvinyl Alcohol/Soursop Leaves Extract Composite Nanofibers Synthesized Using Electrospinning Technique and their Potential as Antibacterial Wound Dressing. **Procedia Engineering**, [s.l.], v. 170, p.31-35, 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.proeng.2017.03.006>.

AWADA, H; DANEULT, C. Chemical Modification of Poly(Vinyl Alcohol) in Water. **Applied Sciences**, [s.l.], v. 5, n. 4, p.840-850, 20 out. 2015. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/app5040840>.

BAHRAMSOLTANI, R.; FARZAEI, M. H.; RAHIMI, R. Medicinal plants and their natural components as future drugs for the treatment of burn wounds: an integrative review. **Archives Of Dermatological Research**, [s.l.], v. 306, n. 7, p.601-617, 4 jun. 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00403-014-1474-6>.

BARBOSA, M. S. et al. Uso da própolis no controle in vitro da bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* causadora da mastite em vacas leiteiras. **Boletim de Indústria Animal**, [s.l.], v. 71, n. 02, p.122-126, 08 abr. 2014. Instituto do Zootecnia. <http://dx.doi.org/10.17523/biav71n2p122>.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology Advances**, [s.l.], v. 28, n. 3, p.325-347, maio 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.01.004>.

BHAVANI, S. et al. Structural and Electrical Properties of Pure and NiCl₂ Doped PVA Polymer Electrolytes. **American Journal Of Polymer Science**, [s.l.], v. 3, n. 3, p.56-62, 2013.

CASPER, C. L. et al. Controlling Surface Morphology of Electrospun Polystyrene Fibers: Effect of Humidity and Molecular Weight in the Electrospinning Process. **Macromolecules**, [s.l.], v. 37, n. 2, p.573-578, jan. 2004. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ma0351975>.

CORRÊA, F. R. S. et al. Brazilian red propolis improves cutaneous wound healing suppressing inflammation-associated transcription factor NF- κ B. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s.l.], v. 86, p.162-171, fev. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.018>.

CRUZ, T. A. da; CAMPOS, T. M. B.; THIM, G. P. Estudo do comportamento do PVA com aditivos inorgânicos. In: Encontro de Iniciação Científica e Pós-Graduação do Ita – ENCITA,

14, 2008, São José dos Campos. **Anais...** . São José dos Campos: Ita, 2008. p. 1 - 14.
Disponível em: <<http://www.bibl.ita.br/xivencita/FUND34.pdf>>. Acesso em: 08 set. 2016.

DING, B. et al. Preparation and characterization of a nanoscale poly(vinyl alcohol) fiber aggregate produced by an electrospinning method. **Journal Of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, [s.l.], v. 40, n. 13, p.1261-1268, 20 maio 2002. Wiley.
<http://dx.doi.org/10.1002/polb.10191>.

DZIAIO, M. et al. The Potential of Plant Phenolics in Prevention and Therapy of Skin Disorders. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 17, n. 160, p.1-41, 18 fev. 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms17020160>.

FERNANDES, G. F.; COSTA, C. B. Atividade antimicrobiana *in vitro* de extrato alcoólico de própolis verde contra espécies de *Candida sp.* **Infarma: Ciências Farmacêuticas**, Brasília, v. 19, n. 5, p.111-113, 2007.

FINK, J. K. Poly(vinyl alcohol). In: FINK, Johannes Karl. **Handbook of Engineering and Specialty Thermoplastics: Water Soluble Polymers**. [s.l.]: Wiley, 2011. Cap. 2. p. 39-63. (V. 2).

FRANCHIN, M. et al. The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 153, p.49-55, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.06.050>.

FRANCA, J. R. et al. Propolis - based chitosan varnish: drug delivery, controlled release and antimicrobial activity against oral pathogen bacteria. **Bmc Complementary And Alternative Medicine**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.1-11, dez. 2014. Springer Nature.
<http://dx.doi.org/10.1186/1472-6882-14-478>.

FREIRES, I. et al. Chemical composition and antifungal potential of Brazilian propolis against *Candida spp.* **Journal de Mycologie Médicale**, [s.l.], v. 26, n. 2, p.122-132, jun. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.01.003>.

FUJIMOTO, G. **Própolis verde**: Caracterização, potencial de atividade antimicrobiana e efeitos sobre biofilmes de *Enterococcus spp.* 2016. 121 f. Tese (Doutorado) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016. Disponível em:
<<http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/255677>>. Acesso em: 10 maio 2018.

GONÇALVES, R. P. et al. Effect of Chitosan on the Properties of Electrospun Fibers From Mixed Poly(Vinyl Alcohol)/Chitosan Solutions. **Materials Research**, [s.l.], v. 20, n. 4, p.984-993, 22 maio 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1980-5373-mr-2016-0618>.

HAIDER, A.; HAIDER, S.; KANG, I. A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. **Arabian Journal Of Chemistry**, [s.l.], p.1-24, dez. 2015. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.11.015>.

KAMOUN, E. A. et al. Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing

applications: A review of remarkably blended polymers. **Arabian Journal Of Chemistry**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.1-14, jan. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.07.005>.

KENAWY, E. et al. Physically crosslinked poly(vinyl alcohol)-hydroxyethyl starch blend hydrogel membranes: Synthesis and characterization for biomedical applications. **Arabian Journal Of Chemistry**, [s.l.], v. 7, n. 3, p.372-380, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.05.026>.

KIM, J. et al. Electrospun propolis/polyurethane composite nanofibers for biomedical applications. **Materials Science And Engineering: C**, [s.l.], v. 44, p.52-57, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2014.07.062>.

KIM, J. H. et al. Juniperus chinensis extracts loaded PVA nanofiber: Enhanced antibacterial activity. **Materials Letters**, [s.l.], v. 181, p.367-370, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2016.05.164>.

KOSKI, A.; YIM, K.; SHIVKUMAR, S. Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning. **Materials Letters**, [s.l.], v. 58, n. 3-4, p.493-497, jan. 2004. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0167-577x\(03\)00532-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0167-577x(03)00532-9).

LIU, G. et al. Electrospun starch nanofibers: Recent advances, challenges, and strategies for potential pharmaceutical applications. **Journal Of Controlled Release**, [s.l.], v. 252, p.95-107, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.03.016>.

LIU, M. et al. Electrospun nanofibers for wound healing. **Materials Science And Engineering: C**, [s.l.], v. 76, p.1413-1423, jul. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.034>.

MIT-UPPATHAM, C.; NITHITANAKUL, M.; SUPAPHOL, P. Ultrafine Electrospun Polyamide-6 Fibers: Effect of Solution Conditions on Morphology and Average Fiber Diameter. **Macromolecular Chemistry And Physics**, [s.l.], v. 205, n. 17, p.2327-2338, 26 nov. 2004. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/macp.200400225>.

MOZAFARI, M. et al. Synthesis and characterization of electrospun polyvinyl alcohol nanofibrous scaffolds modified by blending with chitosan for neural tissue engineering. **International Journal Of Nanomedicine**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.25-34, jan. 2012. Dove Medical Press Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s25376>.

ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOSHIRI, A. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s.l.], v. 98, p.469-483, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.12.069>.

PARANHOS, C. M. et al. Microstructural evaluation of poly(vinyl alcohol)-based hydrogels obtained by freezing-thawing technique: Thermal analysis and positron annihilation. **Journal Of Applied Polymer Science**, [s.l.], v. 105, n. 2, p.899-902, 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/app.26119>.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical Origin and Chemical Composition of Brazilian Propolis. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v.

50, n. 9, p.2502-2506, abr. 2002. American Chemical Society (ACS).
<http://dx.doi.org/10.1021/jf011432b>.

PATIL, J. V. et al. Electrospinning: A versatile technique for making of 1D growth of nanostructured nanofibers and its applications. **Applied Surface Science**, [s.l.], v. 423, p.641-674, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.06.116>.

PESSOLATO, A. G. T. et al. Propolis and amnion reepithelialise second-degree burns in rats. **Burns**, [s.l.], v. 37, n. 7, p.1192-1201, nov. 2011. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2011.05.016>.

PINTO, L. M. A. ; PRADO, N. R. T. do; CARVALHO, L. B. de. Propriedades, usos e aplicações da própolis. **Revista Eletrônica de Farmácia**, [s.l.], v. 8, n. 3, p.76-100, 29 set. 2011. Universidade Federal de Goiás. <http://dx.doi.org/10.5216/ref.v8i3.15805>.

SEHN, E. et al. Dynamics of reepithelialisation and penetration rate of a bee propolis formulation during cutaneous wounds healing. **Analytica Chimica Acta**, [s.l.], v. 635, n. 1, p.115-120, mar. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2009.01.019>.

SFORCIN, J. Propolis and the immune system: a review. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 113, n. 1, p.1-14, ago. 2007. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2007.05.012>.

SHAO, C. et al. Fiber mats of poly(vinyl alcohol)/silica composite via electrospinning. **Materials Letters**, [s.l.], v. 57, n. 9-10, p.1579-1584, fev. 2003. Elsevier BV.
[http://dx.doi.org/10.1016/s0167-577x\(02\)01036-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0167-577x(02)01036-4).

SIMÕES, D. et al. Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, [s.l.], v. 127, p.130-141, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.02.022>.

SUBBIAH, T. et al. Electrospinning of nanofibers. **Journal Of Applied Polymer Science**, [s.l.], v. 96, n. 2, p.557-569, 2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/app.21481>.

SUKIGARA, S. et al. Regeneration of Bombyx mori silk by electrospinning—part 1: processing parameters and geometric properties. **Polymer**, [s.l.], v. 44, n. 19, p.5721-5727, set. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0032-3861\(03\)00532-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0032-3861(03)00532-9).

TAN, S. et al. Systematic parameter study for ultra-fine fiber fabrication via electrospinning process. **Polymer**, [s.l.], v. 46, n. 16, p.6128-6134, jul. 2005. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.polymer.2005.05.068>.

THAKKAR, S.; MISRA, M. Electrospun polymeric nanofibers: New horizons in drug delivery. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 107, p.148-167, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2017.07.001>.

THENMOZHI, S. et al. Electrospun nanofibers: New generation materials for advanced applications. **Materials Science And Engineering: B**, [s.l.], v. 217, p.36-48, mar. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mseb.2017.01.001>.

UGUR, A. et al. Antimicrobial Effects of Propolis Extracts on Escherichia coli and Staphylococcus aureus Strains Resistant to Various Antibiotics and Some Microorganisms. **Journal Of Medicinal Food**, [s.l.], v. 3, n. 4, p.173-180, jan. 2000. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/jmf.2000.3.173>.

VASHISTH, P.; PRUTHI, V. Synthesis and characterization of crosslinked gellan/PVA nanofibers for tissue engineering application. **Materials Science And Engineering: C**, [s.l.], v. 67, p.304-312, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.049>.

VASHISTH, P. et al. Process optimization for fabrication of gellan based electrospun nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 109, p.16-21, ago. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.03.003>.

VIEIRA, G. D. **Nanofibras de poli(ácido vinílico) com progesterona obtidas pela técnica de eletrofição**. 2015. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Materiais, Departamento de Engenharia de Materiais, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

VINYL Alcohol Polymers. In: **Encyclopedia of Polymer Science and Technology**. [s.l.]: Wiley, 2002. p. 399-437. (V. 8). Copyright John Wiley & Sons.

ZAHEDI, P. et al. A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. **Polymers For Advanced Technologies**, [s.l.], p.77-95, 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pat.1625>.

ZHANG, C. et al. Study on morphology of electrospun poly(vinyl alcohol) mats. **European Polymer Journal**, [s.l.], v. 41, n. 3, p.423-432, mar. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2004.10.027>.

ZHANG, Y. et al. Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications. **Journal Of Materials Science: Materials in Medicine**, [s.l.], v. 16, n. 10, p.933-946, out. 2005. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-005-4428-x>.